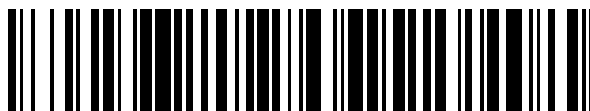


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 627 960**

51 Int. Cl.:

C07K 14/435 (2006.01)

C07K 14/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.11.2010 PCT/EP2010/068302**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2012 WO12069089**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2010 E 10784307 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.03.2017 EP 2643344**

54 Título: **Péptido derivado de lactoferrina humana para su uso como agente de enmascaramiento de antígenos**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.08.2017

73 Titular/es:

**EVONIK RÖHM GMBH (100.0%)
Kirschenallee 45
64293 Darmstadt, DE**

72 Inventor/es:

**HARTWIG, BENEDIKT;
TOME ALCALDE, JUAN;
WINDHAB, NORBERT;
ANSUATEGUI PANZANO, MARÍA DEL PILAR y
VARA CARRERA, MATÍAS JAVIER**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 627 960 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

Péptido derivado de lactoferrina humana para su uso como agente de enmascaramiento de antígenos

Antecedentes técnicos

5 Conocimiento general sobre la inmunoglobulina G: La inmunoglobulina G (IgG) son moléculas de anticuerpo. IgG es la inmunoglobulina más abundante y se distribuye aproximadamente de manera igual en sangre y en fluidos tisulares, constituyendo la porción principal de inmunoglobulinas séricas en animales mamíferos y en seres humanos. Las moléculas de IgG son sintetizadas y secretadas por linfocitos B plasmáticos.

10 Los anticuerpos IgG están implicados predominantemente en la respuesta inmunitaria secundaria. La presencia de IgG específica se corresponde generalmente con la maduración de la respuesta a anticuerpos. IgG es el único isotipo de anticuerpo que puede pasar a través de la placenta humana, proporcionando así protección al feto en el útero. Junto con la IgA secretada en la leche materna, la IgG residual absorbida a través de la placenta proporciona al recién nacido inmunidad humoral antes de que se desarrolle su propio sistema inmunitario.

15 La IgG puede unirse a muchos tipos de patógenos, por ejemplo virus, bacterias y hongos, y protege al cuerpo contra ellos mediante aglutinación e inmovilización, activación de complemento (vía clásica), opsonización para fagocitosis y/o neutralización de sus toxinas. También desempeña una función importante en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC).

20 Las IgG de mamífero que generan respuestas inmunitarias están fuertemente conectadas con otras y cascadas de respuesta inmunitaria y vías de señalización. De esta manera los motivos y receptores de haptenos o inmunógenos, y familias de receptores, se correlacionan y regulan en muchas formas conocidas y desconocidas en individuos mamíferos, individualmente.

Es por esto que cualquier agente biológicamente activo introducido como un agente terapéutico puede introducir respuesta inmunitaria, deseada y no deseada, incluso después de muchas dosificaciones individuales.

25 El documento WO 2007/048599 describe sistemas de administración de fármacos en partículas basados en un vehículo polimérico, caracterizados por que al menos una sustancia señal para el transporte a través de una barrera biológica y al menos un principio activo están incluidos, no mostrando el vehículo, la sustancia señal y principio activo enlaces covalentes entre sí. La sustancia señal es lactoferrina o un péptido derivado de la lactoferrina.

En una realización particularmente preferida, un péptido señal está seleccionado del grupo de péptidos que tiene una secuencia de aminoácidos

30 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIQR (SEQ ID NO: 3 en el documento WO 2007/048599),

CFQWQRNMRKVRGPPVSC (SEQ ID NO: 4 en el documento WO 2007/048599),

FQWQRNMRKVRGPPVS (SEQ ID NO: 5 en el documento WO 2007/048599),

FQWQRNMRKVR (SEQ ID NO: 6 en el documento WO 2007/048599),

KCRRWQWRMCKLKGAPSITCVRR (SEQ ID NO: 29 en el documento WO 2007/048599) y

CRRWQWRMCKLKGAPSITC (SEQ ID NO: 30 en el documento WO 2007/048599)

35 o un derivado de las mismas.

40 En una realización preferida, los péptidos penetradores de células del documento WO 2007/048599 comprenden una secuencia de aminoácidos como se muestra en el documento WO 2007/048599 en SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 29 o SEQ ID NO: 30 o una secuencia correspondiente con una identidad de al menos el 40 %, preferentemente de al menos el 50 %, particularmente preferentemente con una identidad superior al 75 % o mejor superior al 90 %.

El documento WO 2007/076904A1 describe un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende al menos 8 aminoácidos consecutivos de la proteína lactoferrina humana o de la proteína lactoferrina bovina, por el cual el péptido es adecuado para actuar de péptido penetrador de células. Muchos de los péptidos mencionados en los documentos WO 2007/076904A1 y WO 2007/048599 son idénticos.

45 El péptido penetrador de células más prometedor en el documento WO 2007/076904A1 con los mejores efectos en los ejemplos es KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIQR (SEQ ID NO: 3 en el documento WO 2007/076904A1, SEQ ID NO: 1 en el presente documento).

Los péptidos penetradores de células derivados de lactoferrina pretenden permitir el transporte de moléculas de carga, que son principios activos tales como ADN, ARN, péptidos o antígenos para vacunación, que pueden ser

ingeridos por vía oral, a través de las membranas biológicas y así permitir una captación eficiente de estas moléculas en el organismo humano o animal.

Problema y solución

5 Cuando una sustancia activa biológica que se administra a un organismo mamífero con el fin de curar una enfermedad induce una respuesta inmunitaria no deseada, esto puede volverse un serio problema, cuando la misma sustancia activa biológica tenga que administrarse más adelante a ese cierto organismo una vez más.

10 Era un objetivo de la presente invención encontrar un agente de enmascaramiento de antígenos que pudiera usarse como un adyuvante o como un excipiente en la producción de una composición farmacéutica para la administración de una sustancia activa biológica en un organismo mamífero, donde la sustancia activa biológica es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada por el organismo mamífero, con el efecto de que después de la administración de la composición farmacéutica al organismo mamífero, no haya o solo haya una inducción disminuida de la respuesta inmunitaria no deseada contra la sustancia activa biológica.

El problema se resuelve por

15 un péptido derivado de lactoferrina humana para su uso como un agente de enmascaramiento de antígenos en la producción de una composición farmacéutica para la administración de una sustancia activa biológica en un organismo mamífero, donde la sustancia activa biológica es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada por el organismo mamífero, donde la composición farmacéutica comprende un agregado supramolecular de la sustancia activa biológica y el péptido derivado de lactoferrina humana,

20 con el efecto de que después de la administración de la composición farmacéutica al organismo mamífero, no hay o solo hay una inducción disminuida de la respuesta inmunitaria no deseada contra la sustancia activa biológica,

por el cual péptido derivado de lactoferrina humana es un péptido con una longitud de 19 a 30 aminoácidos e incluye una secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1 KCFWQRNMRKVRGPPVSCIKR o una secuencia que es al menos el 90 % homóloga a la secuencia SEQ ID NO: 1 y

25 por el cual la sustancia activa biológica está seleccionada del grupo de proteínas activas biológicas o péptidos activos biológicos, antisueros o anticuerpos policlonales o monoclonales,

donde una respuesta inmunitaria no deseada por un organismo mamífero se define como la respuesta del sistema inmunitario por la producción de anticuerpos contra una sustancia activa biológica que se administra a un organismo mamífero con el fin de ejercer un efecto terapéutico beneficioso deseado que es diferente de una respuesta inmunitaria o en el que la respuesta inmunitaria es un efecto secundario no deseado.

30 Detalles de la invención

La invención se refiere a

35 un péptido derivado de lactoferrina humana para su uso como un agente de enmascaramiento de antígenos en la producción de una composición farmacéutica para la administración de una sustancia activa biológica en un organismo mamífero, donde la sustancia activa biológica es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada por el organismo mamífero, donde la composición farmacéutica comprende un agregado supramolecular de la sustancia activa biológica y el péptido derivado de lactoferrina humana,

con el efecto de que después de la administración de la composición farmacéutica al organismo mamífero, no hay o solo hay una inducción disminuida de la respuesta inmunitaria no deseada contra la sustancia activa biológica,

40 por el cual el péptido derivado de lactoferrina humana es un péptido con una longitud de 19 a 30 aminoácidos e incluye una secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1 KCFWQRNMRKVRGPPVSCIKR o una secuencia que es al menos el 90 % homóloga a la secuencia SEQ ID NO: 1 y

por el cual la sustancia activa biológica está seleccionada del grupo de proteínas activas biológicas o péptidos activos biológicos, antisueros o anticuerpos policlonales o monoclonales,

45 donde una respuesta inmunitaria no deseada por un organismo mamífero se define como la respuesta del sistema inmunitario por la producción de anticuerpos contra una sustancia activa biológica que se administra a un organismo mamífero con el fin de ejercer un efecto terapéutico beneficioso deseado que es diferente de una respuesta inmunitaria o en el que la respuesta inmunitaria es un efecto secundario no deseado.

Como el péptido derivado de lactoferrina humana se deriva de lactoferrina humana, no es inmunogénico para el sistema inmunogénico humano.

50 Sorprendentemente, el péptido derivado de lactoferrina humana no es, o solo a un menor grado, inmunogénico para el sistema inmunogénico de animales mamíferos, preferiblemente para animales de producción o para animales

domésticos, como, por ejemplo, cerdos, ovejas, vacas o perros usados como especies modelo en el desarrollo de fármacos, aunque las secuencias no están genéticamente conservadas. Así, los beneficios de la presente invención no están limitados a la aplicación en el hombre, sino que también pueden aplicarse a aplicaciones veterinarias y al desarrollo de terapias humanas usando modelos animales.

5 Péptido derivado de lactoferrina humana

El péptido derivado de lactoferrina humana es un péptido con longitud de 19 a 30 aminoácidos.

El péptido derivado de lactoferrina humana es un péptido con una longitud de 19 a 30 aminoácidos e incluye una secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR o una secuencia que es al menos el 90, 95 o el 98 % homologa a la secuencia SEQ ID NO: 1.

10 El péptido derivado de lactoferrina humana es un péptido con una secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR o una secuencia que es al menos el 90, 95 o el 98 % homologa a esa secuencia.

Lo más preferentemente, el péptido derivado de lactoferrina humana es al menos el 90, 95 o el 98 % homólogo a la secuencia SEQ ID NO: 1 y donde los restos de cisteína en las posiciones 2 y 19 están presentes. Preferentemente, los restos de cisteína están presentes en forma oxidada, formando un puente Cys-Cys interno.

15 Puede incluirse cualquier modificación química estándar adicional usada en la síntesis de péptidos GMP tal como N-acetilación, acilación, metilación, bencilación, C-amidación, esterificación, ésteres globales del extremo C, modificaciones de aminoácidos isostéricos y aminoácidos no naturales tales como tiofenilo-alanina o cicloprolina-alanina o cualquier otra sustitución de aminoácido con esqueleto de amida, éster o éter.

20 Sin embargo, se prefiere que, excepto por la formación del puente Cys-Cys interno, el péptido derivado de lactoferrina humana no muestre modificaciones químicas adicionales.

Sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada por un organismo mamífero

25 Una sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada por un organismo mamífero normalmente está comprendida o contenida en una forma farmacéutica o en una preparación farmacéutica.

Las sustancias biológicas activas que pretenden ser usadas para inducir una respuesta inmunitaria deseada por el organismo mamífero, por ejemplo la mayoría de las vacunas, no están bajo el alcance de la definición "respuesta inmunitaria no deseada".

30 La sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada por el organismo mamífero está seleccionada del grupo de proteínas biológicas activas o péptidos biológicos activos, anticuerpos policlonales o monoclonales. También se deben nombrar proteínas recombinantes que proporcionan otros "receptores solubles" o "aglutinantes de receptores solubles" o proteínas recombinantes modificadas como entidades (PEG)-iladas de polietilenglicol, además de agentes terapéuticos con el riesgo de inmunogenicidad como efecto secundario no deseado que incluyen moléculas pequeñas donde tal riesgo es conocido o es potencialmente relevante como antibióticos, fármacos péptidos y peptidomiméticos.

La sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria a IgG no deseada puede estar comprendida en una muestra de sangre que se transfunde a un organismo mamífero.

La sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria IgG no deseada está comprendida en o sobre la superficie de un órgano que es trasplantado a un organismo mamífero.

40 Respuesta inmunitaria no deseada

Una respuesta inmunitaria no deseada por el organismo mamífero es la respuesta del sistema inmunitario por la producción de anticuerpos contra una sustancia activa biológica que se administra a un organismo mamífero con el fin de ejercer un efecto terapéutico benéfico deseado que sea diferente de una respuesta inmunitaria o en el que la respuesta inmunitaria sea un efecto secundario no deseado.

45 La respuesta inmunitaria no deseada puede ser una respuesta inmunitaria IgG (prevaliente).

La respuesta inmunitaria no deseada puede ser una respuesta inmunitaria IgE (prevaliente).

50 Aunque la respuesta inmunitaria no deseada puede no producir efectos secundarios no deseados en la primera administración de esa forma farmacéutica o en una preparación farmacéutica que comprende o que contiene la sustancia activa biológica que es capaz de inducir la respuesta inmunitaria no deseada, la respuesta inmunitaria no deseada puede producir efectos secundarios no deseados cuando la preparación farmacéutica que comprende o que contiene la sustancia activa biológica que es capaz de inducir la respuesta inmunitaria no deseada (IgG o IgE)

se administra o tiene que administrarse una segunda vez u otra vez o varias veces o durante un periodo de tiempo. En este caso, por ejemplo, los niveles de IgG existentes en el plasma pueden inactivar parcial o completamente la sustancia activa biológica y reducir su efecto terapéutico deseado. En algunos casos, la inactivación parcial o completa de la sustancia activa biológica también puede ir de la mano de irritaciones, fiebre u otros efectos secundarios no deseados. Estos efectos secundarios pueden ser inducidos inespecíficamente por la presencia de los agregados o precipitados de anticuerpos IgG con la sustancia activa biológica.

Ejemplos típicos de una sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria IgG no deseada por un organismo mamífero son, por ejemplo: Antiseros anti-veneno contra el veneno de animales venenosos. Por ejemplo, serpientes, insectos, arañas o ciertas especies de medusas, donde los antiseros se producen por animales, normalmente por caballos, donde los antiseros pretenden curar un ser humano que haya tenido contacto con ese veneno. Después de la primera administración de ese antisuero, el ser humano individual normalmente desarrolla una respuesta inmunitaria IgG prevaeciente no deseada contra las proteínas de caballo, principalmente anticuerpos IgG de caballo comprendidos en ese antisuero.

Se conoce bien el caso de antiseros anti-veneno de serpiente específicos producidos por caballos, que cuando se administran a un humano que ha sido mordido por ciertas especies de serpiente con el fin de curar los efectos graves del veneno de serpiente. Después de la primera administración del antisuero anti-veneno de serpiente, la persona individual puede ser curada por la inactivación del veneno, pero puede desarrollar una respuesta inmunitaria IgG no deseada contra las proteínas de caballo, principalmente los anticuerpos IgG de caballo comprendidos en ese suero. Cuando la misma persona es más tarde mordida por la misma u otra serpiente, tratarla con antiseros anti-veneno de serpiente de caballo nuevamente puede ser peligroso debido al nivel presente de anticuerpos IgG desarrollados contra las proteínas de suero de caballo.

Se conocen también terapias inmunomoduladoras de síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo humano donde se emplean globulinas anti-linfocitos/anti-timo-linfocitos. En estas terapias, globulinas con anticuerpos dirigidos contra células inmunogénicas humanas que se producen en conejos o en caballos se administran al paciente humano durante un cierto periodo de tiempo. También en este caso existe el peligro de una respuesta inmunitaria IgG no deseada contra las proteínas de conejo o de caballo, principalmente anticuerpos IgG de caballo, comprendidas en esas fracciones de globulina. Esta respuesta inmunitaria IgG no deseada puede influir negativamente en la terapia presente o una repetida.

Se conoce además la aplicación de preparaciones farmacéuticas que comprenden o que contienen anticuerpos monoclonales producidos contra epítopes en células cancerosas.

Otros casos en los que la supresión de una respuesta inmunitaria IgG no deseada en el sentido de la invención puede ser beneficiosa puede ser el campo de la transferencia de sangre, donde pueden producirse incompatibilidades entre la sangre transfundida y el sistema inmunitario del paciente en el sentido de respuesta inmunitaria IgG no deseada.

Otro caso donde la supresión de una respuesta inmunitaria IgG no deseada en el sentido de la invención puede ser beneficiosa puede ser el campo de la transferencia de órganos, donde pueden producirse inmunocompatibilidades entre el órgano transferido, sea el riñón, hígado, pulmón o corazón entre otros ejemplos, y el sistema inmunitario del paciente en el sentido de respuesta inmunitaria IgG no deseada, y así puede al menos parcialmente promover reacciones de repulsión o de rechazo.

La sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria IgG no deseada por el organismo mamífero puede entonces comprender proteínas o péptidos farmacológicos o biológicos activos, especialmente proteínas o péptidos que no son nativos para el organismo mamífero al que se administran.

No nativas puede significar que las proteínas o péptidos biológicos activos se originan tanto de otra especie, preferentemente de otra especie de mamífero, en comparación con las especies a las que se administran, o de la misma especie o de origen semisintético.

No nativas puede significar o que las proteínas o péptidos biológicamente activos fueron modificados de una manera que los hace detectables por la respuesta inmunitaria IgG del organismo mamífero al que se pretenden administrar.

El organismo mamífero preferido al que la sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria IgG no deseada puede administrarse es *Homo sapiens*.

Por ejemplo, una proteína que se origina de cierto organismo mamífero puede volverse detectable por la respuesta inmunitaria IgG de ese organismo mamífero cuando se haya producido por un organismo microbiano recombinante.

Por ejemplo, una proteína glucosilada que se origina de un organismo de fuente eucariota, pero que se produjo en un organismo procariota recombinante, normalmente carecerá de la glucosilación. Así, la proteína recombinante puede volverse detectable por la respuesta IgG de ese organismo mamífero de fuente original cuando se administra de nuevo al organismo en forma de una preparación farmacéutica.

Los efectos secundarios en relación con una respuesta inmunitaria IgE no deseada son muy conocidos, por ejemplo, como alergias, anafilaxia o incluso como choque anafiláctico.

5 La sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria IgG o IgE no deseada por el organismo mamífero puede comprender preparaciones que comprendan o consisten en antisueros o anticuerpos policlonales o monoclonales o proteínas recombinantes que proporcionan otros "receptores solubles" o "aglutinantes de receptores solubles" o proteínas recombinantes modificadas tales como entidades polietilenglicol(PEG)iladas de polietilenglicol, truncadas o genéticamente modificadas, además de agentes terapéuticos con el riesgo de inmunogenicidad como efectos secundarios no deseados o críticos o letales tales como anafilaxia y choque anafiláctico que incluyen moléculas pequeñas tales como antibióticos, anestésicos donde tal riesgo es conocido, además de cualquier compuesto biológicamente activo donde la inmunogenicidad sea potencialmente relevante que incluyen fármacos péptidos y peptidomiméticos, factores de crecimiento o de necrosis, o mezclas tales como fracciones de fluidos corporales tales como factores de sangre o cultivos celulares.

10 Además, el efecto inmunomodulador del fragmento de lactoferrina humana podría usarse para efectos de enmascaramiento de antígenos con el fin de manipular los posibles agentes inductores de la respuesta inmunitaria en el campo de alergia. Por ejemplo, la asociación del fragmento de lactoferrina humana con polen, polen de césped, proteínas de la leche, melitina, proteínas de huevo, etc., podría manipular la reacción alérgica de un organismo humano contra estos epítopes y antígenos.

Composición farmacéutica

20 El péptido derivado de lactoferrina humana puede usarse como un agente de enmascaramiento de antígenos en la producción de una composición farmacéutica para la administración de una sustancia activa biológica a un organismo mamífero.

25 Una composición farmacéutica puede ser una forma farmacéutica o preferentemente forma farmacéutica de múltiples partículas, seleccionada preferentemente de pellas, gránulos, minicomprimidos, comprimidos o cápsulas u otras formas farmacéuticas. La composición farmacéutica también puede incluir composiciones farmacéuticas veterinarias.

30 La composición farmacéutica que comprende el péptido derivado de lactoferrina humana y la sustancia activa biológica puede comprender excipientes adicionales, que son conocidos por el experto como útiles en la formulación de formas farmacéuticas. Excipientes típicos son antioxidantes, abrillantadores, aglutinantes, diluyentes, cargas, agentes saborizantes, auxiliares de flujo, fragancias, deslizantes, agentes promotores de la penetración, pigmentos, plastificantes, polímeros, agentes formadores de poros, disolventes o estabilizadores.

La composición farmacéutica puede comprender, puede comprender esencialmente o puede contener hasta el 80, hasta el 50, hasta el 25, hasta el 10 % en peso de cualquier excipiente farmacéutico, por ejemplo, excipientes adicionales que son conocidos por el experto como útiles en la formulación de formas farmacéuticas.

Agregado supramolecular

35 Lo más preferentemente, el péptido derivado de lactoferrina humana y la sustancia activa biológica forman un agregado supramolecular, que también puede llamarse un complejo o un conjugado, en el que el péptido derivado de lactoferrina humana y la sustancia activa biológica no están unidos covalentemente entre sí. En este caso, el agregado supramolecular se mantiene unido, por ejemplo, por fuerzas iónicas o por fuerzas de van-der-Waals.

40 Estos agregados supramoleculares pueden prepararse de manera muy ventajosa añadiendo al compuesto biológico activo en una disolución o suspensión de medio acuoso o de proceso el péptido derivado de lactoferrina humana. Esta disolución tiene que ser mezclada suavemente durante un tiempo corto, preferentemente durante hasta 2 minutos, o incubarse durante hasta 1 hora, hasta 2 horas o más.

45 Aparte del péptido derivado de lactoferrina humana y la sustancia activa biológica, el agregado supramolecular puede comprender o contener adicionalmente un vehículo, por ejemplo un polímero de vehículo tal como un polímero dendrítico.

50 También es posible, pero menos preferido, que el péptido derivado de lactoferrina humana y la sustancia activa biológica formen un agregado supramolecular en el que el péptido derivado de lactoferrina humana y la sustancia activa biológica está covalentemente unidos entre sí. En este caso, el agregado supramolecular puede formarse por una reacción química de grupos reactivos en el péptido derivado de lactoferrina humana con grupos reactivos en la sustancia activa biológica. Pueden usarse moléculas conectoras reactivas químicas adicionales alternativas para conectar las moléculas.

55 Preferentemente, los agregados supramoleculares pueden comprender, pueden comprender esencialmente o pueden contener al menos el 20 %, al menos el 50 % en peso, al menos el 80 %, al menos el 90 % en peso o el 100 % de péptido derivado de lactoferrina humana y la sustancia activa biológica. El agregado supramolecular puede ser una parte de una composición farmacéutica que puede comprender excipientes adicionales.

Preferentemente, la composición farmacéutica puede comprender, puede comprender esencialmente o puede contener al menos el 20, al menos el 50, al menos el 75, al menos el 90 % en peso o el 100 % del agregado supramolecular.

Proceso para la preparación de una composición farmacéutica

5 La invenciones también se refiere a un proceso para la preparación de una composición farmacéutica como se define en el presente documento mezclando el péptido derivado de lactoferrina humana y el agente biológicamente activo bajo condiciones nativas, incubando la mezcla para permitir la formación (covalente o no covalente) de un agregado supramolecular y añadiendo la mezcla a la composición farmacéutica.

10 En la realización más simple la composición farmacéutica puede ser idéntica a dicha mezcla, que significa que la composición farmacéutica final esencialmente solo contiene el péptido derivado de lactoferrina humana y el agente biológicamente activo. Sin embargo, en muchos casos, puede ser ventajoso o apropiado añadir excipientes farmacéuticos adicionales para formar la composición farmacéutica (final).

15 Condiciones nativas debe significar condiciones bajo las cuales se mantienen la actividad biológica del péptido derivado de lactoferrina humana y el agente biológicamente activo. Una condición nativa puede ser, por ejemplo, la mezcla del péptido derivado de lactoferrina humana y el agente biológicamente activo en una disolución de tampón acuosa, por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4, o en solución fisiológica de cloruro de sodio.

20 Incubar la mezcla para permitir la formación de agregados supramoleculares debe significar tiempo suficiente para permitir la agregación del péptido derivado de lactoferrina humana y el agente biológicamente activo. Normalmente, pueden ser suficientes la mezcla e incubación durante hasta 2 minutos a temperatura ambiente. Sin embargo, incubar durante hasta 1 hora, hasta 2 horas o más puede ser adecuado también. Temperaturas adecuadas para la formación de agregados supramoleculares pueden estar en el intervalo de 0 a 37 °C, preferiblemente 4 a 30 °C, puede ser adecuada temperatura ambiente de aproximadamente 18 a 28 °C.

Ejemplos

Ejemplo 1: Acoplamiento no covalente de fragmento de lactoferrina humana (hLf) con lisado bacteriano

25 Material:

Lisado bacteriano de *Escherichia coli*, fragmento de lactoferrina humana, SEQ ID NO: 1 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR Solución salina tamponada con fosfato, pH = 7,4 (Ph. Eur.): Se disolvieron 5,97 g de fosfato hidrogenofosfato de disodio dihidratado (que se corresponde con 4,76 g de hidrogenofosfato de disodio), 0,38 g de hidrogenofosfato de potasio y 16 g de cloruro de sodio en 1,8 l de agua destilada. Después, la disolución transparente preparada se suministró en un matraz volumétrico de 2 l, se llenó hasta la marca de calibración con agua destilada y posteriormente se homogeneizó. Entonces, el pH se ajustó a 7,43 a 23,2 °C usando 3 ml de HCl 1 N antes de cargar la solución final en botellas de PE.

Dispositivo:

35 Malvern Zetasizer Nano ZS90; Parámetros de tamaño: Material: Proteína RI: 1,45, Absorción: 0,00, Dispersante: Agua 25 °C: 0,8872 cP RI: 1,330; 37 °C: 0,6864 cP RI: 1,330, Celda: DTS 1060C: Celda zeta desechable transparente

Medición: 3 series automáticas, método de colocación: búsqueda de posición óptima, selección de atención automática, modelo de análisis: propósito general

40 Parámetros zeta: Constante dieléctrica: 78,5 a 25 °C y 74,4 a 37 °C, Modelo: Smoluchowski, valor F(KA): 1,5, medición: 3 series automáticas Selección de atención automática

Preparación de muestras

Oxidación de péptidos: El péptido se disolvió a una concentración inferior a 1 mM (2,75 mg/ml) en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4 (Ph. Eur.), por ejemplo, 5 mg en 10 ml (=0,5 mg/ml). La disolución se purgó con oxígeno puro durante 5 minutos a 37 °C. Incubar durante 2 horas a 37 °C.

45 Para la dilución del lisado bacteriano se diluyeron 1 ml de lisado de células bacterianas hasta 10 ml con PBS, pH 7,4 (Ph. Eur.).

La unión al lisado partículas se logró añadiendo 1 ml de lisado bacteriano (= 1,2 mg de *E. coli*) con 0,097714286 mg de hLF.

50 Se añadieron 20 µl de 0,5 mg/ml de disolución de péptido a 1 ml de la vacuna previamente diluida (0,12 mg/ml) y se incubaron 2 horas bajo agitación lenta, 100-150 rpm, a 4 °C, previniéndose cualquier formación de espuma.

Tabla 1: Muestras analizadas y su composición

MUESTRA	SONICACIÓN	SUSPENSIÓN DE LISADO BACTERIANO	DISOLUCIÓN DE FRAGMENTO HLF OXIDADO
Lisado bacteriano 1:10	No	5 ml 0,12 mg/ml	-
Lisado bacteriano 4:10	1 min, sonda sonicadora	5 ml 0,12 mg/ml	-
Lisado bacteriano 1:10 + 1 min de sonda ultrasónica	No	5 ml 0,48 mg/ml	-
Lisado bacteriano 4:10 + 1 min de sonda ultrasónica	1 min, sonda sonicadora	5 ml 0,48 mg/ml	-
hLF	No	-	1,5 ml 0,5 mg/ml
hLF + 2 min de baño ultrasónico	2 min, baño sonicador	-	1,5 ml 0,5 mg/ml
Lisado bacteriano 1:10 + hLF	Pre-sonicado como antes	5 ml 0,12 mg/ml	200 µl 0,5 mg/ml
Lisado bacteriano 1:10 + hLF 2 min de baño ultrasónico	Pre-sonicado como antes + 2 min de baño de sonicación después de unión de hLF	5 ml 0,12 mg/ml	200 µl 0,5 mg/ml
Lisado bacteriano 4:10 + hLF	Pre-sonicado como antes	5 ml 0,48 mg/ml	200 µl 0,5 mg/ml
Lisado bacteriano 4:10 + hLF 2 min de baño ultrasónico	Pre-sonicado como antes + 2 min de baño de sonicación después de unión de hLF	5 ml 0,48 mg/ml	200 µl 0,5 mg/ml

Descubrimientos

Potencial zeta (Figura 1)

- 5 Se mostró que el lisado de *E. coli* es una suspensión que consiste en partículas de superficie cargadas negativamente. El fragmento de péptido hLF, incluso si se observa la formación de agregados, muestra una carga positiva total, y la adición del segundo al primero produce una variación de las propiedades de la superficie del lisado.

Tamaño de partícula (Figura 2)

- 10 La figura "tamaño de partícula" muestra los promedios

Los datos de tamaño de partícula muestran los descubrimientos:

- Es probable que se produzca agregación en todos los casos: vacuna sola, fragmento hLF solo y la combinación de los mismos.
 - Estos fenómenos de agregación condujeron a tamaños de partícula más grandes
- 15 • Puede producirse agregación y sedimentación, invertida por medio de sonicación y/o agitación adecuada.

Ejemplo 2: Inmunomodulación del sistema inmunitario de rata mediante tratamiento con antígeno, fragmento de lactoferrina humana y combinación de antígeno y fragmento de lactoferrina humana

Material

- 20 Lisado bacteriano: *Klebsiella pneumoniae* CECT 141; 12.000 millones de bacterias/ml (diez veces la concentración final), formulación no glicerizada estándar, sin fenol

Fragmento hLF, SEQ ID NO: 1 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR forma oxidada, como producto liofilizado; dosificado en viales de 50 mg cada uno, en viales de 25 ml, para ser reconstituidos y usados como disolución madre durante la longitud del ensayo. Una vez reconstituido, mantener refrigerado (4 °C)

Solución salina tamponada con fosfato (PBS) Esterilizar mediante cualquier procedimiento adecuado y almacenar en un recipiente adecuado cuando no se use inmediatamente después de la elaboración. Considerar su almacenamiento a 4 °C durante periodos de tiempo más largos.

Procedimientos

5 Se realizó la reconstitución de la disolución madre de hLF por reconstitución del fragmento hLF de 50 mg en un vial mediante la adición de 20 ml de PBS. Se aseguró una reconstitución completa adecuada hasta una disolución libre de partículas clara homogénea. El vial se agitó suavemente mediante inversión repetida del vial cerrado. El resultado fue la disolución madre de hLF para el ensayo: concentración nominal 2.5 mg/ml.

10 La dilución de hLF para el ensayo en animales se realizó diariamente. Para esto, se transfirió 1 ml de la disolución madre de hLF reconstituída a un nuevo vial de 25 ml, seguido de adición de 21,5 ml de PBS y mezcla cuidadosa por inversiones repetidas del vial cerrado para evitar la formación de espuma. El resultado fue la dilución madre diaria, concentración nominal 0,1 mg/ml.

Formulación "A+B"

15 Se transfirieron 4,5 ml de la dilución de hLF diaria a un vial adecuado (capacidad de 5 ml o más), seguido de adición de 0,5 ml de 12.000 millones de bacterias/ml de lisado bacteriano y mezcla cuidadosa por inversiones repetidas del vial cerrado para evitar la formación de espuma. El resultado fueron 5 ml de la vacuna A+B, 1200 millones de bacterias/ml, 0,1 mg de fragmento hLF/ml, asegurando la relación 12:1.

Formulación "B"

20 Se transfirieron 4,5 ml de la dilución de hLF diaria a un vial adecuado (capacidad de 5 ml o más), seguido de adición de 0,5 ml de PBS y mezcla cuidadosa por inversiones repetidas del vial cerrado y evitar la formación de espuma. El resultado fueron 5 ml de una disolución de fragmento hLF de 0,1 mg/ml.

Formulación "A"

25 Se transfirieron 0,5 ml del lisado bacteriano (12.000 millones de bacterias/ml) a un vial adecuado (5 ml de capacidad o más), seguido de adición de 4,5 ml de PBS, y mezcla cuidadosa por inversiones repetidas del vial cerrado y evitar la formación de espuma. El resultado fueron 5 ml de lisado bacteriano, 1200 millones de bacterias/ml (lisado bacteriano "A").

Dosis y administración de los tratamientos:

Administración de "A+B"

Administración de 0,5 ml de "A+B" a cada una de las tres ratas del grupo A+B (i.p.).

30 Administración de 0,5 ml de "A+B" a cada una de las tres ratas del grupo $\alpha+\beta$ (vía intragástrica).

Administración de "B"

Administración de 0,5 ml de B a cada una de las ratas del grupo B. (i.p.).

Administración de 0,5 ml de B a cada una de las tres ratas del grupo β (vía intragástrica).

Administración de "A"

35 Administración de 0,5 ml de la vacuna A a cada una de tres ratas del grupo A.

Administración de 0,5 ml de la vacuna A a cada una de las tres ratas del grupo α .

Tratamiento de animales

40 Se usaron lisados orales de *Klebsiella pneumoniae* CECT 141 como modelo para un inóculo que induce la respuesta inmunológica a IgG en ratas como organismos modelo cuando se administra por vía intragástrica o intraperitoneal. Se usó el péptido derivado de lactoferrina humana con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR para formar conjugados con los lisados de *Klebsiella pneumoniae* CECT 141 de la siguiente manera:

Se usaron seis grupos de tres ratas

a. Grupo A: Se administrará Lisado bacteriano (Formulación "A") por vía intraperitoneal

45 b. Grupo B: Se administrará Fragmento hLf (Formulación "B") por vía intraperitoneal

- c. Grupo C: Se administrará Conjugado (Formulación "A+B") por vía intraperitoneal
- d. Grupo α : Se administrará Formulación "A" por vía intragastrica
- e. Grupo β : Se administrará Formulación "B" por vía intragastrica
- f. Grupo δ : Se administrará Formulación "A+B" por vía intragastrica

5 Duración de la prueba: 4 semanas (28 días)

Patrón de aplicación de producto

Tabla 2: Tratamiento de grupos de ratas y cantidad

Día	A	B	A+B	Control
0	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	sin dosis
7	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	sin dosis
14	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	sin dosis
21	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	sin dosis

Parámetros y programa de muestreo

10 El parámetro a medir es IgG total. El método se realizará por ELISA. El programa de muestreo para todos los grupos será el siguiente (Tabla 3):

Tabla 3: Se tomarían muestras de sangre por el siguiente esquema

Día	Observación
0	Antes de administrar la dosis
6	
13	
20	
27	Sacrificio

Descubrimientos

15 Variación en los niveles de IgG con el tiempo.

Grupo de control (Figura 3)

En los animales del grupo de control, los niveles de IgG se mantendrán constantes durante el tiempo sin diferencias estadísticamente significativas observadas entre los diversos momentos estudiados.

Grupo con lactoferrina humana (hLf, formulación "B") (Figura 4):

20 El tratamiento con lactoferrina humana no parece inducir ningún efecto sobre los niveles de IgG con el tiempo, sin diferencias estadísticamente significativas observadas entre los niveles de IgG de las ratas que reciben tratamiento con hLf en ninguno de los momentos del estudio independientemente del modo de administración.

Grupo tratado con extracto bacteriano (formulación "A") (Figura 5):

25 En los animales que recibieron tratamiento intraperitoneal con extracto bacteriano, los presentes inventores observaron que los niveles de IgG tendían a aumentar significativamente con el tiempo. Además, debe observarse que los niveles de IgG aumentan con el número de dosis de extracto bacteriano, que significa que el efecto de este tratamiento es acumulativo, explicando el aumento de los niveles de IgG con el tiempo. El mismo comportamiento se observa en animales tratados por vía intragástrica con extracto bacteriano. Estos resultados son muy importantes debido a que indican que el efecto del extracto bacteriano sobre los niveles de IgG es independiente del modo de administración.

30

Grupo tratado con extracto bacteriano + hLf (Figura 6)

5 En cuanto a los animales que recibieron tratamiento con extracto bacteriano + hLf, deben observarse dos hechos básicos. Primero de todos, los presentes inventores pueden observar que la IgG no varía significativamente de los niveles detectados en el grupo de control, independientemente del modo de administración usado. Por otra parte, los niveles de IgG detectados en cada momento del estudio no alcanzan los niveles esperados basándose en el efecto del extracto bacteriano ya sea con administración intraperitoneal o intragástrica.

Análisis comparativo de los niveles de IgG entre los diversos grupos

Administración intraperitoneal

Grupo de control frente a de extracto bacteriano:

10 Cuando los presentes inventores comparan los niveles de IgG del grupo de control con aquellos encontrados en el grupo que recibió tratamiento con extracto bacteriano, los presentes inventores observan un aumento estadísticamente significativo en el segundo grupo a partir del 6° día después de la primera administración del lisado bacteriano ($p < 0,001$). Estas diferencias se mantienen en todo momento hasta completar el estudio el día 27.

Grupo de control frente a grupo de hLf:

15 Con administración intraperitoneal, los presentes inventores no observaron una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre los niveles de IgG de las ratas que recibieron tratamiento con hLF y aquellos encontrados en el grupo de control en ninguno de los momentos del estudio.

Grupo de control frente a grupo de hLf + extracto bacteriano:

20 Los presentes inventores no observaron una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre los niveles de IgG de las ratas que recibieron tratamiento conjugado con hLF + lisado bacteriano y aquellos encontrados en el grupo de control en ninguno de los momentos del estudio.

Grupo de extracto bacteriano frente a grupo de HLf:

25 Los niveles de IgG encontrados en las ratas que recibieron tratamiento con el extracto bacteriano solo fueron significativamente más altos ($p < 0,001$) que los niveles de IgG encontrados en los animales que recibieron tratamiento con hLF solo a partir de los primeros días (6d) hasta la conclusión del estudio en el día 27 después de la primera administración.

Grupo de extracto bacteriano frente a grupo de hLf + extracto bacteriano:

30 Los niveles de IgG encontrados en las ratas que recibieron tratamiento con el extracto bacteriano solo son significativamente más altos ($p < 0,001$) que los niveles de IgG encontrados en los animales que recibieron tratamiento combinado con hLF y extracto bacteriano en todos los momentos del estudio después de la primera administración.

Grupo de hLf frente a grupo de hLf + extracto bacteriano:

35 No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,005$) entre los niveles de IgG de las ratas que recibieron tratamiento con hLf y aquellos detectados en los animales que recibieron tratamiento combinado con hLf + extracto bacteriano. Esto sugiere que debe haber un efecto protector de hLf que enmascara el efecto del tratamiento con extracto bacteriano.

Administración intragástrica

40 Cuando los diversos tratamientos se administran por vía intragástrica, los resultados son similares a aquellos descritos en la administración intraperitoneal; sin embargo, los presentes inventores encontraron algunas pequeñas diferencias entre ambos modos de administración. En este caso, las diferencias con respecto a los niveles de IgG detectados en los animales tratados con el extracto bacteriano y el resto de los grupos (ctrl, hLf, hLf+extracto) empiezan a ser estadísticamente significativas ($p < 0,001$) a partir del día 13 después del inicio del tratamiento en lugar del día 6, como ocurrió cuando se usó el modo de administración intraperitoneal, es decir, parece haber un ligero retraso en la respuesta inmunitaria en la administración intragástrica. Por otra parte, los presentes inventores observan diferencias significativas el día 6 del estudio entre el grupo de animales que recibieron tratamiento con hLf y el grupo de animales que recibieron tratamiento con hLf+extracto, con niveles de IgG superiores en el grupo de hLf.

Ejemplo 2

50 Se mezclaron juntas 3 clases diferentes de proteínas naturalmente glucosiladas derivadas de cultivo celular y de sangre en un tampón de electrolitos estándar nativo, es decir, fisiológicamente similar con la concentración mostrada

en la tabla con el mismo 22 mero de los péptidos de lactoferrina humana descritos anteriormente (usando la secuencia SEQ ID NO: 1 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR).

5 Una medición inmediata del cambio en la cinética de difusión con un microscopio confocal de correlación en el tiempo estándar usando marcas fluorescentes mostró, incluso por la baja concentración (hLf 94 nM en HBS, 0,1 % de BSA, IgG1 130 nM), la facilidad de formulación para las tres clases de compuestos por la unión moderada no específica del fragmento a los ejemplos de clases de proteínas terapéuticas que incluyen la clase de compuestos del Ejemplo 1.

10 La columna f1 muestra sin optimización del experimento el cambio de una cinética de difusión aparente acumulada en los canales del fragmento de hLf. La proteína I es albúmina, una fracción de proteína de sangre, conocida en su versión humana recombinante o como producto sanguíneo, la proteína II es un anticuerpo IgG selectivo. Ambas de fuentes comerciales. hLf como la referencia se mueve como "libre" en el elemento de volumen del foco del microscopio mientras que aproximadamente del 4 % o 15 %, respectivamente, del fragmento se unen no específicamente y se mueve más lento. Indicando que un agregado supramolecular del fragmento hLf es materializado en la formulación de muestra.

Tabla 4

	TauT1(us)	$A1=T/(1-T)$	TauT 2(us)	$A2= T/(1-T)$	TauD1 (us)	f1(%)	TauD2(us)	N(#)	s=z0/w0	CPS
hlf-BSA	2,91491	0,185	1	0	35	85	244	1,4704	4,96004	7442
hlf-IgG	2,91491	0,185	1	0	33	96	382	0,6862	4,96004	3072
hlf-pep	2,91491	0,185	1	0	33	99	1419	0,5912	4,96004	2963

Lista de Figuras

Figura 1: Diámetro de partículas medido con zetasizer

Figura 2: Potencial zeta de partículas medido con zetasizer

Figura 3: Nivel de IgG en grupo de control

5 Figura 4: Nivel de IgG en grupos tratados con la Formulación "B" (hLf)

Figura 5: Nivel de IgG en grupos tratados con la Formulación "A" (lisados bacterianos)

Figura 6: Nivel de IgG en grupos tratados con la Formulación "A+B" (lisados bacterianos + hLf)

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Evonik Röhm GmbH

10

<120> Péptido derivado de lactoferrina humana para su uso como agente de enmascaramiento de antígenos

<130> 201000285

15

<160> 1

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

20

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

25

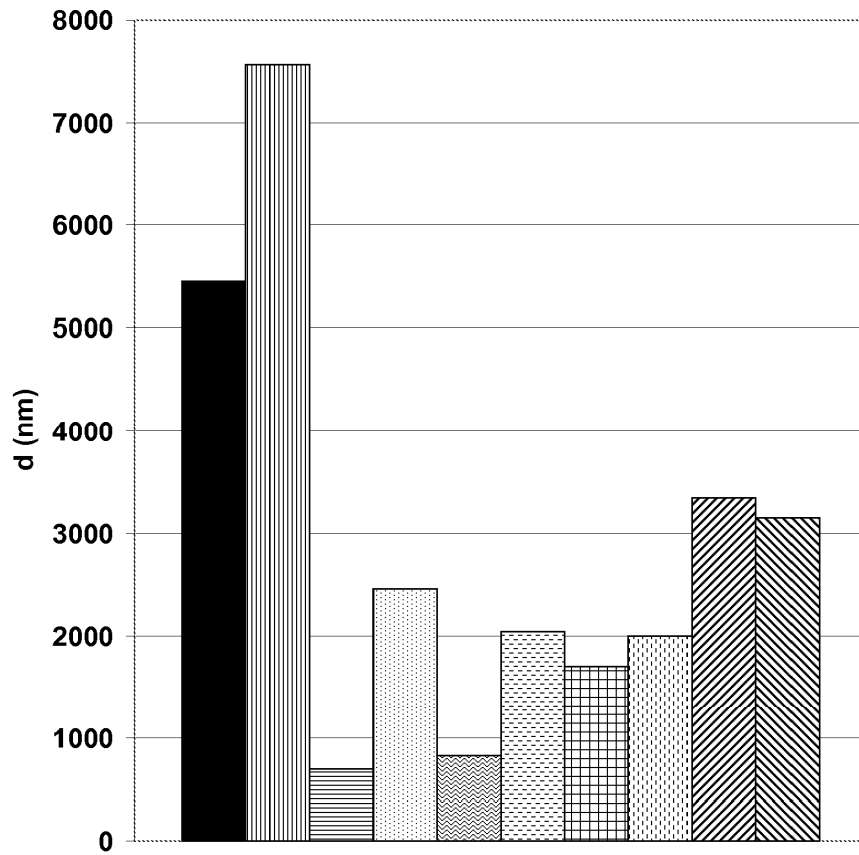
```

Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg Gly Pro Pro
1           5           10           15
Val Ser Cys Ile Lys Arg
                20
    
```

REIVINDICACIONES

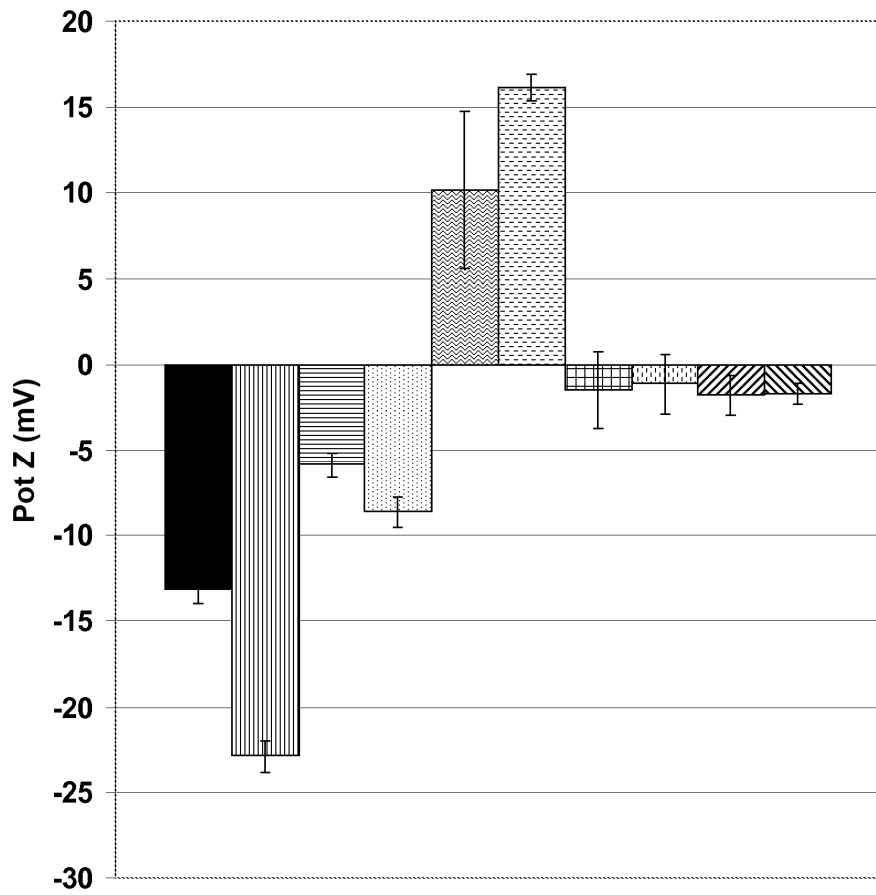
- 5 1. Péptido derivado de lactoferrina humana para su uso como un agente de enmascaramiento de antígenos en la producción de una composición farmacéutica para la administración de una sustancia activa biológica en un organismo mamífero, donde la sustancia activa biológica es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada por el organismo mamífero, donde la composición farmacéutica comprende un agregado supramolecular de la sustancia activa biológica y el péptido derivado de lactoferrina humana, con el efecto de que después de la administración de la composición farmacéutica al organismo mamífero, no hay o solo hay una inducción disminuida de la respuesta inmunitaria no deseada contra la sustancia activa biológica,
- 10 por el cual el péptido derivado de lactoferrina humana es un péptido con una longitud de 19 a 30 aminoácidos e incluye una secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1 KCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR o una secuencia que es al menos el 90 % homóloga a la secuencia SEQ ID NO: 1 y
- 15 por el cual la sustancia activa biológica está seleccionada del grupo de proteínas activas biológicas o péptidos activos biológicos, antisueros o anticuerpos policlonales o monoclonales,
- 15 donde una respuesta inmunitaria no deseada por un organismo mamífero se define como la respuesta del sistema inmunitario por la producción de anticuerpos contra una sustancia activa biológica que se administra a un organismo mamífero con el fin de ejercer un efecto terapéutico beneficioso deseado que es diferente de una respuesta inmunitaria o en el que la respuesta inmunitaria es un efecto secundario no deseado.
- 20 2. Péptido derivado de lactoferrina humana según la reivindicación 1, donde el péptido es un péptido con la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1 o una secuencia que es al menos el 90 % homóloga a la secuencia.
- 20 3. Péptido derivado de lactoferrina humana según la reivindicación 2, donde la secuencia es al menos el 90 % homóloga a la secuencia SEQ: ID1 y donde los restos de cisteína están presentes en las posiciones 2 y 19.
4. Péptido derivado de lactoferrina humana según una o más de las reivindicaciones 1 a 3, donde la respuesta inmunitaria no deseada es una respuesta inmunitaria IgG.
- 25 5. Péptido derivado de lactoferrina humana según una o más de las reivindicaciones 1 a 3, donde la respuesta inmunitaria no deseada es una respuesta inmunitaria IgE.
6. Péptido derivado de lactoferrina humana según una o más de las reivindicaciones 1 a 5, donde la sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada está comprendida en una muestra de sangre que se transfunde al organismo mamífero.
- 30 7. Péptido derivado de lactoferrina humana según una o más de las reivindicaciones 1 a 6, donde la sustancia activa biológica que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria no deseada está comprendida en o sobre la superficie de un órgano que se trasplanta al organismo mamífero.
8. Péptido derivado de lactoferrina humana según una o más de las reivindicaciones 1 a 7, donde la sustancia activa biológica y el péptido derivado de lactoferrina humana no están covalentemente unidos entre sí en el agregado supramolecular.
- 35 9. Péptido derivado de lactoferrina humana según una o más de las reivindicaciones 1 a 7, donde la sustancia activa biológica y el péptido derivado de lactoferrina humana están covalentemente unidos entre sí en el agregado supramolecular.
- 40 10. Proceso para la preparación de una composición farmacéutica como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, mezclando péptido derivado de lactoferrina humana y el agente biológicamente activo bajo condiciones nativas, incubando la mezcla para permitir la formación de un agregado supramolecular y añadiendo la mezcla a la composición farmacéutica final.

Figura 1



- Lisado bacteriano 1:10
- ▨ Lisado bacteriano 4:10
- ▧ Lisado bacteriano 1:10 + 1 min de sonda ultrasónica
- ▩ Lisado bacteriano 4:10 + 1 min de sonda ultrasónica
- ▦ hLF
- ▨ hLF + 2 min de baño ultrasónico
- ▧ Lisado bacteriano 1:10 + hLF
- ▩ Lisado bacteriano 1:10 + hLF 2 min de baño ultrasónico
- ▦ Lisado bacteriano 4:10 + hLF
- ▨ Lisado bacteriano 4:10 + hLF 2 min de baño ultrasónico

Figura 2



- Lisado bacteriano 1:10
- ▨ Lisado bacteriano 1:10 + 1 min de sonda ultrasónica
- ▧ Lisado bacteriano 4:10
- ▩ Lisado bacteriano 4:10 + 1 min de sonda ultrasónica
- ▤ hLF
- ▥ hLF + 2 min de baño ultrasónico
- ▦ Lisado bacteriano 1:10 + hLF
- ▧ Lisado bacteriano 1:10 + hLF 2 min de baño ultrasónico
- ▨ Lisado bacteriano 4:10 + hLF
- ▩ Lisado bacteriano 4:10 + hLF 2 min de baño ultrasónico

Figura 3

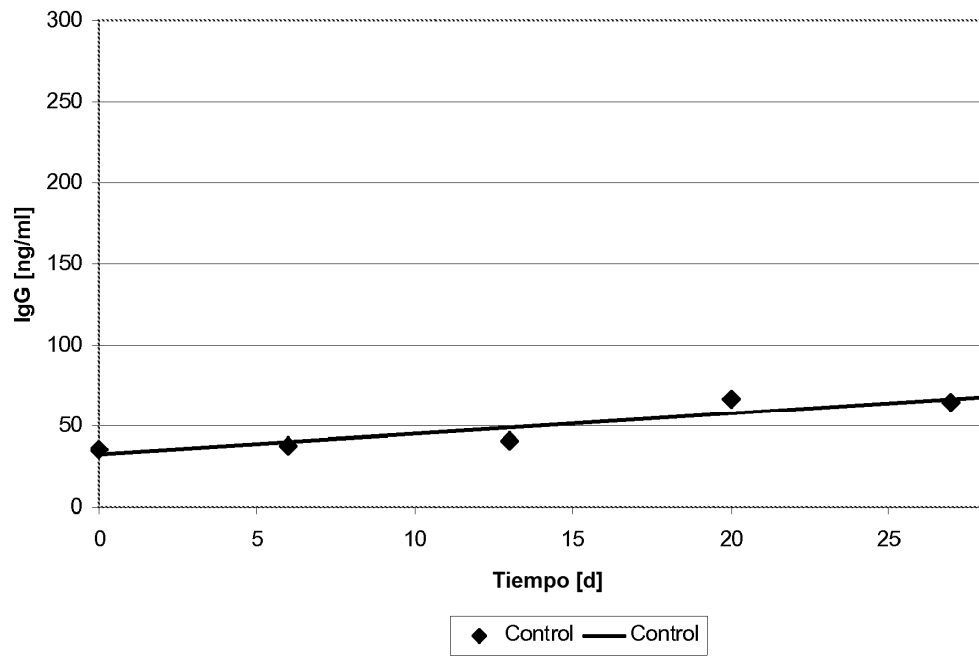


Figura 4

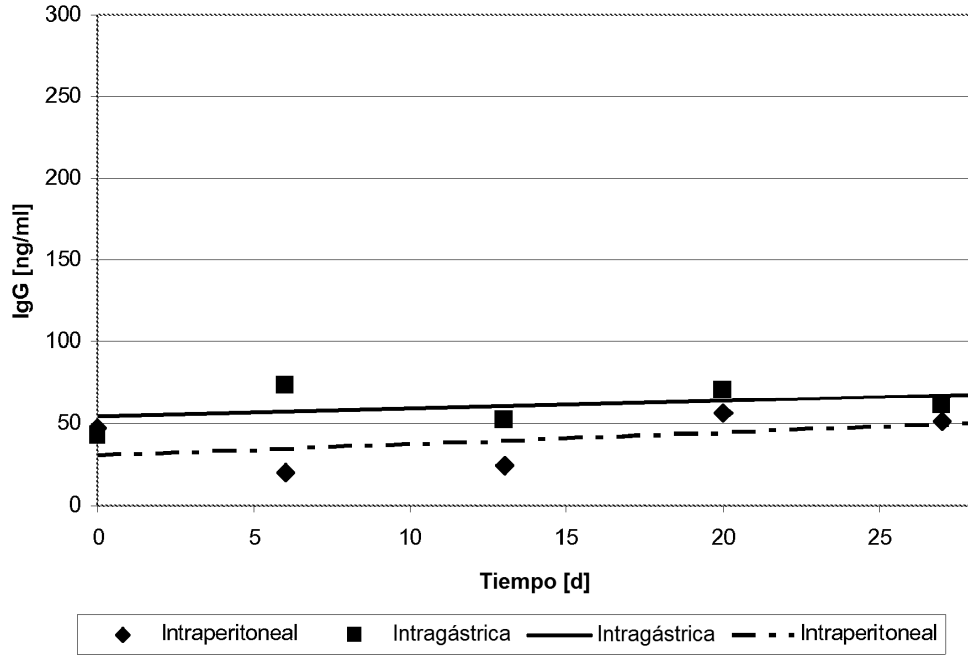


Figura 5

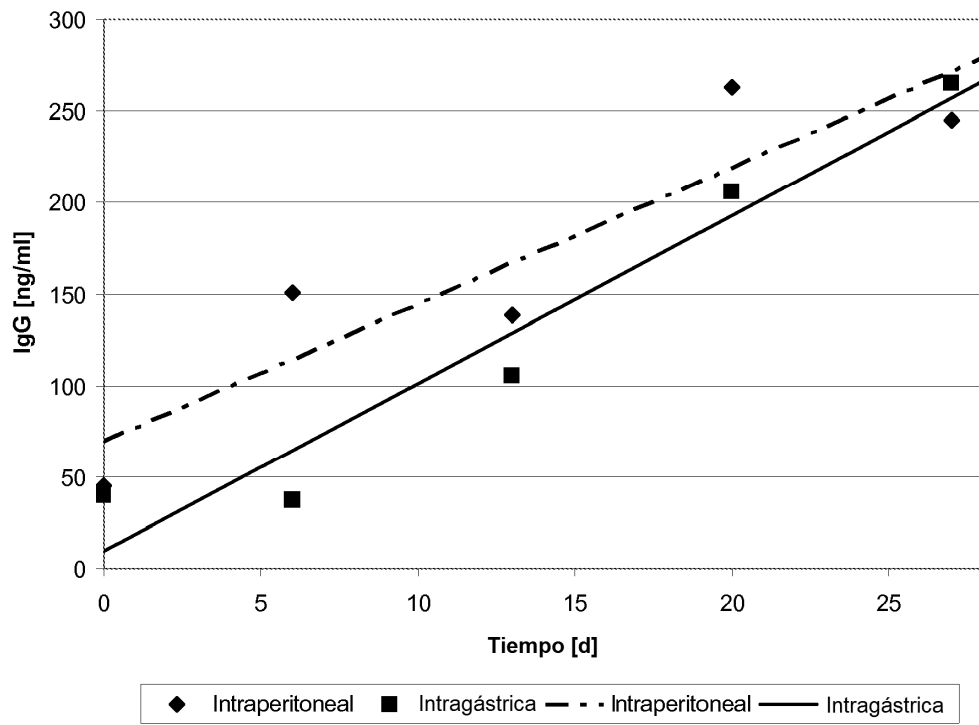


Figura 6

