

República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) (21) **PI 0503187-7 A**



(22) Data de Depósito: 16/05/2005  
(43) Data de Publicação: **23/01/2007**  
(RPI 1881)

(51) Int. Cl<sup>7</sup>.:  
A61K 39/008  
A61P 33/02

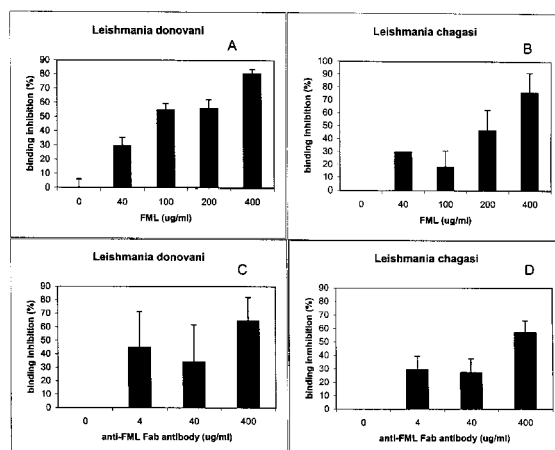
(54) Título: **COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA, COMPOSIÇÃO PARA PREPARAR VACINAS BLOQUEADORAS DA TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE EM HUMANOS E ANIMAIS COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA (FML) E SAPONINA, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE VACINAS BLOQUEADORAS PARA IMPEDIR A TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA OU ANIMAL, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE REAGENTES CONSISTINDO NA ADMINISTRAÇÃO DE FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA**

(57) Resumo: "COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA, COMPOSIÇÃO PARA PREPARAR VACINAS BLOQUEADORAS DA TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE EM HUMANOS E ANIMAIS COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA (FML) E SAPONINA, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE VACINAS BLOQUEADORAS PARA IMPEDIR A TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA OU ANIMAL, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE REAGENTES CONSISTINDO NA ADMINISTRAÇÃO DE FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA". A invenção trata de uma composição compreendendo frações ou sub-frações de promastigotas ou amastigotas de Leishmania, denominada 'Fucose Mannose Ligand' (FML) e saponina. A invenção compreende, também, o uso da composição para preparar vacina bloqueadora impedindo a transmissão de Leishmaniose em humanos ou animais.

(71) Depositante(s): Universidade Federal do Rio de Janeiro (BR/RJ)

(72) Inventor(es): Clarisa B Palatnik de Sousa, Elvira Maria Saraiva Chequer Bou-Habib

(74) Procurador: Pinheiro Neto - Advogados



“COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA, COMPOSIÇÃO PARA PREPARAR VACINAS BLOQUEADORAS DA TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE EM HUMANOS E ANIMAIS COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA (FML) E SAPONINA, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE VACINAS BLOQUEADORAS PARA IMPEDIR A TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA OU ANIMAL, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE REAGENTES CONSISTINDO NA ADMINISTRAÇÃO DE FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA”

15

Esta invenção trata da obtenção de composições farmacêuticas para preparar vacinas bloqueadoras da transmissão de leishmaniose em humanos e animais a partir de frações promastigotas ou amastigotas de *Leishmania* (FML). Tal Composição quando administrada em combinação com adjuvante saponina bloqueia a transmissão de Leishmaniose visceral humana e animal.

20

A Leishmaniose visceral humana ou calazar é, nas Américas e Mediterrâneo, uma zoonose canina. Insetos flebotomíneos adquirem o agente etiológico alimentando-se em canídeos silvestres transmitindo-o, posteriormente, aos cães. A subsequente transmissão aos humanos pelos flebótomos causa Leishmaniose humana visceral, uma doença grave que pode ser fatal se não tratada adequadamente.

25

Aproximadamente 1.000.000 de novos casos humanos de calazar são registrados

anualmente no mundo. Uma vacina profilática protetiva contra doença humana não está ainda disponível. A melhor performance foi lograda com uma vacina experimental de primeira geração que induziu 12% de proteção, apenas entre as pessoas que converteram para positivo no teste intradérmico para o lisado de *Leishmania* após a vacinação completa. Até o momento a quimioterapia contra calazar tem se revelado altamente tóxica e nem sempre efetiva.

Sendo uma zoonose canina transmitida por insetos, a redução da infecção destes vetores, através da ingestão de anticorpos anti-*Leishmania*, presentes no soro de cães submetidos à vacinação profilática, teria impacto na redução da incidência humana da doença.

A Patente PI9302386 descreve um produto denominado antígeno FML, “Fucose Mannose Ligand” ou “Ligante Fucose-Manose” de *Leishmania donovani* compreendendo complexo glicoprotéico cuja porção carboidrato apresenta 10% de Fucose e 47% de Manose, justificando o nome utilizado. Este complexo inibe fortemente a infecção de macrófagos peritoneais de camundongo por promastigotas e amastigotas de *L. donovani*, sendo espécie-específico dentro do gênero *Leishmania*. O FML é fortemente imunogênico em coelhos, hamsters e camundongos, estimulando a intensa produção de anticorpos. É antigênico em seres humanos, sendo reconhecido por altos níveis de anticorpos específicos.

A análise bioquímica inicial do FML revelou ser este um complexo glicoprotéico contendo 29% de açúcar neutro, 44% de proteína, 11% de fosfato e traços de hexosaminas, composto por bandas protéicas de pesos moleculares variando de 9 a 95 kDa, revelando-se em algumas a presença de carboidratos: 36 e 54 a 68 kDa. Na porção glicídica do FML se destaca a presença de 10% de fucose e 47% de manose. Também foi possível observar a presença de 30% de glicose, 12% de galactose e

xilose em quantidade traço.

Os oligossacarídeos *N*-ligados do FML formam parte de uma cadeia ramificada alternando unidades de Manp 4-*O*, 3-*O*, Glc Nac 4-*O*-ligadas; *N*-acetil-glicosamina  
 5 como ponto de ramificação e fucopirranose, galactopirranose e manopirranose como resíduos terminais ou de oligossacarídeos lineares compostos por unidades de Manp 4-*O*, 3-*O* e 2-*O*-ligadas, fucopirranose 2-*O*-ligada e galactopirranose como resíduos terminais (Tese apresentada à UFRJ, em 14/04/1998 por Robson R. Bernardo).

10 A análise de aminoácido do FML revelou a presença de ácido glutâmico, alanina, ácido aspártico e glicina em quantidades variáveis de 20 a 10%, serina, histidina, lisina, leucina, threonina, prolina e valina, entre 10 e 5%, e arginina, methionina, isoleucina, tirosina e fenilalanina entre 5 e 2%.

15 Na Tese citada intitulada “Saponina da *Albizzia saman* e atividade adjuvante em resposta ao Ag-FML de *Leishmania donovani*”, apresentada na UFRJ em 14/04/1998, Robson R. Bernardo identifica entre os componentes do FML a glicoproteína de peso molecular 36 kDa, denominada GP36, como o antígeno predominante, reconhecido pelo soro hiper-imune de coelho, produzido contra o  
 20 FML total. Anticorpos monoclonais obtidos contra o FML reconhecem predominantemente a GP36. Estudos efetuados em *Leishmania donovani* por Palatnik de Sousa, C.B., Dutra, H.S. & Borojevic, R. em *Acta Tropica*, 53:59-72 confirmam a alta suscetibilidade demonstrada no tratamento com periodato de sódio  
 25 anticorpos monoclonais, anticorpo ACE10 e confirmam portanto a sua natureza glicoprotéica. A Dissertação de Mestrado apresentada na UFRJ em 25/03/1998 por Edilma P. de Souza, denominada “Estudos sobre a glicoproteína GP36 de *L. donovani* e sobre o seu potencial na vacinação contra o calazar experimental”

mostram que esta fração contem entre os aminoácidos de 20 a 10% de ácido aspártico, glutâmico, alanina e leucina, de 10 a 5% de glicina, treonina, valina e lisina, de 5 a 2% de serina, histidina, arginina, prolina, tirosina, metionina, isoleucina e fenilalanina e que os seus oligossacarídeos *N*-ligados revelaram  
5 resíduos de fucose com dois tipos de substituição (2,3-Me<sub>2</sub>-Fucose, 2,4-Me<sub>2</sub>-Fucose) e uma predominância de resíduos de manopiranosose do tipo 2,3,6,-Me<sub>3</sub>-Manose, além de tri-Me<sub>3</sub>-Galactose correspondendo a cadeias lineares de manopiranosose 4-*O*-substituída alternando com resíduos de fucopiranosose 3-*O* e 4-*O* substituída.

10

O trabalho já citado na R. Acta Tropica também mostra que não existe reatividade cruzada entre o FML e a glicoproteína 63, GP63, isolada previamente de *Leishmania*. Anticorpos monoclonais específicos, L-3.2 e L-3.9, obtidos por David Russell contra a GP63, não desenvolvem nenhuma reação com FML, nem no ensaio  
15 de Western Blotting, nem no ELISA considerado o mais sensível. Este resultado é coerente e previsível, considerando os diferentes métodos de extração. A extração aquosa do FML, incluindo duplo aquecimento a 100°C, privilegia a obtenção dos glicoconjugados cuja fração glicídica é resistente a estas condições.

20

A porção proteica da GP36 foi recentemente clonada no sistema de *E. coli.*, conforme consta na publicação Molecular and Biochemical Parasitology 120:315-319. Trata-se de uma nucleosídeo hidrolase de *L.(L.) donovani* de 34kDa com 75% de identidade com a Inosina Uridina Hidrolase (IUNH) de *Crithidia fasciculata* e 90 % de homologia com a rNH (IUNH) da *L.(L.) major*. A nucleosídeo hidrolase de  
25 *L.(L.) donovani* é um marcador diagnóstico específico para o calazar canino., como descrito nesta publicação. A sequência de bases e aminoacídica da nucleosídeo hidrolase de *L.(L.) donovani* ,descrita no Trabalho Acadêmico apresentado na UFRJ em 14/05/2002, “Clonagem molecular do antígeno GP36 de *L. donovani*” esta

representada a seguir:

ATGCCGCGCAAGATTATTCTCGATTGTGATCCCGGGATCGATGATGCCGTGGCCATCTTTCTCGC  
 CCACGGCAACCCGGAGGTCGAG 87  
 5 M P R K I I L D C D P G I D D A V A I F L A H G N P E V E  
 CTGCTGGCCATTACGACGGTGGTGGGCAACCAGACCCTGGAGAAGGTGACCCGGAACGCGCGG  
 CTGGTAGCTGACGTAGCCGGCATC 174  
 L L A I T T V V G N Q T L E K V T R N A R L V A D V A G I  
 GTTGGTGTGCCCGTCGCGGCTGGTTGCACCAAGCCCCTCGTGCGCGGTGTGCGGAATGCCTCTC  
 10 AGATTCATGGCGAAACCGGCATG 261  
 V G V P V A A G C T K P L V R G V R N A S Q I H G E T G M  
 GGTAACGTCTCCTACCCACCAGAGTTCAAGACAAAGTTGGACGGCCGTCATGCAGTGCAGCTGA  
 TCATCGACCTTATCATGTTCGCAC 348  
 GGTAACGTCTCCTACCCACCAGAGTTCAAGACAAAGTTGGACGGCCGTCATGCAGTGCAGCTGA  
 15 TCATCGACCTTATCATGTTCGCAC 348  
 G N V S Y P P E F K T K L D G R H A V Q L I I D L I M S H  
 GAGCCGAAGACGATCACGCTTGTGCCTACGGGTGGCCTGACGAACATTGCGATGGCTGTCCGTC  
 TTGAGCCGCGCATCGTGGACCGT 435  
 E P K T I T L V P T G G L T N I A M A V R L E P R I V D R  
 20 GTGAAGGAGGTGGTTCTGATGGGTGGCGGCTACCATACTGGTAATGCGTCCCCTGTAGCGGAGT  
 TCAACGTCTTCGTCGACCCGGAG 522  
 V K E V V L M G G G Y H T G N A S P V A E F N V F V D P E  
 GCGGCGCACATTGTGTTCAACGAGAGCTGGAACGTAACGATGGTGGGGCTGGACCTAACGCAC  
 CAGGCACTCGCCACGCCGGCGGTC 609  
 25 A A H I V F N E S W N V T M V G L D L T H Q A L A T P A V  
 CAGAAGCGAGTGAAGGAGGTGGGCACGAAGCCGGCTGCCTTCATGCTGCAGATTTTGGACTTTT  
 ACACGAAGGTGTACGAAAAGGAG 696  
 Q K R V K E V G T K P A A F M L O I L D F Y T K V Y E K E  
 CGCAACACGTACGCGACGGTGCACGATCCCTGCGCTGTGGCGTACGTGATTGACCCCACCGTGA  
 30 TGACGACGGAGCAAGTGCCAGTG 783  
 R N T Y A T V H D P C A V A Y V I D P T V M T T E Q V P V  
 GACATCGAGCTCAATGGGGCACTGACGACTGGGATGACGGTCGCGGACTTCCGCTACCCACGGC  
 CAAAGCACTGCCACACGCAGGTG 870  
 D I E L N G A L T T G M T V A D F R Y P R P K H C H T Q V  
 35 GCTGTGAAGCTGGACTTCGACAAGTTTTGGTGCCTCGTGATTGACGCACTCAAGCGCATCGGCG  
 ATCCTCAATGA 945  
 A V K L D F D K F W C L V I D A L K R I G D P Q

Um segundo componente antigênico do FML é a glicoproteína de 55 kDa, reconhecida por 7 anticorpos monoclonais do tipo IgM e apenas 1 do tipo IgG, conforme citada publicação da R. *Acta Tropica*.

- 5 A presente invenção descreve o desenvolvimento de uma vacina profilática contra leishmaniose visceral canina, baseada na saponina e no antígeno FML (ligante de Fucose Mannose) de *L. donovani*. A vacina FML desenvolveu 92-95% de proteção específica (76-80% de eficácia da vacina) em ensaios de Fase III contra Leishmaniose visceral natural no Brasil, conforme estudos descritos em *Vaccine*.  
10 19:1082-1092 de 2001 e *Vaccine*. 20:3277-3284 de 2002. Estes estudos mostraram que a vacinação reduziu a morbidade e incidência da doença canina. A pesquisa divulgada em *Vaccine*. 22 (17-18):2234-2243, de 2004 acrescentou à vacina o efeito imunoterápico.
- 15 O termo Vacina Bloqueadora de Transmissão (VBT) é usada para vacinas anti-malária que estimulam a produção de anticorpos em humanos contra as formas sexuais (gametas) do parasita presentes no intestino médio do vetor anófeles. Durante o repasto sangüíneo, estes anticorpos são adquiridos pelos mosquitos, bloqueando o processo de fertilização e posterior desenvolvimento dos parasitas no  
20 intestino médio do vetor, tornando o inseto incapaz de transmitir a doença.

Desta forma a VBT é desenvolvida para aumentar os anticorpos contra o estágio-gameta do parasita da malária presente no intestino do mosquito e apesar de não eliminar a doença na pessoa infectada, previne a propagação da malária entre  
25 comunidade.

Os anticorpos são adquiridos pelo mosquito durante o repasto sangüíneo e bloqueariam o desenvolvimento do parasita tornando o vetor não-infeccioso. No

caso da malária, os antígenos candidatos a VBT são antígenos da superfície celular presentes no estágio-gameta do microorganismo. Aplica-se um teste funcional para fazer a análise da Fase I desta espécie de vacina. Mosquitos criados experimentalmente em laboratório e previamente infectados, são alimentados com soro hiper-imune contra o antígeno em questão. O intestino dos mosquitos pode então, posteriormente, ser dissecado para determinar o número de gametócitos infecciosos.

No ciclo epidemiológico dos agentes de leishmaniose visceral, *Leishmania chagasi* e *Leishmania infantum*, o flebótomo ingere macrófagos e monócitos contendo amastigotas de cães infectados durante sua refeição sangüínea. Estes amastigotas liberados no intestino médio do vetor diferenciam-se em promastigotas flagelados e procíclicos ligando-se ao epitélio do intestino médio. Os promastigotas procíclicos dividem-se por metaciclogênese adquirindo virulência e transformam-se em promastigotas metacíclicos não-divididos que se separam do epitélio do intestino médio, migrando para a cavidade bucal e infectando novos vertebrados durante o próximo repasto sangüíneo.

Sendo um antígeno de superfície de promastigotas e amastigotas de *L. donovani*, altamente imunogênico e protetor na vacinação canina, o antígeno FML poderia também ser reconhecido por receptores específicos no intestino médio de vetores como *Lutzomyia longipalpis*, atuando como um ligante do parasita para a membrana do intestino médio dos mesmos.

Na presente invenção foram feitos ensaios relativos à presença de FML para receptores específicos e à capacidade de anticorpos crescerem em cães após a vacinação com Leishmune (vacina FML sob licença industrializada) para bloquear a adesão de promastigotas procíclicos de *Leishmania donovani* e *Leishmania chagasi*



à membrana do intestino médio do vetor, a mosca da areia *Lutzomyia longipalpis*, possibilitando caracterizar o potencial efeito bloqueador para a vacina FML.

5 Fazem parte do presente pedido as figuras A, B, C e D, apresentando a percentagem de inibição da ligação em percentagem versus a concentração de FML em ug/ml ou anticorpos anti-FML Fab em ug/ml para *L. donovani* e *L. chagasi*.

10 A presente invenção reporta-se à Composição Farmacêutica compreendendo frações de promastigotas ou amastigotas de Leishmania denominadas Fucose Mannose Ligand (FML) e saponina.

15 Vantajosamente a invenção compreende Composição Farmacêutica para preparar vacina bloqueadora da transmissão de leishmaniose em humanos e animais comportando frações de promastigotas ou amastigotas de Leishmania denominadas FML.

20 Mais vantajosamente a invenção refere-se a Composição Farmacêutica comportando frações de amastigotas ou promastigotas de Leishmaniose denominadas Fucose Mannose Ligand (FML) compreendendo compostos nativos contendo entre 10 e 20% de ácido glutâmico, alanina, ácido aspártico e glicina, entre 5 e 10% de serina, histidina, lisina, threonina, prolina e valina e entre 2 e 5% de arginina, methionina, isoleucina, tirosina e fenilalanina.

25 Preferencialmente a invenção compreende o uso da Composição Farmacêutica na preparação de vacina bloqueadora para impedir a transmissão da Leishmaniose em humanos ou animais.

Mais preferencialmente a invenção compreende o uso da Composição Farmacêutica

na preparação de vacina bloqueadora para impedir a transmissão da Leishmaniose consistindo na administração de frações de promastigotas ou amastigotas de *Leishmania* denominadas (FML)-saponina.

- 5 A invenção será melhor compreendida a partir do seguinte ensaio de caráter meramente exemplificativo, não limitativo.

Quatro cães adultos saudáveis sem raça definida foram vacinados com Leishmune (vacina industrializada licenciada). Os animais receberam três doses da vacina, com 20 dias de intervalo, pela via subcutânea. Os soros foram coletados 20 dias depois da terceira aplicação. Os títulos dos anticorpos anti-FML do tipo IgG foram determinados pelo teste FML-ELISA. As absorbâncias a 492nm das IgG em soros diluídos 1/100 foram: 0.818; 0.761; 0.887 e 0.776. Todos mostraram maiores níveis de absorbância no subtipo IgG2 do que IgG1. Para purificar as amostras IgG todas amostras foram diluídas, precipitadas e incubadas com agitação. O precipitado foi separado por centrifugação, re-suspenso e dialisado. A fração isolada foi aplicada em coluna Proteína-A-Sepharose. Sua fração não-ligada foi eluída, enquanto a fração purificada de IgG foi recuperada, neutralizada e novamente dialisada em tampão.

- 20 A concentração de proteína foi determinada e a IgG purificada foi concentrada contra polietilen-glicol. Os fragmentos Fab e Fc IgG foram obtidos usando kit Immuno Pure Fab kit e posterior cromatografia em coluna de Proteína-A-Sepharose. Os fragmentos Fab foram eluídos nos primeiros 2 volumes da coluna enquanto a fração Fc foi removida com tampão de eluição específico.

25

Inicialmente, a ligação de promastigotas com o intestino médio dos vetores foi inibida na presença de FML. Para tal fim, membranas intestinais de *Lutzomyia longipalpis* foram dissecadas, cortadas longitudinalmente, pré-incubadas com FML

(40, 100, 200 e 400ug/ml) e posteriormente incubadas com  $10^6$  promastigotas procíclicos.

Os ensaios demonstraram a presença de receptores de FML na superfície das  
5 membranas do intestino médio de flebótomos. Tais receptores reconheceram o  
complexo FML na superfície das fases promastigotas de *L. donovani* ou *L. chagasi*  
atuando como ligante do parasita para a membrana do intestino médio. A pré-  
incubação das membranas do intestino médio com concentrações aumentadas de  
FML inibiria então a posterior ligação das fases promastigotas. Os resultados estão  
10 sumarizados nas figuras A e B. O aumento da concentração de FML determina o  
aumento de inibição da ligação de *L. donovani* e *L. chagasi*.

Todas concentrações de FML induziram significativamente maiores níveis de  
inibição das ligações do que controle salino. Analogamente observaram-se  
15 diferenças de inibição entre diferentes concentrações de FML, exceto 100 e 200  
ug/ml para *L. donovani*.

Embora o antígeno FML isolado de *L. donovani* tenha inibido a ligação de ambos  
parasitas, conforme figuras A e B, observou-se que a inibição foi mais pronunciada  
20 contra promastigotas de *L. donovani* do que contra *L. chagasi* indicando o caráter  
espécie-específico do reconhecimento dos antígenos homólogos.

Ensaio de inibição da ligação foram executados por pré-incubação da fração Fab  
de IgG purificada a partir de cães vacinados com Leishmune<sup>R</sup> (4, 40 e 400ug/ml)  
25 com  $10^6$  promastigotas procíclicos. Alguns minutos após a interação, os intestinos  
foram adicionados e co-incubados. Posteriormente os sistemas foram lavados  
individualmente e homogeneizados. Procedeu-se à contagem dos promastigotas de  
*Leishmania* liberados em câmara de Neubauer. Os resultados representam a média e

o erro padrão de uma série de 2 experimentos com 7-10 membranas para cada concentração de fração Fab.

5 O potencial bloqueio da transmissão pela vacina Leishmune na leishmaniose canina visceral investigado através dos ensaios acima descritos está sumarizado nas figuras C e D. Os testes analíticos demonstraram diferenças expressivas entre concentrações crescentes de FML, exceto entre 4 e 40ug/ml. Não foram encontradas diferenças entre a inibição da ligação de *L. donovani* ou *L. chagasi*, indicando que os anticorpos induzidos por cães vacinados, impedem a ligação das fases  
10 promastigotas procíclicas de ambos os parasitas com o intestino médio dos vetores, bloqueando e impedindo a transmissão da doença.

## REIVINDICAÇÕES

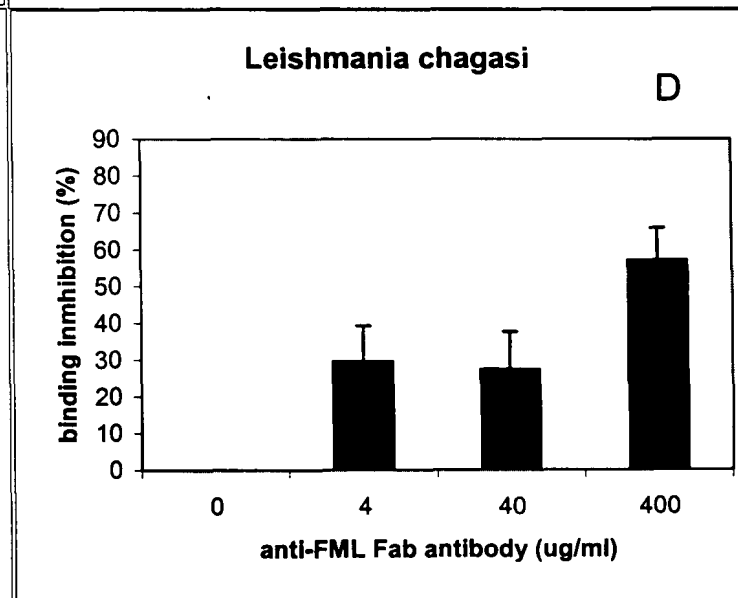
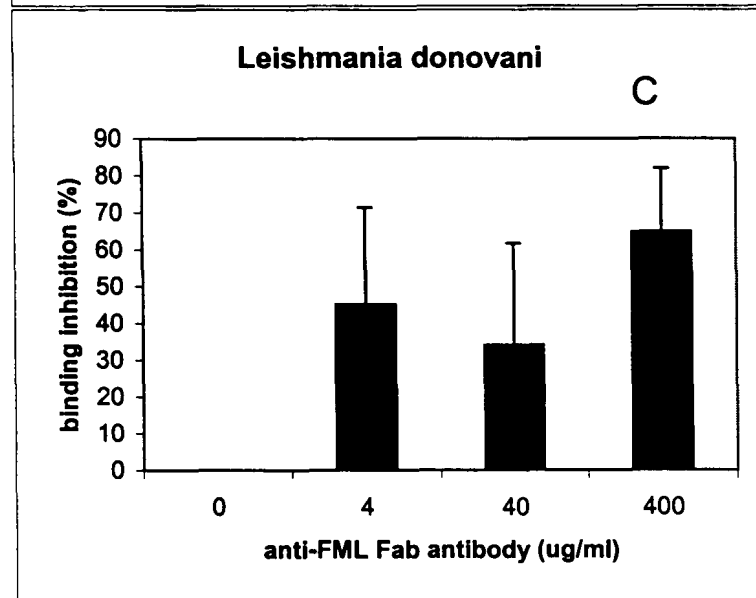
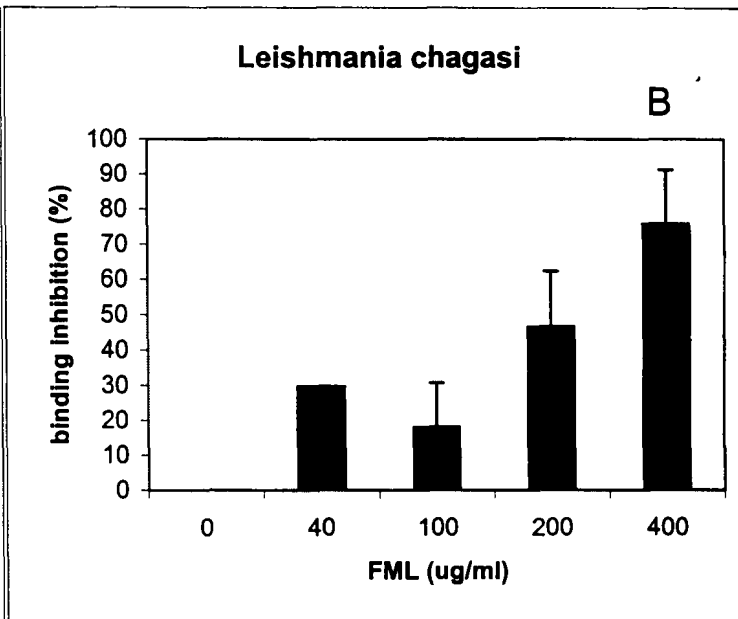
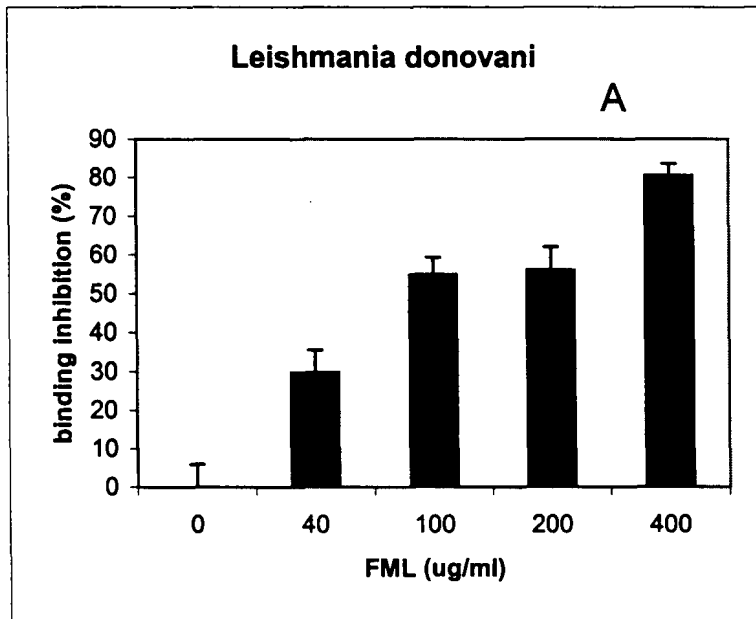
- 1.COMPOSIÇÃO caracterizada pelo fato de compreender frações de promastigotas ou amastigotas de *Leishmania*, denominada “Fucose Mannose Ligand” (FML) e saponina.
- 5
- 2.COMPOSIÇÃO para preparar vacinas bloqueadoras da transmissão da Leishmaniose em humanos ou animais caracterizada pelo fato de compreender frações de promastigotas ou amastigotas de *Leishmania* denominada “Fucose Mannose Ligand”(FML) e saponina.
- 10
- 3.COMPOSIÇÃO de acordo com qualquer das reivindicações 1 ou 2 caracterizada pelo fato de que as frações promastigotas ou amastigotas de *Leishmania* denominadas “Fucose Mannose Ligand” (FML) compreendem complexo glicoprotéico contendo 29% de açúcar neutro, 44% de proteína, 11% de fosfato e traços de hexosaminas, composto por bandas protéicas de peso moleculares de 9 a 95kDa, revelando-se em algumas bandas a presença de carboidratos: 36 e 54 a 68kDa, na porção glicídica do FML a presença de 10% de fucose e 47% de manose, 30% de glicose, 12% de galactose e traços de xilose, aminoácidos contendo entre 10 e 20% de ácido glutâmico, alanina, ácido aspártico e glicina, entre 5 e 10% de serina, histidina, lisina, leucina, treonina, prolina e valina, e entre 2 e 5% de arginina, methionina, isoleucina, tirosina e fenilalanina.
- 15
- 20
- 4.Uso da Composição de acordo com qualquer das reivindicações anteriores caracterizado por ser na preparação de vacina bloqueadora para impedir a transmissão de Leishmaniose em humanos ou animais.
- 25
- 5.Uso da Composição de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3

caracterizado por ser na preparação de vacina bloqueadora para impedir a transmissão de Leishmaniose consistindo na administração de frações ou sub-frações de promastigotas ou amastigotas de Leishmania denominadas “Fucose Mannose Ligand” (FML) e saponina.

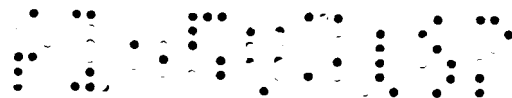
5

6. Uso da Composição de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3, caracterizado por ser na preparação de reagentes comportando frações ou sub-frações de promastigotas ou amastigotas de Leishmania denominadas “Fucose Mannose Ligand” (FML) e saponina, adicionadas ou não de veículos

10 farmacológicos adequados para bloquear a transmissão de Leishmaniose em humanos ou animais.



**Figuras A, B, C e D**



## RESUMO

“COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA, COMPOSIÇÃO PARA PREPARAR VACINAS BLOQUEADORAS DA TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE EM HUMANOS E ANIMAIS COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA (FML) E SAPONINA, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE VACINAS BLOQUEADORAS PARA IMPEDIR A TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA OU ANIMAL, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE REAGENTES CONSISTINDO NA ADMINISTRAÇÃO DE FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA”

A invenção trata de uma composição compreendendo frações ou sub-frações de promastigotas ou amastigotas de *Leishmania*, denominada “Fucose Mannose Ligand” (FML) e saponina.

A invenção compreende, também, o uso da composição para preparar vacina bloqueadora impedindo a transmissão de Leishmaniose em humanos ou animais.



**RESUMO**

“COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA, COMPOSIÇÃO PARA PREPARAR VACINAS BLOQUEADORAS DA TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE EM HUMANOS E ANIMAIS COMPREENDENDO FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA (FML) E SAPONINA, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE VACINAS BLOQUEADORAS PARA IMPEDIR A TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA OU ANIMAL, USO DA COMPOSIÇÃO NA PREPARAÇÃO DE REAGENTES CONSISTINDO NA ADMINISTRAÇÃO DE FRAÇÕES OU SUB-FRAÇÕES DE PROMASTIGOTAS OU AMASTIGOTAS DE LEISHMANIA DENOMINADAS FUCOSE MANNOSE LIGAND (FML) E SAPONINA”

A invenção trata de uma composição compreendendo frações ou sub-frações de promastigotas ou amastigotas de *Leishmania*, denominada “Fucose Mannose Ligand” (FML) e saponina.

A invenção compreende, também, o uso da composição para preparar vacina bloqueadora impedindo a transmissão de Leishmaniose em humanos ou animais.