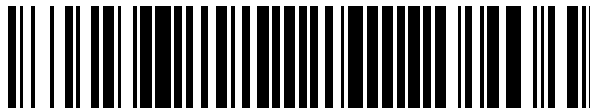


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 423 007**

51 Int. Cl.:

A61M 1/36 (2006.01)

B01J 20/22 (2006.01)

A61K 35/14 (2006.01)

A61K 35/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2006 E 06846962 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2013 EP 1962923**

54 Título: **Uso de una matriz para la eliminación de proteína C reactiva de fluidos biológicos**

30 Prioridad:

22.12.2005 DE 102005061715

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

17.09.2013

73 Titular/es:

**PENTRACOR GMBH (100.0%)
Neuendorfstr. 20D
16761 Hennigsdorf, DE**

72 Inventor/es:

VOGT, BIRGIT

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 423 007 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

Uso de una matriz para la eliminación de proteína C reactiva de fluidos biológicos

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la reducción del riesgo desencadenado por elevadas cantidades de proteína C reactiva (PCR) mediante la realización de una perfusión extracorpórea de plasma sanguíneo de pacientes en riesgo de enfermedades cardiovasculares mediante un aparato como, por ejemplo, una columna que contiene material de matriz absorbente que contiene lípidos, péptidos, polipéptidos, fosfocolina (FC) o derivados de fosfocolina, para eliminar proteína C reactiva. Además, la presente invención se refiere al uso de
10 compuestos para la preparación de un agente farmacéutico que tiene la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR, para la eliminación de PCR de fluidos biológicos de un paciente para la profilaxis y/o el tratamiento de disfunciones inmunes, enfermedades autoinmunes, enfermedades cardiovasculares, infarto de miocardio, ataque de apoplejía, diabetes, reuma e insuficiencia renal.

15 **Antecedentes de la invención**

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte en EE.UU. y un motivo principal de morbilidad, costes médicos y pérdida económica para millones de personas. Dos de los fenómenos más frecuentes y perjudiciales en la enfermedad cardiovascular es la aparición de arteriosclerosis y trombosis.

20 En los últimos años se consiguieron grandes avances en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Este progreso ha sido posible no solo por el avance de los conocimientos terapéuticos de los mecanismos de enfermedad, sino también por el reconocimiento temprano de pacientes en riesgo de esta enfermedad. Realmente, la identificación de riesgos para pacientes y el tratamiento temprano son características importantes de la práctica
25 médica moderna. En los últimos 20 años se identificaron múltiples factores y parámetros clínicos que correlacionan o bien con el actual estado o bien con la futura probabilidad de desarrollar una enfermedad cardiovascular. Aquellos factores de riesgo pueden incluir parámetros bioquímicos o fisiológicos medibles como, por ejemplo, niveles de colesterol, HDL, LDL, fibrinógeno en suero, etc., o patrones de comportamiento como, por ejemplo, sobrepeso, tabaquismo, etc. El factor de riesgo más relacionado con la presente invención es el nivel de proteína C reactiva
30 (PCR). La PCR es inducida por IL-6.

No siempre está clara la relación intrínseca entre un parámetro o factor de riesgo medible y el estado de enfermedad. En otras palabras, no siempre está claro si el factor de riesgo es en sí causante de o contribuyente a la enfermedad o si en lugar de esto es un síntoma secundario que indica la enfermedad. Por este motivo, una
35 modalidad terapéutica que influye en un factor de riesgo podría influir directamente en el mecanismo patológico de la enfermedad o la futura evolución, o podría repercutir indirectamente favorablemente sobre un proceso contribuyente que está relacionado con la enfermedad.

Adicionalmente, son muchos los factores de riesgo que están asociados a enfermedad cardiovascular en otros
40 estados patológicos bien en una función causante o bien contribuyente. Por este motivo, la reducción o bloqueo de un factor de riesgo determinado para enfermedad cardiovascular podría tener otros efectos favorables en otras enfermedades que están asociadas a este factor de riesgo.

Es de especial interés para los procedimientos de la presente invención la reducción de los factores de riesgo
45 cardiovasculares que están asociados a niveles de PCR anormalmente altos.

La PCR se produce en el hígado como respuesta a la producción de IL-6. La IL-6 se produce como parte de una reacción inflamatoria en el cuerpo. Por este motivo, los niveles de PCR, al igual que de IL-6, son marcadores de una actividad inflamatoria sistémica. Se cree que la inflamación crónica es uno de los fenómenos patológicos
50 subyacentes y de sustento en enfermedades cardiovasculares.

En la menopausia, con la pérdida de estrógeno, en las mujeres aumenta la prevalencia de enfermedades cardiovasculares. Igualmente aumentan los factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares, especialmente los niveles de lípidos (colesterol y triglicéridos), homocisteína y proteína C reactiva (PCR). Hoy en día, la terapia hormonal sustitutiva (THS) es el procedimiento más frecuente para prevenir enfermedades cardiovasculares en mujeres después de la menopausia. No obstante, muchas mujeres no obedecen esta terapia debido a los desagradables efectos secundarios como hinchazón, reanudación del ciclo menstrual, dolor en la palpación de la mama, miedo al cáncer de útero y de mama, etc. Además, aunque la THS reduce los niveles de colesterol y homocisteína, eleva los niveles de PCR e IL-6.

60 Es objeto de la invención poner a disposición un agente terapéutico que reduzca extracorpóreamente estos factores de riesgo, por ejemplo, mediante aféresis.

Yeh (Clin Cardiol. 2005 28:408-412) muestra que puede usarse PCR para predecir el riesgo de enfermedad cardiovascular, que la PCR es además un indicador de inflamación y que las inflamaciones promueven todos los estadios de aterosclerosis. Zoccali y col. (Semin Nephrol. 2005 25:358-362) muestra que la PCR es predictiva del

riesgo de mortalidad cardiovascular en pacientes con insuficiencia renal terminal. Nurmohamed y col. (Net J Med. 2005 63:376-381) muestran que la PCR es predictiva del riesgo de mortalidad cardiovascular en pacientes en hemodiálisis. A pesar de esto, la PCR solo se considera una molécula indicadora.

5 Sola y col., (J Card Fail. 2005 11:607-612) muestran que las terapias con estatinas pueden utilizarse para reducir la cantidad de PCR y, por tanto, se reduce la mortalidad y morbilidad causadas por enfermedad cardiovascular. Pero esta forma de terapia no es suficiente para reducir significativamente las altas cantidades de PCR (hasta 1000 veces por encima de las normales) que se forman después de un infarto de miocardio, o las altas cantidades de PCR en pacientes en diálisis.

10 El documento WO 2004/045596 da a conocer un procedimiento para la reducción de la cantidad de PCR en plasma para reducir inflamaciones sistémicas mediante la administración de un agente terapéutico. Pero no da a conocer el tratamiento extracorpóreo de fluidos biológicos para la eliminación de PCR de los fluidos biológicos mencionados.

15 El documento JP 2002035117 da a conocer el uso de una columna para la adsorción de PCR para tratar enfermedades inflamatorias. También muestra que la columna elimina leucocitos inflamatorios. La eliminación de leucocitos no se desea en la presente invención, ya que esto causaría daños adicionales al paciente.

20 El documento WO 2004/076486 da a conocer un procedimiento para la inhibición de respuestas inmunológicas, inflamatorias y/o patofisiológicas mediante la administración de moléculas que se unen a PCR en pacientes con elevadas cantidades de PCR. Pero no se da a conocer el tratamiento extracorpóreo de fluidos biológicos para la eliminación de PCR de los fluidos biológicos mencionados.

25 El documento WO 90/12632 da a conocer un procedimiento para el tratamiento extracorpóreo de fluidos biológicos para la eliminación de PCR de estos fluidos biológicos para el tratamiento de cáncer. A este respecto, la matriz puede estar constituida, por ejemplo, por silicona, Sepharose, perlas acrílicas o agarosa y la PCR unirse a fosfocolina y sus derivados.

30 Es objetivo de la presente invención poner a disposición agentes y procedimientos para la profilaxis y/o el tratamiento de disfunciones inmunes, enfermedades cardiovasculares, infarto de miocardio, ataque de apoplejía, diabetes, reuma e insuficiencia renal.

35 Este objetivo se alcanza mediante la exposición de las reivindicaciones independientes. Otras configuraciones ventajosas resultan de la descripción, los ejemplos y las reivindicaciones dependientes.

Sorprendentemente, el objetivo de la presente invención se alcanzó mediante la eliminación al menos parcial de la proteína C reactiva de fluidos biológicos, especialmente de sangre humana.

40 La presente invención se refiere al uso de compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR humana para la preparación de una matriz farmacéutica para el tratamiento extracorpóreo de fluidos biológicos, como sangre y plasma sanguíneo humano, líquidos peritoneales y líquidos linfáticos, que comprende la eliminación de proteína C reactiva de dichos fluidos biológicos para la profilaxis y/o el tratamiento de infarto de miocardio y ataque de apoplejía.

45 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de una matriz que contiene compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR para la preparación de un agente farmacéutico para la eliminación de PCR de fluidos biológicos de un paciente para la profilaxis y/o el tratamiento de infarto de miocardio, y. En el caso del agente farmacéutico se trata preferiblemente de un producto médico en forma de una matriz de adsorbente como se conoce para los aparatos de diálisis. Por tanto, el agente puede presentarse en forma de perlas, perlas huecas, partículas, partículas porosas, partículas sustancialmente esféricas, partículas huecas sustancialmente esféricas, fibras o fibras huecas. Estos agentes se utilizan preferiblemente en aparatos correspondientes como, por ejemplo, columnas o aparatos de diálisis con el fin de eliminar PCR de fluidos biológicos de un paciente.

55 Dicho en otras palabras, la invención se refiere al uso de compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR para la preparación de una matriz farmacéutica para la eliminación de PCR de fluidos biológicos de un paciente para la profilaxis y/o el tratamiento de infarto de miocardio y ataque de apoplejía.

60 Las enfermedades cardiovasculares se seleccionan del grupo constituido por o que comprende infarto de miocardio, ataque de apoplejía, diabetes, reuma, insuficiencia renal, insuficiencia renal debida a hipertensión, lesiones endoteliales, destrucción endotelial, arteriosclerosis, trombosis, aterosclerosis, estenosis, reestenosis, enfermedades ateroscleróticas o trombóticas, insuficiencia circulatoria, eventos isquémicos, embolia pulmonar, angina de pecho estable e inestable, enfermedades de las arterias coronarias, muerte cardíaca aguda, así como secuencias patológicas de enfermedades arterioscleróticas o trombóticas. Enfermedades cardiovasculares especialmente importantes y preferidas son infarto de miocardio, ataque de apoplejía, diabetes, reuma.

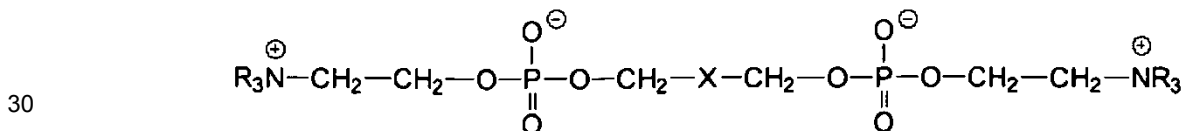
Además, las enfermedades cardiovasculares comprenden especialmente lesiones endoteliales agudas y destrucciones endoteliales agudas, así como lesiones endoteliales a largo plazo (destrucciones endoteliales crónicas, así como lesiones endoteliales a largo plazo crónicas) y destrucciones endoteliales a largo plazo.

5 En el caso de las lesiones endoteliales agudas y las destrucciones endoteliales agudas se trata de lesiones endoteliales agudas y destrucciones endoteliales agudas, preferiblemente después de ataque de apoplejía, en insuficiencia circulatoria, después de infarto de miocardio, después de muerte cardíaca aguda, después de muerte cardíaca súbita, en quemaduras, en heridas quirúrgicas u otras lesiones con áreas de heridas parcialmente amplias, en choque diabético, en insuficiencia hepática aguda, en pancreatitis, en enfermedades neurodegenerativas, en leucémicos después de irradiación, en enfermedades de las arterias coronarias o en embolia pulmonar.

15 Las lesiones endoteliales a largo plazo y las destrucciones endoteliales a largo plazo son aquellas, preferiblemente en aterosclerosis, en angina de pecho estable e inestable, en diabetes mellitus, en reuma, en artritis reumatoide, en esclerosis múltiple, en miastenia grave, en psoriasis vulgar, en enfermedad de Graves, en enfermedad de Basedow, en síndrome de Goodpasture, en púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), en anemia aplásica, en enfermedad inflamatoria del intestino, en enfermedad de Crohn, en colitis ulcerosa, en cardiomiopatía dilatada (CMD), en tiroiditis autoinmune, en tiroiditis de Hashimoto, en terapia hormonal sustitutiva (THS), como también en osteoartritis.

20 En el caso de los compuestos que poseen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR se trata de compuestos seleccionados del grupo que comprende o constituido por lípidos, lisofosfolípidos, lisofosfatidilcolinas, péptidos, péptidos con aminoácidos cargados, péptidos que contienen la secuencia ArgProArg, polipéptidos, anticuerpos, anticuerpos monoclonales, fragmentes de anticuerpos, anticuerpos manipulados, fosfocolinas, derivados de fosfocolina, fosfatidilserinas, serincefalinas, ADN, derivados de DNA y aptámeros.

25 Se prefieren fosfocolinas y fosfoetanolaminas de fórmula general I



en la que

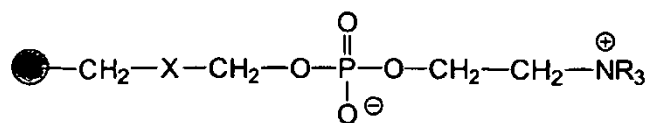
35 X representa un enlace sencillo químico o un resto alquilo con 1 a 20 átomos de carbono, preferiblemente 1 a 12 átomos de carbono, o un resto arilo con 6 a 18 átomos de carbono o un resto cicloalquilo con 3 a 7 átomos de carbono o un resto alquilcicloalquilo con 3 a 20 átomos de carbono, preferiblemente 3 a 12 átomos de carbono, o un resto arilalquilo con 7 a 20 átomos de carbono o un resto arildialquilo con 8 a 20 átomos de carbono y los restos R representan independientemente entre sí hidrógeno o restos alquilo lineales o ramificados, así como saturados o insaturados, con 1 a 10 átomos de carbono, así como formas enantioméricas, racematos, mezclas de enantiómeros, mezclas de diaestereómeros, sales, hidratos, solvatos y regioisómeros de los compuestos previamente mencionados.

45 Los restos alquilo, arilo, cicloalquilo, alquilcicloalquilo, arilalquilo y arildialquilo pueden estar además sustituidos con uno o varios grupos funcionales como, por ejemplo, -OH, -OCH₃, -OC₂H₅, -SH, -NO₂, -F, -Cl, -Br, -I, -N₃, -CN, -OCN, -NCO, -SCN, -NCS, -CHO, -COCH₃, -COC₂H₅, -COOH, -COCN, -COOCH₃, -COOC₂H₅, -OOC-CH₃, -OOC-C₂H₅, -CONH₂, -NH₂, -NHCH₃, -NHC₂H₅, -N(CH₃)₂, -N(C₂H₅)₂, -SOCH₃, -SOC₂H₅, -SO₂CH₃, -SO₂C₂H₅, -SO₃H, -SO₃CH₃, -SO₃C₂H₅, -SO₂NH₂, -OCF₃, -OC₂F₅, -O-COOCH₃, -O-COOC₂H₅, -NH-CO-NH₂, -NH-CS-NH₂, -NH-C(=NH)-NH₂, -O-CO-NH₂, -O-CO-OCH₃, -O-CO-OC₂H₅, -CH₂F, -CHF₂, -CF₃, -CH₂Cl, -CH₂Br, -CH₂I, -Ph, -CH₂-Ph, -CH₃, -C₂H₅, -C₃H₇, -CH=CH₂, -CH₂-CH=CH₂, -C≡CH y/o contener uno o varios heteroátomos como, por ejemplo, O, S, N, P.

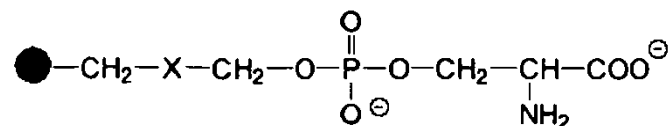
50 La Figura 1 muestra una posible síntesis de fosfocolinas de este tipo.

Ejemplos explícitos son los siguientes compuestos: 1,5-bis(fosfocolin)pentano, 1,6-bis(fosfocolin)hexano, 1,7-bis(fosfocolin)heptano, 1,4-bis(fosfocolin)dimetilciclohexano. Además de las bisfosfocolinas, naturalmente también pueden utilizarse tris-, tetra- y pentafosfocolinas.

Además, se prefieren especialmente fosfocolinas o fosfoetanolaminas y fosfoserinas de las siguientes fórmulas generales (IIA) y (IIB) que se unen covalentemente a un vehículo sólido:



5



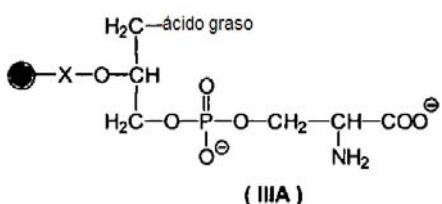
10

La Figura 2 muestra una posible ruta de síntesis para fosfocolinas de este tipo. X representa un ligador discrecional y preferiblemente un ligador de la definición anterior para X. Además de las definiciones anteriores para X, este ligador puede todavía contener los siguientes grupos: -O-, -S-, -NH-, -CH=CH-, -C≡C-, -O-(CH₂)_m-, -NH-(CH₂)_p-, -CO-, -CO-O-, -NH-CO-, -CO-NH-, -O-CO-, -O-CO-O-.

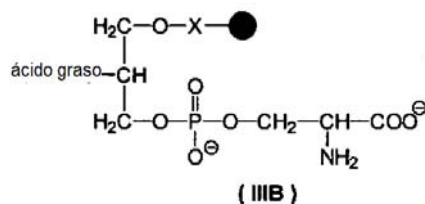
15

Además, se prefieren glicerofosfocolinas o glicerofosfoetanolaminas, como también glicerofososerinas, de las fórmulas generales (IIIA), (IIIB), (IIIC), (IIID), (IIIE), (IIIF), (IIIG), (IIIH) que están unidas covalentemente a un vehículo sólido:

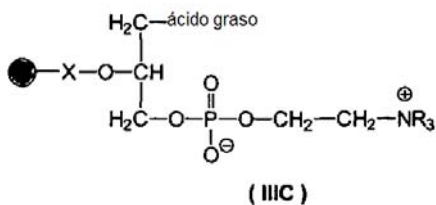
20



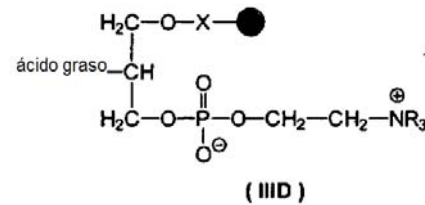
25



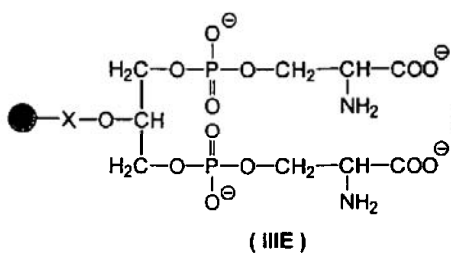
30



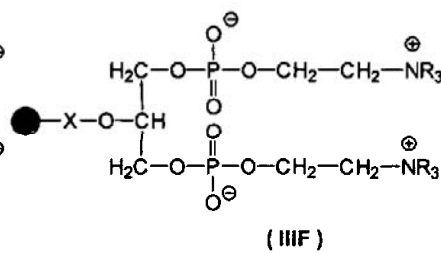
35



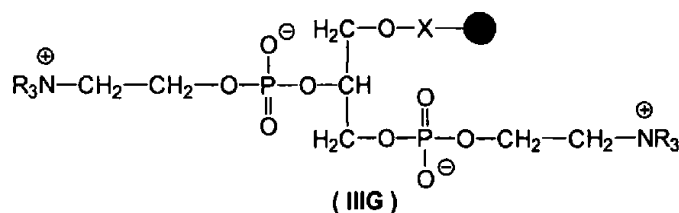
40



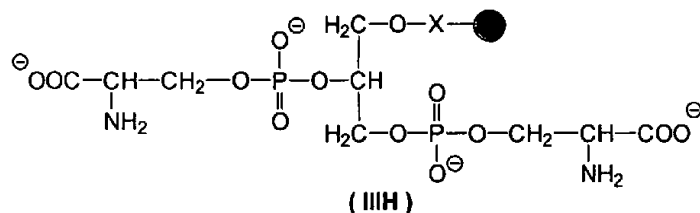
45



50



55



65

5 Como ácidos grasos pueden servir los ácidos grasos saturados, monoolefínicos, poliolefínicos, monoacetilénicos, insaturados, lineales y/o ramificados habituales con 8 a 28 átomos de carbono. Restos de ácido graso preferidos son palmitoilo, araquidonoilo, oxovaleroilo, glutarilo, epoxiisopropano, estearoilo. Los restos de ácido graso están unidos mediante un grupo éster (COO) a la glicerina. Por tanto, $-\text{CH}_2$ -ácido graso significa $-\text{CH}_2\text{-O-CO-R}'$ en la que R' representa la cadena de carbono del ácido graso.

10 Los compuestos de bisfosfocolina, compuestos de bisfosfoetanolamina, fosfocolinas, fosfoetanolaminas, glicerofosfocolinas, fosfoserinas, glicerofosfoetanolaminas mencionados, como también las glicerofosfoerinas, pueden inmovilizarse iónicamente sobre un vehículo sólido o inmovilizarse mediante compuestos reticulantes como polímeros sobre la superficie de vehículos sólidos. Como vehículos sólidos, que también designan los agentes farmacéuticos mencionados en este documento, pueden mencionarse las partículas o fibras o gránulos de cerámicas, vidrio, polímeros, óxido de aluminio, óxido de silicio, gel de sílice, Sepharose, etc., mencionados en este documento. Los vehículos sólidos se representan en las figuras como círculo con líneas.

15 Estos compuestos previamente mencionados se unen además preferiblemente covalentemente directamente o mediante un ligador o iónicamente o adsorbentemente sobre un vehículo o se incorporan en una capa polimérica sobre un vehículo o se unen a una capa polimérica tal. Ejemplos de aquellos vehículos son sustancias formadoras de matriz y materiales de sustrato de matriz como, por ejemplo, Eupergit, polisulfona, polivinilpirrolidona, sílica formateada, Sepharose, perlas acrílicas, agarosa, matrices de celulosa, matrices cerámicas, perlas de vidrio y/o sílice en fase sólida o mezclas y/o derivados de estas sustancias. Por matriz como se usa en el este documento se entiende materiales de sustrato de matriz cargados con compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR.

20 Para la preparación de la matriz son adecuados en principio todos los materiales de cromatografía o de columna inertes que especialmente no reaccionan con la sangre o el plasma sanguíneo o alteran o contaminan la sangre o el plasma sanguíneo de manera que después del contacto con la matriz ya no pueden inyectarse más un paciente. Como compuestos se consideran en principio todos aquellos que pueden inmovilizarse sobre materiales de sustrato o de matriz y están en situación de unirse a PCR al menos temporalmente reversiblemente o también permanentemente irreversiblemente.

25 Además, se encontró que no siempre es necesario eliminar la PCR completamente, es decir, más del 90% del fluido biológico. El éxito terapéutico o profiláctico ya se ha obtenido parcialmente cuando el nivel de PCR se reduce de nuevo a un valor normal.

30 Por tanto, esta revelación también describe un procedimiento para la eliminación o reducción de PCR en fluidos biológicos poniendo en contacto el fluido biológico con la matriz y los compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR se unen a PCR al menos temporalmente. Después de la separación del fluido biológico como, por ejemplo, sangre o plasma sanguíneo de la matriz, el fluido biológico se obtiene con un contenido de PCR reducido o claramente disminuido que luego puede administrarse de nuevo mediante infusión a un paciente en necesidad del mismo.

35 La presente revelación comprende además un procedimiento y un sistema para la eliminación de proteína C reactiva de dichos fluidos biológicos que comprende el bombeo de la sangre del paciente mediante un aparato que contiene material de matriz adsorbente que se une específicamente a PCR y elimina la PCR de la sangre, produciéndose plasma tratado, y el retorno de la sangre tratada al mismo paciente y/o el bombeo de la sangre de un paciente por un separador de células que separa células en células sanguíneas y plasma, los componentes del plasma pasan por un aparato como, por ejemplo, una columna que contiene material de matriz adsorbente como, por ejemplo, fosfocolina para la eliminación de proteína C reactiva, y recombinación del plasma tratado y de las células antes del retornarlos al paciente.

40 Otro sector de aplicación de la presente invención se da a conocer por la descripción detallada citada a continuación. Pero deberá entenderse que la descripción detallada, aunque indica ejemplos de realización preferidos de la invención, solo debe entenderse como ilustración explicativa, ya que distintos cambios y modificaciones dentro del espíritu y en el marco de la invención serán aparentes para aquellos que son expertos en esta descripción detallada.

Descripción detallada de la invención

45 El objetivo de la presente invención es poner a disposición herramientas, moléculas y procedimientos para reducir las cantidades de PCR en seres humanos. Este objetivo se alcanza mediante el uso de una mezcla que contiene al menos una entidad estructural que se une a PCR o es un antagonista para PCR, esta mezcla agota la PCR de una disolución o bloquea al menos una o varias funciones de la PCR sobre superficies celulares o en una disolución, para la preparación de una matriz para el tratamiento extracorpóreo de fluidos biológicos para el tratamiento o la prevención de enfermedades que están seleccionadas del grupo constituido por infarto de miocardio y ataque de apoplejía.

- 5 La presente invención se basa en el conocimiento de que las moléculas que se unen a PCR, por ejemplo, lípidos, preferiblemente lisofosfolípidos, preferiblemente lisofosfatidilcolina, péptidos, preferiblemente aquellos que contienen aminoácidos cargados, especialmente con un esqueleto de ArgProArg o con la secuencia Gly-Pro-Arg-Pro-Lys, polipéptidos, preferiblemente anticuerpos, especialmente anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos o anticuerpos manipulados, un anticuerpo recombinante (como, por ejemplo, anticuerpos monocatenarios - scAb o scFv; anticuerpos biespecíficos, diacuerpo), fosfocolina (FC) o derivados de fosfocolina, son útiles para reducir la cantidad de PCR.
- 10 Así, como se usa aquí, el término "cantidad eficaz" significa una cantidad de una mezcla o de una molécula que se une a PCR que está en situación de reducir la cantidad de PCR y/o de inhibir estados o efectos perjudiciales que son causados por un exceso de PCR.
- 15 El término 'deficiencia de estrógenos' se refiere a un estado, tanto naturalmente producido como clínicamente inducido, en el que una mujer no puede producir suficientes hormonas estrogénicas para mantener funciones dependientes de estrógenos como el ciclo menstrual, mantenimiento de la masa ósea, funciones neuronales, estado cardiovascular, etc. Aquellas situaciones de deficiencia de estrógenos surgen de, pero no se limitan a, menopausia y ovariectomía quirúrgica o química, incluida su equivalente funcional como tratamiento con agonistas o antagonistas de GnRH, ICI 182780 y similares.
- 20 El término 'inhibir' en relación con la inhibición de estados o efectos perjudiciales que son causados por un exceso de PCR incluye su significado generalmente aceptado como, por ejemplo, bloquear, evitar, suprimir, aliviar, mejorar, ralentizar, detener o invertir la progresión o la gravedad de un aumento de PCR y las secuelas patológicas, por ejemplo, síntomas que resultan de este evento.
- 25 El término 'farmacéutico' cuando se utiliza aquí como adjetivo significa esencialmente no tóxico y esencialmente no perjudicial para el receptor.
- 30 En 'formulación farmacéutica' o 'medicamento' o 'composición farmacéutica' se indica además que el vehículo, el disolvente, el vehículo del fármaco y las sales deben ser compatibles con las sustancias contenidas activas de la formulación (una composición de al menos una molécula que se une a PCR).
- 35 El término 'disolución' representa una composición que está constituida por una o varias moléculas de la sustancia que va a disolverse, con o varias moléculas de un disolvente farmacéutico como, por ejemplo, agua, tampón, disolución salina fisiológica y similares.
- 40 En un ejemplo de realización, la sustancia que tiene la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR humana es un polipéptido que contienen un sitio de unión para PCR, preferiblemente un anticuerpo que contiene un sitio de unión a antígeno para PCR. La sustancia que tiene la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR humana es especialmente un anticuerpo poli- o monoclonal que contiene un sitio de unión a antígeno para PCR.
- 45 El anticuerpo monoclonal contiene especialmente un sitio de unión a antígeno para PCR y se obtiene después de la inmunización de vertebrados, preferiblemente mamíferos, como ratones, ratas, cobayas, hámsteres, monos, cerdos, cabras, gallinas, vacas, caballos y conejos. El anticuerpo poli- o monoclonal que contiene un sitio de unión a antígeno para PCR se humaniza preferiblemente correspondientemente a tecnologías que son conocidas para el experto. La sustancia también puede generarse mediante la inmunización de ratones humanizados y/o ratones inmunodeficientes (como, por ejemplo, SCID o ratones desnudos) que fueron repoblados con células inmunes vitales (por ejemplo, de origen humano; como, por ejemplo, ratones SCID-hu).
- 50 En otro ejemplo de realización, el anticuerpo es un anticuerpo recombinante (como, por ejemplo, anticuerpos monocatenarios - scAb o scFv; anticuerpos biespecíficos, diacuerpos, etc.) capaces de unirse a PCR, conteniendo especialmente un sitio de unión a antígeno de un anticuerpo que reacciona de forma cruzada con PCR. La molécula de anticuerpo es un anticuerpo humanizado o humano.
- 55 También es objeto de la descripción un procedimiento para la producción de moléculas recombinantes que son capaces de unir antígeno a PCR que contiene la etapa de cultivo de células huésped y aislamiento de la molécula de unión del medio de cultivo o de la célula huésped.
- 60 Otro objeto se refiere a una composición farmacéutica para reducir la concentración de PCR y/o la concentración de PCR libre que contiene una proporción de moléculas de unión terapéuticamente eficaces y/o para aféresis y/o diálisis y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Además de estas sustancias, el medicamento puede contener sustancias antiinflamatorias que se eligen del grupo constituido por moléculas que se unen a fosfolipasas A2 (PLA2), PLA2 secretoras (sPLA2) tipo II, sPLA2 tipo IIA, interleucina-6, interleucina-1, interleucina-15 y/o factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), y/o antagonistas, moléculas que se unen a PCR, moléculas anti-IL-1 β , antagonistas para PLA2, moléculas que se unen a PLA2, bloqueadores del complemento, pero al menos otra molécula de unión para el
- 65 tratamiento de reacciones inflamatorias en pacientes en riesgo cardiovascular como pacientes con síndromes

coronarios agudos, infartos de miocardio, con insuficiencia renal, o pacientes en diálisis o combinaciones de los mismos.

Otro objeto de la revelación es un procedimiento para la reducción de reacciones inmunes y/o patofisiológicas inflamatorias mediante la reducción de la concentración de PCR, un procedimiento para la reducción de lesiones y/o destrucciones endoteliales mediante la reducción de la concentración de PCR, un procedimiento para el tratamiento agudo en caso de lesiones y/o destrucciones endoteliales agudas, especialmente en ataque de apoplejía, infarto de miocardio, prevención de muerte cardíaca súbita, en quemaduras, en operaciones graves u otras lesiones con amplias zonas de heridas, en choque diabético, en insuficiencia hepática aguda, en pancreatitis, en enfermedades neurodegenerativas, en personas leucémicas después de irradiación, un procedimiento para tratamiento a largo plazo en caso de de lesión y/o destrucción endotelial de larga duración, especialmente para pacientes con contenido de PCR medio, con arteriosclerosis, con angina inestable, con diabetes tipo I o II, con sobrepeso y/u obesidad, para alcohólicos, durante la terapia hormonal sustitutiva (THS), para ancianos, para fumadores, un procedimiento para prevenir el rechazo de alo-trasplante o xeno-trasplante, un procedimiento para la inducción de tolerancia a alo-trasplante o xeno-trasplante o inhibición de la activación de linfocitos T, y un procedimiento para la prevención o el tratamiento de enfermedades autoinmunes, los procedimientos incluyen el tratamiento mediante aféresis o diálisis con una dosis terapéuticamente eficaz de una composición/matriz farmacéutica a un paciente que necesita aquel tratamiento.

La sustancia/matriz puede combinarse con otras moléculas, preferiblemente agentes terapéuticos para la enfermedad correspondiente u otras sustancias antiinflamatorias como, por ejemplo, moléculas que se unen a colesterol en suero, HDL, LDL u otras moléculas antiinflamatorias como, por ejemplo, moléculas que se unen a IL-6 y/o el receptor de IL-6, moléculas anti-IL-1, antagonistas para IL-15, antagonistas para PLA2, moléculas que se unen a PLA2, bloqueadores del complemento, antagonistas para proteína C reactiva (PCR), moléculas que se unen a PCR, moléculas anti-receptor de IL-1 β , antagonistas para PLA2, pero al menos otra molécula de unión para el tratamiento de reacciones inflamatorias en pacientes en riesgo cardiovascular como pacientes con síndromes coronarios agudos, infartos de miocardio, con insuficiencia renal o pacientes en diálisis o combinaciones de los mismos.

Los presentes procedimientos son útiles tanto para el tratamiento como también la prevención de secuelas perjudiciales que están asociadas a elevados valores de PCR. Como las concentraciones en suero de PCR están en relación con la concentración y producción de citocinas que se producen especialmente durante procesos inflamatorios, los procedimientos son útiles para el tratamiento o la prevención de eventos inflamatorios y sus secuelas. Tales eventos inflamatorios contienen, pero no se limitan a: insuficiencia renal, diálisis, artritis (osteoartritis), inflamación arterial y venosa crónica, enfermedades autoinmunes, por ejemplo, LES, esclerosis múltiple, miastenia grave, enfermedad de Graves (enfermedad de Basedow), psoriasis vulgar, cardiomiopatía dilatada, diabetes mellitus, enfermedad de Bechterew, enfermedad biliar inflamatoria, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), anemia aplásica, cardiomiopatía dilatada idiopática (CDI), tiroiditis autoinmune, enfermedad de Goodpasture y similares.

Los procedimientos son útiles para el tratamiento o la prevención de secuelas patológicas de enfermedades arterioscleróticas o trombóticas. Aquellas patologías contienen, pero no se limitan a, ataque de apoplejía, insuficiencia circulatoria, eventos isquémicos, infarto de miocardio, embolia pulmonar, angina estable e inestable, enfermedades de las arterias coronarias, síndrome de muerte súbita y similares.

Además, las sustancias/matrices pueden utilizarse con al menos una molécula que se une a PCR o en un tratamiento o en aplicación profiláctica.

Una posibilidad es que el estado que se causó por niveles de PCR anormalmente altos sea una enfermedad cardiovascular, especialmente arteriosclerosis, aterosclerosis, estenosis, reestenosis y trombosis u otros tratamientos agudos en caso de lesiones y/o destrucciones endoteliales agudas como ataque de apoplejía, infarto de miocardio, muerte cardíaca súbita, quemaduras, operaciones graves u otras lesiones con amplias áreas de heridas, choque diabético, insuficiencia hepática aguda, pancreatitis, enfermedades neurodegenerativas, personas leucémicas después de irradiación o lesión y/o destrucción endotelial de larga duración como arteriosclerosis, diabetes tipo I o II, sobrepeso y/u obesidad, alcoholismo, terapia hormonal sustitutiva (THS), ancianos, fumadores.

Las composiciones/matrices farmacéuticas pueden prepararse por procedimientos conocidos en la técnica de manera que, por ejemplo, una sustancia/matriz pueda prepararse con al menos una molécula que se une a PCR con aditivos, disolventes o vehículos habituales y se moldee en esferas, hilos y similares.

Ejemplos de dicha matriz de adsorbente son materiales de sustrato de matriz seleccionados del grupo constituido por Eupergit, polisulfona polivinilpirrolidona, silicona formateada, Sepharose, perlas acrílicas, agarosa, matrices de celulosa, matrices cerámicas, perlas de vidrio y/o sílice en fase sólida o derivados de los mismos.

Proceso para la eliminación de PCR de fluidos biológicos

La presente revelación se refiere a un procedimiento para la eliminación de proteína C reactiva de fluidos biológicos, para mejorar sus parámetros inflamatorios y específicamente con un procedimiento para la eliminación de proteína C reactiva mediante una perfusión extracorpórea de plasma sanguíneo de pacientes mediante un aparato de adsorción que contiene matriz de fosfocolina para de esta manera mejorar los parámetros cardiovasculares del paciente. La matriz que se une a PCR puede contener lípidos, especialmente lisofosfolípidos, preferiblemente lisofosfatidilcolina, péptidos, especialmente aquellos que contienen aminoácidos cargados, especialmente con un esqueleto de ArgProArg, polipéptidos, especialmente anticuerpos, especialmente anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos o anticuerpos manipulados y/o FC y/o derivados de FC, ADN o derivados de ADN (por ejemplo, aptámeros).

Otra posibilidad es la eliminación de proteína C reactiva de la sangre de pacientes mediante perfusión extracorpórea de su plasma sanguíneo mediante un aparato de adsorción que contiene matriz de fosfocolina. La matriz que se une a PCR puede contener lípidos, especialmente lisofosfolípidos, preferiblemente lisofosfatidilcolina, péptidos, especialmente aquellos que contienen aminoácidos cargados, especialmente con un esqueleto de ArgProArg, polipéptidos, especialmente anticuerpos, especialmente anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos o anticuerpos manipulados y/o FC y/o derivados de FC, ADN o derivados de ADN (por ejemplo, aptámeros).

Otra posibilidad es poner a disposición un sistema para el bombeo de sangre del paciente por un separador de células que separa la sangre de los componentes celulares y plasmáticos que incluye las etapas pasar los componentes plasmáticos por un aparato que contiene material de matriz adsorbente como fosfocolina para la eliminación de proteína C reactiva, produciéndose plasma tratado. También incluye la recombinación del plasma tratado y los componentes celulares para producir sangre tratada y el retorno de la sangre tratada al paciente.

Otra posibilidad es la eliminación de proteína C reactiva soluble de la sangre de pacientes mediante perfusión extracorpórea de su sangre completa mediante un aparato de adsorción que aloja una matriz de fosfocolina. La matriz que se une a PCR puede contener lípidos, especialmente lisofosfolípidos, preferiblemente lisofosfatidilcolina, péptidos, especialmente aquellos que contienen aminoácidos cargados, especialmente con un esqueleto de ArgProArg, polipéptidos, especialmente anticuerpos, especialmente anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos o anticuerpos manipulados y/o FC y/o derivados de FC, ADN o derivados de ADN (por ejemplo, aptámeros).

Otro aspecto de la revelación es un sistema que incluye una bomba de sangre para el bombeo de sangre del paciente a una columna o aparato que está unido a dicha bomba que contiene material de matriz adsorbente, que incluye lípidos, especialmente lisofosfolípidos, preferiblemente lisofosfatidilcolina, péptidos, especialmente aquellos que contienen aminoácidos cargados, especialmente con un esqueleto de ArgProArg, polipéptidos, especialmente anticuerpos, especialmente anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos o anticuerpos manipulados y/o FC y/o derivados de FC, ADN o derivados de ADN (por ejemplo, aptámeros), para la eliminación de proteína C reactiva, produciéndose sangre tratada que luego se devuelve al paciente.

Para realizar los procedimientos se pone a disposición un aparato extracorpóreo o columna que incluye una matriz con material adsorbente de PCR para el tratamiento extracorpóreo de un fluido biológico como, por ejemplo, sangre humana y plasma sanguíneo, líquido peritoneal y líquido linfático, para eliminar la PCR del mismo. El tratamiento puede realizarse eliminando continuamente la sangre del paciente, separando las células sanguíneas de la misma, tratando la sangre separada en la columna adsorbente de PCR o aparato para eliminar la PCR, después mezclando el plasma tratado y las células sanguíneas y devolviéndolos directamente al paciente. Alternativamente, las células sanguíneas pueden reinfundirse directamente al paciente después de eliminar la sangre de las células sanguíneas separadas. El plasma separado puede recogerse, tratarse en la columna adsorbente de PCR y luego devolverse tan rápido como sea posible al paciente.

El material adsorbente de PCR que se encuentra en la columna contiene lípidos, especialmente lisofosfolípidos, preferiblemente lisofosfatidilcolina, péptidos, especialmente aquellos que contienen aminoácidos cargados, especialmente con un esqueleto de ArgProArg, polipéptidos, especialmente anticuerpos, especialmente anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos o anticuerpos manipulados y/o FC y/o derivados de FC, ADN o derivados de ADN (por ejemplo, aptámeros) unidos a una matriz que maximiza la actividad de la FC y/o derivado de FC y la capacidad de unión de la columna o del aparato, mientras que se minimiza la fuga de FC y/o derivado de FC, así como otras sustancias de la columna, durante el uso.

Para preparar una columna generalmente se usa una cantidad eficaz de sustancias que se unen a PCR. Por ejemplo, se usa un par de miligramos de FC u otras sustancias que se unen a PCR por gramo de material de matriz. Un ejemplo de un intervalo no limitante es de aproximadamente 0,06 a 1,6 mg de sustancia por gramo de material de matriz de columna. En un ejemplo de realización preferido, la FC o derivados de FC se reticularan de forma cruzada con grupos amino de silicona formateada para estar en situación de eliminar PCR y para mejorar parámetros inflamatorios.

La FC y los derivados de FC que son útiles para los usos de la presente invención comprenden todos los derivados de FC que se unen suficientemente bien a PCR. Ejemplos de derivados de FC contienen ésteres de FC como p-nitrofenil-6-(O-fosfocolina)hidroxihexanoatos y p-aminofenilfosfocolina.

La matriz que se encuentra en el aparato extracorpóreo o columna puede formarse de cualquier material que sea útil para llevar sustancias que se unen a PCR como, por ejemplo, silicona, agarosa, Sepharose, esferas acrílicas, otras sustancias y matrices poliméricas adecuadas, y sílice en fase sólida. La matriz de sílice en fase sólida puede comprender casi cualquier forma de sílice particulada, incluidas sílices amorfas como sílice coloidal, geles de sílice, sílices precipitadas y sílices ahumadas o pirógenas; sílices microcristalinas como tierra de infusorios; y sílices cristalinas como cuarzo.

La sílice tendrá un tamaño de partícula en el intervalo de aproximadamente 45 a 120 aberturas por pulgada², normalmente en el intervalo de aproximadamente 45 a 60 aberturas por pulgada². Otros materiales que son útiles para la formación de una matriz, como se da a conocer en la patente de EE.UU. 4.681.870, también pueden usarse en el aparato o la columna. La patente de EE.UU. 4.681.870 se incorpora en el presente documento como referencia.

Las sustancias que se unen a PCR están unidas al aparato o la matriz de columna en una forma adecuada, de manera que se mantenga la capacidad de las sustancias que se unen a PCR para eliminar la PCR de fluidos biológicos. Por ejemplo, las sustancias que se unen a PCR pueden estar reticuladas con grupos amino de una matriz de silicona formateada. Pueden aplicarse otros procedimientos para unir FC o derivados de FC al material de matriz, como dan a conocer los procedimientos correspondientes en la patente de EE.UU. 4.681.870.

El procedimiento puede realizarse mediante el uso de un aparato extracorpóreo o columna adecuado que contiene el material de matriz adsorbente de PCR anteriormente descrito. La columna puede contener un cartucho extraíble que contiene el material de matriz adsorbente. Un ejemplo de un cartucho de este tipo se describe en la patente de EE.UU. 4.681.870. Una columna o un aparato está asociado a un separador de células. La columna o el aparato puede esterilizarse, por ejemplo, con un gas esterilizante como óxido de etileno, y entonces puede o usarse inmediatamente o precintarse y almacenarse.

Antes de uso, la columna o el aparato puede aclararse con solución salina normal, seguido de aclarado con solución salina normal, que puede contener cualquier otra sustancia contenida preparativa adecuada. Sin embargo, no se incorporará ningún agente quelante de iones calcio en FC o lisoFC.

La columna o el aparato se une entonces al separador de células para obtener de éste plasma separado. El separador de células puede ser un separador de células continuo, o puede comprender una membrana semipermeable que permite el paso de plasma y de proteína de la sangre, pero impide el paso de elementos celulares de la sangre. En caso de una membrana semipermeable se usa una bomba de sangre para pasar la sangre por la membrana. Bombas de sangre adecuadas contienen un tubo y una bomba peristáltica en la que la sangre se aísla de la maquinaria de bombeo para prevenir contaminaciones. La sangre pasa a un separador de células a una tasa que puede encontrarse en el intervalo de aproximadamente 10 a 500 ml/min, normalmente hasta que ha pasado un volumen deseado total de sangre. Las células sanguíneas se mezclan con el plasma que ha pasado por la columna o el aparato de tratamiento, y la sangre recombinada se devuelve de nuevo al paciente. Puede usarse un microfiltro a la salida de la columna o aparato de tratamiento para prevenir el paso de partículas microscópicas que se pierden de la columna o el aparato.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de una matriz que contiene compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR humana, para la preparación de un agente farmacéutico para la eliminación extracorpórea de PCR humana de fluidos biológicos de un paciente para la profilaxis y/o el tratamiento de infarto de miocardio y ataque de apoplejía, en el que los compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR humana se seleccionan del grupo que comprende lípidos, lisofosfolípidos, lisofosfatidilcolina, péptidos, péptidos con aminoácidos cargados, péptidos que contienen la secuencia ArgProArg, polipéptidos, anticuerpos, anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, anticuerpos manipulados, fosfocolina, derivados de fosfocolina, ADN y derivados de ADN y aptámeros, y
- 10 y en el que la matriz comprende además materiales de sustrato de matriz seleccionados del grupo constituido por Eupergit, polisulfona, polivinilpirrolidona, silicona formateada, Sepharose, perlas acrílicas, agarosa, matrices de celulosa, matrices cerámicas, perlas de vidrio y/o sílice en fase sólida o mezclas y/o derivados de estas sustancias.
- 15 2. Uso de compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR humana, para la preparación de una matriz farmacéutica para la eliminación extracorpórea de PCR humana de fluidos biológicos de un paciente para la profilaxis y/o el tratamiento de infarto de miocardio y ataque de apoplejía, en el que los compuestos que tienen la propiedad de unirse al menos temporalmente a PCR humana se seleccionan del grupo que comprende lípidos, lisofosfolípidos, lisofosfatidilcolina, péptidos, péptidos con aminoácidos cargados, péptidos que contienen la secuencia ArgProArg, polipéptidos, anticuerpos, anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, anticuerpos manipulados, fosfocolina, derivados de fosfocolina, ADN y derivados de ADN y aptámeros, y
- 20 y en el que la matriz comprende además materiales de sustrato de matriz seleccionados del grupo constituido por Eupergit, polisulfona, polivinilpirrolidona, silicona formateada, Sepharose, perlas acrílicas, agarosa, matrices de celulosa, matrices cerámicas, perlas de vidrio y/o sílice en fase sólida o mezclas y/o derivados de estas sustancias.
- 25 3. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que el fluido biológico es sangre humana.
- 30 4. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que la PCR humana no se elimina completamente del fluido biológico, sino que solo se reduce a un valor normal.

Fig. 1

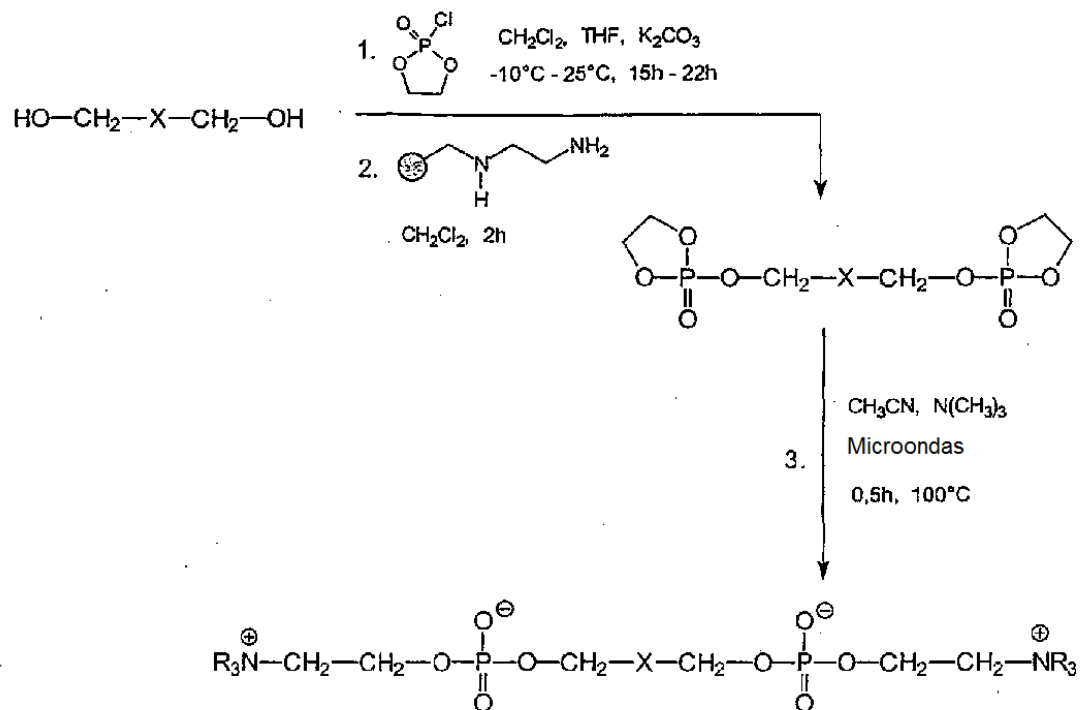


Fig. 2

