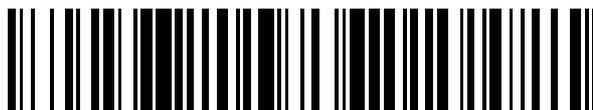


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 597 729**

51 Int. Cl.:

A61K 38/34 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2012 PCT/EP2012/001227**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.10.2012 WO12136312**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2012 E 12710874 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016 EP 2694097**

54 Título: **Péptidos para suprimir las reacciones de inflamación en la hemodiálisis**

30 Prioridad:

07.04.2011 EP 11002917
07.04.2011 US 201161457479 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.01.2017

73 Titular/es:

**FRESENIUS MEDICAL CARE DEUTSCHLAND
GMBH (100.0%)**
Else-Kröner-Strasse 1
61352 Bad Homburg, DE

72 Inventor/es:

PASSLICK-DEETJEN, JUTTA;
FISLAGE, RAINER;
CATANIA, ANNA;
GATTI, STEFANO;
KUHN, ANJA y
STEPPAN, SONJA

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 597 729 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

Péptidos para suprimir las reacciones de inflamación en la hemodiálisis

Campo técnico

5 La invención se refiere a un conjugado L-P que comprende un enlazador L y un péptido P. El conjugado L-P puede ser empleado como un compuesto intermedio en la preparación del constructo S-L-P que comprende una superficie S de un soporte sólido. Además, el conjugado L-P es útil en la hemodiálisis, en particular para la prevención y/o supresión de respuestas inflamatorias y procesos.

Antecedentes de la invención

10 La diálisis es un método para limpiar la sangre de un individuo cuando los riñones dejan de funcionar correctamente. La diálisis elimina el exceso de sal del cuerpo, los residuos y el agua, y ayuda a controlar la presión arterial.

15 Por lo general se distinguen dos tipos de diálisis: la hemodiálisis y la diálisis peritoneal. En la hemodiálisis, un paciente está conectado a través de tubos a un riñón artificial. La sangre es bombeada fuera del cuerpo al riñón artificial que filtra la sangre, y luego retorna la sangre al cuerpo. En la diálisis peritoneal, el revestimiento interior de la cavidad peritoneal del paciente se utiliza como un filtro natural. Los desechos se eliminan por medio de un fluido, el dializado, que se lava dentro y fuera de la cavidad peritoneal en ciclos.

20 En la hemodiálisis, un riñón artificial (hemodializador) se utiliza para eliminar los residuos, los productos químicos adicionales y el exceso de líquido de la sangre. Para transferir la sangre de un paciente de diálisis en el riñón artificial, es necesario el acceso vascular. Un acceso común se realiza mediante la unión de una arteria a una vena debajo de la piel y por lo tanto la creación de una fístula. La fístula es entonces penetrada, permitiendo el acceso a la sangre. Ocasionalmente, un acceso se realiza por medio de un catéter, que se inserta en una vena grande en el cuello. Este tipo de acceso puede ser temporal, pero en muchos casos puede ser utilizado para el tratamiento a largo plazo. Al igual que con cualquier acceso vascular o tratamiento con catéter, el catéter crea una comunicación directa entre un ambiente interno aséptico del paciente y el mundo exterior. Las complicaciones más frecuentes de esta comunicación son infecciones, inflamaciones y bloqueos trombóticos o infiltrativos del acceso.

25 La inflamación representa una complicación médica principal asociada con diálisis. De hecho, aunque los beneficios de la hemodiálisis y la diálisis peritoneal son numerosos, muchas de las complicaciones asociadas con cada uno puede ser una amenaza para la vida. Cada técnica tiene sus propias complicaciones o complicaciones similares, incluyendo, pero sin limitarse a, falla, conformidad con la ultra filtración, obesidad, eliminación, y cumplimiento deficiente del fluido.

30 La inflamación es un factor importante que causa alta mortalidad en los pacientes con enfermedad renal en etapa terminal (ESRD). Se considera que la inflamación juega un papel principal en el daño arterial en pacientes con diálisis. Aunque los mecanismos precisos que conducen a este estado inflamatorio en ESRD no son claros, la infección de bajo grado, la exposición repetida a los filtros de diálisis y los productos de autooxidación se discuten como posibles factores provocadores en estos pacientes (consultar C. Zocalli y colaboradores, Blood Purification, 2003, 21, 29-36; y P. Stenvinkel y colaboradores, Semin. Dial., 2002, 15, 329-37).

35

Existe demanda por métodos que provocan menos inflamación en pacientes en hemodiálisis.

a-MSH (hormona para estimulación de melanocitos) se deriva de una hormona precursor, a saber propiomelanocortina (POMC). El procesamiento posterior a la traducción de POMC produce hormonas peptídicas tales como ACTH, a-MSH - g-MSH y b-endorfina.

40 a-MSH tiene múltiples efectos en el huésped.

El efecto estimulador de la a-MSH en células de pigmento se conoce desde hace más de 50 años. Hallazgos más recientes indican que a-MSH controla la ingesta de alimentos y las secreciones exocrinas, modula la fiebre (consultar D. B. Richards y colaboradores, Peptides 1984, 5 (4), 815-7) y reacciones inflamatorias y tiene un efecto antimicrobiano (consultar, por ejemplo, A. Catania y colaboradores, J Leukoc Biol. 2000, 67 (2), 233-9). a-MSH induce la expresión de Fos en neuronas de oxitocina supraóptica (N. Sabatier y colaboradores, J. Neuroscience, 2003, 23 (32), 10351-8).

45

[Nle4-d-Phe7] a-MSH (NDP-MSH) ha sido descrito como un análogo de a-MSH estable a la proteasa (consultar T. K. Sawyer y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 1980, 77 (10), 5754-58).

Ac-Lys-Pro-Val-NH₂ (KPV), el tripéptido terminal de una α -MSH, que está acetilado en N y amidado en C ha demostrado que exhibe casi el mismo efecto anti-inflamatorio que α -MSH de longitud completa.

El documento WO 88/00833 divulga un tripéptido antipirético, que tiene la secuencia de aminoácidos lisina-prolina-valina, y un método para utilizar el tripéptido para reducir la fiebre y la inflamación en mamíferos.

- 5 El documento US 2009/0069242 describe análogos peptídicos de α -MSH, que posee una mayor eficacia comparado con el péptido α -MSH nativo.

Los documentos US 2005/0130901 y US 2006/0122121 se refieren a péptidos con actividad antimicrobiana. Los péptidos son péptidos octoméricos modificados a partir de α -MSH.

- 10 Los documentos US 2010/143438 y WO 2010/129248 divulgan constructos S-L- α MSH para uso en el tratamiento de la inflamación.

El documento WO 2004/004551 divulga una composición y método para controlar la respuesta del huésped al trasplante e injerto de un órgano y/o tejido. α -MSH protege al órgano y tejido después del trasplante controlando factores dentro del donante, huésped y del órgano o tejido que va a ser trasplantado.

- 15 El documento WO 00/56353 se refiere a un sistema de condición urogenital que comprende un portador, al menos un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos de KPV o un equivalente biológicamente funcional del mismo; en donde el portador transporta al polipéptido. El polipéptido puede incluir un dímero formado a partir de la secuencia de aminoácidos.

J. M. Kelly y colaboradores, *Peptides*, 2006, 27, 431-7 divulga que la hormona 10-13 que estimula un α -melanocito inmovilizado (GKPV) inhibe la actividad de NF- κ B estimulada por el factor α de necrosis tumoral.

- 20 La capacidad del dímero (CKPV) 2 para inhibir las reacciones del huésped inducidas por endotoxina sugiere que puede ser útil en el tratamiento de trastornos inflamatorios (S. Gatti y colaboradores, *J Surg Res*, 2006, 131 (2), 209-14).

La síntesis y actividad del dímero [Ac-CKPV]₂ son también conocidos (consultar A. Catania y colaboradores, *J Pept Res.*, 2005, 66 (1), 19-26).

- 25 Se sabe que las concentraciones de α -MSH son elevadas en pacientes con hemodiálisis crónica. Se observan concentraciones de hasta a 30 ng/L mientras que pacientes sanos muestran concentraciones de hasta 25 ng/L únicamente. La concentración de α -MSH es particularmente elevada cuando se puede observar una concentración simultáneamente elevada de endotoxina. Posiblemente, la liberación de α -MSH es inducida por citoquinas con el fin de limitar su efecto (consultar L. Airaghi y colaboradores, *Nephrol Dial Transplant*, 2000, 15, 1212-6).

- 30 Los efectos antiinflamatorios de tripéptidos relacionados con α -MSH *in vitro* e *in vivo* fueron también se investigaron (Broska y colaboradores, *Endocrine reviews*, 2008, 29 (5), 581-602).

- 35 El documento WO 03/094990 se refiere a oligosacáridos y polisacáridos que contienen el elemento estructural de azúcar N-acilglucosamina o N-acilgalactosamina, además de su uso para la producción de superficies hemocompatibles y métodos para recubrimiento de superficies con dichos oligosacáridos y polisacáridos, que constituyen las sustancias precursoras biosintéticas comunes de heparina, sulfato de heparano y quitosano.

- 40 Los documentos US 2005/074485 y WO 2004/104019 divulga una composición y método de tratamiento en el que se usan péptidos antimicrobianos y antiinflamatorios, preferentemente KPV o un dímero del mismo, para hemodiálisis y diálisis peritoneal en un dializado y gel. Los péptidos anti-microbianos y antiinflamatorios se pueden usar en diálisis peritoneal para aumentar la diuresis. Otras realizaciones incluyen el uso de los péptidos antimicrobianos y antiinflamatorios en soluciones de bloqueo utilizadas para catéteres y otros tubos de acceso vascular o tubos de acceso peritoneal.

Estas composiciones, sin embargo, no son satisfactorias en todos los aspectos y existe una demanda por mejoras adicionales de la hemodiálisis.

Breve descripción de las figuras

- 45 Las Figuras 1A y 1 B resumen los resultados de los experimentos de estimulación previa.

Las Figuras 2A y 2B resume los resultados de los experimentos de incubación conjunta.

La Figura 3 resume el efecto del tratamiento térmico de KPV sobre la inhibición de TNF- α .

La Figura 4 resume el efecto del tratamiento térmico de KPV sobre la inhibición de IL-6.

La Figura 5 resume los resultados de la inhibición de TNF- α a diferentes concentraciones de KPV.

Descripción detallada de la invención

5 Un objetivo de la invención es proporcionar mejoras para la hemodiálisis y otros métodos donde los fluidos corporales son guiados a través de circuitos extracorpóreos, particularmente con respecto a la aparición de la inflamación.

Este objetivo se consigue mediante el contenido de las reivindicaciones de patente.

10 Se ha encontrado, sorprendentemente, que las superficies que son modificadas con pequeños péptidos que tienen el terminal C de KPV amidado y acilado son particularmente útiles en la hemodiálisis con respecto a la prevención y/o supresión de la inflamación.

15 Se ha encontrado que la invención también puede funcionar con a-MSH completa o fracciones de la misma. Para el propósito de esta invención, se pueden reemplazar también los péptidos que tienen el terminal C de KPV amidada y acilada por a-MSH o en forma menos preferida con otras fracciones de los mismos. Las fracciones pueden ser péptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos de al menos 3 aminoácidos que también están comprendidos en a-MSH.

20 Comparado con a-MSH, dichos péptidos tienen varias ventajas. Son moléculas pequeñas y de bajo costo que son adecuadas para producción farmacéutica a gran escala. Parece que no muestran un efecto melanogénico pronunciado, muestran menos efectos secundarios adversos y debido a su tamaño molecular, son ventajosos para terapia local de varios trastornos inflamatorios.

Comparado con agentes inmunosupresores convencionales, ellos disminuyen el riesgo a las infecciones debido a su eficacia antiinflamatoria y antimicrobiana combinados.

La superficie S del soporte sólido no está particularmente limitada, mientras sea capaz de inmovilización del péptido P a través del enlazador L.

25 Preferiblemente, la superficie S se adapta para ser puesta en contacto con un fluido corporal, tal como sangre, suero y plasma.

En una realización particularmente preferida, la superficie S es hemocompatible.

30 Para el propósito de la especificación de la hemocompatibilidad se define preferiblemente de acuerdo con la norma ISO 10993-4 que se refiere a pruebas sobre los efectos de la sangre que hacen contacto con el producto o los compuestos sobre la sangre o componentes de la sangre, directa o indirectamente durante el uso de rutina.

35 La hemocompatibilidad se logra preferiblemente proporcionándole al soporte sólido un recubrimiento externo, por ejemplo, una capa hemocompatible. La capa hemocompatible puede ser añadida directamente sobre la superficie de un soporte sólido preferiblemente no hemocompatible o depositada sobre otras capas bioestables y/o biodegradables. Las capas adicionales bioestables y/o biodegradables y/o capas hemocompatibles pueden estar presentes en la parte superior de la capa hemocompatible.

Los materiales hemocompatibles son conocidos por la persona experta en la técnica. Preferiblemente, la superficie S del soporte sólido se vuelve hemocompatible entre otras cosas por la presencia del péptido P que se inmoviliza en la superficie S a través de enlazador L.

40 Se prefiere que esté presente al menos una capa bioestable bajo de capa hemocompatible. Además, la capa hemocompatible se puede recubrir totalmente y/o parcialmente con al menos una capa más, bioestable y/o biodegradable colocada encima.

45 Los ejemplos de sustancias biodegradables para la(s) capa(s) biodegradable(s) incluyen polivalerolactonas, ácido polilactónico, poli-[épsilon]-decalactonas, ácido poliglicólico, poliláctidos, poliglicólidos, copolímeros de los poliláctidos y poliglicólidos, poli-[épsilon]-caprolactona, ácido polihidroxibutanoico, polihidroxibutiratos, polihidrovaleratos, polihidroxibutirato-co-valerato, poli(1,4-dioxano-2,3-dionas), poli(1,3-dioxano-2-ona), poli-para-dioxanonas, polianhídridos tales como anhídridos, polimaleico polihidroximetacrilatos, fibrina, policianoacrilatos,

5 policaprolactonadimetilacrilatos, poli-b-ácido maleico, policaprolactonabutil-acrilatos, polímeros de bloques múltiples, tales como por ejemplo, de oligocapro lactonadioles y oligodioxanonadioles, polímeros de bloques múltiples de éster poliéter tales como, por ejemplo, PEG y poli (butiléteraftalatos), polipivotolactonas, trimetil-carbonatos de ácido poliglicólico, policaprolactona-glicólidos, poli(g-étilglutamato), poli(DTH-iminocarbonato), poli(DTE-co-DT-carbonato),
 10 poli(bisfenol-A-iminocarbonato), poliiminocarbonatos, poliortoésteres, átrimetil-carbonatos de ácido poliglicólico, politrimetilcarbonatos, poli(N-vinil)-pirrolidona, polivinilalcoholes, poliésteramidas, polifosfoésteres, poliésteres glicolados, polifosfacenos, poli[p-carboxifenoxi-propano], ácido polihidroxi pentanoico, polianhídridos, poli(óxido de etileno-óxido de propileno), poliuretanos blandos, poliuretanos con residuos de aminoácidos en la cadena principal, ésteres de poliéter tales como óxido de polietileno, oxalatos de polialqueno, poliortoésteres así como sus
 15 copolímeros, carragenanos, lípidos, fibrinógeno, almidón, colágeno, polímeros a base de proteínas, ácidos poliamino, ácidos poliamino sintéticos, zeína, zeína modificada, polihidroxi alcanosatos, ácido actínico, ácido péptico, fibrina y caseína modificados y no modificados, carboximetilsulfato, albúmina, ácido hialurónico, además, quitosano y sus derivados, heparansulfatos y sus derivados, heparinas, sulfato de condroitina, dextrano, b-ciclodextrinas, copolímeros con PEG y polipropilenglicol, goma arábiga, goma guar, gelatina, colágeno, colágeno-N-hidroxisuccinimida, lípidos, fosfolípidos, modificaciones y copolímeros y/o mezclas de las sustancias antes mencionadas.

Ejemplos de sustancias bioestables para la(s) capa(s) bioestable(s) incluyen ácido poliacrílico y poliacrilatos como

20 polimetilmetacrilato, polibutilmetacrilato, poliacrilamida, poliacrilonitrilos, poliamidas, polieteramidas, polietilenamina, poliimidias, policarbonatos, policarboureтанos, polivinilcetonas, polivinilhalogenuros, polivinilidenhalogenuros, poliviniléteres, poliisobutilenos, polivinilaromatos, polivinilesteres, polivinilpirrolidonas, polioximetilenos, óxido de politetrametileno, polietileno, polipropileno, politetrafluoroetileno, poliuretanos, poliéteruretanos, poliéteruretanos de silicona, poliuretanos-silicona, policarbonato-uretano de silicona, elastómeros de poliolefina, poliisobutilenos, gomas EPDM, fluorosiliconas, carboximetilquitosanos, poliarileteretercetonas, polieteretercetonas, polietilentereftalato, polivaleratos, carboximetilcelulosa, celulosa, rayón, triacetatos de rayón, nitratos de celulosa, acetatos de celulosa,
 25 hidroxietilcelulosa, butiratos de celulosa, acetatobutiratos de celulosa, copolímeros de acetato de etil-vinilo, polisulfonas, resinas epóxicas, resinas ABS, gomas EPDM, siliconas como polisiloxanos, poldimetilsiloxanos, polivinilhalógenos y copolímeros, éteres de celulosa, triacetatos de celulosa, quitosanos y copolímeros y/o mezclas de estas sustancias.

30 En una realización preferida, la superficie S contiene al menos un área con una concentración superficial de la proteína P de al menos 1,0 nmol/cm², más preferiblemente al menos 2,0 nmol/cm², aún más preferiblemente al menos 5 nmol/cm², incluso más preferiblemente al menos 10 nmol/cm², lo más preferiblemente al menos 25 nmol/cm² y en particular al menos 50 nmol/cm². Preferiblemente, dicha área es al menos de 1,0 cm².

35 La superficie S es la superficie de un soporte sólido. El soporte sólido no está particularmente limitado. Preferiblemente, el soporte sólido es un dispositivo médico, por ejemplo, componente de un circuito extracorpóreo, preferiblemente de un sistema o componente del mismo adaptado para hemodiálisis, hemofiltración, plasmaféresis, aféresis, oxigenación de la membrana extracorpórea o circulación sanguínea asistida.

40 En una realización preferida, la superficie S del soporte sólido es adecuado para contacto de corto o largo plazo con sangre o con productos sanguíneos. Los ejemplos de soportes sólidos incluyen dispositivos médicos tales como prótesis, órganos, venas, aortas, válvulas cardíacas, tubos, piezas de repuesto para órganos, implantes, fibras, fibras huecas, cánulas intraluminales, agujas huecas, jeringas, membranas, elementos estañados, recipientes de sangre, placas volumétricas, marcapasos, medios adsorbentes, medios de cromatografía, columnas de cromatografía, dializadores, piezas de conexión, sensores, válvulas, cámaras centrífugas, recuperadores, endoscopios, filtros y cámaras de bombeo. Se prefieren particularmente dializadores, especialmente sus componentes, particularmente las membranas de diálisis.

45 El soporte sólido puede estar compuesto de un material inorgánico y/u orgánico, metal o polímeros. Los polímeros adecuados pueden ser termoplásticos y son conocidos para el técnico experto.

El soporte sólido y la superficie S, respectivamente, pueden adoptar cualquier forma, por ejemplo, plana, convexa y cóncava y similares. Cuando el soporte sólido es una membrana de diálisis, puede ser, por ejemplo, fibrosa, similar a un tejido, una fibra hueca, o una membrana plana.

50 Los enlazadores L que son adecuados para inmovilizar un péptido P sobre una superficie adecuada S son conocidos por la persona experta. En este sentido puede hacerse referencia, por ejemplo, a G. T. Hermanson, Bioconjugate Techniques, segunda edición, Academic Press 2008; F. Zaragoza Dörwald, Organic Synthesis on Solid Phase: Supports, Linkers, Reactions, Wiley-VCH; segunda edición, 2002; J. M. Guisan, Immobilization Of Enzymes And Cells (Methods in Biotechnology), Humana Press; segunda edición, 2006; J. A. Camarero, Biopolymers. 2008, 90(3),
 55 450-8.

La naturaleza química del enlazador L no está particularmente limitada. Los enlazadores L típicos comprenden al menos un extremo distal que da enfrente al péptido P y al menos un extremo proximal que da enfrente a la superficie S.

5 El enlazador L puede tener cualquier distancia de extremo a extremo desde el extremo distal hasta el extremo proximal que es adecuado con el fin de inmovilizar el péptido P en la superficie S del soporte sólido. Las longitudes típicas (promedio) están en el intervalo de unos pocos nanómetros hasta varios nanómetros o más.

10 Preferiblemente, el enlazador L es una molécula orgánica. Puede contener una cadena ininterrumpida carbono-carbono entre el extremo distal y el extremo proximal. Preferiblemente, sin embargo, entre al menos algunos de los átomos de carbono de la cadena están los heteroátomos que se seleccionan preferiblemente independientemente de Si, N, S y O.

Preferiblemente, el enlazador L es sustancialmente lineal. Preferiblemente, el enlazador L comprende una fracción que está compuesta de unidades de repetición, como en un polímero u oligómero. Por ejemplo, cuando el enlazador L comprende una fracción de polietilenglicol, las unidades de repetición son $-(O-CH_2CH_2)_x-$.

15 El enlazador L puede derivarse de biomoléculas, tales como péptidos, o de glicoles sintéticos, tales como polialquilenglicoles, por ejemplo, polietilenglicoles o polipropilenglicoles.

El enlazador L puede estar compuesto de varios segmentos que difieren de uno a otro en su naturaleza química, pero están covalentemente enlazados entre sí. Por ejemplo, un primer segmento o enlazador L puede ser peptídico y un segundo segmento de enlazador L que está covalentemente unido a dicho primer segmento puede ser un polialquilenglicol o un óxido de polialquileo.

20 Preferiblemente, el enlazador L comprende un segmento o fracción de un poli(alquilen glicol) un poli(óxido de alquileo).

En una realización preferida, el enlazador L no incluye ningún residuo de amino ácido a, es decir, el enlazador es no peptídico.

25 En una realización preferida, el peso molecular total del enlazador L está dentro del intervalo de 500 g/mol a 2.000.000 g/mol, más preferiblemente de 750 g/mol a 1.000.000 g/mol, aún más preferiblemente 1000 g/mol a 500.000 g/mol, incluso más preferiblemente 1250 g/mol a 100.000 g/mol, lo más preferiblemente 1500 g/mol a 50.000 g/mol y, en particular 2.000 g/mol a 10.000 g/mol.

30 En una realización preferida, la superficie S comprende grupos carboxilo libres (-COOH) que son activados por la utilización de EDC u otros compuestos de activación. Posteriormente, esta superficie S activada es puesta preferiblemente en contacto con el péptido P modificado con PEG para producir el correspondiente enlace covalente.

35 El enlazador L está preferiblemente enlazado covalentemente a la superficie S, por ejemplo, a través de un enlace éster, enlace éter, enlace amida, enlace tioéter, y similares. Las inmovilizaciones quimiosselectivas se pueden lograr, por ejemplo, mediante un grupo amino mediante un enlace aldehído, grupo aminooxiacetilo con un enlace glioxililo, un residuo de cisteína con un enlace tioéster, un residuo de ciclopentadieno con un enlace benzoquinona, y similares.

40 Los soportes sólidos que portan en sus superficies S grupos funcionales reactivos que son capaces de reaccionar con un grupo funcional compatible en el extremo proximal del enlazador L, se encuentran comercialmente disponibles. Por ejemplo, los soportes sólidos pueden tener en sus superficies S grupos funcionales reactivos seleccionados del grupo que consiste de aminas, tioles, aldehídos, ácidos carboxílicos, grupos aminooxiacetilo, grupos glioxililo, grupos tioéster, grupos ciclopentadieno, benzoquinonas, trialcóxidosilanos, y similares.

Los métodos para introducir dichos grupos funcionales reactivos en las superficies S de soportes sólidos son bien conocidos por la persona experta en la técnica.

45 Preferiblemente, el enlazador L y la superficie S del soporte sólido están enlazados entre sí únicamente por enlaces covalentes de manera que entre el péptido P y la superficie S existe una cadena continua de enlaces covalentes, cuya cadena puede ser lineal o ramificada.

50 También es posible que el enlazador L no esté enlazado en forma covalentemente con la superficie S, por ejemplo, mediante interacción de biotina-(estrept)avidina y similares. Bajo estas circunstancias, el soporte sólido tiene en su superficie S, por ejemplo, moléculas de biotina que están unidas a la superficie S mediante métodos convencionales. El extremo proximal del enlazador L a su vez porta un grupo compatible de (estrept)avidina de modo que se puede

formar un complejo molecular a partir de los mismos inmovilizando el enlazador L en la superficie S. Un experto reconoce que la ubicación de la biotina y la (estrept)avidina en la superficie S y el enlazador L pueden ser intercambiadas. La marcación con biotina puede ser fácilmente lograr, por ejemplo, mediante pegilación con biotina.

5 El péptido P está compuesto de aminoácidos proteínogénicos que, independientemente entre sí pueden tener configuración D o L. Preferiblemente, el péptido P consiste de residuos de aminoácidos a que tienen configuración L.

En una realización preferida, el péptido P incluye no más de 4 residuos de amino ácido a directamente enlazados entre sí a través de enlaces peptídicos.

10 En otra realización preferida, el péptido P incluye dos subsecuencias que incluyen cada una no más de 4 residuos amino ácidos a directamente enlazados entre sí a través de enlaces peptídicos, donde dichas dos subsecuencias están enlazadas entre sí a través de un enlace no peptídico, preferiblemente a través de un enlace -S-S- de cistina de dos cisteínas.

El péptido P pueden ser preparado por síntesis de péptidos en fase sólida y purificado por cromatografía líquida de alto rendimiento en fase inversa.

15 El enlazador L está enlazado preferiblemente covalentemente al péptido P, por ejemplo, a través de un enlace éster, enlace éter, enlace de amida, enlace tioéter, y similares. Tal enlace puede ser logrado, por ejemplo, por el grupo amino al enlace aldehído, un residuo de cisteína con un enlace tioéster, un enlace de amida y similares.

20 Los enlazadores L que tienen en sus extremos distales grupos funcionales reactivos que son capaces de reaccionar con un grupo funcional compatible en el péptido P se encuentran comercialmente disponibles. Por ejemplo, los enlazadores L puede tener en sus extremos distales grupos funcionales reactivos seleccionados del grupo que consiste de aminas, tioles, alcoholes, aldehídos, ácidos carboxílicos, grupos aminooxiacetilo, grupos glioxililo, grupos tioéster y similares.

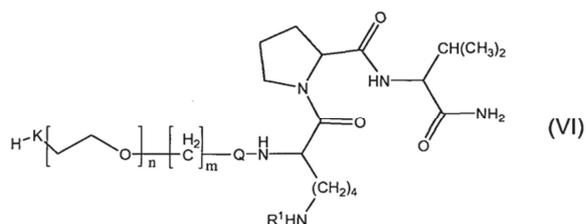
25 También es posible que el enlazador L esté enlazado en forma no covalentemente con el péptido P, por ejemplo, mediante interacción de biotina-(estrept)avidina y similares. En estas circunstancias, el enlazador L tiene en su extremo distal, por ejemplo, moléculas de biotina que están unidas al enlazador L por métodos convencionales. El péptido P a su vez tiene un grupo (estrept)avidina compatibles de manera que se puede formar un complejo molecular formado a partir de los mismos que une al péptido P con el extremo distal del enlazador L. Una persona experta reconoce que la ubicación de la biotina y la (estrept)avidina en el péptido P y el enlazador L pueden ser intercambiados.

30 Preferiblemente, cada enlazador L tiene un péptido P. También es posible, sin embargo, que este unido más de un péptido P a un solo enlazador L. Esto se puede lograr, por ejemplo, por medio de enlazadores L ramificados que tienen un extremo proximal unido a la superficie S del soporte sólido y más de un extremo distal, por ejemplo, 2, 3 o 4 extremos distales, unidos a una péptido P cada uno.

Un aspecto de la invención se refiere a un conjugado L-P que comprende un enlazador L como se definió anteriormente enlazado covalentemente a un péptido P como se definió anteriormente.

35 Preferiblemente, el enlazador L comprende una fracción de polialquilén glicol, se prefieren particularmente una fracción de polietilenglicol (PEG) de tal manera que el conjugado L-P preferiblemente puede ser considerado como un péptido P como se definió anteriormente que está pegilado por la fracción de polietilenglicol del enlazador L.

En una realización preferida, el conjugado L-P de acuerdo con la invención tiene una estructura de acuerdo con la fórmula general (VI):



en donde

R¹ es -H o -C(=O)-C₁₋₈-alifato, preferiblemente acetilo;

Q es un enlace o un grupo funcional seleccionado de -C(=O)-, -C(=S)-, -C(=NH)-, -NH-C(=O)-, -NH-C(=S)- y -NH-C(=NH)-;

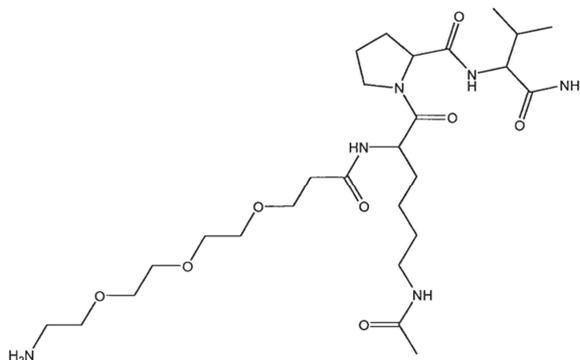
K es un enlace o un grupo funcional seleccionado del -C₁₋₈-alquileo, -NH-, -O-, -S-, -C(=O)-, o -C(=O)O-;

5 n es un número entero de 0 a 250, preferiblemente de 1 a 25, más preferiblemente de 2 a 10; y

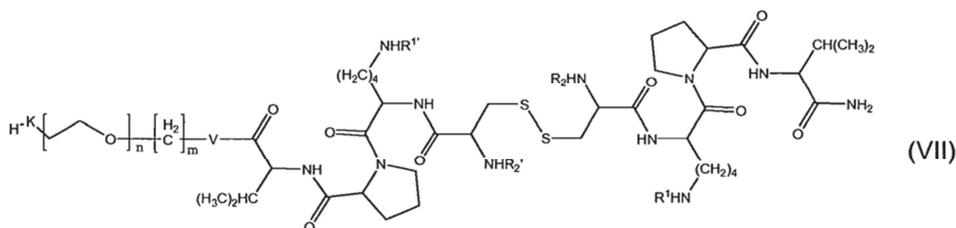
m es un número entero de 0 a 12, preferiblemente 1, 2 o 3.

A los efectos de la memoria descriptiva, grupos funcionales bivalentes que tienen dos posibilidades de ser incorporados en una fórmula general en dos direcciones diferentes, por ejemplo, -NH-C(=O)-, pueden ser incorporados en ambas direcciones alternativamente.

10 En una realización particularmente preferida, R¹ es acetilo, Q es -C(=O)-, m es 2, n es 3 y K es -NH-, de manera que el conjugado L-P tiene la siguiente estructura:



15 En otra realización preferida, el conjugado L-P de acuerdo con la invención tiene una estructura de acuerdo con fórmula general (VII):



en donde

R¹, R^{1'}, R² y R^{2'} son independientemente entre sí -H o -C(=O)-C₁₋₈-alifato, preferiblemente acetilo;

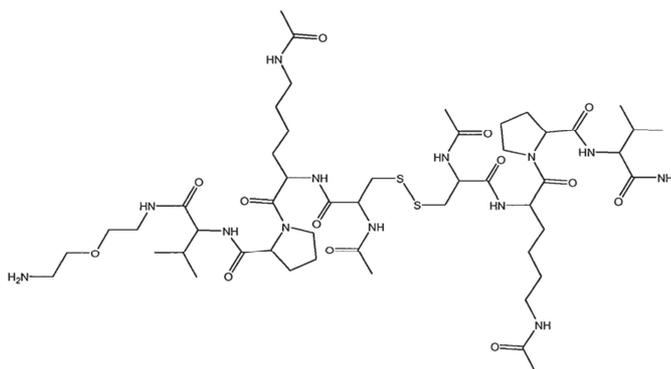
V es un enlace o un grupo funcional seleccionado de -O- y -NH-, preferiblemente -NH-;

20 K es un enlace o un grupo funcional seleccionado del -C₁₋₈-alquileo, -NH-, -O-, -S-, -C(=O)-, o -C(=O)O-;

n es un número entero de 0 a 250, preferiblemente de 1 a 25, más preferiblemente de 2 a 10; y

m es un número entero de 0 a 12, preferiblemente 1, 2 o 3.

En una realización particularmente preferida, R¹, R^{1'}, R² y R^{2'} son acetilos, V es -NH-, m es 2, n es 1 y K es -NH-, de manera que el conjugado L-P tiene la siguiente estructura:



5 El conjugado L-P de acuerdo con la invención puede ser empleado como un compuesto intermedio en la preparación del constructo S-L-P según de acuerdo con la invención mediante la unión del conjugado L-P a la superficie S del soporte sólido mediante métodos apropiados (véase más abajo).

Alternativamente, sin embargo, el conjugado L-P de acuerdo con la invención se puede ser utilizado como medicamento como tal.

Por lo tanto, un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el conjugado L-P de acuerdo con la invención y un portador fisiológicamente aceptable.

10 La composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede ser sólida, pastosa o líquida. Puede contener al conjugado L-P en el intervalo de 0,001 a 99,999% en peso, con base en el peso total de la composición.

15 En una realización preferida, la composición farmacéutica se formula para administración parenteral. La administración parenteral puede ser llevada a cabo, por ejemplo, en forma subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intraperitoneal, intradérmica, intraarticular, intratecal, intracardiaca, intravítrea, retrobulbar, intrapulmonar e intraósea.

20 Cuando la administración es parenteral, se pueden preparar composiciones farmacéuticas inyectables en formas convencionales, como soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas; como formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección; o como emulsiones. Los ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Otros excipientes adecuados son agua, solución salina, dextrosa, manitol, lactosa, lecitina, albúmina, glutamato de sodio, clorhidrato de cistina, o similares. Además, las composiciones farmacéuticas inyectables pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes, agentes reguladores de pH, y similares. Si se desea, se pueden utilizar preparaciones mejoradoras de la absorción (por ejemplo, liposomas).

25 En otra realización preferida, la composición farmacéutica se formula para administración a través de un circuito extracorpórea, tal como un circuito de diálisis. En esta realización, la composición farmacéutica se añade, por ejemplo, en el circuito en el dializador y se administra al sujeto a través del circuito extracorpóreo.

30 Las composiciones farmacéuticas adecuadas que son apropiadas para inyección o infusión son conocidas por la persona experto en la técnica. En este sentido, por ejemplo, puede hacerse referencia en su totalidad a K. H. Bauer y colaboradores, Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie [Libro de Texto de Tecnología Farmacéutica], WVG Stuttgart 1999. Las composiciones farmacéuticas que son adecuadas para inyección son habitualmente soluciones, emulsiones o suspensiones estériles, que se preparan mediante disolución, emulsión o suspensión de la sustancia activa y opcionalmente excipientes adicionales en agua, en un líquido no acuoso adecuado que no tiene que ser estéril si esto se justifica, o en una mezcla de estos vehículos.

35 Las composiciones farmacéuticas que son adecuadas para infusión son habitualmente soluciones o emulsiones estériles, acuosas con agua como fase continua.

Las composiciones farmacéuticas para inyección o infusión pueden contener opcionalmente otros excipientes. Los excipientes de este tipo son preferiblemente solubilizantes, sustancias para isotonicidad, reguladores, antioxidantes, agentes quelantes, conservantes y emulsionantes.

5 Las composiciones farmacéuticas particularmente preferidas incluyen soluciones de bloqueo, geles y dializados para el cuidado del catéter y de la infección del sitio de la herida. Una solución de bloqueo es un fluido utilizado en un catéter u otro acceso deseado al cuerpo del paciente. Contiene una sustancia que se escoge por su capacidad para resistir la coagulación, bloqueo y otros impedimentos. Un dializado es un fluido utilizado para intercambio de fluidos en diálisis peritoneal. Diuresis se refiere a un agente osmótico creado con el propósito de limitar la reabsorción del agua.

10 En diferentes realizaciones de la invención, los dializados contienen preferiblemente glucosa, cloruro de sodio, cloruro de calcio, cloruro de magnesio, glucosa y/o el conjugado L-P en al menos aproximadamente un intervalo milimolar o nanomolar tal como 1×10^{-3} a 1×10^{-9} mol/L y al menos aproximadamente 2×10^{-3} a 2×10^{-11} mol/L y concentraciones intermedias. Es importante observar que la concentración de glucosa puede variar con las necesidades individuales del paciente. El conjugado L-P se suministra preferiblemente en viales estériles liofilizados y se añade al fluido a través de técnicas asépticas estándar, tales como re-suspensión del péptido liofilizado y agua estéril, retirando la mezcla en una jeringa de tamaño apropiado e inyectando la mezcla en el fluido.

15 Para propósitos de preservación, puede mantenerse seco el conjugado L-P hasta el momento de utilizarlo. También se contempla que el dializado pueda contener el conjugado L-P en solución listo para diálisis peritoneal.

20 Para cumplir los requisitos de la ultra filtración de los pacientes en diálisis peritoneal, se administra típicamente el dializado peritoneal de manera hiperosmolar con relación al plasma para crear un gradiente osmótico que favorece el movimiento neto de agua dentro de la cavidad peritoneal; esta es la naturaleza de la capacidad de la diálisis peritoneal para llevar a cabo la limpieza. En dializados peritoneales comercialmente disponibles, la glucosa del azúcar sirve como agente osmótico que mejora la ultra filtración. Las concentraciones disponibles están en el intervalo de 1,5% en peso hasta 4,25% en peso de dextrosa o glucosa.

En una realización de la invención, el conjugado L-P se puede utilizar como un complemento a los dializados comercialmente disponibles en donde el conjugado L-P puede ser añadido al dializado.

25 Las soluciones de bloqueo también están comercialmente disponibles. Los "bloqueadores de heparina" son las soluciones de bloqueo más comunes en catéteres en general y la heparina es un componente común de las soluciones de bloqueo en la diálisis. En otra realización de la invención, se utiliza una solución de bloqueo que contiene péptidos antimicrobianos y antiinflamatorios tanto para diálisis peritoneal y como para hemodiálisis. Los anticoagulantes parenterales tales como la heparina, danaparoides y lepirudina están contemplados para su uso en la invención. Una solución de bloqueo puede contener al conjugado L-P preferiblemente en una cantidad en el intervalo de cantidades milimolares hasta nanomolares.

30 Para el cuidado del catéter, se puede mezclar el conjugado L-P en una composición con un portador biológicamente compatible no tóxico, antes de la administración. Por lo general, será una solución acuosa, tal como una solución salina normal o una solución salina regulada con fosfato (PBS), solución de Ringer, lactato de Ringer o cualquier solución isotónica fisiológicamente aceptable para administración por el medio elegido. Preferiblemente, se fabrica y se empaqueta la solución bajo los actuales procesos de buena manufactura (GMP), aprobados por la FDA.

En otra realización preferida, la composición farmacéutica se formula para administración oral. Preferiblemente, la composición farmacéutica es una forma de administración oral seleccionada del grupo que consiste de comprimidos, polvos, pellas, gránulos, comprimidos recubiertos con azúcar, jarabes, jugos, soluciones, polvos efervescentes, gránulos efervescentes, comprimidos efervescentes, cápsulas y liofilizados.

40 Las formas de administración adecuadas que son apropiadas para administración oral (medicamentos orales) son conocidas por la persona experta en la técnica. En este sentido, puede hacerse referencia en su totalidad, por ejemplo, a K. H. Bauer y colaboradores, Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie [Libro de Texto de Tecnología Farmacéutica], WVG Stuttgart 1999. Los excipientes adecuados para la formulación de formas de administración orales son conocidos por la persona experta en la técnica. En este sentido, puede hacerse referencia, por ejemplo, a H. P. Fiedler, Lexikon der Hilfstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete [Enciclopedia de excipientes para farmacia, cosméticos y áreas relacionadas], Edición Cantor Aulendorf 2001.

El conjugado L-P de acuerdo con la invención es útil para diálisis tal como hemodiálisis y diálisis peritoneal, hemofiltración, plasmáferesis, aféresis, oxigenación por membrana extracorpórea o circulación asistida de sangre.

50 En una realización preferida, se usa el conjugado L-P para prevenir y/o suprimir la inflamación, preferiblemente en pacientes en el curso de la diálisis, hemofiltración, plasmáferesis, aféresis, oxigenación por membrana extracorpórea o circulación asistida de sangre, preferiblemente en pacientes que sufren de ESRD.

Un aspecto adicional de la invención se refiere al uso de un conjugado de L-P como se describió anteriormente para la fabricación de una composición farmacéutica como se describió anteriormente

- para prevenir y/o suprimir la inflamación en pacientes en diálisis;
- para prevenir y/o tratar la enfermedad renal en etapa terminal (ESRD);
- para prevenir y/o tratar una enfermedad autoinmune;
- para prevenir y/o tratar la sepsis;

- 5 - para prevenir y/o tratar fiebre en pacientes de diálisis; y/o
- para prevenir y/o tratar complicaciones después de un trasplante.

Los siguientes ejemplos ilustran además la invención, pero no deben considerarse como limitantes de su alcance.

Ejemplo 1:

Estimulación *ex vivo* de células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC)

- 10 Las PBMC de voluntarios macho sanos (n = 5) fueron aisladas y estimuladas como se indica a continuación para imitar un escenario urémico e inflamatorio comparable para los pacientes (incubación previa LPS durante 3 horas)

Materiales y métodos

Para la estimulación de las PBMC se escogieron las siguientes concentraciones:

- LPS 1 ng/mL únicamente
- 15
- α -MSH
 - 1 μ M; 10 μ M; 100 μ M
 - Peg-KPV (tripéptido pegilado)
 - 1 μ M; 10 μ M; 100 μ M; 1000 μ M

El procedimiento de estimulación fue como se describe a continuación:

20

Incubación previa de LPS	Estimulación conjunta de LPS + Péptidos
Si 3 h	24 h
No	24 h

Todas las células durante 24 h y centrifugadas a 1700 rpm y se usaron los sobrenadantes para la medición por ELISA de TNF- α de acuerdo con los protocolos del fabricante.

Resultados

- 25 Los resultados de la estimulación previa se resumen en la siguiente tabla y se representan adicionalmente en las Figuras 1A y 1B:

	TNF- α	Incubación previa durante 3 h de LPS							
		Donante 2	Donante 3	Donante 4	Donante 5	Donante 6	MV+DE	DE	%
c	c	4808	4690	4400	3157	4897	4390,4	714,521028	100,00
α -MSH Sigma	1	5005	4345	3968	2070	4286	3934,8	1108,54801	89,62
	10	4193	3883	3674	1799	4356	3581	1030,84262	81,56
	100	3009	2886	2073	942	2069	2395,8	906,537754	54,57
KPV [μ M]	1	4025	4554	3541	2301	4299	3744	889,739288	85,28
	10	4126	4387	3666	2209	3949	3667,4	856,500029	83,53
	100	3542	5022	2886	1931	3731	3222,4	833,825102	73,40
	1000	no hecho	1816	1494	1054	2482	1711,5	601,166366	38,98
Peg-KPV	1	4082	4092	6032	3241	5201	4529,5	1090,9071	103,17
	10	4129	4265	5243	2875	4599	4222,2	867,392184	96,17
	100	4185	3610	4993	2435	3859	3816,4	931,790642	86,93
	1000	no hecho	1647	2224	2467	2467	1869	596,454525	42,57

- 5 Los resultados de la incubación conjunta se resumen en la siguiente tabla y se representan adicionalmente en las Figuras 2A y 2B:

	TNF- α	LPS + péptido simultáneamente							
		Donante 2	Donante 3	Donante 4	Donante 5	Donante 6	MV+DE	DE	%
c	c	4463	5268	4749	2207	4316	4200,6	1172,25181	100,00
α -MSH Sigma	1	4098	3273	3116	1319	3100	2981,2	1015,82267	70,97
	10	3734	2776	2568	1237	2638	2590,6	891,168783	61,67
	100	1207	2337	1248	713	1386	1380,2	593,368941	32,86
KPV [μ M]	1	3426	3955	3702	1893	3541	3303,4	813,046309	78,64
	10	3154	3907	3369	1706	3470	3121,2	837,319154	74,30
	100	2562	3505	3077	1525	3142	2762,2	769,064822	65,76
	1000	no hecho	931	934	594	1801	1065	515,963177	25,35
Peg-KPV	1	3893	3697	3918	2021	4340	3573,8	899,137198	85,08
	10	3918	3274	2846	1317,5	3909	3052,9	1070,58526	72,68
	100	3617	3067	2305	1110,5	3088	2637,5	973,283874	62,79
	1000	no hecho	971	1428	694,5	1586	1169,875	410,414907	27,85

- 10 Los datos indican un efecto inhibitor para KPV y PEG-KPV (proporcionados por Invitrogen Life Technologies), así como α -MSH para la liberación de TNF- α inducida por LPS ("inflamación") cuando ya se ha iniciado el proceso inflamatorio (estimulación previa) o si se dan simultáneamente los péptidos y el estímulo inflamatorio (incubación conjunta). Se usó la incubación previa de LPS como un modelo para imitar una situación urémica en pacientes, en los que los procesos inflamatorios ya están en curso.

Ejemplo 2:

- 15 Estudios de sangre entera con sangre de pacientes urémicos que incluyen experimentos de esterilización por calor

Un primer objetivo de este experimento fue probar si el péptido KPV antiinflamatorio de tres aminoácidos (versión "monopéptido" pegilado y no pegilado) retendrá su actividad bajo condiciones de esterilización con vapor a 125°C durante 15 minutos utilizada en el proceso de producción de módulos de diálisis. Un segundo objetivo fue estudiar el efecto antiinflamatorio de alfa-MSH y los péptidos en pacientes urémicos, que representan la situación clínica real.

- 20 Ya que los péptidos tienden a perder actividad cuando se calientan, se diseñó el experimento para imitar el proceso de la producción de diálisis con parámetros conocidos.

Para realizar este experimento, se tomaron muestras enteras de sangre de pacientes urémicos voluntarios (n = 10) y, se estimularon posteriormente *ex vivo* con lipopolisacárido (LPS) con o sin alfa-MSH, KPV o KPV pegilado (no calentado y calentado) y se determinó la liberación de TNF- α y IL-6 por ELISA.

Material y métodos

Se retiraron 25 ml de sangre de 10 pacientes urémicos (pacientes de diálisis tratados en el hospital en Konstanz, Alemania) y se analizaron inmediatamente los valores de sangre. Se diluyó la sangre 1:10 con regulador PBS y se llevó a cabo cada vez una condición de estimulación por triplicado y se incubó con 200 µl en placas de 96 pozos.

5 Se escogieron las siguientes condiciones:

- Sangre no estimulada
- Sangre estimulada con LPS 1 ng/ml únicamente (estimulación máxima de TNF- α de citoquinas pro-inflamatoria).
- Sangre estimulada con LPS 1 ng/ml y 4 diferentes concentraciones de α -MSH
 - 0,1 µM; 1 µM; 10 µM; 100 µM

10 • La sangre estimulados con LPS 1 ng/mL y 5 diferentes concentraciones de

- KPV (0,1 µM; 1 µM; 10 µM; 100 µM; 1000 µM)
- KPV-peg (0,1 µM; 1 µM; 10 µM; 100 µM 1000 µM)
- Sangre estimulada con LPS 1 ng/mL y 5 diferentes concentraciones de
 - KPV calentada (0,1 µM; 1 µM; 10 µM; 100 µM; 1000 µM)

15 ○ KPV-peg calentada (0,1 µM; 1 µM; 10 µM; 100 µM; 1000 µM)

Se incubó sangre durante 24 h, se centrifugó a 1700 rpm y se utilizaron sobrenadantes del suero para la medición por ELISA de TNF- α e IL-6 de acuerdo con los protocolos del fabricante.

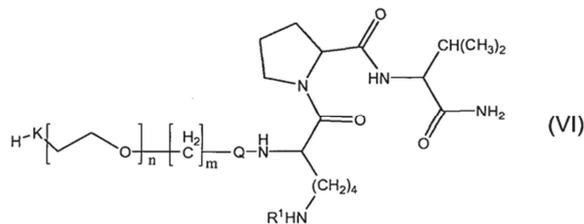
Resultados

20 El ELISA de TNF- α e IL-6 mostró que el tratamiento con calor no influyó en la actividad del péptido. La inhibición promedio para las concentraciones probadas de KPV para TNF- α estuvo alrededor de 30% y para IL-6 alrededor del 20%.

Los resultados se representan adicionalmente en las figuras 3, 4 y 5.

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado L-P de acuerdo con la fórmula general (VI):



5 en donde

R¹ es -H o -C(=O)-C₁₋₈-alifato;

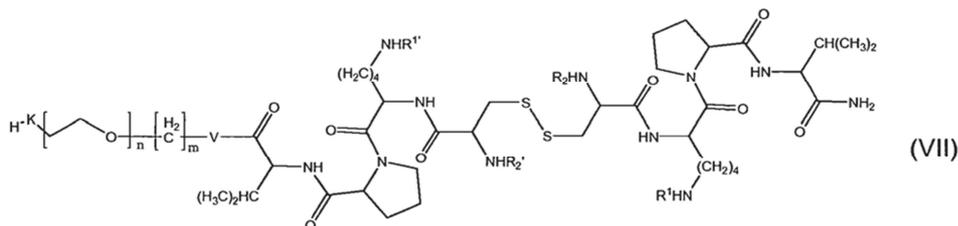
Q es un enlace o un grupo funcional seleccionado de -C(=O)-, -C(=S)-, -C(=NH)-, -NH-C(=O)-, -NH-C(=S)- y -NH-C(=NH)-;

K es un enlace o un grupo funcional seleccionado del -C₁₋₈-alquileo, -NH-, -O-, -S-, -C(=O)-, o -C(=O)O-;

10 n es un número entero de 0 a 250; y

m es un número entero de 0 a 12;

o de acuerdo con la fórmula general (VII):



en donde

15 R¹, R^{1'}, R² y R^{2'} son independientemente entre sí -H o -C(=O)-C₁₋₈-alifato;

V es un enlace o un grupo funcional seleccionado de -O- y -NH-;

K es un enlace o un grupo funcional seleccionado del -C₁₋₈-alquileo, -NH-, -O-, -S-, -C(=O)-, o -C(=O)O-;

n es un número entero de 0 a 250; y

m es un número entero de 0 a 12.

20 2. Un conjugado L-P como se define en la reivindicación 1 para uso en la prevención y/o supresión de inflamación en pacientes de diálisis.

3. Un conjugado L-P como se define en la reivindicación 1 para uso en la prevención y/o supresión de inflamación en pacientes de diálisis, en donde los pacientes sufren de enfermedad renal en etapa terminal (ESRD).

25 4. Un conjugado de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en hemodiálisis, hemofiltración, plasmaféresis, aféresis, oxigenación de membrana extracorpórea o circulación sanguínea asistida.

5. Uso de un conjugado L-P según la reivindicación 1 como un compuesto intermedio en la preparación de un constructo S-L-P mediante la unión del conjugado L-P a una superficie S de un soporte sólido.

Figura 1A

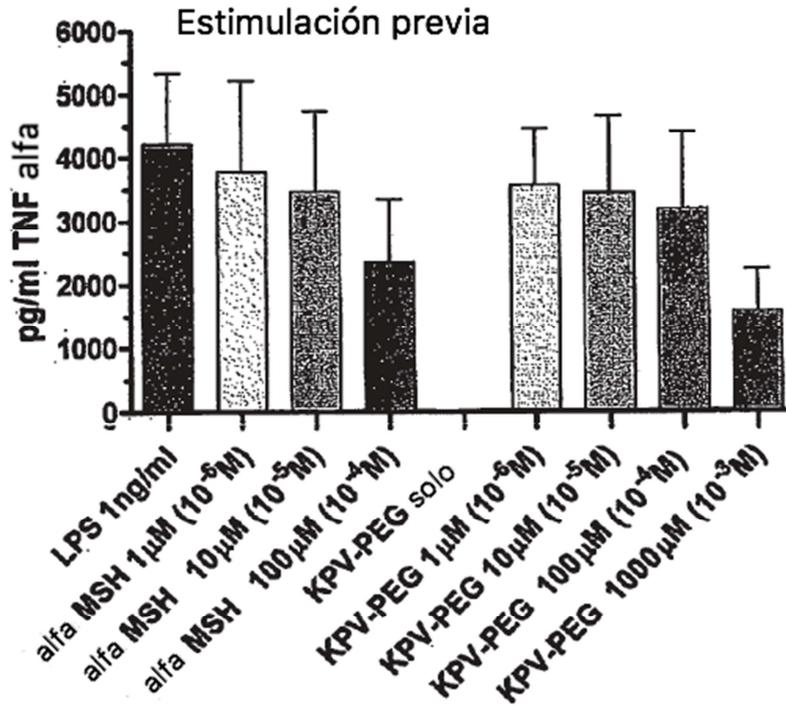


Figura 1B

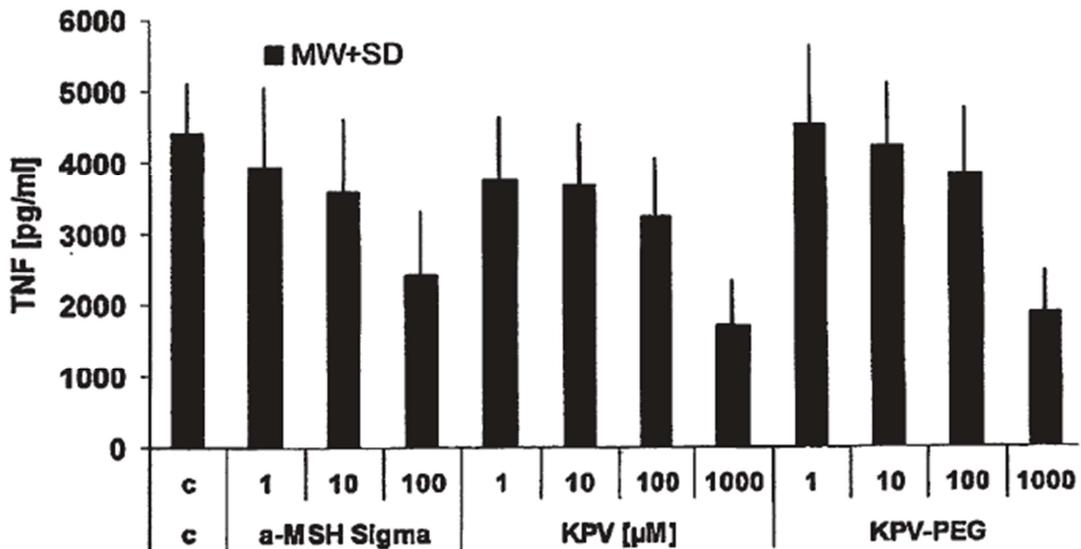


Figura 2A

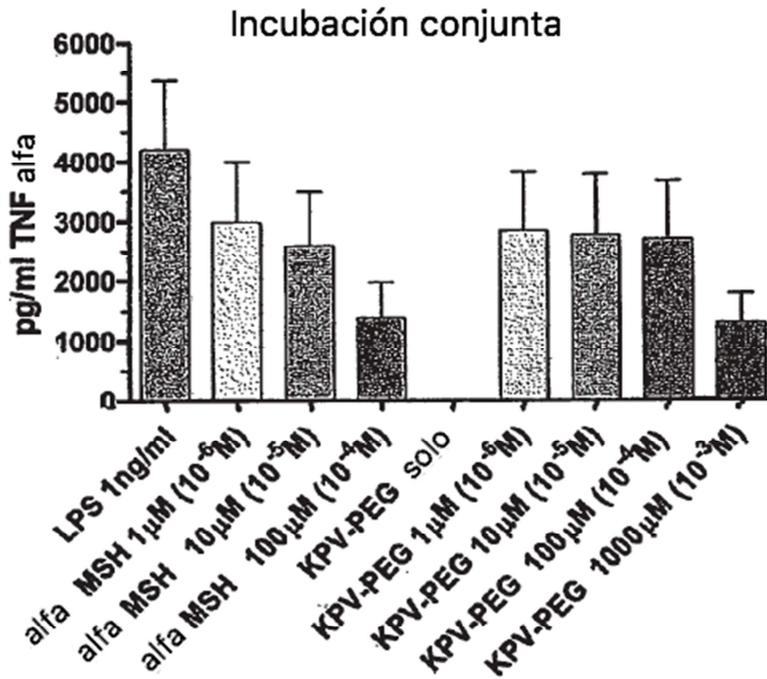


Figura 2B

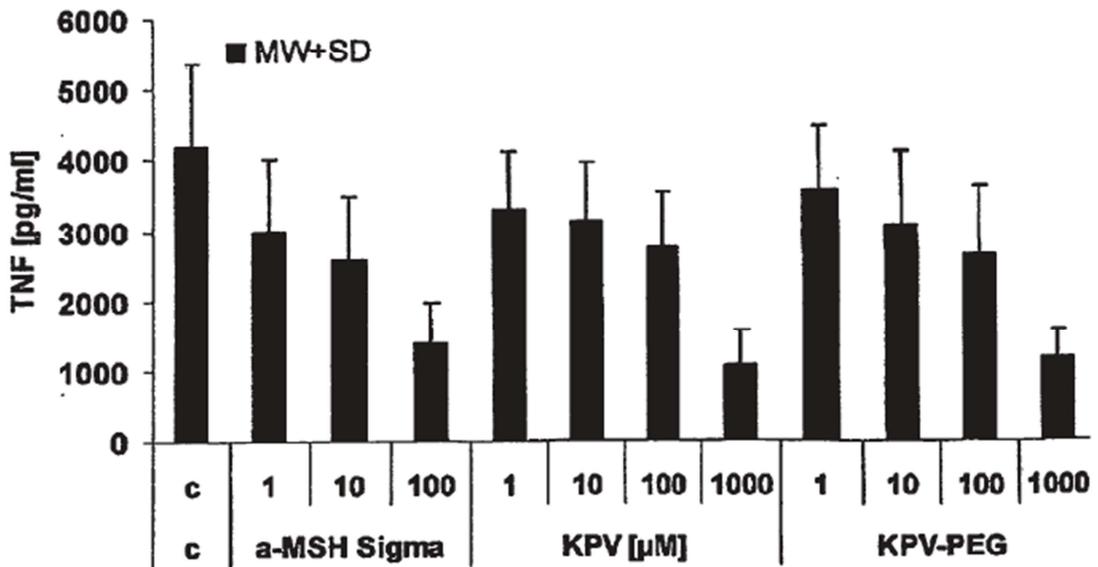


Figura 3

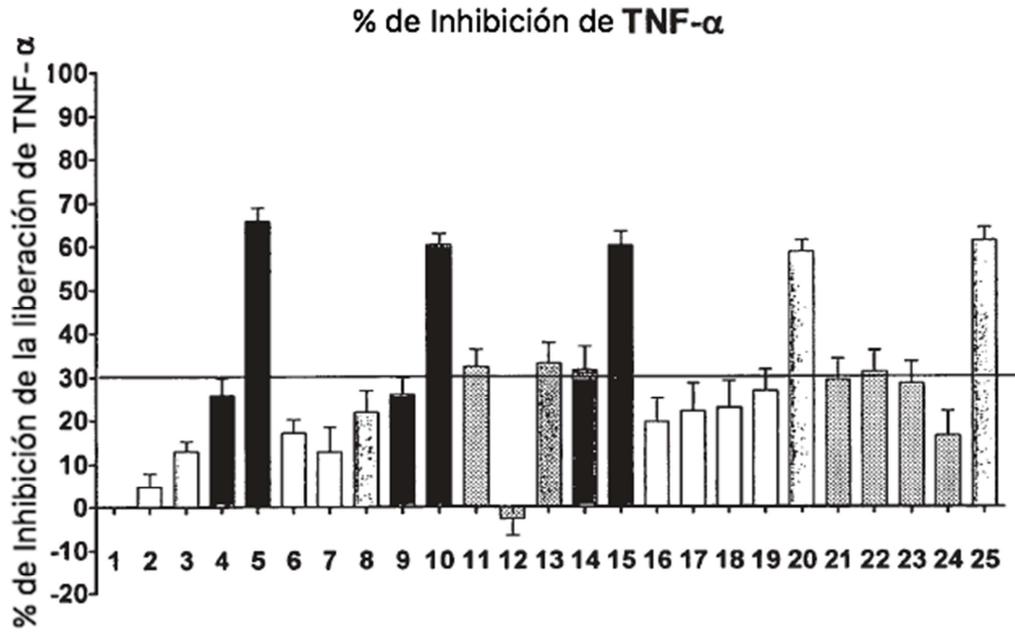
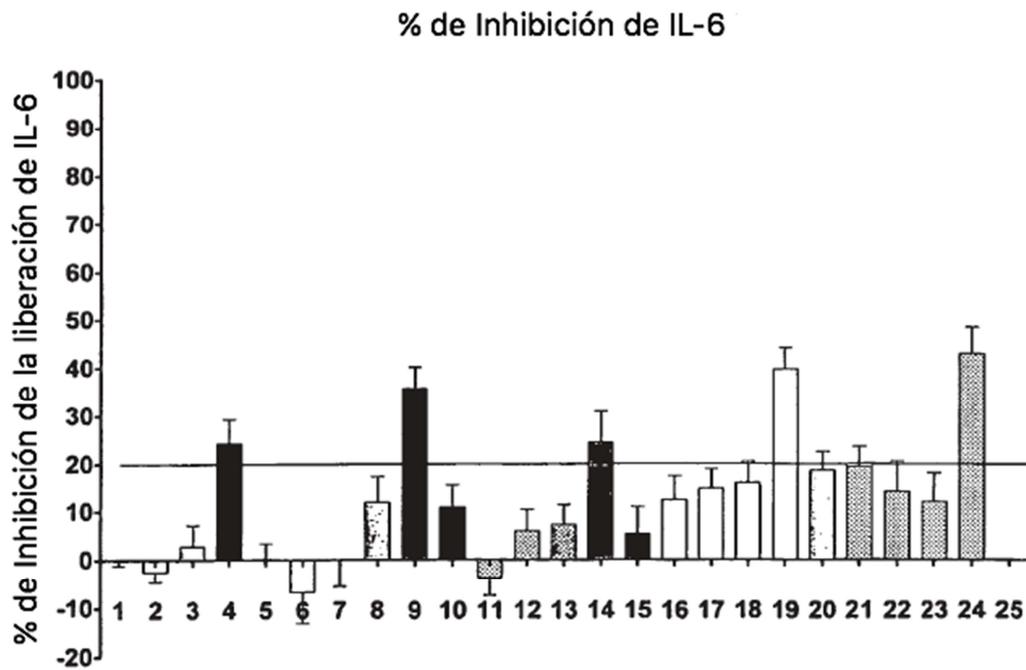


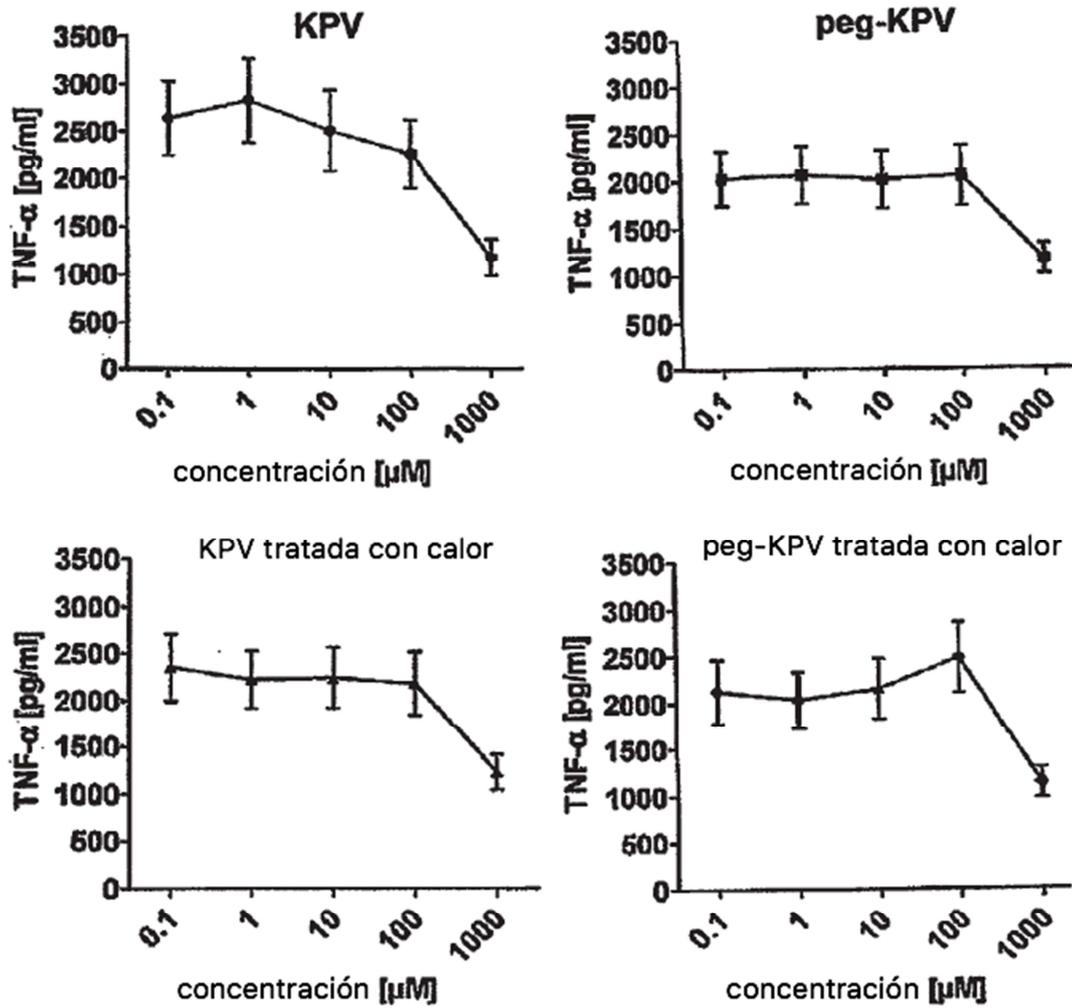
Figura 4



Leyenda figuras 3 y 4

Columna	Sustancia
1	LPS 1ng/ml
2	a-MSH 0.1mM
3	a-MSH 1 mM
4	a-MSH 10 mM
5	a-MSH 100 mM
6	KPV 0.1mM
7	KPV 1mM
8	KPV 10 mM
9	KPV 100 mM
10	KPV 1000 mM
11	KPV-PEG 0.1mM
12	KPV-PEG 1mM
13	KPV-PEG 10mM
14	KPV-PEG 100 mM
15	KPV-PEG 1000 mM
16	KPV 0.1mM calentada
17	KPV 1mM calentada
18	KPV 10 mM calentada
19	KPV 100 mM calentada
20	KPV 1000 mM calentada
21	KPV-PEG 0.1mM calentada
22	KPV-PEG 1mM calentada
23	KPV-PEG 10 mM calentada
24	KPV-PEG 100 mM calentada
25	KPV-PEG 1000 mM calentada
Abreviaturas	
LPS	lipolisacárido
a-MSH	hormona estimulante de melanocitos alfa
KPV	Terminal C del péptido MSH, que termina en Lys-Pro-Val
KPV-PEG	KPV unida a polietilén glicol

Figura 5



Media +/- EEM; n= 10 pacientes urémicos; tratamiento con calor = 15 min 125°C