

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 605 173**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/10** (2006.01)

**C07K 7/04** (2006.01)

**A61K 38/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.12.2009 PCT/IN2009/000749**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.07.2010 WO10079511**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.12.2009 E 09827010 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016 EP 2370088**

54 Título: **Nanopéptidos derivados de calostro de mamífero para infecciones víricas y recurrentes de amplio espectro con un método de aislamiento de los mismos**

30 Prioridad:

**27.12.2008 IN MU13532008**

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

**13.03.2017**

73 Titular/es:

**SAHARAN, PAWAN (100.0%)  
A-2101-04, Mansarovar Neelkanth Heights,  
Pokhran Road No 1  
Thane (west) 400 601, Maharashtra, IN**

72 Inventor/es:

**SAHARAN, PAWAN**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 605 173 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

Nanopéptidos derivados de calostro de mamífero para infecciones víricas y recurrentes de amplio espectro con un método de aislamiento de los mismos

5

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nanopéptidos aislados a partir de calostro de mamíferos con una actividad antivírica e inmunomoduladora similar a las vacunas mediante la construcción del sistema inmunitario del propio organismo y la inhibición mediante unión a los receptores de la superficie celular.

10

**Antecedentes de la invención**

El calostro es la sustancia previa a la leche producida por las mamas de la madre de todos los mamíferos durante las primeras 24 h de lactancia, normalmente las tres primeras producciones de leche. Desde tiempos inmemoriales se sabe que el calostro es un refuerzo inmunitario. El calostro desencadena al menos 50 procesos en el neonato, incluyendo la transferencia de todos los factores inmunitarios y la memoria completa del propio sistema inmune de la madre. El calostro bovino tiene hasta 40 veces más factores inmunitarios que los calostros humanos incluyendo péptidos nanoinformacionales, polipéptidos ricos en prolina, inmunoglobulinas, citocinas, interferón, lactoferrina y factor de transferencia. Los producen linfocitos T y pueden transferir la capacidad para reconocer un patógeno a las células no tratadas previamente. Sin embargo, nadie hasta la fecha ha sido capaz de aislar principios activos especialmente nanopéptidos nanoinformacionales de bajo peso molecular y de formular un producto que tenga el mismo efecto que las primeras 3 producciones de leche de la madre, después del nacimiento del niño.

15

20

25

"El calostro estimula el tejido linfoide proporcionando beneficios en la gente envejecida o inmunodeficiente"...Drs. Bocci, Bremen, Corradeschi, Luzzi y Paulesu; Journal Biology.

30

"Los investigadores comunicaron que el calostro estimula la maduración de linfocitos B (un tipo de glóbulo blanco de la sangre) y los ceba para la producción de anticuerpos, potencia el crecimiento y la diferenciación de glóbulos blancos de la sangre. Una actividad similar en el calostro de vaca y humano también puede activar macrófagos" ...Dr. M. Julius, McGill University, Montreal: Science News.

35

"El calostro bovino contiene altos niveles de factores de crecimiento que promueven el crecimiento celular normal y la síntesis de ADN" ...Drs. Oda, Shinnichi, *et. al.*;

Comparative Biochemical Physiology. "Los doctores sugieren que un papel importante para los factores de crecimiento es la promoción de la curación de heridas. Es posible la curación acelerada para el tratamiento de heridas traumáticas y quirúrgicas" ...Drs. Bhora, *et. al.*; Journal. Surg. Res.

40

Documento US 20070212367 – Esta solicitud de patente divulga un PRP inmunológicamente activo aislado de fluidos de calostro de mamífero para el tratamiento de enfermedades víricas y no víricas, un método y un sistema para procesar los fluidos de calostro de mamífero y una formulación farmacéutica.

45

Documento US 2005/175597 – Esta solicitud de patente se publicó el 11 de agosto de 2005 y se refiere a composiciones que comprenden materiales bioactivos y calostro de mamífero, y a procesos para su fabricación.

Documento US 2002/127279 - Esta solicitud de patente se publicó el 12 de septiembre de 2002 y se refiere a un proceso para el aislamiento de péptidos, y a productos obtenidos usando el mismo.

50

Documento KR 2002 0024902 - Esta solicitud de patente se publicó el 3 de abril de 2002 y se refiere a un potenciador de la inmunidad que contiene una fracción de calostro, y a procesos para la preparación del mismo.

Struff, W. G. *et al.*, international Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 46(5), 211-225 (2008) – Este artículo proporciona una revisión acerca del uso de calostro bovino en medicina clínica.

55

Como tal, el calostro contiene cientos de péptidos pequeños que cumplen numerosos fines. Su segregación y aislamiento facilitará la recogida de información adicional con respecto a su función individual y ayudará a formular terapias específicas y dirigidas para numerosas enfermedades que se curan mediante el calostro. Los estudios han documentado la presencia de una serie de péptidos bioactivos pero no se ha hecho mención acerca del uso de estos fragmentos de péptidos, a su secuencia específica o a información referente a su aislamiento. Los péptidos son extremadamente sensibles a la temperatura, el pH, el estrés y los factores de cizalladura lo que plantea varias dificultades en su aislamiento y conservación de su actividad biológica, y en los métodos para la recogida del calostro para suministrárselo al paciente que lo necesite manteniendo su actividad biológica completa.

60

65

La presente invención aborda estos inconvenientes proporcionando nanopéptidos aislados del calostro, su método de aislamiento y usos terapéuticos de los fragmentos de nanopéptidos aislados.

**Sumario de la invención**

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

5 Una realización de la presente invención proporciona una formulación que comprende péptidos aislados a partir de calostro de mamífero que tienen secuencias citadas en la SEQ ID NO. 1-8, en lo sucesivo citados como péptidos de la serie 108 de Radha, en los que los péptidos tienen la función de modular la inmunidad celular y proporcionan inhibición de unión para antígenos/virus exógenos sobre los receptores de la superficie celular además del cruce de la BHE (barrera hematoencefálica) y el tratamiento de enfermedades del hospedador en el cerebro.

10 El calostro es la sustancia previa a la leche producida a partir de las mamas de la madre de todos los mamíferos durante las primeras 24 h de lactancia, normalmente las primeras 3 producciones de leche. En una realización, el calostro usado en la presente invención es de origen bovino. El calostro bovino tiene 40 veces más factores inmunitarios que el calostro humano y tiene la capacidad de curar una serie de trastornos víricos, inmunitarios y autoinmunitarios.

15 En otra realización, se proporciona un método de tratamiento de trastornos relacionados con la inmunidad que incluyen trastornos autoinmunitarios, comprendiendo el método la administración a un paciente que padece dichos trastornos una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación que comprende los péptidos de las SEQ ID NO. 20 1-8.

En otra realización más, se proporciona un método de tratamiento del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida o SIDA, comprendiendo el método administrar a un paciente que padece SIDA, una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación que comprende los péptidos de las SEQ ID NO. 1-8.

25 La formulación puede proporcionarse en forma líquida, de polvo, de gel y cualquier otra forma de suministro farmacéutico. Puede administrarse por vía oral, intravenosa o mediante parches dérmicos para la absorción a través de la piel.

30 La presente invención se ilustra con ayuda de los dibujos adjuntos y la descripción detallada y los ejemplos proporcionados a continuación. Los dibujos y ejemplos son con fines de explicación y claridad.

Los aspectos anteriores y ventajas de la presente invención serán más evidentes y se apreciarán por medio de la descripción detallada y ejemplos.

35 **Breve descripción de las figuras**

Figura 1: resolución de muestra de calostro bovino usada en la presente invención mediante espectros de EM para proporcionar diversos fragmentos de proteína de diferentes pesos moleculares.

40 **Breve descripción de la invención**

La presente divulgación se refiere a péptidos aislados a partir del calostro, a sus métodos innovadores de recolección, transporte, almacenamiento, aislamiento y a usos terapéuticos de los mismos.

45 Una realización de la presente invención se refiere a péptidos aislados a partir del calostro de mamífero. El mamífero puede ser un bovino por ejemplo una vaca, cabra, búfalo o cualquier otro mamífero adecuado. En particular, en una realización preferida de la presente invención, los péptidos aislados se obtienen de vacas y búfalos lactantes. Los péptidos son secuencias cortas de aminoácidos que son frágiles y sensibles a la temperatura, pH y al estrés de cizalladura y son difíciles de aislar. Estos péptidos se encuentran en forma segregada. No están unidos a cualquier otra molécula. Los péptidos aislados comprenden el grupo de las SEQ ID NO. (1-8) y en lo sucesivo en el presente documento se citarán como Radha 108. Los péptidos de Radha 108 no se coagulan y tienen un bajo peso molecular. Se aíslan a partir del suero desgrasado obtenido del calostro. Los péptidos de Radha 108 tienen un peso molecular en el intervalo de 826 a 2990 Da.

55 De acuerdo con una realización de la presente divulgación se proporciona un método para recoger y procesar calostro y aislar pequeñas secuencias de aminoácidos que comprenden las SEQ ID NO. (1-8), comprendiendo el método las etapas de separar la grasa del cuajo y el calostro del suero, hacer pasar el calostro a través de una serie de filtros para retirar los sólidos suspendidos y reducir la carga microbiana seguido de ultra y nanofiltros para obtener una fracción proteínica que tenga un peso molecular de menos de 10.000 Da, específicamente menor de 3.500 Da en el que la filtración se efectúa a una baja presión, y cizalladura y temperaturas mínimas para conservar los nanopéptidos de Radha 108. Incluso los medios de bombeo usados para bombear el líquido a través del sistema consisten en bombas de bajas rpm. En una realización, los nano y ultrafiltros se diseñan para que funcionen a cizalladuras y presión bajas de menos de 5 Kg/cm<sup>2</sup>. En otra realización preferida, los filtros se diseñan para funcionar en el intervalo de 0,5 kg/cm<sup>2</sup> a 4 kg/cm<sup>2</sup>. En otra realización preferida más, los filtros se diseñan para funcionar a un intervalo de presión entre 0,5 kg/cm<sup>2</sup> y 2,0 kg/cm<sup>2</sup>. La nano y ultrafiltración de proteínas a dichas

bajas presiones es prácticamente desconocida debido a las dificultades prácticas en la obtención de cantidades eficaces de proteína dentro de límites de tiempo aceptables. La presente invención, por lo tanto, supera el problema de la técnica anterior con respecto al aislamiento y separación de pequeñas moléculas peptídicas.

5 El calostro se recoge después de su suministro a partir de un mamífero, y se enfría a una temperatura en el intervalo de -20 °C en 3 horas para conservar la actividad biológica de los nanopéptidos de la serie de Radha 108. Se tiene cuidado para conservar estos péptidos sensibles directamente desde la etapa de recolección mediante la provisión de bolsas de plástico no reactivas hechas a medida que ayudan en la recolección aséptica no reactiva de la leche del ternero. Debe instruirse de manera específica a los manipuladores y recolectores de la leche para la recolección para evitar cambios drásticos en los péptidos sensibles de tal forma que no pierdan su actividad. Después, el calostro se descongela gradualmente a temperatura ambiente durante una noche hasta elevar la temperatura de 4 a 5 °C y se bombea a un separador de nata para la retirada de las grasas a 4.000 rpm a 45 °C. Después se pasteuriza mediante el aumento de la temperatura a 72 °C durante 15 s seguido de enfriamiento a 48 °C. Posteriormente, el calostro se recibe en un tanque para queso y se trata con la enzima del cuajo durante 45-60 min para formar cuajada y el suero. El suero se enfría y se hace pasar a través de una serie de filtros hasta una nano y ultrafiltración de exclusión molecular a baja presión y temperatura para la separación de péptidos que tienen un peso molecular de menos de 10.000 Da. Después del proceso se tiene cuidado de ajustar el pH y mantenerlo constante en el intervalo de pH 4 a pH 6 para evitar la degradación y pérdida de actividad biológica de los péptidos de Radha 108. La fracción proteínica contiene péptidos de menos de 10.000 Da.

20 En otra realización de la presente invención se proporciona un método para tratar el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida o SIDA, comprendiendo el método administrar a un paciente que padece SIDA una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación que comprende los péptidos de la SEQ ID NO. 1-8.

25 Los péptidos de la presente invención bloquean los receptores GP120, 160, 180, 41 y otros sitios de receptores celulares mediante los cuales los antígenos/virus exógenos entran en las células inmunitarias y de otros tipos. Topográficamente, estos péptidos son similares en tamaño a los virus y cuando se acoplan a estos sitios receptores, imitan al virus/antígeno, limitando de este modo la entrada de los agentes infecciosos exógenos a través de la inhibición de unión competitiva. El producto también tiene un efecto similar a vacuna proporcionando memoria a las células B a nivel de célula madre y previniendo un brote futuro de la enfermedad.

30 En otra realización de la presente divulgación se proporciona un método para tratar la gripe porcina en mamíferos, comprendiendo el método administrar a un paciente que padece gripe porcina una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación que comprende péptidos de Radha 108.

35 En otra realización de la presente invención se proporciona un método para tratar trastornos inmunitarios incluyendo trastornos autoinmunitarios que comprende administrar a un paciente que padece dichos trastornos una dosificación/cantidad farmacéuticamente eficaz de la formulación que comprende péptidos de Radha 108.

40 La acción inmunomoduladora de los péptidos de Radha 108 se produce mediante la estimulación de la maduración de timocitos inmaduros en células T colaboradoras o supresoras, dependiendo de la necesidad del organismo. Las células T colaboradoras presentan antígenos (tales como proteínas víricas) a los linfocitos B, que producen anticuerpos para ese antígeno. Las células T colaboradoras también ayudan a producir células T de memoria, que retienen la memoria de un antígeno para acelerar la producción de anticuerpos en caso de que el antígeno vuelva a encontrarse en el futuro, creando memoria similar a las vacunas por primera vez en la historia del uso del calostro. Las células T supresoras, por otra parte, desactivan otros linfocitos después de que se haya eliminado una infección para evitar el daño a los tejidos sanos. Los péptidos de la presente invención también promueven el crecimiento y diferenciación de células B en respuesta a una infección y la diferenciación en maduración de macrófagos y monocitos. La actividad de los linfocitos citolíticos naturales del timo, células citotóxicas del sistema inmunitario innato, mediante los péptidos de la serie de Radha que atraviesan la BHE (barrera hematoencefálica), aumentó hasta 5 veces mediante los péptidos (Radha 108) de la presente invención.

45 Se sabe que los péptidos de la presente divulgación también modulan el sistema de citocinas. Estimulan la producción de una gran variedad de citocinas, incluyendo las citocinas proinflamatorias factor de necrosis tumoral - alfa (TNF-alfa) y gamma (INF), citocinas inflamatorias, interleucina (IL1, IL2, IL6, IL10, IL11, IL12) e inmunomoduladores.

50 Los péptidos de la presente divulgación son pequeños nanopéptidos que varían de 800 a 3.200 dalton y por lo tanto son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica, y de tratar infecciones víricas y trastornos neuronales en el cerebro mediante la señalización de la glándula hipófisis ubicada en el cerebro.

55 También actúan en las vías de señalización a través de la glándula hipófisis que envía señales al timo en la garganta y a células madre en la médula ósea, construyendo el sistema inmunitario del propio organismo de manera natural sin ayuda de cualquier otra medicación externa.

65

De acuerdo con otra realización de la presente invención se proporciona una formulación farmacéutica que comprende los péptidos de la presente invención como ingrediente farmacéutico activo (API) y excipientes farmacéuticamente aceptables. Opcionalmente, la formulación comprende además polipéptidos ricos en prolina o PRP, hallados comúnmente en el calostro como principio activo adicional. La formulación se usa para el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades, tales como trastornos víricos, bacterianos, micobacterianos, fúngicos, parasíticos, inmunitarios, incluyendo trastornos autoinmunitarios, etc.

De acuerdo con otra realización de la presente divulgación se proporciona un método para tratar una persona que padece trastornos relacionados con la inmunidad, comprendiendo el método administrar una dosis de formulación que comprende el péptido de la presente invención en el intervalo de 2 ml a 5 ml en un pulverizador desde el interior de la boca sobre la mucosa bucal o sobre cualquier otra superficie de la piel del cuerpo o la cavidad nasal (4 veces al día).

De acuerdo con otra realización de la presente divulgación la formulación puede aplicarse por vía tópica o como un parche cutáneo/transdérmico o por la vía nasal o intravenosa.

Se sabe que la formulación de la presente divulgación cura aproximadamente 108 enfermedades que incluyen SIDA, alergias, Alzheimer, hiperplasia benigna de próstata, cáncer, hipertensión, lupus, candidiasis, autismo, enfermedad de Perth, síndrome premenstrual y endometriosis, enfermedad priónica, psoriasis, síndrome de Sjogren, atrofia muscular espinal, trombocitopenia, quemaduras, infección, mordeduras de insecto, dermatitis por pañal, lesiones herpéticas, enfermedad de Perther, faringitis, porfiria, fenómeno de Raynaud, sarcoidosis, enfermedad celiaca, pancitopenia crónica, enfermedad de Crohn, diabetes de tipo II, fibromialgia reumática, mononucleosis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, artrosis, atrofia muscular espinal, picadura de la araña reclusa parda, regeneración corneal, diarrea, síndrome de Guillain Barre, anemia hemolítica, púrpura trombocitopénica idiopática, miastenia grave, lupus, tuberculosis, VIH, hepatitis A y C, rabia en perros, infecciones víricas agudas, fiebre del Dengue, papilomavirus humano, parvovirus, faringitis, rabia, SARS, herpes zoster, infección respiratoria vírica, verrugas plantares, resfriados y gripe, linfoma y herpes simple I y II, curación de heridas, formación de densidad ósea y elasticidad de la piel, factores de crecimiento insulínico, antiedad, etc.

Los beneficios para la salud adicionales de la serie 108 de Radha incluyen anabólicos, antiedad, antifúngicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, de la asimilación, rendimiento atlético, musculación, densidad ósea, potenciación de citocinas, digestión, factores de crecimiento epiteliales, potenciación de la flora beneficiosa, factores de crecimiento insulínicos, refuerzo de la inmunidad, inmunoglobulinas, interferón, interleucinas, permeabilidad intestinas, lactoferrina, MSM, tonificación muscular, elasticidad de la piel, estamina, factores de crecimiento transformante, curación de heridas y pérdida de peso para los obesos.

A continuación la invención se describirá con la ayuda del ejemplo proporcionado en el presente documento.

### Ejemplo

Se identificó el ganado gestante de varias manadas por todo el distrito Kheda de Amul de Anand en Gujarat, India, mediante sistemas de almacenamiento de registros informáticos de Amul Dairy. El calostro obtenido del ganado se recogió y almacenó justo después de su obtención en vasos de recogida asépticos de temperatura controlada a una temperatura de 4 °C para conservar la actividad biológica de los péptidos. Se congeló a -20 °C hasta su posterior procesado. Para la separación de los péptidos de la presente invención, se descongeló gradualmente el calostro a temperatura ambiente durante una noche para aumentar la temperatura hasta 4 a 5 °C. Después se bombeó al separador de nata para la retirada de las grasas a 4.000 rpm a 45 °C. Esto fue seguido de pasteurización a la temperatura de 72 °C durante 15 s seguido de enfriamiento a 48 °C y la recepción del calostro pasteurizado en el tanque de queso. Se añadió la enzima del cuajo al tanque de queso y se dejó reaccionar durante 60 min tras los cuales se separó la cuajada formada del suero del calostro. El suero se enfrió a de 4 a 10 °C. Después se hizo pasar a través de una serie de filtros para retirar los sólidos suspendidos y la carga microbiana durante todo el camino hasta la nano y ultrafiltración de exclusión molecular para la separación de los péptidos que tenían un peso molecular de menos de 10 kDa para obtener los péptidos de la presente invención en una mezcla junto con la serie 108 de Radha y los PRP presentes en el calostro. Durante el proceso, se lleva a cabo la diafiltración mediante la adición de un 10 % de agua purificada al tamaño total del lote. Se verificó la presencia de los péptidos de la SEQ ID NO. 1-8 usando técnicas de HPLC.

Se añadieron conservantes a la fracción obtenida después de la ultrafiltración y el pH se ajustó entre 4 y 6. La formulación se proporcionó en forma de pulverizador para probar su eficacia en un ensayo en humanos.

Los pacientes a los que se les administró la formulación que comprende los péptidos de la presente invención no se habían expuesto antes ni tampoco estaban tomando cualquier otro fármaco, especialmente cualquier terapia antirretroviral y antibiótica en el momento de la administración del fármaco. Por lo tanto, la formulación de la presente invención puede usarse de manera eficaz como terapia única.

Los criterios de valoración aprobados por la OMS para evaluar el uso terapéutico de la formulación de la presente invención se analizaron científicamente mediante el estudio patrocinado y controlado por el gobierno indio en dos conjuntos de pacientes en el hospital municipal de cuidado terciario LTMMC y LTMG en Sion, Mumbai con el análisis de criterios de valoración de ganancia de peso y síntomas clínicos llevado a cabo en el Sion Hospital y efectuándose los virológicos (carga vírica) e inmunológicos (análisis de recuento de CD4 absoluto) en dos centros reconocidos internacionalmente (Institute of Immunohaematology, Indian Council of Medical Research Institute en Mumbai y Metropolis Central Laboratory en Mumbai India, que tienen la aprobación por parte de la USA pathological association y la acreditación del NABL, Department of Science and Technology Gobierno de India.

El análisis estadístico en estos dos conjuntos de estudios se llevó a cabo en el principal instituto médico de investigación en India; All India Institute of Medical Sciences Nueva Delhi.

A. Inicialmente, se evalúa a 50 participantes en la clínica una vez a la semana durante las primeras cuatro semanas de tratamiento y después cada dos semanas durante las ocho semanas restantes del estudio. Se les evaluó respecto de síntomas clínicos y físicos mediante un formulario de evaluación de síntomas, un examen físico, efectos secundarios del tratamiento y cumplimiento con el fármaco en las visitas de seguimiento. Se efectuaron pruebas sanguíneas para medir el recuento de células CD4, la carga vírica de VIH, hemoglobina, el recuento de glóbulos blancos de la sangre, pruebas de la función hepática y pruebas de la función renal iniciales y al final de las 12 semanas de estudio.

Se analizaron los recuentos de células CD4 y CD8 mediante citometría de flujo y la carga vírica mediante reacción en cadena de la polimerasa al comienzo y al final de las 12 semanas.

Los criterios de valoración de eficacia primaria del estudio fueron el efecto de esta terapia en los marcadores de enfermedad de VIH incluyendo los síntomas clínicos y los hallazgos físicos, la ganancia/pérdida de peso junto con el bienestar general de los pacientes y la carga vírica del VIH y el recuento de células CD4, que mostraron resultados consistentemente positivos en ambos ensayos llevados a cabo desde 2005 en adelante.

Aumento de peso: se observó un aumento de peso consistente en todos los pacientes en las visitas de seguimiento, lo que fue uno de los criterios de valoración primarios (Tabla 1). El promedio de ganancia de peso después de 12 semanas de tratamiento fue de 4,73 kg por paciente, lo que es estadísticamente altamente significativo ( $p < 0,001$ ).

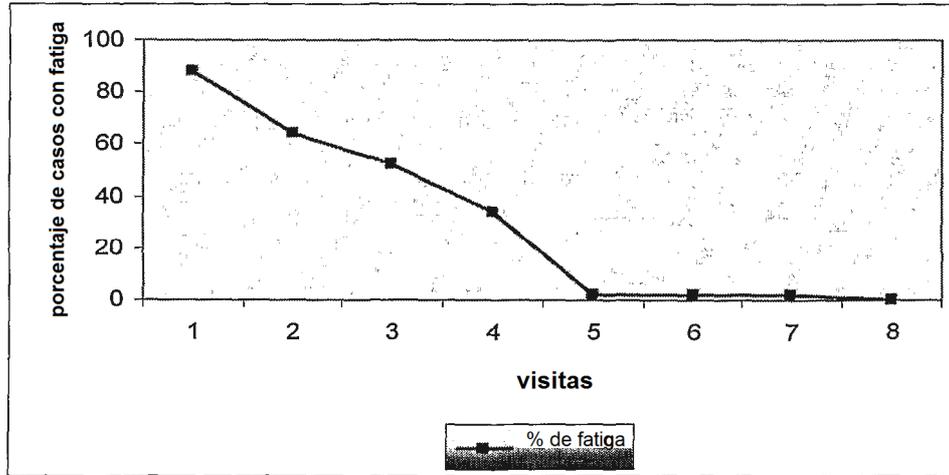
Tabla 1: cambios en el peso medio después del tratamiento

Duración en semanas	Peso medio (N = 50)
basal	50,48 ± 10,97
2	50,77 ± 11,26
3	51,38 ± 10,94
4	52,33 ± 10,73
6	53,89 ± 11,17
8	54,59 ± 10,89
10	55,44 ± 11,07
12	55,21 ± 9,42

Parámetros clínicos: todos los síntomas clínicos desaparecieron durante las 12 semanas de tratamiento. Estas reducciones son estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

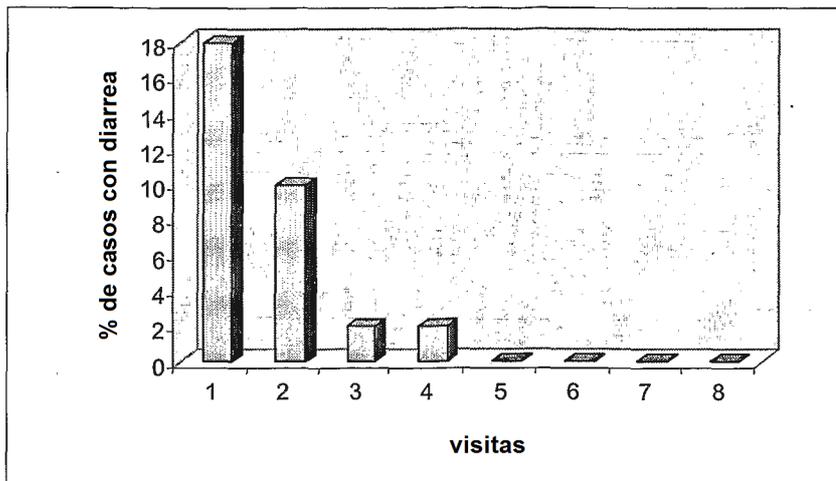
Fatiga / malestar: el 88 % de los casos de estudio totales tenían síntomas de fatiga inicialmente. Después del tratamiento al final de la 2ª semana la proporción de síntomas de fatiga tenía una reducción significativa respecto de la inicial. Después de la 6ª semana en adelante solo uno o dos pacientes tenían fatiga (Figura 1).

Figura 1: porcentaje de casos con fatiga/malestar después del tratamiento



5 Diarrea: 18 % de los casos de estudio totales tenían diarrea inicialmente y después del tratamiento a partir de la 5ª semana en adelante todos los pacientes se habían curado de la diarrea (Figura 2).

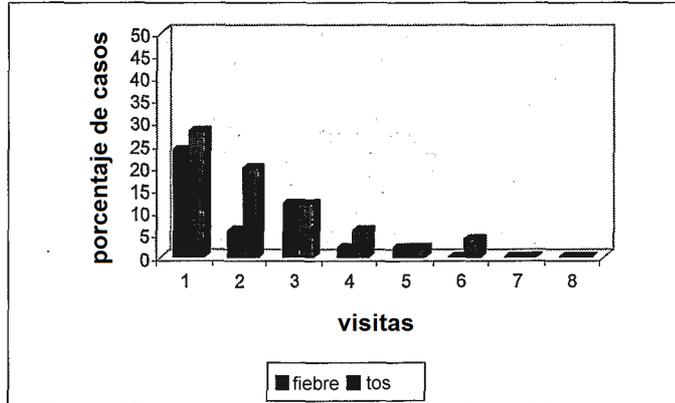
Figura 2: porcentaje de casos con diarrea después del tratamiento



10 Fiebre: se comunicó fiebre en un 24 % de los casos de estudio totales inicialmente y a partir de la 7ª semana en adelante ningún paciente tenía fiebre iniciándose un descenso significativo en la 4ª semana en adelante. Tos: el 28 % de los casos de estudio totales tenían un síntoma de tos inicialmente que se redujo significativamente a partir de la 3ª semana en adelante y todos mejoraron en la 10ª semana en adelante (Figura 3).

15

Figura 3: porcentaje de casos con fiebre/tos después de la terapia

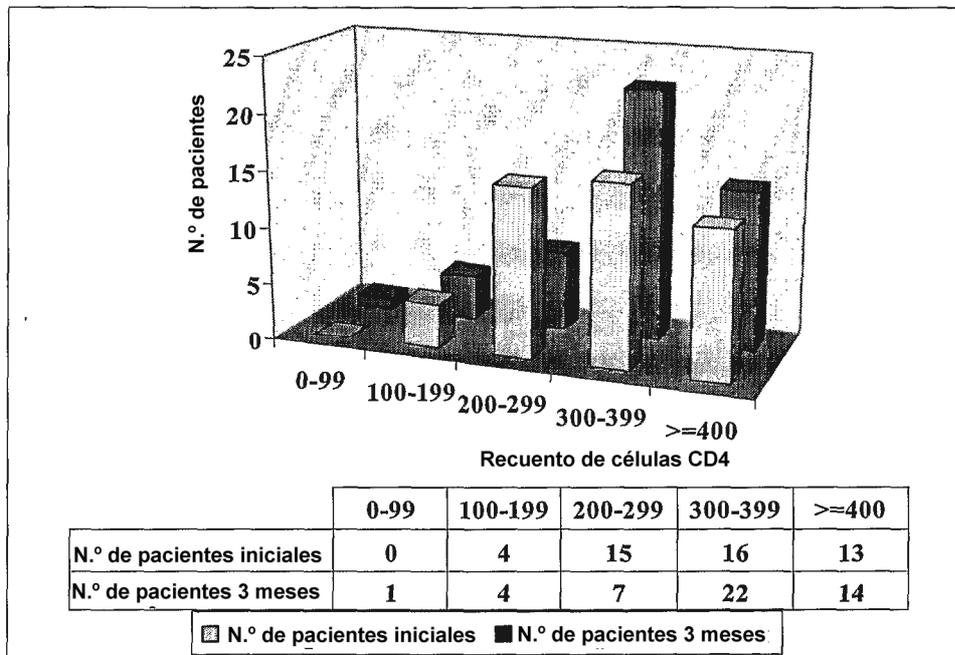


5 Erupción cutánea y herpes zoster: el 14 % y el 12 % de los casos totales de estudio tenían erupción cutánea y herpes zoster inicialmente, respectivamente, y a partir de la 4ª semana en adelante ningún paciente había padecido erupción cutánea.

10 De manera similar, las náuseas, vómitos y las alteraciones del sueño mejoraron de manera significativa durante la terapia con la formulación de la presente invención.

15 Recuento de células CD4 absoluto y carga vírica de VIH: el recuento de células CD4 estaba disponible para 48 pacientes con valores previos y después del tratamiento. Hubo un aumento en el recuento de CD4 de media de 51 (la mediana de recuentos de células CD4 de 312 a 363). Esto tiene una significación estadística límite ( $p = 0,06$ ). 30 de 48 (62,5 %) de los pacientes mostraron un aumento en el recuento de CD4 y 18 pacientes (37,5 %) mostraron una reducción en el recuento de células CD4. El intervalo de recuento de células CD4 con el número de pacientes inicial y al final del estudio se muestra en la Figura 4.

Figura 4: número de pacientes iniciales y al final del tratamiento con intervalo de recuento de células CD4



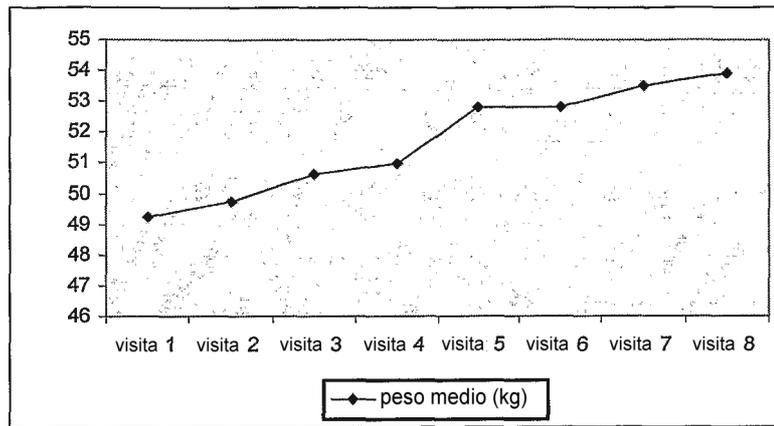
20

El logaritmo de la carga vírica media de VIH se redujo de manera estadísticamente significativa de 4,63 a 4,18 después de 12 semanas de tratamiento ( $p = 0,03$ ). También se observa una tendencia similar en la mediana de la carga vírica antes del tratamiento y después del tratamiento (de 92.458 frente a 25.332,  $p < 0,001$ ).

5 B. Se llevó a cabo otro estudio con 51 pacientes VIH positivos mediante la administración de la formulación que comprende los péptidos de la presente invención durante doce semanas. Los resultados obtenidos son los siguientes:

10 Aumento de peso: el peso controlado en cada visita mostró un aumento significativo en los 51 pacientes de VIH con una media de aumento de peso de  $4,68 \pm 1,9$  kg después de 12 semanas (Figura 5).

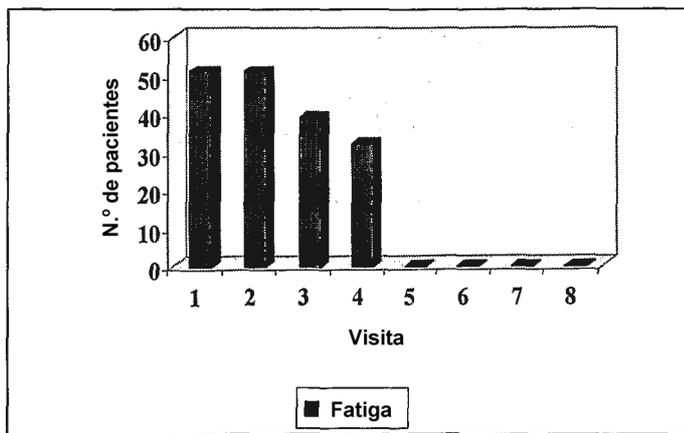
**Figura 5: peso medio en kilogramos durante la terapia**



15 Parámetros clínicos: todos los síntomas clínicos habían desaparecido durante las 12 semanas de tratamiento (la mayoría de ellos habían desaparecido en 3 semanas). Estas reducciones son estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

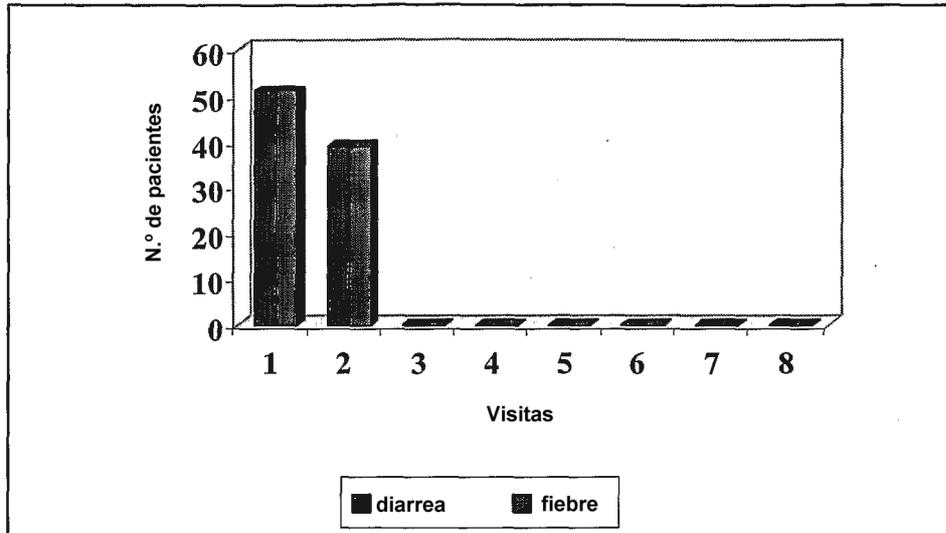
20 Fatiga/malestar: el 100 % de los casos de estudio totales tenían síntomas de fatiga inicialmente. Después del tratamiento y al final de la 2ª semana la proporción de síntomas de fatiga se había reducido significativamente respecto del inicial. Después de la 6ª semana en adelante todos los pacientes se habían aliviado de la fatiga (Figura 6).

**Figura 6: número de pacientes con fatiga/malestar después de la terapia**



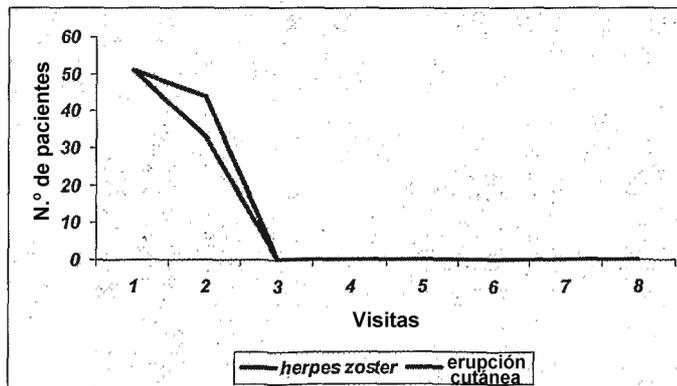
25 Fiebre y diarrea: el 100 % de los casos de estudio totales tenían fiebre y diarrea inicialmente y después del tratamiento a partir de la 3ª semana en adelante. Todos los pacientes se aliviaron de la diarrea y la fiebre (Figura 7).

Figura 7: número de pacientes con fiebre/diarrea con terapia



5 Erupción cutánea y herpes zoster: todos los pacientes tenían erupción cutánea y herpes zoster asociado con el VIH inicialmente y se volvieron asintomáticos después de la 3ª semana en adelante con el tratamiento. (Figura 8).

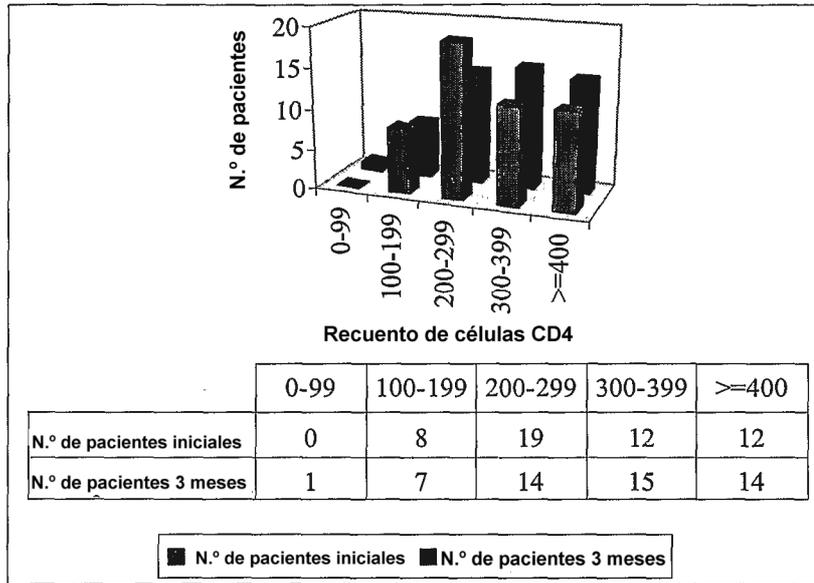
Figura 8: número de pacientes que tienen erupción cutánea y herpes zoster asociado al VIH después de la terapia



10 Se observó una mejora similar en las náuseas, vómitos, tos y alteraciones del sueño y todos los pacientes se volvieron asintomáticos a partir de la 3ª semana en adelante.

15 Recuento absoluto de células CD4: estaba disponible el recuento de células CD4 para todos los 51 pacientes con valores previos y después del tratamiento. Hubo un aumento en el recuento de CD4 de media en 27 (mediana de recuentos de células CD4 de 276 a 305). Este valor es estadísticamente significativo ( $p = 0,042$ ). El intervalo de recuento de células CD4 con el número de pacientes iniciales y al final del estudio se muestra en la Figura 9.

Figura 9: número de pacientes e intervalo de recuento de células CD4



5 Carga vírica de VIH: después de 12 semanas de tratamiento con la serie 108 de RADHA, y al final del estudio la carga vírica media mostró una reducción significativa ( $p < 0,001$ ) respecto de la inicial.

Efectos secundarios: todos los pacientes toleraron bien la formulación de la presente invención sin efectos secundarios.

10 C. El resultado de los análisis estadísticos del estudio llevados a cabo en 50 pacientes VIH positivos es el siguiente:

Sr. No.	Parámetro	Antes	Después de 12 semanas	Valor de P
<b>I. Físicos (N=50)</b>				
1.	Peso	50,48 (10,97)	55,21 (9,42)	<0,001
<b>II. Síntomas clínicos (N=50)</b>				
1.	Fatiga	44 (88 %)	0 (0 %)	<0,001
2.	Diarrea	9 (18,0 %)	0 (0 %)	0,004
3.	Náuseas	8 (16 %)	0 (0 %)	0,008
4.	Vómitos	7 (14 %)	0 (0 %)	0,02
5.	Fiebre	12 (24 %)	0 (0 %)	<0,001
6.	Tos	14 (28 %)	0 (0 %)	<0,001
7.	TB	6 (12 %)	0 (0 %)	0,03
8.	Alteraciones del sueño	13 (26 %)	0 (0 %)	<0,001
9.	Erupción cutánea	7 (14 %)	0 (0 %)	0,02
10.	Herpes Zoster	6 (12 %)	0 (0 %)	0,03
<b>III. Viroológicos</b>				
1.	Log de ARN de VIH-I, n=34	5,11 (0,090) 206057	4,103(1,32)	<0,001
	Mediana de ARN de VIH-I	62884	25280	<0,001
	Percentil 25º	508038	1665	
	Percentil 75º		87511	
<b>IV. Inmunológicos</b>				
1.	Recuento de CD4 (N=48)	312,5	363,5	0,06
	Mediana	275,5	294,2	
	Percentil 25º	430	435	
	Percentil 75º			

Estos resultados demuestran que la formulación que contiene el nanopéptido de la presente invención es un fármaco eficaz y seguro para aumentar el peso y el bienestar general de pacientes con una reducción en la carga vírica y un aumento en el recuento de células CD4. Por lo tanto, los péptidos de la presente invención son prometedores como ingredientes farmacéuticos activos para el tratamiento de pacientes de VIH entre todos los grupos de edades.

Los péptidos de la serie 108 de Radha de la presente invención son activos en el tratamiento de varias enfermedades y afecciones tal como se ha explicado anteriormente.

10 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Saharan, Pawan

<120> Nanopéptidos derivados de calostro de mamífero para infecciones víricas y recurrentes de amplio espectro con un método de aislamiento del mismo

<130> Calostro

<140> 1353/MUM/2008

<141> 27-12-2008

<160> 8

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> *Bos taurus*

<400> 1

Glu Leu Val Pro Gly Val Pro Arg Gly Thr Gln Leu  
 1 5 10

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> *Bos taurus*

<400> 2

Val Ala Ile Ile Gln His Met Ile Lys Lys Leu Arg  
 1 5 10

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> *Bos taurus*

<400> 3

Leu Pro Gln Gln Val Leu Asn Gln Asn Leu Leu Arg Phe  
 1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> *Bos taurus*

<400> 4

ES 2 605 173 T3

Arg Leu Asn Ala Arg Met Ala Glu Leu Arg  
1 5 10

5 <210> 5  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<400> 5

Ser Ser Leu Gln Val Leu Asn Met Ser His Asn

10 1 5 10 —

15 <210> 6  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Bos taurus*  
<400> 6

Glu Tyr Gln Glu Leu Met Asn Val Lys  
1 5

20 <210> 7  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> *Bos taurus*  
25 <400> 7

Val Asp Thr Leu Asn Asp Glu Ile Asn Phe Leu Arg  
1 5 10

30 <210> 8  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> virus de la enfermedad similar a Yaba  
35 <400> 8

Asp Gly Ile Val Asn Glu Asn Leu Ala Glu Arg  
1 5 10

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una formulación que comprende una mezcla de péptidos aislados del calostro de mamíferos o péptidos sintéticos que tienen un peso molecular de menos de 10.000 Da, en donde la mezcla comprende cada uno de los péptidos que tienen secuencias tal como se expone en las SEQ ID NO. 1-8 que funcionan para modular la inmunidad celular y que proporcionan inhibición de unión para antígenos/virus exógenos sobre los receptores de la superficie celular.
- 10 2. La formulación según la reivindicación 1 en la que la formulación comprende entre un 0,1 % a un 1 % en volumen de los péptidos.
3. La formulación según la reivindicación 1 que además comprende excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 15 4. La formulación según la reivindicación 1 que además comprende péptidos aislados de calostro de mamíferos y que tienen un peso molecular de menos de 10.000 Da.
5. La formulación según la reivindicación 1 formulada para ser aplicada por vía tópica, en forma de un parche dérmico para la piel, en forma de un pulverizador para la piel o en forma de una solución nasal o intravenosa.
- 20 6. La formulación como se ha definido en la reivindicación 1 para su uso como ingrediente farmacéutico activo.
7. La formulación como se ha definido en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de un trastorno inmunitario.
- 25 8. La formulación para su uso según la reivindicación 7, en donde el trastorno inmune es el síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA.
9. La formulación para su uso según la reivindicación 7 o la reivindicación 8, en donde el trastorno inmunitario se trata mediante la administración de la formulación tal como se ha definido en la reivindicación 1 en una cantidad de 2 ml a 5 ml, cuatro veces al día.
- 30 10. Uso de una formulación como se ha definido en la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inmunitario.
- 35 11. Uso según la reivindicación 10, en donde el trastorno inmunitario se trata mediante la administración de la formulación como se ha definido en la reivindicación 1 en una cantidad de 2 ml a 5 ml, cuatro veces al día.
- 40 12. Un proceso para aislar una mezcla de péptidos procedentes del calostro de mamífero que tienen un peso molecular de menos de 10.000 Da, en donde la mezcla comprende cada uno de los péptidos que tienen secuencias tal como se exponen en las SEQ ID NO. 1-8 que funcionan para modular la inmunidad celular y que proporcionan inhibición de unión para antígenos/virus exógenos sobre los receptores de la superficie celular, en donde el proceso comprende las etapas de:
- 45 a. congelar el calostro recogido después de su obtención de un mamífero a una temperatura de -20 °C en 3 horas;
- b. descongelar a temperatura ambiente para aumentar la temperatura hasta 4 a 5 °C;
- c. separar la grasa bombeando a un separador de nata a 4.000 rpm a 45 °C;
- d. pasteurizar y tratar con enzimas para obtener cuajada y suero de calostro;
- 50 e. hacer pasar el suero a través de una serie de filtros para retirar los sólidos suspendidos y reducir la carga microbiana;
- f. hacer pasar el suero obtenido de la etapa (e) a través de ultrafiltración para obtener secuencias de aminoácidos que tienen un peso molecular de menos de 10.000 Da; en donde la ultrafiltración se efectúa a una presión de menos de 5 kg/cm<sup>2</sup> y baja temperatura para conservar las secuencias de aminoácidos; y
- 55 g. ajustar el pH y mantenerlo constante en el intervalo de pH 4 a pH 6.
13. El proceso según la reivindicación 12 en el que la ultrafiltración se lleva a cabo a una presión en el intervalo de 0,5 kg/cm<sup>2</sup> a 4 kg/cm<sup>2</sup>.
- 60 14. El proceso según la reivindicación 12 en el que la ultrafiltración se lleva a cabo a una presión de 2,0 kg/cm<sup>2</sup>.
15. El proceso según la reivindicación 12 en el que la mezcla de péptidos tiene un peso molecular menor de 3.500 Da.
- 65 16. La formulación según la reivindicación 1 en la que la mezcla de péptidos es una mezcla de péptidos aislados a partir de calostro de mamífero que se puede obtener mediante un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15.

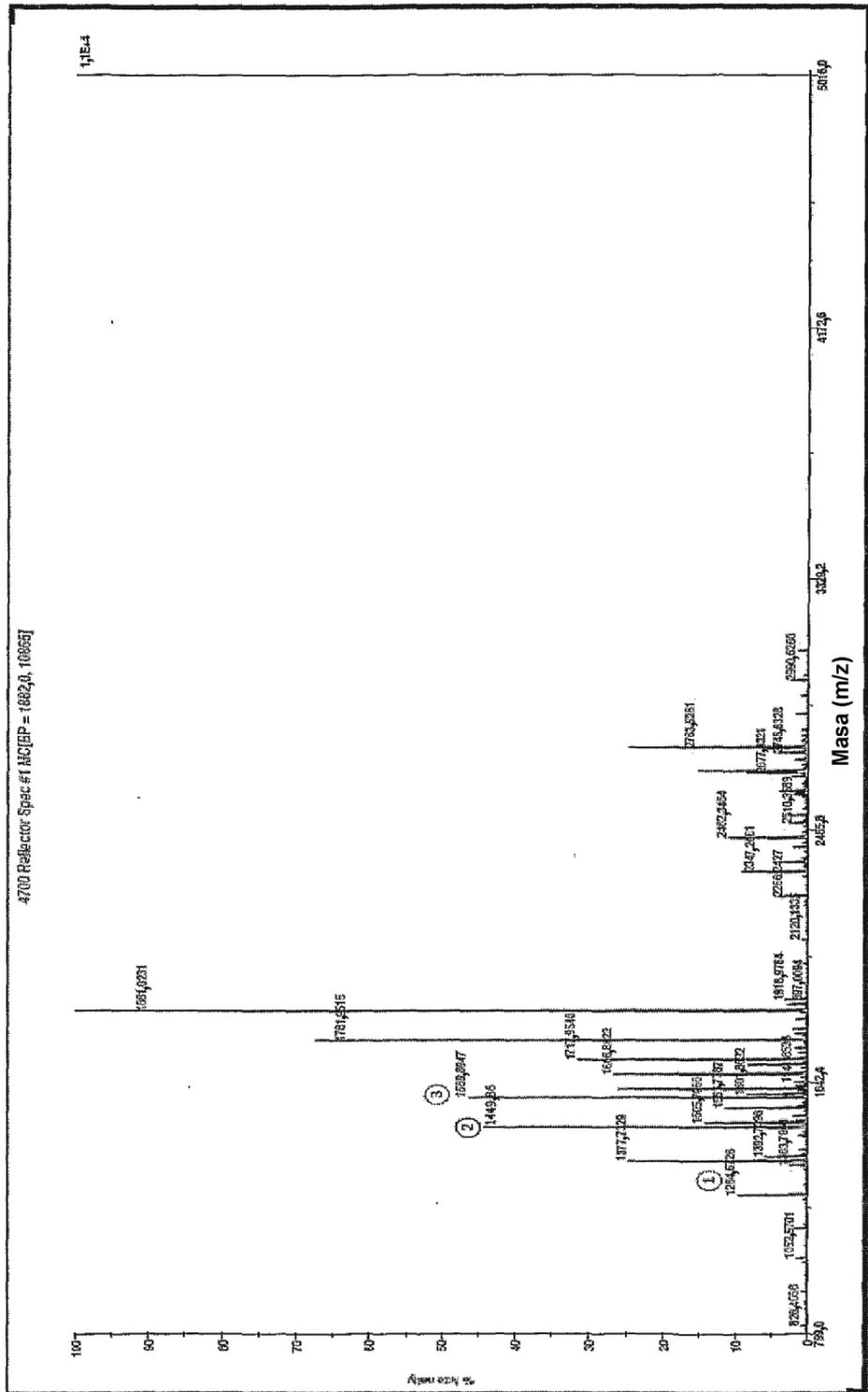


Fig 1