

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 258**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.06.2015 PCT/JP2015/068198**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.12.2015 WO15199129**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2015 E 15811504 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2024 EP 3162378**

54 Título: **Sistema de vacunación nasal contra la gripe**

30 Prioridad:

**25.06.2014 JP 2014130365**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**19.06.2024**

73 Titular/es:

**TOKO YAKUHIN KOGYO KABUSHIKI KAISHA  
(100.0%)  
14-25 Naniwa-cho Kita-ku Osaka-shi  
Osaka 530-0022, JP**

72 Inventor/es:

**KAMISHITA, TAIZOU y  
MIYAZAKI, TAKASHI**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 973 258 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Sistema de vacunación nasal contra la gripe

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un sistema de rinovacunación para administrar una composición de vacuna antigripal en la mucosa nasal, que se usa en combinación con una jeringa médica.

10 **Antecedentes**

La gripe es una infección aguda de las vías respiratorias causada por el virus de la gripe; en particular, la gripe adquiere carácter epidémico en invierno año tras año. Además, la gripe se convierte a veces en una pandemia, y muchas personas sufren cuadros graves que provocan la muerte. Para la gripe, se sabe que la vacunación con la vacuna antigripal puede aportar algunos efectos preventivos, por lo que un amplio sector de la población se vacuna antes de la temporada epidémica.

La vacuna antigripal aprobada en Japón solo es un componente proteico inactivado de un antígeno vírico de la gripe que se administra por vía subcutánea y, actualmente, se usa una vacuna fraccionada de la misma como vacuna antigripal estacional. Una vacuna de este tipo que se administra por vía subcutánea es altamente eficaz para prevenir la gravedad de las infecciones causadas por la gripe, tal como la neumonía, pero tiene una baja actividad inducida por anticuerpos en la membrana mucosa respiratoria superior, que es un área infectada por el virus de la gripe, por lo que no ofrece una protección suficiente contra las infecciones. Además, dicha administración inyectable tiene inconvenientes, por ejemplo dolor y efectos secundarios tales como la inflamación causada por la vacunación tópica.

Para resolver estos problemas de la vacunación contra la gripe, hasta ahora se ha realizado una gran variedad de ensayos en los que una vacuna de administración por vía nasal ha suscitado atención como nueva vacuna. Sin embargo, se ha señalado la imposibilidad de inducir una alta respuesta inmunitaria frente al virus de la gripe pese a que la vacuna fraccionada que se ha usado ampliamente en la práctica clínica actual se administra por vía nasal directamente a los animales de laboratorio o a los seres humanos.

En tales circunstancias, en Suiza se aprobó la primera vacuna antigripal fraccionada del mundo de administración por vía nasal que comprende la toxina termolábil *Escherichia coli* como adyuvante [Berna Biotech, Suiza; Nombre comercial: Nasalflu], y su venta comenzó en octubre de 2000, pero su uso clínico se retiró en febrero de 2004 debido a la toxicidad del adyuvante. Asimismo, la referencia de patente 1 también divulga una vacuna antigripal de administración por vía nasal que comprende un adyuvante, lo que indica que la inducción inmunológica puede mejorar mediante el uso del adyuvante. Sin embargo, la toxicidad de los adyuvantes es una cuestión preocupante para su uso práctico.

Para la administración por vía nasal, también es necesario tener en cuenta la compleja estructura de la cavidad nasal, y es deseable lograr que la vacuna antigripal se distribuya ampliamente, se adhiera y permanezca durante mucho tiempo en la cavidad nasal. Por ejemplo, la base (material) divulgada en la referencia de patente 2 se puede usar para la administración por pulverización.

Un dispositivo pulverizador tipo bomba, tal como el dispositivo pulverizador sin aire usado en la referencia de patente 2, puede lograr una buena pulverización de una formulación (dispersabilidad de la pulverización, uniformidad del tamaño de las partículas de la formulación, etc.), con lo que se espera obtener la suficiente eficacia farmacológica deseada; sin embargo, es difícil llenar el recipiente de pulverización con una sola dosis para hacer que sea un sistema de administración de dosis única, desde el punto de vista de la estructura del recipiente de pulverización. Por tanto, para administrar por vía nasal una vacuna antigripal con dicho dispositivo pulverizador tipo bomba, no había otra forma salvo llenar el recipiente de pulverización con un gran exceso de formulación vacunal, administrarla a una persona y, a continuación, desechar el resto del dispositivo pulverizador o compartir el resto con varios sujetos, desde el punto de vista del coste. Sin embargo, el uso repetitivo de la punta de dicho dispositivo pulverizador sin aire en la cavidad nasal de varios pacientes o sujetos puede hacer que la mayoría de las personas se sientan mal desde el punto de vista emocional, y su uso es antihigiénico y entraña el peligro de otra infección (infección hospitalaria).

Como se ha mencionado anteriormente, existe la necesidad de desarrollar una vacuna antigripal de administración por vía nasal como vacuna antigripal de nueva generación y ponerla en práctica, que reemplace a la vacuna antigripal convencional de administración subcutánea o intramuscular. Sin embargo, existen varios problemas para el uso práctico, por ejemplo cómo debe reducirse la toxicidad de un adyuvante usado para potenciar la inducción inmunológica o cómo debe diseñarse el dispositivo de administración para potenciar su efecto lo suficiente.

**TÉCNICA ANTERIOR**

65 [Referencia de patente 1] WO 2010/114169

[Referencia de patente 2] WO 2007/123193

**Resumen de la invención**

5 Uno de los propósitos de la presente invención es proporcionar un sistema para administrar una composición de vacuna antigripal mediante administración por pulverización en la mucosa nasal que se prepara usando un virión completo e inactivado de la gripe como antígeno que ya esté aprobado, pero sin usar un adyuvante, que presenta una alta eficacia y pocos efectos secundarios a pesar de un bajo nivel de antígenos, que se usa en combinación con un dispositivo para su administración.

10 Además, el documento WO 2014/103488 es una solicitud relacionada con la presente solicitud, que ya ha sido publicada. Sin embargo, la fecha de prioridad de la presente solicitud es anterior a la fecha de publicación de la solicitud relacionada, por lo que no es un documento de la técnica anterior para la presente solicitud.

15 Los autores de la presente invención han estudiado exhaustivamente el problema anterior y han descubierto que una combinación de (i) una base de gel (material) de administración por pulverización en la mucosa nasal que comprende un polímero carboxivinílico que se trata añadiendo una fuerza de cizallamiento externa para añadir rendimiento de pulverización y (ii) un virión completo e inactivado de la gripe, puede potenciar la inducción inmunitaria en seres humanos sin un adyuvante; además, han fabricado un sistema de administración introduciendo la combinación en un dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa que tiene una conformación/configuración optimizada de la boquilla. La presente invención se ha realizado sobre la base de los nuevos hallazgos. La presente invención proporciona las siguientes formas de realización.

25 [1] Un sistema de rinovacunación de vacuna antigripal, que comprende un dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa lleno de una composición de vacuna antigripal, que comprende (i) un virión completo e inactivado de la gripe, y (ii) un material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que tiene una viscosidad de 50 mPa·s a 5000 mPa·s a 20 °C, que se caracteriza por no comprender un adyuvante;

30 en donde el dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa es una jeringa médica (1) que tiene una abertura (6) en la punta en comunicación fluidica con un cilindro de jeringa (4), que está equipado con una boquilla de pulverización nasal (10) que comprende

35 un cuerpo de boquilla hueco (20) con una porción de punta (22) que define un orificio de boquilla (21) en el mismo,

una varilla de encapsulación maciza (30) dispuesta dentro del cuerpo de boquilla (20), y

40 una cámara de boquilla definida entre la varilla de encapsulación (30) y el cuerpo de boquilla (20) para permitir una comunicación fluidica entre la abertura (6) de la punta y el orificio de boquilla (21),

en donde el orificio de boquilla (21) tiene un diámetro en un intervalo entre 0,25 mm y 0,30 mm.

45 [2] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con [1], en donde la cantidad de (i) el virión completo e inactivado de la gripe es de 1 - 500 µg de HA/ml por tipo de cepa vírica vacunal.

[3] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con [1] o [2], en donde la composición de vacuna antigripal comprende de 0,1 % p/v a 1,0 % p/v de polímero carboxivinílico.

50 [4] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con [1] o [2], en donde la composición de vacuna antigripal se prepara ajustando la viscosidad de un material de base de gel que comprende de 0,5 % p/v a 2,0 % p/v de polímero carboxivinílico añadiendo una fuerza de cizallamiento externa y, a continuación,

55 mezclando el material de base de gel resultante con una solución madre de virus, que comprende un virión completo e inactivado de la gripe, de forma homogénea durante un corto período de tiempo sin generarle estrés,

en donde la viscosidad ajustada es de 50 mPa·s a 5000 mPa·s a 20°C.

60 [5] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4], en donde la composición de vacuna antigripal se prepara con un material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que tiene una viscosidad de 50 mPa·s a 5000 mPa·s a 20 °C que sirve para controlar que

65 (1) en lo que respecta a la distribución del tamaño de las partículas de la composición pulverizada, el tamaño medio de las partículas se encuentre en un intervalo de 30 µm a 80 µm, y la distribución de partículas entre 10 µm y 100 µm sea de un 80 % o más,

(2) la densidad de pulverización sea uniforme para adoptar una conformación homogénea de tipo grano de maíz completo, y

(3) el ángulo de pulverización se ajuste en un intervalo de 30° a 70°.

5 [6] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4], en donde la composición de vacuna antigripal se prepara con un material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que tiene una viscosidad de 50 mPa·s a 5000 mPa·s a 20 °C que sirve para controlar que

10 (1) en lo que respecta a la distribución del tamaño de las partículas de la composición pulverizada, el tamaño medio de las partículas se encuentre en un intervalo de 40 um a 70 um, y la distribución de partículas entre 10 um y 100 um sea de un 90 % o más,

15 (2) la densidad de pulverización sea uniforme para adoptar una conformación homogénea de tipo grano de maíz completo, y

(3) el ángulo de pulverización se ajuste en un intervalo de 40° a 60°.

20 [7] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [6], en donde el orificio de boquilla no incluye sustancialmente ninguna porción curva.

[8] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [7], en donde la porción de punta que define el orificio de boquilla tiene un grosor a lo largo de una dirección de inyección de la formulación que está en un intervalo entre 0,20 mm y 0,30 mm.

25 [9] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [8],

30 en donde el cuerpo de boquilla incluye una pared interior que tiene al menos una porción formada con una conformación cilíndrica y la varilla de encapsulación incluye una pared exterior que tiene al menos una porción formada con una conformación cilíndrica que tiene una pluralidad de ranuras espaciadas circunferencialmente,

35 en donde la cámara de boquilla está definida entre la al menos una porción de la pared interior del cuerpo de boquilla y la al menos una porción de la pared exterior de la varilla de encapsulación, y

en donde la varilla de encapsulación incluye un miembro generador de flujo de vórtice opuesto a la porción de punta del cuerpo de boquilla.

40 [10] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con [9], en donde el miembro de generación de flujo de vórtice está formado de manera que la dirección de flujo de la formulación desde las ranuras de la varilla de encapsulación esté desplazada respecto a un eje central, para generar así un flujo de vórtice de la formulación.

45 [11] El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con [9] o [10], en donde la al menos una porción de la pared interior del cuerpo de boquilla está formada para tener una sección transversal sustancialmente perpendicular a la dirección de inyección que se reduce de manera continua o escalonada hacia la dirección de inyección.

50 La presente invención ha hecho posible proporcionar una composición de vacuna antigripal que comprende un virión completo e inactivado de la gripe como ingrediente activo, pero que no comprende un adyuvante, que induce una alta respuesta inmunitaria a pesar de un pequeño nivel de antígenos y pocos efectos secundarios ya que la composición no comprende un adyuvante. Mediante el uso de un sistema de administración equipado con dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa que tiene una boquilla de pulverización nasal con una conformación optimizada, se espera que la composición de vacuna antigripal se aplique adecuadamente durante epidemias de gripe.

55 La composición de vacuna antigripal de la presente invención se puede distribuir ampliamente, fijarse y permanecer durante mucho tiempo en la mucosa nasal porque la composición comprende un material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que se trata añadiendo una fuerza de cizallamiento externa para añadir rendimiento de pulverización, por lo que la composición de vacuna antigripal de la presente invención puede inducir una alta respuesta inmunitaria a pesar de un pequeño nivel de antígenos.

60 De acuerdo con el proceso para preparar una composición de vacuna antigripal de la presente invención, se puede proporcionar una composición de vacuna antigripal que mantiene en buen estado la antigenicidad del virión completo inactivado ya que el virión se trata durante un corto período de tiempo sin generarle estrés e induce una alta respuesta inmunitaria y pocos efectos secundarios.

65

Aunque la presente invención no comprende ningún adyuvante como agente inmunopotenciador, la presente invención puede proporcionar una inducción inmunitaria igual o más potente para la membrana mucosa respiratoria superior y todo el cuerpo, en comparación con una composición que comprende una vacuna antigripal y un adyuvante.

5 **Breve descripción de los dibujos**

La Fig. 1 es una vista lateral parcialmente fragmentada de una estructura general de una jeringa médica que comprende una boquilla de pulverización nasal de una forma de realización de acuerdo con la presente invención.

10 Las Figs. 2(a) y 2(b) son vistas en perspectiva parcialmente fragmentadas de la estructura general de la boquilla de pulverización nasal de una forma de realización de la presente invención, que muestran configuraciones antes y después de que la varilla de encapsulación se inserte dentro del cuerpo de boquilla, respectivamente.

15 La Fig. 3(a) es una vista en sección transversal vertical de la boquilla de pulverización nasal de la Fig. 2(b), y las Figs. 3(b), 3(c) y 3(d) son vistas en sección transversal horizontal de la boquilla de pulverización nasal tomadas a lo largo de la línea B-B, la línea C-C y la línea D-D de la Fig. 3(a), respectivamente.

20 Las Figs. 4(a) y 4(b) son vistas en sección transversal ampliadas de la porción de punta del cuerpo de boquilla, en las que la porción de punta está provista de la porción curva en la Fig. 4(a) pero no en la Fig. 4(b).

25 La Fig. 5 muestra el resultado de medir la distribución del tamaño de partícula de la formulación del Ejemplo 4 con un analizador de tamaño de partícula por difracción láser, que recibió la pulverización del dispositivo inyector de tipo jeringa de la presente invención.

30 La Fig. 6 muestra el resultado de medir el ángulo de pulverización de la formulación del Ejemplo 4 con un microscopio de alta velocidad, que se pulverizó desde la punta de la boquilla del dispositivo inyector de tipo jeringa de la presente invención. El ángulo de pulverización de la formulación pulverizada fue de 52,27°.

La Fig. 7 muestra el resultado de medir el comportamiento de pulverización de la formulación del Ejemplo 4 con una lámina de prueba de patrones de pulverización, que recibió la pulverización del dispositivo inyector de tipo jeringa de la presente invención. Se obtuvo un círculo uniforme de tipo grano de maíz completo.

35 **Descripción de las formas de realización**

La presente invención proporciona un sistema de rinovacunación de vacuna antigripal, que comprende

40 una jeringa médica que tiene una abertura de punta en comunicación fluidica con un cilindro de jeringa, que está equipado con una boquilla de pulverización nasal que comprende un cuerpo de boquilla hueco que tiene una porción de punta que define un orificio de boquilla en el mismo, una varilla de encapsulación maciza dispuesta dentro del cuerpo de boquilla, y una cámara de boquilla definida entre la varilla de encapsulación y el cuerpo de boquilla para permitir una comunicación fluidica entre la abertura de punta y el orificio de boquilla, en donde el orificio de boquilla tiene un diámetro en un intervalo entre 0,25 mm y 0,30 mm,

45 que se llena con una composición de vacuna antigripal que comprende un material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que se trata añadiendo una fuerza de cizallamiento externa para añadir rendimiento de pulverización, y un virión completo e inactivado de la gripe, que se caracteriza por no comprender un adyuvante.

50 El "material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que se trata añadiendo una fuerza de cizallamiento externa para añadir rendimiento de pulverización" usado en el presente documento se refiere a, por ejemplo, un "material de base de gel que comprende un agente adhesivo a la piel/mucosa" divulgado en el documento WO 2007/123193, que es un material de base que comprende polímero carboxivinílico y que comprende opcionalmente goma Gellan, cuya viscosidad se ajusta añadiendo una fuerza de cizallamiento externa. El material de base se caracteriza por que su viscosidad se puede variar mediante la adición de una fuerza de cizallamiento externa, y el ángulo de distribución de pulverización desde un recipiente de pulverización y la densidad de pulverización se pueden controlar para satisfacer el propósito. Además, el uso del presente sistema de administración equipado con un dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa que tiene una boquilla de pulverización nasal con una conformación optimizada puede lograr una buena pulverización de una formulación (dispersabilidad de la pulverización, uniformidad del tamaño de las partículas de la formulación, etc.), como es el caso de los dispositivos de pulverización tipo bomba, tal como un dispositivo de pulverización sin aire divulgado en el documento WO 2007/123193, y, por lo tanto, su uso puede hacer que la distribución de un virión completo e inactivado de la gripe en la mucosa nasal se extienda ampliamente y durante mucho tiempo para potenciar la inmunogenicidad de un antígeno.

65

El polímero carboxivinílico, que es un ingrediente material del material de base de gel en la presente invención, es un polímero hidrófilo que se prepara polimerizando ácido acrílico como ingrediente principal, que se puede elegir de aditivos farmacéuticos que se usan generalmente para preparar un agente de gel acuoso sin ninguna limitación.

- 5 El contenido del material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que se trata añadiendo una fuerza de cizallamiento externa para añadir rendimiento de pulverización es del 0,1 - 1,0 % p/v, preferentemente del 0,3 - 0,7 % p/v como contenido de polímero carboxivinílico.

10 La vacuna de la presente invención se caracteriza por comprender un virión completo e inactivado de la gripe como antígeno. El virión completo e inactivado de la gripe usado en el presente documento se refiere un virión que se prepara cultivando el virus de la gripe para proporcionar una suspensión de virus del mismo y purificando la suspensión de virus al tiempo que se mantiene su morfología vírica. Por lo tanto, la vacuna antigripal de la presente invención se refiere a una vacuna a excepción de la vacuna dividida (que incluyen subvirión) y la vacuna de subunidades (que incluyen HA o NA purificada), y también se denomina vacuna de virus completo.

15 El virión completo e inactivado de la gripe mencionado anteriormente es, preferentemente, un virión que se purifica a partir de una suspensión de virus en ausencia de tensioactivos y éteres. La solución madre de virus usada en el presente documento se refiere a una solución de virus que comprende un virión completo e inactivado de la gripe, que se purifica o concentra para mezclarse con un material de base de gel en la presente invención. Con respecto a la vacuna de la presente invención, la concentración de un virión completo e inactivado de la gripe es preferentemente de 1 - 500 µg de HA/ml (en equivalente de HA), más preferentemente de 20 - 250 µg de HA/ml (en equivalente de HA) por tipo de cepa vírica vacunal. La concentración mencionada anteriormente se puede determinar midiendo la concentración de proteína HA.

25 El virus de la gripe usado en el presente documento incluye todos los tipos de virus de la gripe conocidos actualmente y todos sus subtipos, así como todos los tipos y todos los subtipos de virus de la gripe aislados o identificados en el futuro. Además, desde el punto de vista de la necesidad de prevenir también eficazmente una infección que no ha adquirido carácter epidémico en seres humanos hasta ahora, pero que podría convertirse en epidémica en seres humanos en el futuro, es preferible una combinación de un subtipo del virus de la gripe A seleccionado del grupo que consiste en los subtipos H1 - H16 excluyendo los subtipos H1 y H3 (es decir, H2 y H4 - H16) y un subtipo del virus de la gripe A seleccionado del grupo que consiste en los subtipos N1 - N9. Estos subtipos también se conocen como un nuevo tipo de virus de la gripe. Como subtipos mencionados anteriormente, es más preferible una combinación de un subtipo seleccionado del grupo que consiste en los subtipos H5, H7 y H9 y un subtipo seleccionado del grupo que consiste en los subtipos N1 - N9. El virus de la gripe puede derivar de un tipo de cepa, dos o más tipos de cepas que pertenecen al mismo subtipo, o dos o más tipos de cepas que pertenecen a diferentes subtipos.

40 El virus de la gripe usado en el presente documento incluye una cepa aislada de animales o seres humanos infectados, y un virus recombinante establecido genéticamente en células cultivadas. Como método para cultivar el virus de la gripe, el virus puede sembrarse en la cavidad alantoidea de huevos de gallina y cultivarse, o puede infectarse en células cultivadas y cultivarse.

45 Un adyuvante es un término genérico de sustancias que tienen la actividad moduladora de la respuesta inmunitaria, tal como potenciación y supresión, y se usa como agente inmunopotenciador que se añade a una vacuna para potenciar la inmunogenicidad de un antígeno. Hasta la fecha, se han estudiado un gran número de adyuvantes. El uso de un adyuvante potencia el efecto inmunitario de una vacuna, pero tiene como desventaja ciertos efectos secundarios, como la inflamación. Algunos adyuvantes se pueden elegir como candidatos para su uso en una vacuna de administración por vía nasal, pero no hay ninguna vacuna aprobada para administración por vía nasal que comprenda un adyuvante, ya que no hay ningún adyuvante que ofrezca una seguridad generalizada.

50 Los autores de la presente invención han descubierto que es posible preparar una vacuna que tenga una alta eficacia y pocos efectos secundarios a pesar de carecer de adyuvantes y tener un menor nivel de antígenos cuando el material de base de gel que tiene el rendimiento de pulverización útil mencionado anteriormente, tal como una alta propiedad adhesiva a la mucosa nasal, se usa con la vacuna de virus completo mencionada anteriormente. Además, los autores de la presente invención también han descubierto que, mediante el uso de un dispositivo que pueda pulverizar incluso un material de base de gel que tenga una alta viscosidad, se puede pulverizar una composición de vacuna antigripal en la mucosa nasal, en donde el tamaño medio de las partículas de la composición pulverizada se encuentra en un intervalo adecuado de 30 µm a 80 µm (preferentemente, un intervalo de 40 µm a 70 µm), la distribución del tamaño de las partículas entre 10 µm y 100 µm es de un 80 % o más (preferentemente, un 90 % o más), el ángulo de pulverización del dispositivo se establece en un intervalo de 30° a 70° (preferentemente, un intervalo de 40° a 60°) de modo que la composición se pueda administrar en el lugar deseado de la cavidad nasal y la densidad de pulverización sea uniforme para adoptar una conformación homogénea de tipo grano de maíz completo. Además, los autores de la presente invención también han encontrado su proceso y un método para prevenir la gripe usando la composición. La presente invención se ha realizado sobre la base de los nuevos hallazgos.

65 La vacuna de la presente invención puede comprender uno o más de otros portadores farmacéuticamente aceptables además de un virión completo e inactivado de la gripe y un material de base de gel. El portador usado en el presente

documento puede ser un portador que se usa generalmente en la preparación de una vacuna o una formulación para su administración en la cavidad nasal, que incluye, por ejemplo, solución salina, solución salina tamponada, dextrosa, agua, glicerina, solución tampón acuosa isotónica y una combinación de las mismas. Asimismo, la vacuna de la presente invención puede incluir opcionalmente un conservante (por ejemplo, tiomersal), un agente isotónico, un regulador de pH, un tensioactivo y un agente de inactivación (por ejemplo, formalina).

La vacuna de la presente invención se usa para su administración por pulverización en la cavidad nasal.

La vacuna de la presente invención puede prevenir la gripe o aliviar sus síntomas.

Para la administración de la vacuna, la pulverización se realiza en una o ambas fosas nasales con una boquilla de pulverización nasal optimizada de la presente invención, que se puede usar como dispositivo desechable.

La dosis de la vacuna debe decidirse teniendo en cuenta la edad, el sexo y el peso de un paciente u otros factores y, en realidad, la vacuna se puede administrar en una cantidad de generalmente 1 µg de HA - 150 µg de HA, preferentemente 5 µg de HA - 50 µg de HA como antígeno por tipo de cepa vírica vacunal.

Con referencia a los dibujos adjuntos, a continuación se describirán formas de realización de una boquilla de pulverización nasal usada en un dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa que tiene la boquilla de pulverización nasal de acuerdo con la presente invención. En la siguiente descripción, términos direccionales tales como "delantero", "trasero", "proximal" y "distal" se usan de manera conveniente para una mejor comprensión. Además, los mismos componentes se indican con los mismos signos de referencia en todos los dibujos adjuntos.

#### **(Jeringa médica)**

La Fig. 1 es una vista lateral parcialmente fragmentada de una jeringa médica 1 que comprende una boquilla de pulverización nasal 10 de una forma de realización de acuerdo con la presente invención. Como se ilustra en la Fig. 1, la jeringa médica 1 comprende, en general, un cuerpo de jeringa 4, hecho de resina sintética o vidrio, que tiene un cilindro de jeringa 3 capaz de almacenar una formulación farmacéutica en el mismo, y una varilla de émbolo 5 insertada dentro del cilindro de jeringa 3 del cuerpo de jeringa 4. La jeringa médica 1 también comprende un pistón 7 que tiene un miembro de fijación 5a proporcionado en el extremo distal de la varilla de émbolo 5 y que se desliza dentro del cilindro de jeringa 3 para bombear la formulación contenida en el cilindro de jeringa 3 y hacer que salga por la abertura de punta distal 6 del cuerpo de jeringa 4, un reborde para dedos 8 proporcionada alrededor de un extremo proximal del cuerpo de jeringa 4 y un miembro de extremo de émbolo 9 que transmite la fuerza aplicada por un médico, tal como un doctor, a la varilla de émbolo 5. La jeringa médica 1 puede ser similar al dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa descrito en el documento WO 2013/145789.

Cabe destacar que la boquilla de pulverización nasal 10 de la presente invención se puede aplicar a cualquier tipo de jeringa médica 1 que bombee la formulación contenida en el cilindro de jeringa 3 empujando la varilla de émbolo 5 (y el pistón 7), y, por tanto, la presente invención no se limitará a las configuraciones conocidas de la jeringa médica. Por lo tanto, la presente divulgación no proporcionará una descripción adicional de la estructura detallada de la jeringa médica (o dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa) 1, y analizará con más detalle la estructura y la función de la boquilla de pulverización nasal 10 usada para la jeringa médica.

#### **(Boquilla de pulverización nasal)**

Como se muestra en la Fig. 1, la jeringa médica 1 comprende además una boquilla de pulverización nasal 10 opuesta a la abertura de punta 6 del cuerpo de jeringa 4 y una tapa de protección 50 que protege la porción de punta esterilizada 22 de la boquilla de pulverización nasal 10 contra contaminantes e impactos mecánicos. Las Figs. 2(a) y 2(b) son vistas en perspectiva parcialmente fragmentadas que muestran la estructura general de la boquilla de pulverización nasal 10 de una forma de realización de la presente invención. Como se muestra, la boquilla de pulverización nasal 10 comprende, en general, un cuerpo de boquilla hueco 20 que tiene una porción de punta 22 con un orificio de boquilla 21 y una varilla de encapsulación maciza (barra de encapsulación) 30 proporcionada dentro del cuerpo de boquilla 20. Las Figs. 2(a) y 2(b) muestran la boquilla de pulverización nasal 10 antes y después de que la varilla de encapsulación 30 se disponga o inserte dentro del cuerpo de boquilla 20, respectivamente. La porción de punta 22 del cuerpo de boquilla 20 tiene una conformación circular y está provista de un orificio de boquilla 21 en el centro de la misma.

La Fig. 3(a) es una vista vertical en sección transversal de la boquilla de pulverización nasal 10 de la Fig. 2(b). Las Figs. 3(b), 3(c) y 3(d) son vistas horizontales en sección transversal de la boquilla de pulverización nasal 10 tomadas a lo largo de la línea B-B, la línea C-C y la línea D-D de la Fig. 3(a), respectivamente. El cuerpo de boquilla hueco 20 define el espacio interno 24 de una conformación sustancialmente cilíndrica. Como se muestra en las Figs. 3(c) y 3(d), el espacio interno 24 incluye una porción de boquilla de diámetro pequeño 25 más cercana al orificio de boquilla 21 del cuerpo de boquilla hueco 20, una porción de boquilla de diámetro grande 26 opuesta a la abertura de punta 6 del cuerpo de jeringa 4, y un hombro de boquilla 27 que está diseñado para tener un diámetro que se reduce de forma continua o escalonada desde la porción de boquilla de diámetro grande 26 hacia la porción de boquilla de diámetro pequeño 25.

Por otro lado, la varilla de encapsulación maciza 30 que se insertará dentro del cuerpo de boquilla 20 tiene una pared exterior 33 que tiene una configuración sustancialmente complementaria con la pared interior 23 del cuerpo de boquilla 20 (espacio interno 24). Como se muestra en las Figs. 2(a), 3(c) y 3(d), una porción de varilla de diámetro pequeño 35 y una porción de varilla de diámetro grande 36 incluyen el hombro de varilla 37 que está diseñado para tener un diámetro que se reduce de forma continua o escalonada desde la porción de varilla de diámetro grande 36 hacia la porción de varilla de diámetro pequeño 35.

Preferentemente, como se ilustra en la Fig. 3(a), la pared interior 23 del cuerpo de boquilla 20 está provista de un saliente 23a, mientras que la pared exterior 33 de la varilla de encapsulación 30 está provista de un rebaje 33a para recibir el saliente 23a. Cuando la varilla de encapsulación 30 está completamente insertada dentro del espacio interno 24 del cuerpo de boquilla 20, el saliente 23a puede encajar estrechamente en el rebaje 33a para garantizar la conexión entre la varilla de encapsulación 30 y el cuerpo de boquilla 20.

También como se ilustra en las Figs. 2(a)-2(b) y 3(a)-3(d), la varilla de encapsulación 30 incluye una pluralidad de ranuras 38 y 39 separadas circunferencialmente entre sí tanto en la porción de varilla de diámetro pequeño 35 como en la porción de varilla de diámetro grande 36. Además, la varilla de encapsulación 30 se inserta dentro del cuerpo de boquilla 20 para definir un hueco 40 entre el hombro de boquilla 27 y el hombro de varilla 37 (Fig. 3(a)). Por tanto, la boquilla de pulverización nasal 10 ensamblada como se ilustra en la Fig. 2(b) tiene una cámara de boquilla 42 definida por las ranuras 38, 39 y el hueco 40, lo que permite la comunicación fluidica de la formulación 2 administrada desde la abertura de punta 6 del cuerpo de jeringa 4 a través de la cámara de boquilla 42 hasta la porción de punta 22 de la boquilla de pulverización nasal 10.

Además, como se muestra en la Fig. 3(b), la varilla de encapsulación 30 incluye un miembro de generación de flujo de vórtice 44 opuesto a la porción de punta 22 de la boquilla de pulverización nasal 10. El miembro de generación de flujo de vórtice 44 está configurado para generar un flujo de vórtice de formulación 2 que se suministra desde cada una de las ranuras 38 de la porción de varilla de diámetro pequeño 35 antes de inyectarse desde el orificio de boquilla 21 del cuerpo de boquilla 20. Más en particular, las porciones de extremo de la porción de varilla de diámetro pequeño 35 que definen el miembro de generación de flujo de vórtice 44 están formadas para extenderse de manera desplazada con respecto al eje central vertical del orificio de boquilla 21. Gracias a la generación del flujo de vórtice de la formulación 2 antes de inyectarse desde el orificio de boquilla 21, el ángulo de pulverización de la formulación 2 se puede expandir para pulverizarla de una manera más uniforme.

Como se ilustra en las Figs. 3(c)-3(d), es preferible diseñar las ranuras 38 de la porción de varilla de diámetro pequeño 35 en menor número que las ranuras 39 de la porción de varilla de diámetro grande 36 para aumentar la presión de la formulación 2 en el miembro de generación de flujo de vórtice 44 antes de inyectarse desde el orificio de boquilla 21. Además, gracias a los diámetros de la porción de varilla de diámetro grande 36 y la porción de varilla de diámetro pequeño 35 que están diseñados para reducirse de forma continua o escalonada desde la primera a la segunda, es más fácil insertar la boquilla de pulverización nasal 10 profundamente en la cavidad nasal y pulverizar la formulación hacia el cornete nasal inferior e incluso partes más profundas del paciente. Por tanto, preferentemente, el diámetro de la porción de varilla de diámetro pequeño 35 es lo suficientemente menor que la abertura de la cavidad nasal del paciente sin minimizar el miedo del paciente.

**Ejemplos**

De acuerdo con los métodos que se muestran a continuación, se preparó un material de base de gel y tres tipos de soluciones madre de virus, y el material de base de gel y cada solución madre de virus se mezclaron como se muestra a continuación para preparar composiciones de vacuna antigripal como ejemplos. Cada viscosidad se midió a 20 °C con un viscosímetro de tipo E.

**<Preparación del material de base del gel>**

**Ejemplo de material de base del gel (1)**

Ingredientes	Cantidad	Proceso de preparación
Polímero carboxivinílico	11,0 mg	Cada ingrediente mostrado en la columna de la izquierda se mezcló en la proporción correspondiente a cada peso que allí se indica, y se agitó para que se volviera homogéneo. A continuación, se aplicó
L-arginina	24,0 mg	
Glicerina concentrada	20,0 mg	
Agua purificada	La cantidad necesaria	a la mezcla una fuerza de cizallamiento externa mediante una rotación de alta velocidad con un dispositivo emulsionante de tipo centrifugado de alta

## ES 2 973 258 T3

Ingredientes	Cantidad	Proceso de preparación
Total	1,0 ml	velocidad de generación de corriente de chorro intermitente. El material de base resultante, cuya viscosidad se ajustó adecuadamente con una fuerza de cizallamiento externa, se calentó a 90 °C durante 20 minutos para obtener un material de base de gel.
		Aspecto: un material de base de gel transparente e incoloro, casi inodoro.
		pH: 7,15
		Viscosidad: 4.000 mPa·s

### <Preparación de la solución madre de virus que comprende el virión completo e inactivado de la gripe>

#### Ejemplo de solución madre de virus (1)

5

Ingredientes	Cantidad	Proceso de preparación
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Victoria/210/2009 (H3N2)	180 µg de HA	La cepa para preparar la vacuna se sembró en la cavidad alantoidea de huevos embrionados y se cultivó, y posteriormente se recogió la suspensión de virus. Para aclarar la suspensión de virus, se centrifugó o filtró, y se ultrafiltró para concentrarla. A continuación, para purificar el virus, el filtrado se ultracentrifugó mediante, por ejemplo, centrifugación en gradiente de densidad de sacarosa para proporcionar una solución de virus purificada. La solución de virus purificada se inactivó con formalina para proporcionar una solución purificada de virus inactivado. Finalmente, la solución se ultrafiltró para proporcionar una solución madre de virus.
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	3,53 mg	
Dihidrogenofosfato de sodio	0,54 mg	
Cloruro de sodio	8,50 mg	
Agua purificada	1,0 ml en total	

#### Ejemplo de solución madre de virus (2)

Ingredientes	Cantidad	Proceso de preparación
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Indonesia/5/05 (H5N1)	180 µg de HA	La cepa para preparar la vacuna se sembró en la cavidad alantoidea de huevos embrionados y se cultivó, y posteriormente se recogió la suspensión de virus. Para aclarar la suspensión de virus, se centrifugó o filtró, y se ultrafiltró para concentrarla. A continuación, para purificar el virus, el filtrado se ultracentrifugó mediante, por ejemplo, centrifugación en gradiente de densidad de sacarosa para proporcionar una solución de virus purificada. La solución de virus purificada se inactivó con formalina para proporcionar una solución purificada de virus inactivado. Finalmente, la solución se ultrafiltró para proporcionar una solución madre de virus.
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	3,53 mg	
Dihidrogenofosfato de sodio	0,54 mg	
Cloruro de sodio	8,50 mg	
Agua purificada	1,0 ml en total	

10

#### Ejemplo de solución madre de virus (3)

Ingredientes	Cantidad	Proceso de preparación
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/California/7/2009 (H1N1)pdm09	60 µg de HA	La cepa para preparar la vacuna se sembró en la cavidad alantoidea de huevos embrionados y se cultivó, y posteriormente se recogió la suspensión de virus. Para aclarar la suspensión de virus, se centrifugó o filtró, y se ultrafiltró para concentrarla. A continuación, para purificar el virus, el filtrado se ultracentrifugó mediante, por ejemplo, centrifugación en gradiente de densidad de sacarosa para proporcionar una solución de virus purificada. La solución de virus purificada se inactivó con β-propiolactona y formalina para proporcionar una solución purificada de virus.
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Victoria/365/2011 (H3N2)	60 µg de HA	
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe B/Wisconsin/01/2010	60 µg de HA	
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	3,53 mg	

Ingredientes	Cantidad	Proceso de preparación
Dihidrogenofosfato de sodio	0,54 mg	inactivado. Finalmente, la solución se ultrafiltró para proporcionar una solución madre de virus.
Cloruro de sodio	8,50 mg	
Agua purificada	1,0 ml en total	

**<Mezcla de material de base de gel y solución madre de virus>**

5 El ejemplo de material de base en gel (1) y cada uno de los ejemplos de solución madre de virus (1) - (3) mencionados anteriormente se mezclaron en la proporción de 1:1 mediante agitación para obtener cada composición homogénea de vacuna antigripal, ejemplos 1, 2 y 3, respectivamente. A continuación se muestran las composiciones de cada ejemplo y sus propiedades físicas/rendimientos de pulverización obtenidos con un dispositivo de pulverización o un dispositivo inyector de tipo jeringa. La mezcla bajo agitación puede completarse suavemente y en poco tiempo sin estresar el antígeno completo e inactivado de virus. A continuación también se muestran las cantidades de cada ingrediente en las composiciones de vacuna antigripal resultantes, las propiedades físicas de las mismas y los rendimientos de pulverización obtenidos pulverizando las composiciones con un dispositivo adecuado.

**Ejemplo de referencia 1**

Ingredientes	Cantidad	Propiedad física/rendimiento de pulverización
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Victoria/210/2009 (H3N2)	90 µg de HA	pH: 7,25 Viscosidad: 500 mPa·s Rendimiento de pulverización al pulverizar 250 µl de la solución con un dispositivo de pulverización:
Polímero carboxivinílico	5,50 mg	·Tamaño medio de las partículas de la formulación pulverizada: 52,7 µm  ·Proporción del tamaño de las partículas entre 10 µm y 100 µm: 91,5 %
L-arginina	12,00 mg	
Glicerina concentrada	10,00 mg	·Ángulo de pulverización del dispositivo: 53°  ·Densidad de pulverización: círculo uniforme de tipo grano de maíz completo
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	1,765 mg	
Dihidrogenofosfato de sodio	0,270 mg	
Cloruro de sodio	4,25 mg	
Agua purificada	La cantidad necesaria	
Total	1,0 ml	

15

**Ejemplo de referencia 2**

Ingredientes	Cantidad	Propiedad física/rendimiento de pulverización
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Indonesia/5/05(H5N1)	90 µg de HA	pH: 7,10 Viscosidad: 430 mPa·s Presión osmótica: 293 mOsm

## ES 2 973 258 T3

Ingredientes	Cantidad	Propiedad física/rendimiento de pulverización
Polímero carboxivinílico	5,50 mg	Rendimiento de pulverización al pulverizar 250 µl de la solución con un dispositivo de pulverización:
L-arginina	12,00 mg	
Glicerina concentrada	10,00 mg	
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	1,765 mg	
		·Tamaño medio de las partículas de la formulación pulverizada: 55,2 µm
Dihidrogenofosfato de sodio	0,270 mg	·Proporción del tamaño de las partículas entre 10 µm y 100 µm: 95,0 %
Cloruro de sodio	4,25 mg	
Agua purificada	La cantidad necesaria	
Total	1,0 ml	·Ángulo de pulverización del dispositivo: 51°
		·Densidad de pulverización: círculo uniforme de tipo grano de maíz completo

### **Ejemplo 3**

Ingredientes	Cantidad	Propiedad física/rendimiento de pulverización
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/California/7/2009 (H1N1)pdm09	30 µg de HA	pH: 7,15
		Viscosidad: 520 mPa·s
		Presión osmótica: 295 mOsm Rendimiento de pulverización al pulverizar 250 µl de la solución con un dispositivo de pulverización:
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Victoria/365/2011 (H3N2)	30 µg de HA	·Tamaño medio de las partículas de la formulación pulverizada: 57,4 µm
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe B/Wisconsin/01/2010	30 µg de HA	
Polímero carboxivinílico	5,50 mg	·Proporción del tamaño de las partículas entre 10 µm y 100 µm: 95,0 %
L-arginina	12,00 mg	
Glicerina concentrada	10,00 mg	
		·Ángulo de pulverización del dispositivo: 52°

## ES 2 973 258 T3

Ingredientes	Cantidad	Propiedad física/rendimiento de pulverización
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	1,765 mg	· Densidad de pulverización: círculo uniforme de tipo grano de maíz completo
Dihidrogenofosfato de sodio	0,270 mg	
Cloruro de sodio	4,25 mg	Rendimiento de pulverización al pulverizar 250 µl de la solución con un dispositivo inyector de tipo jeringa
Agua purificada	La cantidad necesaria	
Total	1,0 ml	· Tamaño medio de las partículas de la formulación pulverizada: 56,5 µm
		· Proporción del tamaño de las partículas entre 10 µm y 100 µm: 88,2 %
		· Ángulo de pulverización del dispositivo: 51,48°
		· Densidad de pulverización: círculo uniforme de tipo grano de maíz completo

### **Ejemplo 4**

Ingredientes	Cantidad	Propiedad física/rendimiento de pulverización
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/California/7/2009 (H1N1)pdm09	30 µg de HA	pH: 7,17
		Viscosidad: 525 mPa·s
		Presión osmótica: 291 mOsm
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Victoria/365/2011 (H3N2)	30 µg de HA	Rendimiento de pulverización al pulverizar 250 µl de la solución con un dispositivo inyector de tipo jeringa:
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe B/Brisbane/60/2008	60 µg de HA	
		· Tamaño medio de las partículas de la formulación pulverizada: 59,6 µm (véase la Fig. 5)
Polímero carboxivinílico	5,50 mg	
L-arginina	12,00 mg	· Proporción del tamaño de las partículas entre 10 µm y 100 µm: 85,6 % (véase la Fig. 5)
Glicerina concentrada	10,00 mg	

Ingredientes	Cantidad	Propiedad física/rendimiento de pulverización
		Ángulo de pulverización del dispositivo: 52,27° (véase la Fig. 6)
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	1,765 mg	Densidad de pulverización: círculo uniforme de tipo grano de maíz completo (véase la Fig. 7)
Dihidrogenofosfato de sodio	0,270 mg	
Cloruro de sodio	4,25 mg	
Agua purificada	La cantidad necesaria	
Total	1,0 ml	

Como composición de vacuna antigripal sin material de base de gel, los ejemplos comparativos 1 - 4 se prepararon de acuerdo con las composiciones mostradas en las tablas siguientes usando opcionalmente el antígeno completo e inactivado usado en los ejemplos anteriores.

5

**Ejemplo comparativo 1**

Ingredientes	Cantidad
Antígeno fragmentado e inactivado del virus de la gripe A/Uruguay/716/2007(H3N2)	90 µg de HA
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	3,53 mg
Dihidrogenofosfato de sodio	0,54 mg
Cloruro de sodio	8,50 mg
Agua purificada	La cantidad necesaria
Total	1,0 ml

10

**Ejemplo comparativo 2**

Ingredientes	Cantidad
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Indonesia/5/05(H5N1)	90 µg de HA
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	3,53 mg
Dihidrogenofosfato de sodio	0,54 mg
Cloruro de sodio	8,50 mg
Agua purificada	La cantidad necesaria
Total	1,0 ml

**Ejemplo comparativo 3**

Ingredientes	Cantidad
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/California/7/2009 (H1N1)pdm09	30 µg de HA
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe A/Victoria/365/2011 (H3N2)	30 µg de HA
Antígeno completo e inactivado del virus de la gripe B/Wisconsin/01/2010	30 µg de HA
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	3,53 mg
Dihidrogenofosfato de sodio	0,54 mg
Cloruro de sodio	8,50 mg

Ingredientes	Cantidad
Agua purificada	La cantidad necesaria
Total	1,0 ml

#### **Ejemplo comparativo 4**

Ingredientes	Cantidad
Antígeno fragmentado e inactivado del virus de la gripe A/California/7/2009 (H1N1)pdm09	30 µg de HA
Antígeno fragmentado e inactivado del virus de la gripe A/Victoria/365/2011(H3N2)	30 µg de HA
Antígeno fragmentado e inactivado del virus de la gripe B/Wisconsin/01/2010	30 µg de HA
Hidrato de fosfato de hidrógeno y sodio	3,53 mg
Dihidrogenofosfato de sodio	0,54 mg
Cloruro de sodio	8,50 mg
Agua purificada	La cantidad necesaria
Total	1,0 ml

#### 5 **Prueba para evaluar la respuesta inmunitaria (1)**

10 Con cada composición de vacuna antigripal preparada en el ejemplo 1 y en el ejemplo comparativo 1, se vacunó a dos grupos compuestos por 4 voluntarios adultos en cada grupo mediante administración por pulverización nasal con un dispositivo desechable adecuado, en una cantidad de 0,25 ml para una fosa nasal (equivalente a 45 µg de HA para ambas fosas nasales), dos veces con un intervalo de 3 semanas.

15 Se recogieron consecutivamente la sangre y los lavados de la cavidad nasal, y se midió y analizó el título de anticuerpos neutralizantes de los mismos para la cepa vacunal. Los resultados se muestran en la Tabla 1 para el Ejemplo 1, y en la Tabla 2 para el Ejemplo comparativo 1.

Tabla 1

N.º	Sexo	Título de anticuerpos neutralizantes en suero			Título de anticuerpos neutralizantes en lavados de la cavidad nasal		
		Inicial (previo)	3 semanas después	6 semanas después	Inicial (previo)	3 semanas después	6 semanas después
01	M	80	≥1280	≥1280	40	640	640
02	M	5	5	40	<20	<20	40
03	F	20	160	320	<20	40	40
04	F	640	≥1280	≥1280	40	40	160

Tabla 2

N.º	Sexo	Título de anticuerpos neutralizantes en suero			Título de anticuerpos neutralizantes en lavados de la cavidad nasal		
		Inicial (previo)	3 semanas después	6 semanas después	Inicial (previo)	3 semanas después	6 semanas después
01	M	40	160	160	20	80	160
02	M	<10	<10	10	20	20	80
03	M	20	20	20	40	80	320
04	M	<10	<10	<10	20	20	80

Comparando los resultados de la vacuna del Ejemplo de referencia 1 (la solución madre de virus + el material de base de gel) y la vacuna del Ejemplo comparativo 1 (una composición que comprende el antígeno fraccionado e inactivado del virus de la gripe sin el material de base de gel), el título de anticuerpos neutralizantes en el suero de 3/4 sujetos vacunados con la vacuna del Ejemplo comparativo 1 no aumentó, mientras que el título de anticuerpos neutralizantes en el suero de 4/4 sujetos vacunados con la vacuna del Ejemplo de referencia 1 aumentó de manera considerable. El título de anticuerpos neutralizantes en lavados de la cavidad nasal aumentó en todos los casos con respecto a ambas vacunas del Ejemplo de referencia 1 y del Ejemplo comparativo 1, pero la vacuna del Ejemplo de referencia 1 mostró un mayor aumento.

**Prueba para evaluar la respuesta inmunitaria (2)**

Con cada composición de vacuna antigripal preparada en el Ejemplo de referencia 2 y en el Ejemplo comparativo 2, se vacunó a dos grupos compuestos por 25 voluntarios adultos para el Ejemplo de referencia 2 y 24 voluntarios adultos para el Ejemplo comparativo 2 mediante administración por pulverización nasal con un dispositivo desechable adecuado, en una cantidad de 0,25 ml para una fosa nasal (equivalente a 45 µg de HA para ambas fosas nasales), dos veces con un intervalo de 3 semanas, y una vez más aproximadamente medio año después, en total tres veces.

Se recogió la sangre y los lavados de la cavidad nasal 3 semanas después de la tercera vacunación, y se midió y analizó el título de anticuerpos neutralizantes de los mismos frente a la cepa vacunal. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3

	Variación del título de anticuerpos neutralizantes frente a A/Indonesia/5/05(H5N1)							
	Suero				Lavados de la cavidad nasal			
	Ejemplo de referencia 2		Ejemplo comparativo 2		Ejemplo de referencia 2		Ejemplo comparativo 2	
	previo	posterior	previo	posterior	previo	posterior	previo	posterior
Título medio geométrico* (TMG)	5,0 (<10)	164,5	5,0 (<10)	84,8	10,0 (<20)	105,6	10,0 (<20)	46,2
Porcentaje TMG de aumento		32,9		17,0		10,5		4,6

Comparando los resultados de la vacuna del ejemplo de referencia 2 (la solución madre de virus + el material de base de gel) y la vacuna del ejemplo comparativo 2 (sólo la solución madre de virus), se demostró que la vacuna del Ejemplo de referencia 2 que comprende el material de base de gel aumentó la respuesta inmunitaria en mayor medida que la del Ejemplo comparativo 2.

Se sabe que un ser humano en un estado no expuesto que nunca haya entrado en contacto con el antígeno del virus de la gripe (como los bebés y los niños) induce una menor respuesta inmunitaria. Se cree que la respuesta inmunitaria en tales individuos susceptibles a la vacuna antigripal puede estimarse evaluando la respuesta inmunitaria en adultos sanos a la vacuna del virus de la gripe aviar altamente patógeno (cepa H5N1) ya que casi todos los adultos sanos nunca han entrado en contacto con el virus de la gripe aviar (es decir, están en estado no expuesto).

Como se muestra en los resultados anteriores, se ha descubierto que incluso para las personas susceptibles, el título de anticuerpos neutralizantes en el suero y los lavados de la cavidad nasal puede inducirse en un nivel alto mediante la administración por vía nasal de la vacuna del Ejemplo de referencia 2 (la solución madre de virus + el material de base de gel) en tres ocasiones.

**Prueba analítica de la respuesta inmunitaria (3)**

Con cada composición de vacuna antigripal preparada en el Ejemplo 3, el Ejemplo comparativo 3 y el Ejemplo comparativo 4, se vacunó a dos grupos compuestos por 47 voluntarios adultos para el Ejemplo 3 y 47 voluntarios adultos para el ejemplo Comparativo 3 mediante administración por vía nasal con un dispositivo inyector de tipo jeringa, en una cantidad de 0,25 ml para una fosa nasal (en total, 15 µg de HA/cepa/0,5 ml para ambas fosas nasales), dos veces con un intervalo de 3 semanas. Asimismo, con la composición de vacuna antigripal preparada en el Ejemplo comparativo 4 (vacuna usada actualmente), se vacunó una vez por vía subcutánea a un grupo compuesto por 38 voluntarios adultos con una cantidad de 0,5 ml (15 µg de HA/cepa/0,5 ml).

Se recogió la sangre y los lavados de la cavidad nasal 3 semanas después de la vacunación final (2ª o 1ª), y se midió y analizó el título de anticuerpos neutralizantes de los mismos frente a la cepa vacunal. Las Tablas 4 y 5 muestran cada resultado de los diferentes tipos de vacuna antigripal.

Tabla 4

Variación del título de anticuerpos neutralizantes frente a A/California/7/2009(H1N1)pdm09						
Título de anticuerpos neutralizantes en suero						
Ejemplo 3		Ejemplo comparativo 3		Ejemplo comparativo 4		
nasal		nasal		subcutáneo		
previo	posterior	previo	posterior	previo	posterior	
Título medio geométrico* (TMG)	64,12	160,00	80,00	119,13	110,00	285,98
Porcentaje TMG de aumento		2,50		1,49		2,60

Variación del título de anticuerpos neutralizantes frente a A/California/7/2009(H1N1)pdm09						
Título de anticuerpos neutralizantes en lavados de la cavidad nasal						
Ejemplo 3		Ejemplo comparativo 3		Ejemplo comparativo 4		
nasal		nasal		subcutáneo		
previo	posterior	previo	posterior	previo	posterior	
Título medio geométrico* (TMG)	20,90	56,99	21,85	46,36	25,35	25,82
Porcentaje TMG de aumento		2,73		2,12		1,02

Tabla 5

Variación del título de anticuerpos neutralizantes frente a A/Victoria/365/2011(H3N2)						
Título de anticuerpos neutralizantes en suero						
Ejemplo 3		Ejemplo comparativo 3		Ejemplo comparativo 4		
nasal		nasal		subcutáneo		
previo	posterior	previo	posterior	previo	posterior	
Título medio geométrico* (TMG)	88,7	245,39	86,12	169,72	148,45	332,22
TMG		2,77		1,97		2,24
Porcentaje de aumento						

Variación del título de anticuerpos neutralizantes frente a A/Victoria/365/2011(H3N2)						
Título de anticuerpos neutralizantes en lavados de la cavidad nasal						
Ejemplo 3		Ejemplo comparativo 3		Ejemplo comparativo 4		
nasal		nasal		subcutáneo		
previo	posterior	previo	posterior	previo	posterior	
Título medio geométrico* (TMG)	24,95	80,00	28,49	77,67	28,80	29,88
Porcentaje TMG de aumento		3,21		2,73		1,04

- 5 Comparando los resultados de la vacuna administrada por vía nasal del Ejemplo 3 (la solución madre de virus + el material de base de gel), la vacuna administrada por vía nasal del Ejemplo comparativo 3 (solo la solución madre de virus) y la vacuna administrada por vía subcutánea del Ejemplo comparativo 4 (vacuna usada actualmente para administración subcutánea), se demostró que la vacuna administrada por vía nasal del Ejemplo 3 que comprende el material de base de gel aumentó la respuesta inmunitaria en mayor medida que la de la vacuna administrada por vía nasal del Ejemplo comparativo 3. Además, a partir de los resultados de los lavados de la cavidad nasal, el grupo de la
- 10 vacuna administrada por vía nasal del Ejemplo 3 mostró una estimulación de anticuerpos neutralizantes en la mucosa

nasal, pero el grupo de la vacuna administrada por vía subcutánea (vacuna usada actualmente) del Ejemplo comparativo 4 no mostró dicha estimulación.

5 Por tanto, al llenar una jeringa médica que tiene una abertura de punta en comunicación fluidica con un cilindro de jeringa, que está equipado con una boquilla de pulverización nasal que comprende un cuerpo de boquilla hueco que tiene una porción de punta que define un orificio de boquilla en el mismo, una varilla de encapsulación maciza dispuesta dentro del cuerpo de boquilla, y una cámara de boquilla definida entre la varilla de encapsulación y el cuerpo de boquilla para permitir una comunicación fluidica entre la abertura de punta y el orificio de boquilla, en donde el orificio de boquilla tiene un diámetro en un intervalo entre 0,25 mm y 0,30 mm

10 con la formulación para la administración por vía nasal de la vacuna antigripal del Ejemplo 4 que se preparó con un material de base de gel preparado mediante la adición de una fuerza de cizallamiento exterior,

15 un sistema de rinovacunación de vacuna antigripal que tiene un rendimiento de pulverización puede controlar que (1) en lo que respecta a la distribución del tamaño de las partículas de la composición pulverizada, el tamaño medio de las partículas se encuentre en un intervalo de 30  $\mu\text{m}$  a 80  $\mu\text{m}$  [59,6  $\mu\text{m}$ ], y la distribución de partículas entre 10  $\mu\text{m}$  y 100  $\mu\text{m}$  sea igual o superior a un 80 % [85,6 %], (2) la densidad de pulverización sea uniforme para adoptar una conformación homogénea de tipo grano de maíz completo, y (3) se pueda preparar el ángulo de pulverización ajustado en un intervalo de 30° a 70° [52,27°].

20 **Denotación de los números de referencia**

1: jeringa médica, 2: formulación farmacéutica, 3: cilindro de jeringa, 4: cuerpo de jeringa, 5: vástago de émbolo, 5a: miembro de fijación, 6: abertura, 7: pistón, 8: reborde para dedos, 9: miembro de extremo de émbolo, 10: boquilla de pulverización nasal, 20: cuerpo de boquilla, 21: orificio de boquilla, 22: porción de punta, 23: pared interior, 23a: saliente, 24: espacio interno, 25: porción de boquilla de diámetro pequeño, 26: porción de boquilla de diámetro grande, 27: hombro de boquilla, 30: varilla de encapsulación, 33: pared exterior, 33a: rebaje, 35: porción de varilla de diámetro pequeño, 36: porción de varilla de diámetro grande, 37: hombro de varilla, 38, 39: ranura, 40: hueco, 42: cámara de boquilla, 44: miembro de generación de flujo de vórtice, 46: porción curva, 50: tapa de protección.

30

## REIVINDICACIONES

1. Un sistema de rinovacunación de vacuna antigripal, que comprende un dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa lleno de una composición de vacuna antigripal, que comprende (i) un virión completo e inactivado de la gripe, y (ii) un material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que tiene una viscosidad de 50 mPa·s a 5000 mPa·s a 20 °C, que se caracteriza por no comprender un adyuvante;
- 5 en donde el dispositivo inyector-dosificador de tipo jeringa es una jeringa médica (1) que tiene una abertura (6) en la punta en comunicación fluidica con un cilindro de jeringa (4), que está equipado con una boquilla de pulverización nasal (10) que comprende
- 10 un cuerpo de boquilla hueco (20) con una porción de punta (22) que define un orificio de boquilla (21) en el mismo, una varilla de encapsulación maciza (30) dispuesta dentro del cuerpo de boquilla (20), y una cámara de boquilla definida entre la varilla de encapsulación (30) y el cuerpo de boquilla (20) para permitir una comunicación fluidica entre la abertura (6) de la punta y el orificio de boquilla (21),
- 15 en donde el orificio de boquilla (21) tiene un diámetro en un intervalo entre 0,25 mm y 0,30 mm.
2. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la cantidad de (i) el virión completo e inactivado de la gripe es de 1 - 500 µg de HA/ml por tipo de cepa vírica vacunal.
3. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde la composición de vacuna antigripal comprende de 0,1 % p/v a 1,0 % p/v de polímero carboxivinílico.
- 20 4. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde la composición de vacuna antigripal se prepara ajustando la viscosidad de un material de base de gel que comprende de 0,5 % p/v a 2,0 % p/v de polímero carboxivinílico añadiendo una fuerza de cizallamiento externa y, a continuación,
- 25 mezclando el material de base de gel resultante con una solución madre de virus, que comprende un virión completo e inactivado de la gripe, de forma homogénea durante un corto período de tiempo sin generarle estrés, en donde la viscosidad ajustada es de 50 mPa·s a 5000 mPa·s a 20°C.
5. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la composición de vacuna antigripal se prepara con un material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que tiene una viscosidad de 50 mPa·s a 5000 mPa·s a 20 °C que sirve para controlar que
- 30 (1) en lo que respecta a la distribución del tamaño de las partículas de la composición pulverizada, el tamaño medio de las partículas se encuentre en un intervalo de 30 µm a 80 µm, y la distribución de partículas entre 10 µm y 100 µm sea de un 80 % o más,
- 35 (2) la densidad de pulverización sea uniforme para adoptar una conformación homogénea de tipo grano de maíz completo, y
- (3) el ángulo de pulverización se ajuste en un intervalo de 30° a 70°.
6. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la composición de vacuna antigripal se prepara con un material de base de gel que comprende polímero carboxivinílico que tiene una viscosidad de 50 mPa·s a 5000 mPa·s a 20 °C que sirve para controlar que
- 40 (1) en lo que respecta a la distribución del tamaño de las partículas de la composición pulverizada, el tamaño medio de las partículas se encuentre en un intervalo de 40 µm a 70 µm, y la distribución de partículas entre 10 µm y 100 µm sea de un 90 % o más,
- 45 (2) la densidad de pulverización sea uniforme para adoptar una conformación homogénea de tipo grano de maíz completo, y
- (3) el ángulo de pulverización se ajuste en un intervalo de 40° a 60°.
7. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el orificio de boquilla no incluye sustancialmente ninguna porción curva.
- 50 8. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la porción de punta que define el orificio de boquilla tiene un grosor a lo largo de una dirección de inyección de la formulación que está en un intervalo entre 0,20 mm y 0,30 mm.
- 55 9. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el cuerpo de boquilla incluye una pared interior que tiene al menos una porción formada con una conformación cilíndrica y la varilla de encapsulación incluye una pared exterior que tiene al menos una porción formada con una conformación cilíndrica que tiene una pluralidad de ranuras espaciadas circunferencialmente,
- 60 en donde la cámara de boquilla está definida entre la al menos una porción de la pared interior del cuerpo de boquilla y la al menos una porción de la pared exterior de la varilla de encapsulación, y en donde la varilla de encapsulación incluye un miembro generador de flujo de vórtice opuesto a la porción de punta del cuerpo de boquilla.
- 65 10. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el miembro de generación de flujo de vórtice está formado de manera que la dirección de flujo de la formulación desde las ranuras

de la varilla de encapsulación esté desplazada respecto a un eje central, para generar así un flujo de vórtice de la formulación.

- 5 11. El sistema de rinovacunación de vacuna antigripal de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en donde la al menos una porción de la pared interior del cuerpo de boquilla está formada para tener una sección transversal sustancialmente perpendicular a la dirección de inyección que se reduce de manera continua o escalonada hacia la dirección de inyección.

Fig. 1

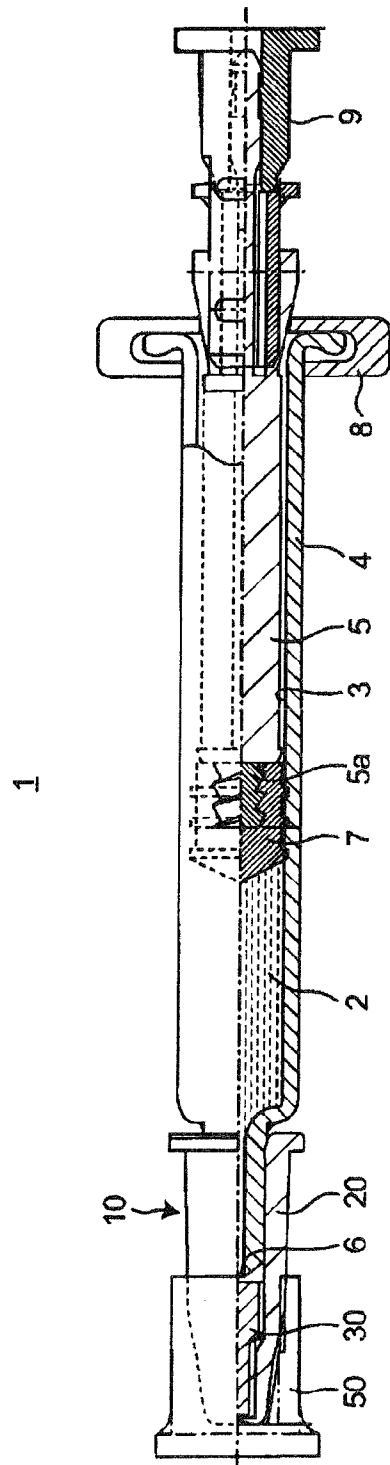


Fig. 2

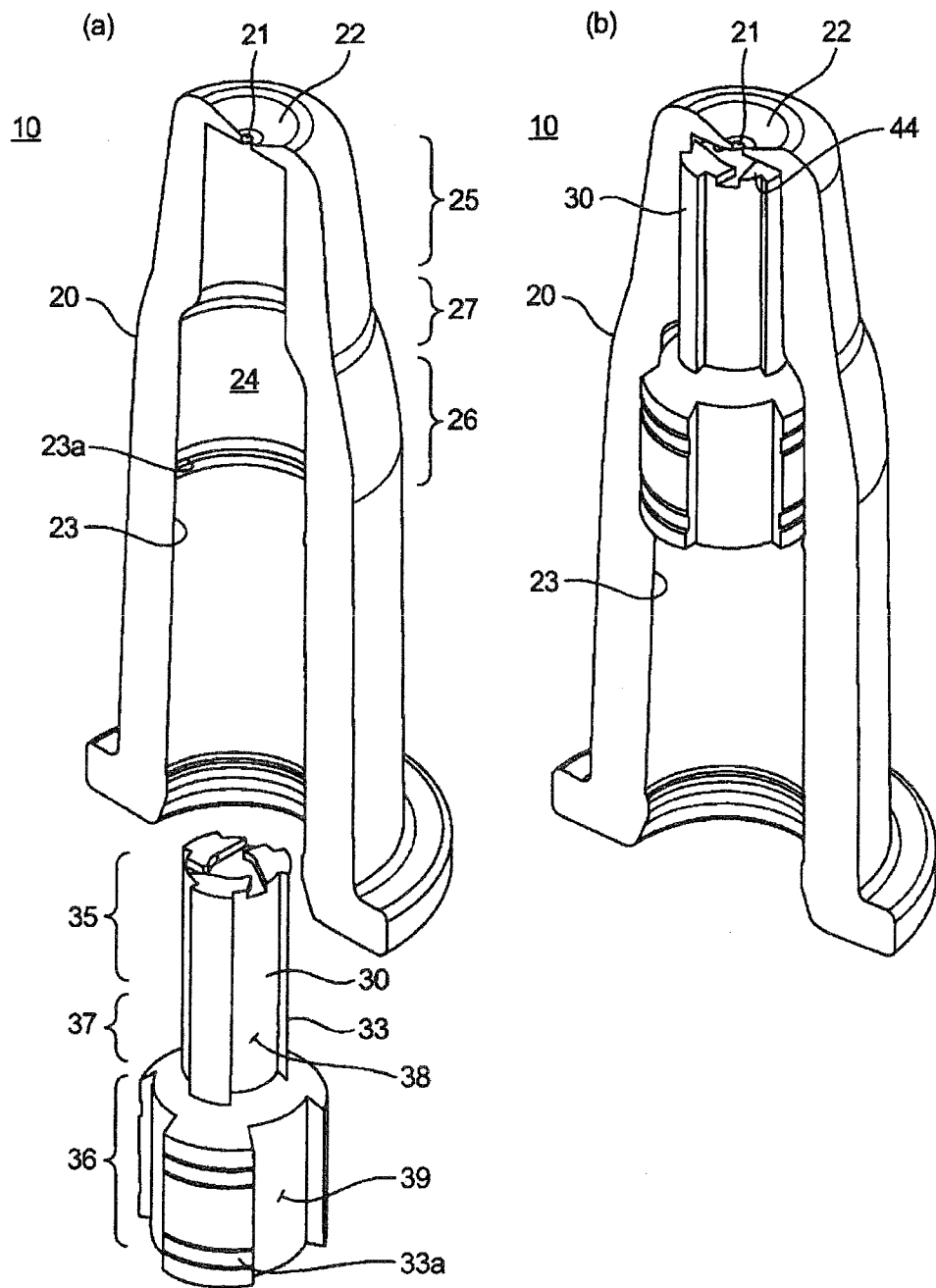


Fig. 3

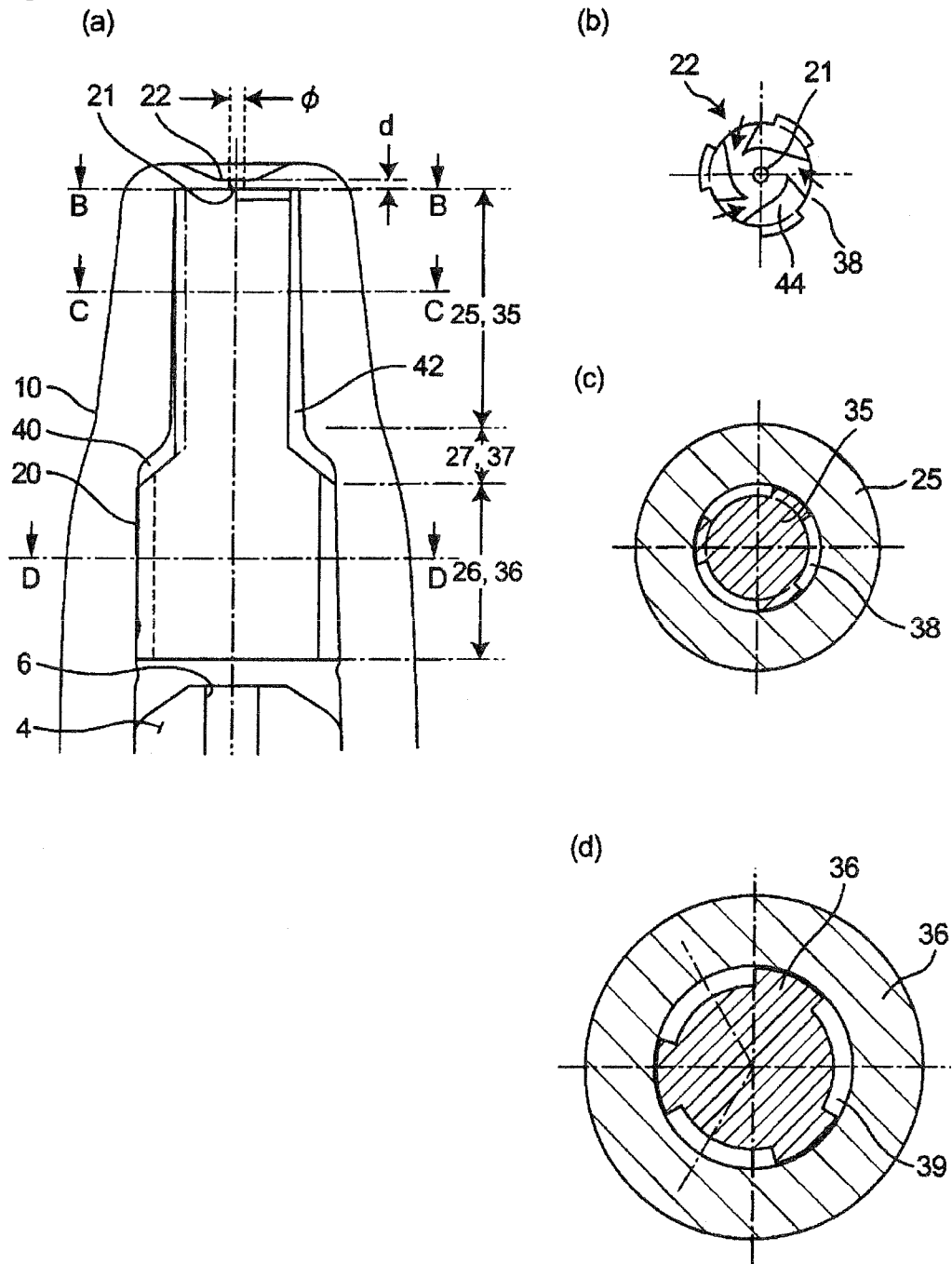
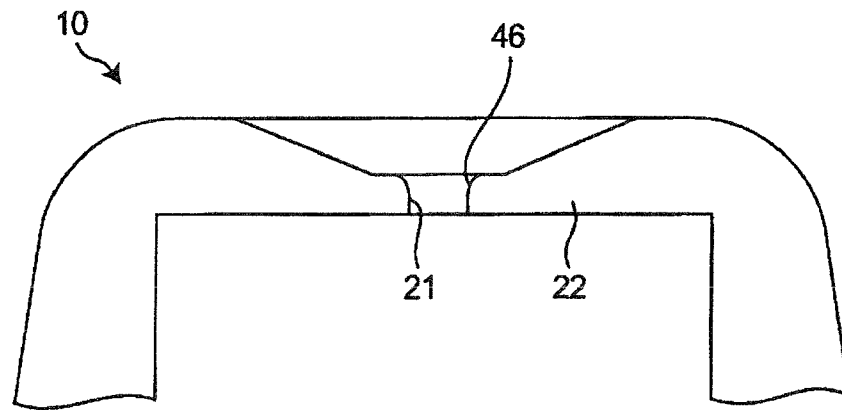


Fig. 4

(a)



(b)

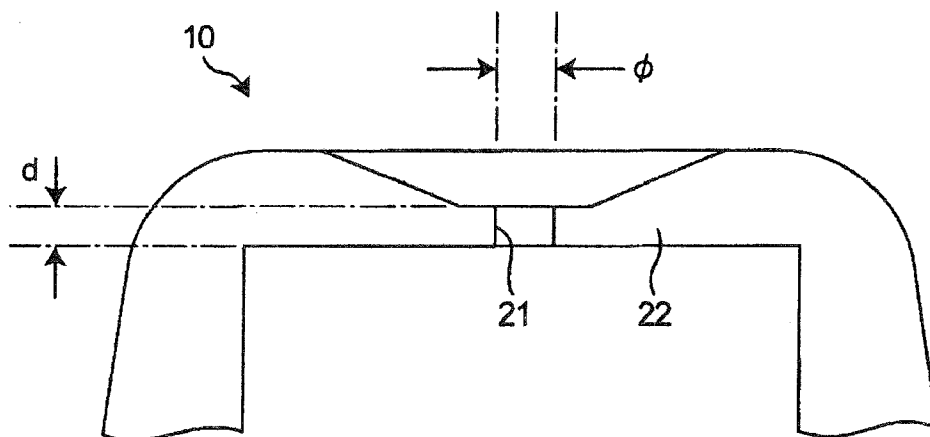
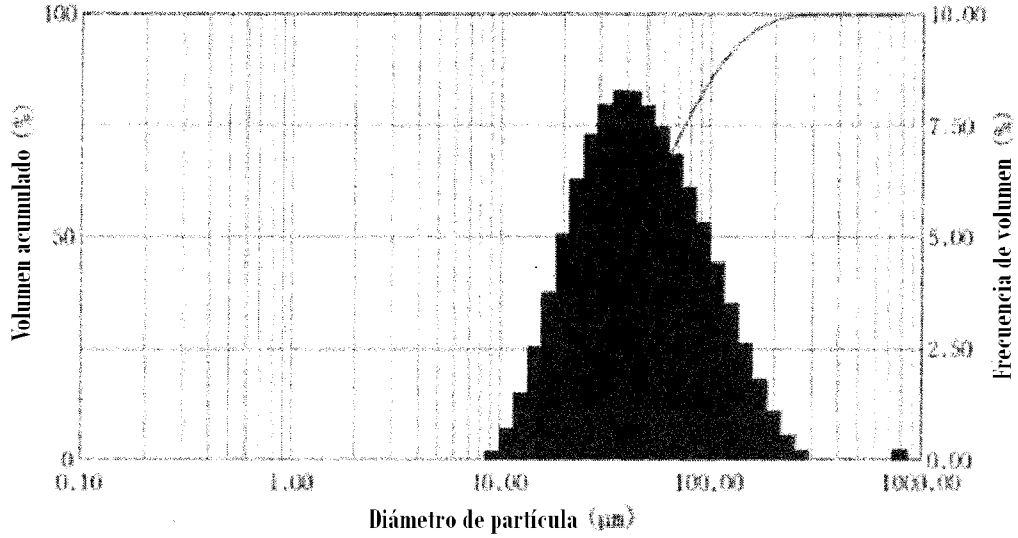


Fig. 5

Valores estándar:			Dv(10) = 19.31 (µm)	Amplitud = 2.171
Trans = 64.0 (%)			Dv(50) = 44.84 (µm)	D(3.2) = 37.25 (µm)
Cv = 53.5 (PPM)			Dv(90) = 116.6 (µm)	D(4) = 59.63 (µm)
SSA = 0.1642 (m <sup>2</sup> /cc)				



Tamaño (µm)	% V <	% V	Tamaño (µm)	% V <	% V	Tamaño (µm)	% V <	% V
0.117	0.00	0.00	2.51	0.00	0.00	54.12	59.80	7.96
0.136	0.00	0.00	2.93	0.00	0.00	63.10	67.27	7.47
0.158	0.00	0.00	3.41	0.00	0.00	73.56	74.12	6.84
0.185	0.00	0.00	3.98	0.00	0.00	83.77	80.24	6.12
0.215	0.00	0.00	4.64	0.00	0.00	100.00	85.55	5.31
0.251	0.00	0.00	5.41	0.00	0.00	116.59	89.33	4.44
0.293	0.00	0.00	6.31	0.00	0.00	135.94	93.51	3.52
0.341	0.00	0.00	7.36	0.00	0.00	158.49	96.13	2.62
0.398	0.00	0.00	8.58	0.00	0.00	184.79	97.92	1.78
0.464	0.00	0.00	10.00	0.18	0.18	215.44	99.02	1.09
0.541	0.00	0.00	11.66	0.89	0.70	251.19	99.58	0.56
0.631	0.00	0.00	13.59	2.38	1.49	292.87	99.77	0.20
0.736	0.00	0.00	15.85	4.91	2.53	341.46	99.77	0.00
0.858	0.00	0.00	18.48	8.68	3.76	398.11	99.77	0.00
1.00	0.00	0.00	21.54	13.75	5.07	464.16	99.77	0.00
1.17	0.00	0.00	25.12	20.04	6.29	541.17	99.77	0.00
1.36	0.00	0.00	29.29	27.33	7.29	630.96	99.77	0.00
1.58	0.00	0.00	34.15	35.30	7.97	735.64	99.77	0.00
1.85	0.00	0.00	39.81	43.59	8.28	857.70	100.00	0.23
2.15	0.00	0.00	46.42	51.84	8.25	1000.00	100.00	0.00

Fig. 6

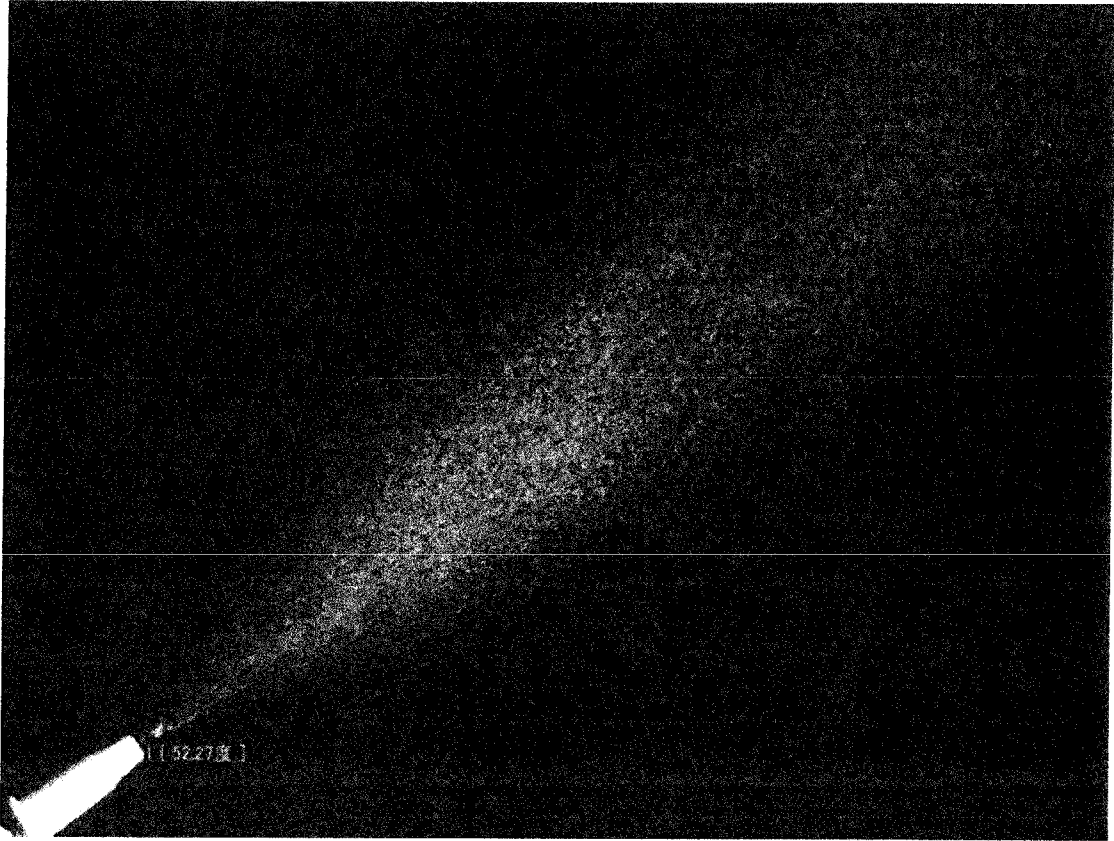


Fig. 7

