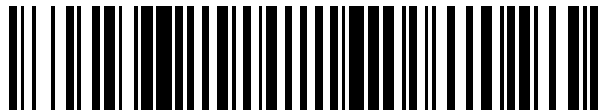


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 415 029**

21 Número de solicitud: 201390020

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 31/18** (2006.01)

**C07K 16/28** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A2

22 Fecha de presentación:

**15.07.2011**

30 Prioridad:

**06.08.2010 RU 2010133046**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**23.07.2013**

71 Solicitantes:

**EPSHTEIN, Oleg Iliich (100.0%)  
4 Samotyochny Per., d. 3, Kv. 72  
127473 Moscú RU**

72 Inventor/es:

**TARASOV, Sergey Alexandrovich y  
EPSHTEIN, Oleg Iliich**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

54 Título: **Composición farmacéutica y uso de un anticuerpo para preparar un medicamento destinado a inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24**

57 Resumen:

Composición farmacéutica y uso de un anticuerpo para preparar un medicamento destinado a inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24. La presente invención se refiere a una composición farmacéutica, que comprende una forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 y al uso de 5 dicho anticuerpo para preparar un medicamento destinado a inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24.

ES 2 415 029 A2

## DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica y uso de un anticuerpo para preparar un medicamento destinado a inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24

### Campo

- 5 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica y al uso de un anticuerpo para preparar un medicamento destinado a inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24.

### Antecedentes

- 10 La invención se refiere al área de la medicina y se puede usar para inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24.

La proteína P24 detectada en el cuerpo humano es conocida en la técnica (véase Papadopulos-Eleopulos E, Turner VF, Papadimitriou JM. Is a positive western blot proof of VIH infection? Biotechnology (NY). 1993 Jun; 11 (6): 696-707).

- 15 El uso de anticuerpos contra moléculas CD4 conjugadas con receptores de antiquimioquinas para el tratamiento del VIH-1 es conocido es la técnica (WO 01/43779 A2, A61K 47/48, 2001). Sin embargo, en la mencionada fuente faltan datos experimentales sobre la eficacia terapéutica de este fármaco.

- 20 El efecto terapéutico de una forma extremadamente diluida (o forma ultrabaja) de anticuerpos potenciada por tecnología homeopática (forma activada-potenciada) ha sido descubierto por el Dr. Oleg I. Epshtein. Por ejemplo, la Patente de EE.UU. no. 7.582.294 divulga un medicamento para el tratamiento de la hiperplasia benigna de próstata o prostatitis por administración de una forma homeopáticamente activada de anticuerpos contra el antígeno específico de próstata (PSA). Dosis ultrabajas de anticuerpos contra el interferón gamma han demostrado ser útiles en el tratamiento y la profilaxis de  
25 enfermedades de etiología viral. Véase la patente de EE.UU. no. 7.572.441, que se incorpora por referencia a la presente memoria en su totalidad.

- 30 CD4 (*cluster of differentiation 4*: agrupamiento de diferenciación 4), o receptor CD4 de células inmunes, es una glicoproteína expresada en la superficie de las células inmunes tales como los leucocitos, las células T coadyuvantes, las células T reguladoras, monocitos, macrófagos, y células dendríticas. Como muchos receptores/marcadores de superficie de celular, CD4 es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas. CD4 es un correceptor que ayuda al receptor de las células T (TCR) con una célula presentadora de antígenos. Utilizando esta porción que reside dentro de la célula T, CD4

amplifica la señal generada por el TCR reclutando una enzima, conocida como proteína tirosina quinasa específica de linfocitos, que es esencial para activar muchas moléculas implicadas en la cascada de señalización de una célula T activada. CD4 también interacciona directamente con moléculas del MHC de clase II en la superficie de la célula presentadora de antígenos utilizando su dominio extracelular. El VIH-1 utiliza CD4 para conseguir entrar en las células T hospedadoras y logra esto mediante la unión de la proteína de la envuelta viral conocida como gp120 a CD4. La unión con CD4 crea una distorsión en la conformación de gp120 que permite que el VIH-1 se una a un correceptor que se expresa en la célula hospedadora. Estos correceptores son los receptores de quimioquinas CCR5 o CXCR4, que se use uno u otros de estos correceptores durante la infección depende de si el virus está infectando un macrófago o una célula T coadyuvante. Tras un cambio estructura en otra proteína viral (gp41), el VIH inserta un péptido de fusión en la célula hospedadora que permite que la membrana exterior del virus se fusione con la membrana celular. Ver Miceli MC, Parnes JR (1993). "Role of CD4 and CD8 in T cell activation and differentiation". *Adv. Immunol.* 53: 59–122.

La presente invención está dirigida a una composición farmacéutica y un método para inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24.

La solución al problema existente se presenta en forma de una composición farmacéutica para inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24, que comprende una forma activada-potenciada de anticuerpos contra el receptor CD4.

### Sumario

En un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4. En una realización, la composición farmacéutica comprende además un vehículo sólido, en donde dicha forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está impregnada sobre dicho vehículo sólido. En una variante, la composición farmacéutica está en forma de comprimido.

Preferiblemente, la composición farmacéutica que incluye dicha forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30, y C200. Está específicamente contemplado que dicha mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30, y C200 esté impregnada sobre un vehículo sólido.

Preferiblemente, la composición farmacéutica que incluye dicha forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30, y C50. Está específicamente contemplado que dicha mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30, y C50 esté impregnada sobre un vehículo  
5 sólido.

La forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 puede ser un anticuerpo monoclonal, policlonal o natural. Está específicamente contemplado que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 sea un anticuerpo policlonal. La invención proporciona formas activadas-potenciadas de anticuerpos contra  
10 (un) antígeno(s) que tiene(n) las secuencias descritas en la memoria descriptiva y reivindicadas en las reivindicaciones adjuntas.

En una variante, la composición farmacéutica incluye una forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 preparada mediante diluciones centesimales sucesivas, acopladas a la agitación de cada dilución. La agitación vertical está  
15 específicamente contemplada.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24, comprendiendo dicho método administrar una forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 inhibiendo con  
20 ello la producción o amplificando la eliminación de la proteína P24. Preferiblemente, la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 se administra en forma de composición farmacéutica.

En una realización, la composición farmacéutica se administra en la forma de una forma de dosificación oral sólida que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y dicha forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 impregnada  
25 sobre dicho vehículo. En una variante, dicha forma de dosificación oral sólida es un comprimido. Se proporcionan variantes y realizaciones.

Según el aspecto del método de la invención, la composición farmacéutica se puede administrar en una o dos formas unitarias de dosificación, administrándose cada una de los formas de dosificación entre una vez al día y cuatro veces al día. En una variante, la  
30 composición farmacéutica se administra dos veces al día, consistiendo cada administración en dos formas de dosificación oral. En una variante, la composición farmacéutica se administra en una a dos formas unitarias de dosificación, administrándose cada una de las formas de dosificación dos veces al día. Todas las

variantes y realizaciones descritas con respecto al aspecto de la composición de la invención se pueden usar con el aspecto del método de la invención.

### Descripción detallada

Se define la invención haciendo referencia a las reivindicaciones adjuntas. En lo que  
5 respecta a las reivindicaciones, el siguiente glosario incluye las definiciones relevantes.

Tal como se emplea en la presente memoria, el término “anticuerpo” significa una  
inmunoglobulina que específicamente se une a, y es por ello definida como  
complementaria con, una organización espacial y polar particular de otra molécula. Los  
anticuerpos citados en las reivindicaciones pueden incluir una inmunoglobulina completa  
10 o un fragmento de la misma, pueden ser naturales, policlonales o monoclonales y pueden  
incluir diversas clases e isotipos tales como IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3,  
IgM, etc. Sus fragmentos pueden incluir Fab, Fv y F(ab')<sub>2</sub>, Fab' y similares. El término  
“anticuerpo” en singular incluye el plural “anticuerpos”.

Se utiliza el término “forma activada-potenciada” o “forma potenciada”, respectivamente,  
15 en relación con los anticuerpos citados en la presente memoria, para identificar un  
producto de la potenciación homeopática de cualquier solución inicial de anticuerpos.  
“Potenciación homeopática” significa el uso de métodos de homeopatía para impartir  
potencia homeopática a una solución inicial de la sustancia pertinente. Aunque no se  
limita a ello, la ‘potenciación homeopática’ puede implicar, por ejemplo, diluciones  
20 consecutivas repetidas combinadas con un tratamiento externo, en particular agitación  
vertical (mecánica). En otras palabras, una solución inicial de anticuerpo es sometida a  
dilución consecutiva repetida y a la agitación vertical múltiple de cada solución obtenida  
de acuerdo con la tecnología homeopática. La concentración preferida de la solución  
inicial del anticuerpo en el disolvente, preferiblemente agua o una mezcla de agua-alcohol  
25 etílico, oscila entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente de 5,0 mg/ml. El  
procedimiento que se prefiere utilizar en la preparación de cada componente, es decir, la  
solución del anticuerpo, es utilizar la mezcla de tres diluciones acuosas o en agua-alcohol  
de la solución matriz primaria (tintura madre) de anticuerpos diluidos 100<sup>12</sup>, 100<sup>30</sup> y 100<sup>200</sup>  
veces, respectivamente, lo que es equivalente a diluciones centesimales homeopáticas  
30 (C12, C30 y C200) o utilizar la mezcla de tres diluciones acuosas o en agua-alcohol de la  
solución matriz primaria de anticuerpos diluidos 100<sup>12</sup>, 100<sup>30</sup> y 100<sup>50</sup> veces,  
respectivamente, lo que es equivalente a diluciones centesimales homeopáticas (C12,  
C30 y C50). Se describen ejemplos de potenciación homeopática en las patentes de los  
Estados Unidos de América No. 7.572.441 y 7.582.294, que se incorporan por referencia

a la presente memoria, en su totalidad y para los fines expuestos. Aunque se utiliza el término "forma activada-potenciada" en las reivindicaciones, en los ejemplos se utiliza el término "dosis ultrabajas". El término "dosis ultrabajas" se convirtió en un término de la técnica en el campo de la técnica creado por el estudio y uso de una forma de una sustancia diluida y potenciada homeopáticamente. El término "dosis ultrabaja" o "dosis ultrabajas" es totalmente compatible y básicamente sinónimo del término forma 'activada-potenciada' utilizado en las reivindicaciones.

En otras palabras, un anticuerpo está en la forma "activada-potenciada" o "potenciada" cuando están presentes tres factores. En primer lugar, la forma "activada-potenciada" del anticuerpo es el producto de un proceso de preparación ampliamente aceptado en la técnica homeopática. En segundo lugar, la forma "activada-potenciada" del anticuerpo debe tener actividad biológica determinada mediante métodos ampliamente aceptados en la farmacología moderna. Y, en tercer lugar, la actividad biológica exhibida por la forma "activada y potenciada" del anticuerpo no se puede explicar por la presencia de la forma molecular del anticuerpo en el producto final del proceso homeopático.

Por ejemplo, se puede preparar la forma activada potenciada de los anticuerpos sometiendo a un anticuerpo inicial aislado en una forma molecular a múltiples diluciones consecutivas, acopladas a un impacto externo, tal como agitación mecánica. Se puede igualmente llevar a cabo el tratamiento externo durante el curso de la reducción de la concentración, por ejemplo, por exposición a factores ultrasónicos, electromagnéticos, u otros factores físicos. V. Schwabe "Homeopathic medicines", M., 1.967, patentes de los Estados Unidos de América Nos. 7.229.648 y 4.311.897, que se incorporan por referencia a la presente memoria, en su totalidad y para los fines expuestos, describen tales procesos, que son métodos de potenciación homeopática de amplia aceptación en la técnica homeopática. Este procedimiento da lugar a una disminución uniforme de la concentración molecular de la forma molecular inicial del anticuerpo. Este procedimiento se repite hasta lograr la potencia homeopática deseada. En el anticuerpo individual, se puede determinar la potencia homeopática requerida sometiendo las diluciones intermedias a pruebas biológicas en el modelo farmacológico deseado. Aunque no se limita a ello, la 'potenciación homeopática' puede implicar, por ejemplo, diluciones consecutivas repetidas combinadas con un tratamiento externo, en particular agitación vertical (mecánica). En otras palabras, una solución inicial de anticuerpo es sometida a dilución consecutiva repetida y a la agitación vertical múltiple de cada solución obtenida de acuerdo con la tecnología homeopática. La concentración preferida de la solución inicial del anticuerpo en el disolvente, preferiblemente agua o una mezcla de agua-alcohol

etélico, oscila entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente de 5,0 mg/ml. El procedimiento que se prefiere utilizar en la preparación de cada componente, es decir, la solución del anticuerpo, es utilizar la mezcla de tres diluciones acuosas o en agua-alcohol de la solución matriz primaria (tintura madre) de anticuerpos diluidos  $100^{12}$ ,  $100^{30}$  y  $100^{200}$  veces, respectivamente, lo que es equivalente a diluciones centesimales homeopáticas C12, C30 y C200, o la mezcla de tres diluciones acuosas o en agua-alcohol de la solución matriz primaria (tintura madre) de anticuerpos diluidos  $100^{12}$ ,  $100^{30}$  y  $100^{50}$  veces, respectivamente, lo que es equivalente a diluciones centesimales homeopáticas C12, C30 y C50. También se proporcionan ejemplos de cómo obtener la potencia deseada, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos de América No. 7.229.648 y 4.311.897, que se incorporan por referencia a la presente memoria para los fines expuestos. A continuación se describe con mayor detalle el procedimiento aplicable a la forma "activada-potenciada" de los anticuerpos descritos en la presente memoria.

Ha habido una enorme controversia en relación con el tratamiento homeopático de los seres humanos. Aun cuando la presente invención se basa en procesos homeopáticos aceptados para obtener la forma "activada-potenciada" de los anticuerpos, no depende únicamente de la homeopatía en los seres humanos para demostrar su actividad. El inventor de la presente solicitud ha descubierto, sorprendentemente, y ha sido ampliamente demostrado en los modelos farmacológicos aceptados, que el disolvente obtenido en última instancia a partir de múltiples diluciones consecutivas de una forma molecular inicial de un anticuerpo tiene una actividad definitiva no relacionada con la presencia de trazas de la forma molecular del anticuerpo en la dilución objetivo. La actividad biológica de la forma "activada-potenciada" del anticuerpo proporcionado por la presente invención se ensaya en modelos farmacológicos de actividad ampliamente aceptados. Los experimentos incluidos más adelante proporcionan evidencias de actividad biológica en estos modelos; la misma está asociada con mayor actividad antiviral y, posiblemente, actividad inmunotrópica, intensificación de la activación de linfocitos CD4 y enriquecimiento de numerosos receptores en la superficie de las células CD4.

Además, la forma "activada-potenciada" reivindicada de un anticuerpo de la presente invención abarca únicamente las soluciones o preparaciones sólidas cuya actividad biológica no puede ser explicada por la presencia de la forma molecular del anticuerpo remanente de la solución inicial de partida. En otras palabras, aun cuando se contempla que la forma "activada-potenciada" del anticuerpo puede contener trazas de la forma molecular inicial del anticuerpo, los expertos en la técnica no podrían atribuir la actividad

biológica observada en los modelos farmacológicos aceptados a la forma molecular remanente del anticuerpo con un grado de plausibilidad debido a las concentraciones extremadamente bajas de la forma molecular del anticuerpo remanente después de las diluciones consecutivas. Aun cuando la invención no está limitada por ninguna teoría específica, la actividad biológica de la forma “activada-potenciada” de los anticuerpos de la presente invención no es atribuible a la forma molecular inicial es la forma “activada-potenciada” del anticuerpo en una forma líquida o sólida en la cual la concentración de la forma molecular inicial del anticuerpo es inferior al número de Avogadro. En la farmacología de las formas moleculares de las sustancias terapéuticas, una práctica común consiste en crear una curva de dosis-respuesta en la cual se representa el nivel de respuesta farmacológica frente a la concentración del fármaco activo administrada al sujeto o probado in vitro. El nivel mínimo del fármaco que produce una respuesta detectable es conocido como la dosis umbral. Específicamente se contempla y se prefiere que la forma “activada-potenciada” de los anticuerpos contenga el anticuerpo molecular, de haberlo, a una concentración inferior a la dosis umbral de la forma molecular del anticuerpo en el modelo biológico dado.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que incluye una forma activada-potenciada de anticuerpos contra el receptor CD4, preparada según la tecnología homeopática de potenciación mediante la dilución repetida y consistente y la acción externa intermedia de la agitación tal como se describe con mayor detalle más adelante en la presente memoria. La composición farmacéutica de la invención es particularmente útil para inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24. Tal como se muestra en los Ejemplos, la composición farmacéutica de la invención posee un efecto terapéutico inesperado, que se manifiesta con particular eficiencia terapéutica en el tratamiento de enfermedades asociadas con el incremento en la producción de la proteína P24.

La composición farmacéutica de la invención expande el arsenal de preparaciones disponibles para inhibir la producción o amplificar la eliminación de la proteína P24.

La composición farmacéutica según este aspecto de la invención puede estar en forma líquida o en forma sólida. La forma activada potenciada de los anticuerpos incluida en la composición farmacéutica se prepara a partir de una forma molecular inicial del anticuerpo, de conformidad mediante un proceso aceptado en la técnica homeopática. Los anticuerpos de partida pueden ser anticuerpos monoclonales o policlonales preparados de acuerdo con procesos conocidos, por ejemplo, conforme se describe en Immunotechniques, G. Frimel, M., “Meditsyna”, 1987, p. 9-33; “Hum. Antibodies. Monoclonal and recombinant



antibodies, 30 years after” by Laffly E., Sodoyer R. – 2005 – Vol. 14. – N 1-2. P.33-55, ambos incorporados por referencia en la presente memoria.

5 Se puede obtener anticuerpos monoclonales, por ejemplo, haciendo uso de la tecnología del hibridoma. La etapa inicial del proceso incluye la inmunización basada en los principios ya desarrollados en el curso de la preparación del antisuero policlonal. Las demás etapas de trabajo implican la producción de células híbridas que generen clones de los anticuerpos con la misma especificidad. Su aislamiento individual es llevado a cabo utilizando los mismos métodos utilizados en la preparación del antisuero policlonal.

10 Se puede obtener anticuerpos policlonales a través de la inmunización activa de animales. Con tal fin, por ejemplo, se seleccionan los animales adecuados (por ejemplo, conejos) y los mismos reciben una serie de inyecciones del antígeno apropiado (receptor CD4). El sistema inmune de los animales genera los correspondientes anticuerpos, los cuales son extraídos de los animales de una manera conocida. Este procedimiento hace posible obtener un suero monoespecífico rico en anticuerpos.

15 Si se desea, se puede purificar el suero que contiene los anticuerpos, por ejemplo, mediante la utilización de cromatografía de afinidad, fraccionamiento por precipitación con sales o cromatografía de intercambio iónico. El suero purificado rico en anticuerpos resultante puede ser utilizado como material de partida para la preparación de la forma activada-potenciada de los anticuerpos. La concentración preferida de la solución inicial  
20 resultante del anticuerpo en el disolvente, preferiblemente agua o una mezcla de agua-alcohol etílico, oscila entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 5,0 mg/ml.

El procedimiento que se prefiere utilizar en la preparación de cada componente del fármaco de combinación según la presente invención es utilizar la mezcla de tres  
25 diluciones en agua-alcohol de la solución matriz primaria (tintura madre) de anticuerpos diluidos  $100^{12}$ ,  $100^{30}$  y  $100^{50}$  veces, respectivamente, lo que es equivalente a diluciones centesimales homeopáticas C12, C30 y C50, o diluidos  $100^{12}$ ,  $100^{30}$  y  $100^{200}$  veces, respectivamente, lo que es equivalente a diluciones centesimales homeopáticas C12, C30 y C200. Para preparar una forma sólida de dosificación, se trata un vehículo sólido  
30 con la dilución adecuada obtenida a través del proceso homeopático. Para obtener una

forma sólida de dosificación unitaria de la combinación de la invención, se impregna la masa del vehículo con cada una de las diluciones. Se puede utilizar ambos órdenes de impregnación en la preparación de la forma combinada de dosificación deseada.

En una realización preferida, el material de partida utilizado en la preparación de la forma  
 5 activada potenciada que comprende la composición farmacéutica de la invención es un anticuerpo policlonal desencadenado en un animal contra el correspondiente antígeno, es decir, el receptor CD4. Para obtener la forma activada-potenciada de los anticuerpos policlonales contra el receptor CD4, se puede inyectar el antígeno deseado como  
 10 inmunógeno en un animal experimental, preferiblemente, conejos. Se pueden obtener anticuerpos policlonales contra el receptor CD4 utilizando la totalidad de la molécula del receptor CD4 de la siguiente secuencia:

SEQ ID NO:1

	Met	Asn	Arg	Gly	Val	Pro	Phe	Arg	His	Leu	Leu	Leu	Val	Leu	Gln
	1				5					10					15
15	Leu	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Ala	Thr	Gln	Gly	Lys	Lys	Val	Val	Leu
	16				20					25					30
	Gly	Lys	Lys	Gly	Asp	Thr	Val	Glu	Leu	Thr	Cys	Thr	Ala	Ser	Gln
	31				35					40					45
	Lys	Lys	Ser	Ile	Gln	Phe	His	Trp	Lys	Asn	Ser	Asn	Gln	Ile	Lys
20	46				50					55					60
	Ile	Leu	Gly	Asn	Gln	Gly	Ser	Phe	Leu	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Lys
	61				65					70					75
	Leu	Asn	Asp	Arg	Ala	Asp	Ser	Arg	Arg	Ser	Leu	Trp	Asp	Gln	Gly
	76				80					85					90
25	Asn	Phe	Pro	Leu	Ile	Ile	Lys	Asn	Leu	Lys	Ile	Glu	Asp	Ser	Asp
	91				95					100					105
	Thr	Tyr	Ile	Cys	Glu	Val	Glu	Asp	Gln	Lys	Glu	Glu	Val	Gln	Leu
	106				110					115					120
	Leu	Val	Phe	Gly	Leu	Thr	Ala	Asn	Ser	Asp	Thr	His	Leu	Leu	Gln
30	121				125					130					135
	Gly	Gln	Ser	Leu	Thr	Leu	Thr	Leu	Glu	Ser	Pro	Pro	Gly	Ser	Ser
	136				140					145					150
	Pro	Ser	Val	Gln	Cys	Arg	Ser	Pro	Arg	Gly	Lys	Asn	Ile	Gln	Gly
	151				155					160					165
35	Gly	Lys	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Gln	Leu	Glu	Leu	Gln	Asp	Ser	Gly

ES 2 415 029 A2

	166			170					175				180		
	Thr	Trp	Thr	Cys	Thr	Val	Leu	Gln	Asn	Gln	Lys	Lys	Val	Glu	Phe
	181			185					190				195		
	Lys	Ile	Asp	Ile	Val	Val	Leu	Ala	Phe	Gln	Lys	Ala	Ser	Ser	Ile
5	196			200					205				210		
	Val	Tyr	Lys	Lys	Glu	Gly	Glu	Gln	Val	Glu	Phe	Ser	Phe	Pro	Leu
	211			215					220				225		
	Ala	Phe	Thr	Val	Glu	Lys	Leu	Thr	Gly	Ser	Gly	Glu	Leu	Trp	Trp
	226			230					235				240		
10	Gln	Ala	Glu	Arg	Ala	Ser	Ser	Ser	Lys	Ser	Trp	Ile	Thr	Phe	Asp
	241			245					250				255		
	Leu	Lys	Asn	Lys	Glu	Val	Ser	Val	Lys	Arg	Val	Thr	Gln	Asp	Pro
	256			260					265				270		
	Lys	Leu	Gln	Met	Gly	Lys	Lys	Leu	Pro	Leu	His	Leu	Thr	Leu	Pro
15	271			275					280				285		
	Gln	Ala	Leu	Pro	Gln	Tyr	Ala	Gly	Ser	Gly	Asn	Leu	Thr	Leu	Ala
	286			290					295				300		
	Leu	Glu	Ala	Lys	Thr	Gly	Lys	Leu	His	Gln	Glu	Val	Asn	Leu	Val
	301			305					310				315		
20	Val	Met	Arg	Ala	Thr	Gln	Leu	Gln	Lys	Asn	Leu	Thr	Cys	Glu	Val
	316			320					325				330		
	Trp	Gly	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys	Leu	Met	Leu	Ser	Leu	Lys	Leu	Glu
	331			335					340				345		
	Asn	Lys	Glu	Ala	Lys	Val	Ser	Lys	Arg	Glu	Lys	Ala	Val	Trp	Val
25	346			350					355				360		
	Leu	Asn	Pro	Glu	Ala	Gly	Met	Trp	Gln	Cys	Leu	Leu	Ser	Asp	Ser
	361			365					370				375		
	Gly	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	Ser	Asn	Ile	Lys	Val	Leu	Pro	Thr	Trp
	376			380					385				390		
30	Ser	Thr	Pro	Val	Gln	Pro	Met	Ala	Leu	Ile	Val	Leu	Gly	Gly	Val
	391			395					400				405		
	Ala	Gly	Leu	Leu	Leu	Phe	Ile	Gly	Leu	Gly	Ile	Phe	Phe	Cys	Val
	406			410					415				420		
	Arg	Cys	Arg	His	Arg	Arg	Arg	Gln	Ala	Glu	Arg	Met	Ser	Gln	Ile
35	421			425					430				435		
	Lys	Arg	Leu	Leu	Ser	Glu	Lys	Lys	Thr	Cys	Gln	Cys	Pro	His	Arg
	436			440					445				450		

ES 2 415 029 A2

Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile  
 451                      445                      458

Se puede obtener anticuerpos policlonales contra el receptor CD4 utilizando un fragmento  
 5 polipeptídico del receptor CD4 elegido, por ejemplo, de entre las siguientes secuencias  
 de aminoácidos:

SEQ ID NO: 2

										Gly	Lys	Lys	Val	Val	Leu
										26					30
10	Gly	Lys	Lys	Gly	Asp	Thr	Val	Glu	Leu	Thr	Cys	Thr	Ala	Ser	Gln
	31				35					40					45
	Lys	Lys	Ser	Ile	Gln	Phe	His	Trp	Lys	Asn	Ser	Asn	Gln	Ile	Lys
	46				50					55					60
	Ile	Leu	Gly	Asn	Gln	Gly	Ser	Phe	Leu	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Lys
15	61				65					70					75
	Leu	Asn	Asp	Arg	Ala	Asp	Ser	Arg	Arg	Ser	Leu	Trp	Asp	Gln	Gly
	76				80					85					90
	Asn	Phe	Pro	Leu	Ile	Ile	Lys	Asn	Leu	Lys	Ile	Glu	Asp	Ser	Asp
	91				95					100					105
20	Thr	Tyr	Ile	Cys	Glu	Val	Glu	Asp	Gln	Lys	Glu	Glu	Val	Gln	Leu
	106				110					115					120
	Leu	Val	Phe	Gly	Leu	Thr	Ala	Asn	Ser	Asp	Thr	His	Leu	Leu	Gln
	121				125					130					135
	Gly	Gln	Ser	Leu	Thr	Leu	Thr	Leu	Glu	Ser	Pro	Pro	Gly	Ser	Ser
25	136				140					145					150
	Pro	Ser	Val	Gln	Cys	Arg	Ser	Pro	Arg	Gly	Lys	Asn	Ile	Gln	Gly
	151				155					160					165
	Gly	Lys	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Gln	Leu	Glu	Leu	Gln	Asp	Ser	Gly
	166				170					175					180
30	Thr	Trp	Thr	Cys	Thr	Val	Leu	Gln	Asn	Gln	Lys	Lys	Val	Glu	Phe
	181				185					190					195
	Lys	Ile	Asp	Ile	Val	Val	Leu	Ala	Phe	Gln	Lys	Ala	Ser	Ser	Ile
	196				200					205					210
	Val	Tyr	Lys	Lys	Glu	Gly	Glu	Gln	Val	Glu	Phe	Ser	Phe	Pro	Leu
35	211				215					220					225
	Ala	Phe	Thr	Val	Glu	Lys	Leu	Thr	Gly	Ser	Gly	Glu	Leu	Trp	Trp





período de rehabilitación de 30 días, tras el cual se realiza una reinmunización con otras 1-3 inyecciones intravenosas.

Para obtener un antisuero que contiene los anticuerpos deseados, se toman muestras de sangre de los conejos inmunizados y se colocan en un tubo de centrifugación de 50 ml.

- 5 Se retiran los coágulos de producto formados sobre los laterales del tubo con una espátula de madera, y se coloca una varilla en el coágulo del centro del tubo. La sangre se coloca luego en un refrigerador durante una noche a una temperatura de alrededor de 40°C. Al día siguiente, se retira el coágulo de la espátula y el líquido remanente es centrifugado durante 10 minutos a 13.000 revoluciones por minuto. El fluido sobrenadante
- 10 es el antisuero objetivo. El antisuero obtenido generalmente es amarillo. Se agrega 20% de  $\text{NaN}_3$  (concentración en peso) al antisuero hasta alcanzar una concentración final de 0,02% y se le mantiene en estado congelado a una temperatura de -20°C o sin  $\text{NaN}_3$  a una temperatura de -70°C antes de utilizarlo. Para separar los anticuerpos objetivo del interferón gamma del antisuero, es adecuada la siguiente secuencia de absorción en fase
- 15 sólida:

- Se diluyen 10 ml del antisuero de conejos dos veces con  $\text{NaCl}$  0,15 M, después de lo cual se agregan 6,26 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se mezcla y se incuba durante 12-16 horas a 4°C. El sedimento se retira mediante centrifugación, se diluye en 10 ml de tampón de fosfato y se dializa contra el mismo tampón durante una noche a temperatura ambiente. Después de
- 20 que se retira el sedimento, se aplica la solución a una columna de DEAE-celulosa equilibrada con tampón fosfato. Se determina la fracción de anticuerpos midiendo la densidad óptica del eluato a 280 nm.

- Los anticuerpos en crudo aislados son purificados utilizando un método de cromatografía de afinidad fijando los anticuerpos obtenidos al antígeno CD4 localizado sobre la matriz
- 25 insoluble del medio de cromatografía, con posterior elución mediante soluciones salinas acuosas concentradas.

- La solución tampón resultante se utiliza como la solución inicial del proceso homeopático de dilución utilizado para preparar la forma activada potenciada de los anticuerpos. La concentración preferida de la solución matriz inicial de los anticuerpos policlonales de
- 30 conejo anti-receptor CD4 purificados mediante antígeno es de 0,5 a 5,0 mg/ml, preferiblemente, de 2,0 a 3,0 mg/ml.

Se puede preparar la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 a partir de una solución inicial mediante potenciación homeopática, preferiblemente utilizando el método de disminución proporcional de la concentración por medio de

diluciones seriadas de 1 parte de cada solución precedente (comenzando con la solución inicial) en 9 partes (para la dilución decimal) o en 99 partes (para la dilución centesimal) o en 999 partes (para la dilución milesimal) de un disolvente neutro, comenzando con una concentración de la solución inicial del anticuerpo en el disolvente, preferiblemente, agua  
5 o una mezcla de agua-alcohol etílico, en el intervalo comprendido entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 5,0 mg/ml, acopladas a un impacto externo. Preferiblemente, el impacto externo implica múltiples agitaciones verticales (dinamización) de cada dilución. Preferiblemente, se utilizan recipientes individuales en cada dilución subsiguiente hasta alcanzar el nivel requerido de potencia, o el factor de dilución requerido. Este método  
10 cuenta con amplia aceptación en la técnica de la homeopatía. Véase, por ejemplo, V. Schwabe "*Homeopathic medicines*", M., 1.967, p. 14-29, incorporado por referencia en la presente memoria para los fines expuestos.

Por ejemplo, para preparar una dilución 12-centesimal (denominada C12), se diluye una parte de la solución matriz inicial de los anticuerpos contra el receptor CD4 con una  
15 concentración de 3,0 mg/ml en 99 partes de un disolvente neutro acuoso o acuoso-alcohólico (preferiblemente, alcohol etílico al 15%) y luego se agita verticalmente muchas veces (10 y más) para obtener la dilución centesimal 1ª (denominada C1). La 2ª dilución centesimal 2ª (C2) se prepara a partir de la dilución centesimal 1ª C1. Este procedimiento se repite 11 veces para preparar la dilución centesimal 12ª C12. Así, la dilución  
20 centesimal 12ª C12 representa una solución obtenida mediante 12 diluciones seriadas de una parte de la solución matriz inicial de anticuerpos contra el interferón gamma con una concentración de 3,0 mg/ml en 99 partes de un disolvente neutro en recipientes diferentes, lo que es equivalente a la dilución homeopática centesimal C12. Se llevan a cabo procedimientos similares con el factor de dilución pertinente para obtener las  
25 diluciones C30, C50 y C 200. Las diluciones intermedias se pueden probar en un modelo biológico adecuado para comprobar su actividad. La forma activada-potenciada preferida de la composición de la invención es una mezcla de diluciones C12, C30 y C50 o diluciones C12, C30 y C200. Cuando se utiliza la mezcla de diversas diluciones homeopáticas (principalmente centesimales) de la sustancia activa como componente  
30 líquido biológicamente activo, cada componente de la composición (por ejemplo, C12, C30, C50, C200) se prepara de forma individual según el procedimiento anteriormente descrito que se obtiene la penúltima dilución (por ejemplo, hasta C11, C29 y C199, respectivamente) y luego se agrega una parte de cada componente en un recipiente de acuerdo con la composición de la mezcla y se mezcla con la cantidad necesaria del  
35 disolvente (por ejemplo, con 97 partes en el caso de una dilución centesimal).



Es posible utilizar la sustancia activa como una mezcla de diversas diluciones homeopáticas, por ejemplo, decimales y/o centesimales (D20, C30, C100 o C12, C30, C50 o C12, C30, C200, etc.), cuya eficiencia se determina experimentalmente evaluando la dilución en un modelo biológico adecuado, por ejemplo, en los modelos descritos en los ejemplos incluidos en la presente memoria.

En el curso de la potenciación y disminución de la concentración, se puede sustituir la agitación vertical por una exposición externa a ultrasonidos, un campo electromagnético o cualquier procedimiento similar de impacto externo aceptado en la técnica de la homeopatía.

10 Preferiblemente, la composición farmacéutica de la invención puede tener la forma de un líquido o de una forma sólida de dosificación unitaria. El vehículo líquido preferido es agua o una mezcla de agua-alcohol etílico.

Se puede preparar la forma sólida de dosificación unitaria de la composición farmacéutica de la invención impregnando un vehículo sólido farmacéuticamente aceptable con la mezcla de las soluciones acuosas o acuosas-alcohólicas de la forma activada potenciada de los componentes activos. Alternativamente, el vehículo se puede impregnar de forma consecutiva con cada una de las diluciones necesarias. Ambos órdenes de impregnación son aceptables.

Preferiblemente, la composición farmacéutica en la forma sólida de dosificación unitaria se prepara a partir de gránulos del vehículo farmacéuticamente aceptable, previamente saturado con las diluciones acuosas o acuosas-alcohólicas de la forma activada potenciada de los anticuerpos contra el receptor CD4. La forma sólida de dosificación puede ser cualquier forma conocida en la técnica farmacéutica, lo que incluye un comprimido, una cápsula, una pastilla y otras formas. Como ingredientes farmacéuticos inactivos se puede utilizar glucosa, sacarosa, maltosa, almidón, isomaltosa, isomalta y otros mono, oligo y polisacáridos utilizados en la producción de fármacos, al igual que mezclas tecnológicas de los ingredientes farmacéuticos inactivos que anteceden con otros excipientes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, isomalta, crospovidona, ciclamato sódico, sacarina sódica, ácido cítrico anhidro, etc.), incluidos los agentes lubricantes, disgregantes, aglutinantes y colorantes. Los vehículos preferidos son lactosa e isomalta. La forma de dosificación farmacéutica puede además incluir excipientes farmacéuticos tradicionales, por ejemplo, celulosa microcristalina, estearato de magnesio y ácido cítrico.

Para preparar la forma sólida de uso oral, se impregnan gránulos de lactosa de 100-300 µm con soluciones acuosas o acuosas-alcohólicas de la forma activada-potenciada de los anticuerpos contra el receptor CD4 en una relación de 1 kg de la solución del anticuerpo por cada 5 ó 10 kg de lactosa (1:5 a 1:10). Para llevar a cabo la impregnación, los gránulos de lactosa son expuestos a irrigación por saturación en el lecho fluido en ebullición de una planta de lecho en ebullición (por ejemplo, "Hüttlin Pilotlab" de Hüttlin GmbH) y son posteriormente secados con un flujo de aire caliente a una temperatura inferior a 40°C. Se coloca la cantidad estimada de los gránulos secos (10 a 34 partes en peso) saturados con la forma activada potenciada de los anticuerpos en el mezclador y se mezcla con 25 a 45 partes en peso de lactosa pura "no saturada" (utilizada con el fin de disminuir los costes y simplificar y acelerar el proceso tecnológico sin disminuir la eficiencia del tratamiento), conjuntamente con 0,1 a 1 partes en peso de estearato de magnesio y 3 a 10 partes en peso de celulosa microcristalina. La masa de comprimido obtenida es uniformemente mezclada y comprimida por prensado directo en seco (por ejemplo, en una prensa de comprimidos Korsch – XL 400) para formar píldoras redondas de entre 150 y 500 mg, preferiblemente, de 300 mg. Luego de su compresión, se obtienen píldoras de 300 mg que son saturadas con una solución acuosa-alcohólica (3,0-6,0 mg/píldora) de la forma activada-potenciada de anticuerpos contra el receptor CD4 en forma de una mezcla de diluciones centesimales homeopáticas C12, C30 y C50 o una mezcla de diluciones centesimales homeopáticas C12, C30 y C200.

Aun cuando la invención no se limita a una teoría específica, se cree que la forma activada potenciada de los anticuerpos aquí descrita no contiene la forma molecular del anticuerpo en una cantidad suficiente para tener una actividad biológica atribuible a esta forma molecular. La actividad biológica del fármaco de combinación (composición farmacéutica) de la invención está ampliamente demostrada en los ejemplos adjuntos.

Preferiblemente, la combinación de la invención se administra de una vez al día a cuatro veces al día, preferiblemente dos veces al día, y cada administración incluye una o dos formas unitarias combinadas de dosificación.

La invención será ahora ilustrada haciendo referencia a los ejemplos adjuntos no limitantes.

## **Ejemplos**

### **Ejemplo 1.**

La evaluación de la eficacia en la inhibición de la producción o amplificación de la eliminación de la proteína P24 mediante dosis ultrabajas de anticuerpos policlonales de conejo contra el receptor CD4 (una mezcla de diluciones homeopáticas C12+C30+C50) (ULD Ab CD4) se llevó a cabo utilizando células mononucleares de sangre periférica humana infectadas con la cepa VIH-1LAI *in vitro*.

Las células mononucleares de sangre periférica humana se aislaron de la sangre de un donante sano seronegativo mediante centrifugación en un gradiente de densidad de Ficoll-Hypaque. Las células se estimularon durante 3 días con 1 µg/ml de fitohemaglutinina P y 5 UI/ml de interleuquina 2 humana recombinante.

10 Para evaluar la eficacia en la inhibición de la producción o amplificación de la eliminación de la proteína P24 los productos se colocaron en un pocillo que contenía 100 µL de mononucleares activadas 24 horas antes o 15 min después de la infección de las células con la cepa VIH-1-LAI a una dosis de 100 TCID<sub>50</sub> (50 µL de inóculo de la cepa VIH-1-LAI). Antes de añadirla a un pocillo, la ULD Ab CD4 (12,5 µL) se mezcló con medio  
15 RPMI1640 (DIFCO) hasta lograr un volumen final de ensayo de 50 µL.

Los fluidos sobrenadantes se recogieron en el día 7 después de la infección de las células. La actividad de los productos se midió por la inhibición del nivel de proteína P24 del interior de la nucleocápsida en el fluido sobrenadante de células mononucleares de sangre periférica utilizando el kit de Elisa Retrotek.

20 Se demostró que la ULD Ab CD4 inhibía la proteína P24 en un  $86 \pm 10\%$  cuando se añadió a un pocillo 24 horas después de la infección, y en un  $51 \pm 3\%$  cuando se añadió a un pocillo 15 min después de la infección de las células con la cepa VIH-1-LAI. Así, este modelo experimental demostró la actividad de dosis ultrabajas de anticuerpos policlonales de conejo contra CD4 (una mezcla de diluciones homeopáticas  
25 C12+C30+C50) en la inhibición de la producción o amplificación de la eliminación de la proteína P24.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de una forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 para preparar un medicamento destinado a inhibir la producción o amplificar la  
5 eliminación de la proteína P24, inhibiendo con ello la producción o amplificando la eliminación de la proteína P24.
2. El uso según la reivindicación 1, en el que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está dirigida contra la totalidad del receptor CD4 de  
10 SEQ ID NO:1.
3. El uso según la reivindicación 1, en el que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está dirigida contra un fragmento del receptor CD4 que tiene la secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3,  
15 SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6.
4. El uso según la reivindicación 1, en el que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 se prepara mediante diluciones centesimales sucesivas acopladas a la agitación de cada dilución.  
20
5. El uso según la reivindicación 1, en el que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30, y C50 impregnada sobre un vehículo sólido.
- 25 6. El uso según la reivindicación 1, en el que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30, y C200 impregnada sobre un vehículo sólido.
7. Una composición farmacéutica para inhibir la producción o amplificar la  
30 eliminación de la proteína P24, que comprende una forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4.
8. La composición farmacéutica según la reivindicación 7, en la que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está dirigida contra la  
35 totalidad del receptor CD4 de SEQ ID NO:1.

9. La composición farmacéutica según la reivindicación 7, en la que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está dirigida contra un fragmento del receptor CD4 que tiene secuencias seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6.

5

10. La composición farmacéutica de combinación según la reivindicación 7, en la que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 se prepara mediante diluciones centesimales sucesivas acopladas a la agitación de cada dilución.

10 11. La composición farmacéutica de combinación según la reivindicación 7, en la que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30, y C50 impregnada sobre un vehículo sólido.

15 12. La composición farmacéutica de combinación según la reivindicación 7, en la que la forma activada-potenciada de un anticuerpo contra el receptor CD4 está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30, y C200 impregnada sobre un vehículo sólido.

20