

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 685 374**

51 Int. Cl.:

C07K 1/22 (2006.01)
A61M 1/14 (2006.01)
A61M 1/34 (2006.01)
A61M 1/16 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2013** **PCT/PH2013/000005**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.10.2013** **WO13162387**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2013** **E 13781268 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.06.2018** **EP 2841447**

54 Título: **Nueva composición para la reducción extracorpórea de beta amiloides y procedimiento de producción de la misma**

30 Prioridad:

26.04.2012 US 201261638672 P

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

08.10.2018

73 Titular/es:

AMYLEX PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
Unit 1908 Jollibee Plaza F. Ortigas Jr. Road
Ortigas Center Pasig
Metro Manila 1605, PH

72 Inventor/es:

SANTOS, ROGELIO, B., JR.;
STEIN, STANLEY y
KASINATHAN, CHINNASWAMY

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 685 374 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

Nueva composición para la reducción extracorpórea de beta amiloides y procedimiento de producción de la misma

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere en general a una composición destinada a reducir los niveles de beta amiloide en un sujeto. Más particularmente, la presente invención se refiere al uso de una composición para la preparación de una formulación de fluido de diálisis, destinada al método y sistema de tratamiento extracorpóreo, a través de un procedimiento de filtración de sangre, de una afección patológica asociada a beta amiloide en el sujeto.

Antecedentes de la invención

10 La característica distintiva de la enfermedad de Alzheimer (AD) es la presencia en el cerebro de placas seniles, que se componen principalmente de una deposición central de péptidos beta amiloides. Las evidencias genéticas, neuropatológicas y bioquímicas han demostrado que estos depósitos de péptido beta amiloide juegan un papel importante en la patogénesis de la AD. La hipótesis de la cascada de amiloide para la AD, tal como la presentaron

15 Karran et al, postula que la deposición del péptido beta amiloide en el cerebro es el evento central en la patología de la AD. Esta hipótesis ha sido muy influyente en los trabajos de investigación en el campo de tanto la academia como la farmacia, ya que la misma sintetiza información histopatológica y genética. También proporciona evidencia de que la deposición del péptido beta amiloide en el parénquima cerebral inicia una secuencia de eventos que finalmente conducen a la demencia por AD. El péptido beta amiloide se refiere a un péptido de 39-43 aminoácidos derivado de la proteína precursora de amiloide (APP) por procesamiento proteolítico como se describe específicamente en las

20 Publicaciones de Patente de los Estados Unidos Nos. 2007/0092508 y 2006/0069010, tanto la beta amiloide 1-40 como la beta amiloide 1-42 SEQ ID NOS: 1 y 2, respectivamente, son componentes de los depósitos de fibrillas de amiloide encontrados en el tejido cerebral de pacientes con AD. La beta amiloide 1-40 y la beta amiloide 1-42 se agregan en estructuras de lámina beta insolubles que se consideran neurotóxicas (tales como, por ejemplo, ADDLs (ligando diferible derivado de beta amiloide)). Esencialmente, los ADDLs son oligómeros solubles de beta amiloide que se acumulan y causan déficits funcionales antes de la muerte evidente de las células neuronales o la deposición

25 de placas. El procedimiento de formación de lámina beta se inicia en los residuos beta amiloide 16-20 (beta amiloide 16-20 de KLVFF, SEC ID NOS: 3 y 4) que luego nuclea la conversión de toda la beta amiloide 1-40 y la agregación de estos péptidos beta amiloides monoméricos en fibrillas y plagas tóxicas tiene una fase de nucleación limitante de la velocidad seguida de una extensión rápida. De hecho, se cree que beta amiloide 1-42 juega un papel más importante en la etapa de nucleación temprana.

30 Una secuencia de péptido beta amiloide que comprende los residuos KLVFF (SEQ ID NO: 4, como se menciona anteriormente) es capaz de unirse a la secuencia homóloga en péptidos beta amiloides 1-40 y beta amiloide 1-42 e interfiere con la formación de fibrilla in vitro e in vivo. Se ha descubierto que KLVFF es el sitio de unión ideal para las beta amiloides, de manera que, potencialmente, no hay anticuerpos orgánicos/naturales que puedan ser más eficientes que un mecanismo que proporcione una acción dirigida de captura y unión. Más específicamente, la

35 asociación de las dos secuencias homólogas conduce a la formación de una estructura atípica de láminas beta antiparalelas que se estabiliza principalmente por interacción entre residuos de Lys, Leu y Phe. Esta propiedad de autorreconocimiento del péptido KLVFF y su versión retroinversa, FFVLK (SEQ ID NO: 5 de las Publicaciones de la Patente de los Estados Unidos citadas anteriormente) se ha empleado en el diseño de "depósitos de desintoxicación" o "sumideros" de hidrogeles subcutáneos para la captura de péptidos beta amiloides en circulación

40 in vivo. Véase, por ejemplo, Zhang et al., Bioconjugate Chem., 2003, 14,86-92; Sundaram et al., c Alzheimer Res., 2008 Feb; 5(1) 26-32; documento US 2006/0069010; documento US 2007/0092508.

Aunque los patrones de síntomas varían entre sujetos con niveles inducidos de péptidos beta amiloides neurotóxicos, la amenaza potencial de la acumulación de estos péptidos neuróticos que a su vez puede dar como resultado el desarrollo de varias enfermedades patológicas tales como, por ejemplo, la enfermedad Alzheimer (AD)

45 justifica la necesidad de una terapia apropiada usando una composición, como se describe en las Publicaciones de Patentes de los Estados Unidos citadas anteriormente, en la gran mayoría de los casos. La terapia biofarmacéutica tradicional, tal como en forma de anticuerpos administrados en un método sistémico, aunque eficaz durante la fase temprana del tratamiento, se sabe que es cada vez menos eficaz y eficiente si su administración no es consistente a lo largo de una serie de programas de tratamiento. Generalmente, tales anticuerpos vienen en tamaños moleculares

50 grandes. A diferencia de las sustancias con bajo peso molecular que se pueden administrar de muchas formas diferentes dependiendo de la condición del paciente y el método de tratamiento requerido, las moléculas de gran tamaño de la mayoría de los anticuerpos tienen una ruta limitada para la administración. Aunque los anticuerpos son específicos de los sustratos, no son necesariamente específicos del sitio específico debido a la ruta limitada de administración antes mencionada. En un caso, se sabe en la técnica que los anticuerpos modificados genéticamente

55 son demasiado grandes para cruzar la barrera hematoencefálica que separa la sangre circulante del fluido extracelular cerebral (BECF) en el sistema nervioso central, actuando como mecanismo de defensa fisiológica. Entre otras desventajas notables del uso de anticuerpos están su tendencia a proporcionar una respuesta biológica no deseada, reacciones cruzadas con antígenos no relacionados, y la carga económica de los pacientes que tienen que comprometerse con costosos procedimientos terapéuticos durante un largo período. En vista de estas desventajas

que son evidentes en la técnica para uso de anticuerpos, es muy deseable la necesidad de un tratamiento extracorpóreo para reducir los niveles de beta amiloide.

Nobuya and Kazunori (2012), a través de su Publicación de Patente de los Estados Unidos No. 2012/0031840 que se presentó el 8 de julio de 2012, describen un método para reducir una concentración de beta amiloide en sangre, que comprende las etapas de; retirar la sangre de un cuerpo, pasando la sangre que se retira a través de una membrana de fibra hueca, y devolviendo la sangre que pasa al cuerpo, en el que la sangre que contiene un complejo β -amiloide-albúmina pasa a través de la membrana de fibra hueca para permitir que la beta amiloide se adsorba a la membrana de fibra hueca de manera que la concentración de beta amiloide en la sangre se reduce. Nobuya and Kazunori no describen una composición que tenga un agente de captura y de unión que consista principalmente en la secuencia del péptido KLVFF o cualquier variante de la misma. En su divulgación, es evidente que el agente de captura usado es un polímero seleccionado del grupo que no consiste en KLVFF o cualquier variante del mismo. Vale la pena señalar que el absorbente (que a su vez actúa como un agente de unión beta amiloide), como se describe por Nobuya and Kazunori, se introduce en la membrana de fibra hueca. Después de lo cual, la sangre pasa a través de la membrana de fibra hueca para retirar las beta amiloides, y la sangre finalmente regresa al cuerpo. En general, Nobuya and Kazunori describen un procedimiento que es laborioso y difícil de mantener. Como sabría un experto en el arte, el grado en que se produce una acción de unión particular en la membrana depende en gran medida de consideraciones importantes. Como resultado, se debe realizar una cantidad sustancial de esfuerzo para estudiar y concentrarse en las características de la membrana. Las características de la membrana de diálisis, ya sea porosa o no porosa, hidrofóbica o hidrofílica, polar o no polar, se deben estudiar cuidadosamente para lograr una capacidad de filtración óptima.

Además, Bias et al (2007), a través de su Publicación de Patente de los Estados Unidos No. 20070010435 que se presentó el 18 de diciembre de 2003, enseñan un método de tratamiento de una enfermedad amiloide en un paciente que necesita dicho tratamiento que comprende filtrar la sangre del paciente a través de un filtro, membrana o columna, eliminando así la beta amiloide circulante del paciente. Bias et al enseñan un método que se comporta de manera sustancialmente similar al procedimiento descrito por Nobuya and Kazunori. Las similitudes se basan en el hecho de que los dos documentos de la técnica anterior usan respectivos agentes de unión beta amiloide que se introducen en la porción de membrana de una máquina de diálisis. Bias et al solo reivindican un compuesto para el agente de unión que se selecciona de la apolipoproteína E, apolipoproteína J, componente P amiloide sérico, un aptámero de ARN dirigido contra beta amiloide, α 1-antitripsina, un proteoglicano, un gangliósido, vimentina, vitronectina, albúmina, transtiretina, fragmentos de unión a beta amiloide de los mismos y combinaciones de los mismos. Aparentemente, el uso de KLVFF como agente de captura y de unión no es revelado por Bias et al. En vista de la revelación de Nobuya and Kazunori y de Bias et al., todavía hay una necesidad de un procedimiento que esté configurado para retirar las beta amiloides sin tener que depender principalmente del rendimiento de la membrana semipermeable o, más específicamente, columnas. De hecho, Santoro and Guadagni (2009), en su publicación titulada "Dialysis Membrane: from Convection to Adsorption", especifican que el rendimiento de la membrana es difícil de evaluar, y las diferentes membranas solo se pueden comparar estableciendo puntos de comparación adecuados. Detallan aún más el recuento de que los puntos de comparación en sí mismos pueden cambiar dependiendo del tipo de comorbilidades del sujeto específico o paciente que se considera para la selección de la membrana.

Finalmente, Kitaguchi et al (2011), en su publicación que se publicó el 24 de febrero de 2011 y titulada "Reduction of Alzheimer's Disease Amyloid- β in Plasma by Hemodialysis and Its Relation to Cognitive Functions", describen que los dializadores son un componente principal de un procedimiento de hemodiálisis, reducen eficazmente las beta amiloides en la circulación de todo el cuerpo, y esa disminución rápida y repetida de beta amiloide en plasma puede mantener el estado cognitivo. Con más particularidad, Kitaguchi et al, en la parte de discusión de su publicación publicada, identifican al menos tres (3) posibles mecanismos para lograr eficacias de eliminación bastante elevadas de los dializadores, a saber, filtración, adsorción o filtración y adsorción (una combinación). Los autores también enfatizan que sus experimentos preliminares in vitro indican que la adsorción puede tener una contribución importante en la actividad de eliminación de beta amiloides del dializador. La filtración de plasma requiere un dializado formulado a un cierto valor de conductividad basado en variables de entrada tales como la conductividad del ultrafiltrado de plasma para alimentarse en un programa informático que se desarrolla para generar un modelo cinético de conductividad. Cabe destacar que Kitaguchi et al., no proporcionan una descripción del procedimiento asociado con la filtración y adsorción antes mencionadas. Tampoco describen un procedimiento de captura y unión de amiloide asociado con cualquier agente de unión de amiloide, si es que existe alguno. De este modo, una divulgación relacionada por Nalesso and Ronco (2006) se incorpora y se cita en este documento. Nalesso and Ronco, en el libro editado por Jean-Louis Vincent y titulado "Intensive Care Medicine: Annual Update 2006", describen que la filtración y adsorción de plasma son dos procesos que se pueden combinar para mejorar la efectividad de la purificación extracorpórea. Describen además que dicha filtración y adsorción de plasma se dirige al uso de vehículos de moléculas patológicas. Como tal, las moléculas en la circulación sanguínea total son transportadas por agua de plasma si son solubles o por portadores en el plasma (por ejemplo, albúmina u otros portadores específicos) si son insolubles. Por lo tanto, la observación anterior indica que el vehículo real de las moléculas tóxicas no es otro que el plasma, y la mejor técnica de purificación extracorpórea podría actuar directamente sobre este plasma. Al identificar los portadores y la composición de solutos del plasma, el plasma puede convertirse en un medio de purificación de la sangre. Este concepto maduró en el desarrollo de la diálisis de

adsorción por filtración de plasma (PFAD). Se cree que Kitaguchi et al han adaptado el concepto de que el plasma es el único portador de todas las moléculas, incluidas las que se consideran tóxicas. Como se describe por Nalesso and Ronco, todas las moléculas ya sea se transportan en el agua del plasma o se unen a la albúmina (u otro portador de proteína para el caso). La albúmina y otros portadores a menudo están presentes en la solución en el agua del plasma. De este modo, el transporte de moléculas depende de sus características hidrofóbicas y sus pesos moleculares. Las moléculas con solubilidad elevada se transportan en solución encontrada en agua de plasma; mientras que las moléculas hidrofóbicas se transportan unidas a portadores específicos o no específicos en el agua del plasma. Por consiguiente, el equilibrio fisicoquímico se puede lograr entre los tejidos y el plasma a través del endotelio capilar. Esto resulta en el establecimiento del equilibrio dinámico en el plasma. En consecuencia, un tratamiento extracorpóreo que actúa directamente sobre el plasma puede retirar las moléculas tóxicas de los tejidos que operan en este equilibrio dinámico. A modo de resumen, el procedimiento descrito por Kitaguchi et al implica la eliminación de beta amiloide mediante el uso de agua ultrafiltrada para instigar la captura de beta amiloide de bajo peso molecular. Por consiguiente, el procedimiento descrito no implica, de ninguna manera, la selección de beta amiloides específicos.

Analizando adicionalmente el concepto anterior como se explica en detalle por Nalesso and Ronco, una persona que tenga una experiencia normal en el arte puede entender el potencial del plasma de un sujeto para usarse como dializado después de la purificación en su componente tal como composición de electrolito, estado ácido-base, agua y portador de proteínas. Según los autores, el plasma no contiene células, por lo que se pueden usar en sistemas de purificación extracorpórea usando materiales no biocompatibles, tales como algunos sorbentes para moléculas específicas. En resumen, el propio plasma del paciente desempeña una función muy importante en la purificación de la sangre y, en consecuencia, en la eliminación de todas las moléculas de alto peso molecular o aquellas con características hidrofóbicas. Kitaguchi et al especifican que la hidrofobicidad puede ser un factor clave de su procedimiento de diálisis descrito. De hecho, el plasma es el medio a través del cual todas las moléculas pueden ser transportadas al sitio de purificación. Debido a la capacidad inherente del plasma para unir y transportar toxinas, se puede usar el plasma regenerado del paciente. Mediante el uso de plasma filtrado regenerado en un compartimiento apropiado de una máquina de diálisis, se puede realizar el procedimiento de diálisis basado en los procesos de difusión y unión para eliminar ciertas toxinas. Sin embargo, la regeneración del plasma puede tomar más tiempo. Lo más notable, una de las principales desventajas que se pueden observar en la regeneración del plasma es la posible pérdida de sustancias fisiológicas vitales del plasma, y, en la mayoría de los casos, estas sustancias tienen que infundirse nuevamente al paciente. Sin duda, esta infusión proporciona un procedimiento más tedioso, complicado y costoso, sin mencionar que el riesgo para la salud del paciente también está en juego. A través de este procedimiento, tampoco hay garantía de que pueda evitarse el escape de beta amiloide atrapado al plasma sanguíneo.

A la vista de todas las limitaciones precedentes de la técnica anterior, está claro que todavía existe la necesidad de un procedimiento estándar, económico y simple asistido por máquina de diálisis que elimine extracorpóreamente beta amiloides sin permitir el escape de las beta amiloides de nuevo en el cuerpo de un sujeto, sin tener que evaluar intrincadamente el rendimiento y las características de una membrana de diálisis, y sin poner en riesgo la condición de salud de los sujetos.

Resumen de la invención

A la vista de las limitaciones anteriores de la técnica anterior, la presente invención proporciona principalmente el uso de una composición de la reivindicación 1 que se puede usar para tratar un sujeto con una afección patológica relacionado con los niveles inducidos de beta amiloides en los que esta composición es usada como parte de un procedimiento de diálisis, caracterizado porque la composición se dirige específicamente y se une a beta amiloides, porque la reacción de unión a beta amiloides de la composición ocurre extracorpóreamente, porque la composición no permite el escape de beta amiloides capturados, y porque la composición se mezcla con un dializado para uso en el procedimiento de diálisis y, por medio del cual, el procedimiento de diálisis da como resultado niveles de beta amiloide altamente reducidos en el sujeto.

Por lo tanto, el objetivo principal de la presente invención es proporcionar una composición que pueda usarse para la preparación de una formulación de un fluido de diálisis o de dializado destinada a tratar extracorpóreamente, asistido por un procedimiento de filtración de sangre, una afección patológica asociada con el nivel inducido de beta amiloides. De acuerdo con la presente invención, la composición consiste principalmente en un agente de unión que está diseñado y preparado para capturar y unirse a beta amiloides neurotóxicos diana. El agente de captura, que también actúa como agente de unión, se introduce directamente en el fluido de diálisis o en el dializado junto con otros componentes estándar de un dializado ordinario requerido para alcanzar el equilibrio necesario para que tenga lugar el procedimiento de diálisis.

Es otro objeto de la presente invención la preparación de una composición para tratar a un sujeto que tiene una afección patológica relacionada con el nivel inducido de beta amiloides y uno o más de los síntomas de dicha afección patológica como se mencionó anteriormente proporcionando una composición que comprende el péptido KLVFF, o cualquier variante del mismo, tal como su péptido FFVLK análogo inverso, en una cantidad suficiente para capturar la mayoría de las beta amiloides neurotóxicos prevalentes.

Es otro objeto más de la presente invención proporcionar un agente de captura y de unión que incluye péptidos que consisten en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: Lys-Leu-Val-Phe-Phe-Cys; phe-phe-val-leu-lys-cys; [phe-phe-val-leu-lys-βAla]₂-lys-cys; [phe-phe-val-leu-lys-PEG-lys-]₃-cys; y [phe-phe-val-leu-lys-PEG-lys-]₃-cys. Una secuencia de aminoácidos puede incluir D-isómeros que se pueden preparar como un polipéptido lineal, ramificado o reticulado. Los péptidos relacionados con KLVFF podrían ser monómeros, dímeros, trímeros u oligómeros superiores unidos entre sí en una forma lineal o ramificada, tal como, pero sin limitación a, la siguiente tabla:

Estructura del conjugado	Copias de péptido
Lys-Leu-Val-Phe-Phe-Cys	1 (nativo)
phe-phe-val-leu-lys-cys	1 (retro-inverso)
Estructura del conjugado	Copias del péptido
[phe-phe-val-leu-lys- βAla] ₂ -lys-cys (ramificado)	2 (retro-inverso)
[phe-phe-val-leu-lys-βAla] ₄ -lys ₂ -lys-cys (ramificado)	4 (retro-inverso)
[phe-phe-val-leu-lys-PEG-lys-] ₃ -cys (lineal)	3 (retro-inverso)

La minúscula es para D-aminoácidos. βAla es beta-alanina, C-terminal es forma no cargada, amidado, N-terminal es forma cargada positiva, libre, PEG puede terminarse por un grupo amino en un extremo y un grupo carboxilato en el otro extremo. En una realización preferida, el residuo de cisteína se une a través de su tiol de cadena lateral a la matriz de gel.

Es otro objeto más de la presente invención usar la composición mencionada anteriormente para la preparación de un fluido de diálisis o un dializado destinado a un uso posterior en un dispositivo de diálisis estándar o típico. Este dispositivo de filtración de sangre está configurado para separar constituyentes de plasma de otros componentes celulares de la sangre. El dispositivo de filtración de sangre (o un dializador) incluye tres (3) componentes principales, a saber, un lado del circuito sanguíneo adaptado para recibir sangre extraída de un sujeto, un lado del dializado adaptado para recibir la formulación de fluido de diálisis y una membrana permeable que separa el lado del circuito sanguíneo y lado del dializado. En un sentido directo, la composición tiene que ser introducida en el dializado contenido en el lado del dializado del dispositivo de filtración de sangre para que pueda lograrse el objeto completo de la invención.

Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar un procedimiento de producción de una composición, en el que al menos un agente de captura y de unión, como se describió anteriormente, o uno de sus derivados o análogos farmacéuticamente aceptables, se transforma en una forma de dosificación conjuntamente con al menos un portador sólido y/o líquido, o semilíquido y/o sustancia auxiliar. Con respecto a este aspecto específico de la presente invención, el portador incluye cadenas poliméricas de polietilenglicol que se pueden reticular para aumentar el peso molecular total de la composición. El operador proporciona un marco por el cual se puede aumentar la avidez de enlace al vincular varias copias del elemento de enlace.

Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar un sistema para un sistema extracorpóreo para reducir el nivel de péptidos beta amiloides diana en la sangre. El sistema comprende principalmente un dispositivo de filtración de sangre y una composición que consiste principalmente en un agente de captura y de unión para capturar y unirse al péptido beta amiloide dirigido. En una realización preferida de la presente invención, el dispositivo de filtración de sangre está compuesto por un lado del circuito sanguíneo, un lado del dializado y una membrana semipermeable configurada para separar los constituyentes del plasma de otros componentes celulares de la sangre. En otra realización preferida, la composición se introduce directamente en el dializado contenido en el lado del dializado.

Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar una composición para usar en un método para reducir los niveles de beta amiloide en la sangre de un sujeto que requiere tal tratamiento mediante circulación extracorpórea. El método comprende principalmente de al menos cuatro (4) etapas. La segunda etapa es extraer sangre del sujeto a una velocidad de flujo predeterminada a través de un dispositivo de filtración de sangre que tiene principalmente un lado del dializado y un lado de circuito sanguíneo en el que la sangre se dirige solo al lado del circuito sanguíneo. La primera etapa es introducir una cantidad eficaz de una composición que consiste principalmente en un agente de captura y de unión para péptidos beta amiloides directamente en el fluido de diálisis contenido en el lado del dializado. La tercera etapa es hacer circular la sangre a través del lado del circuito sanguíneo que está ubicado a lo largo de la periferia del lado del dializado, en el que la circulación se facilita mediante cualquier procedimiento de diálisis estándar o, más específicamente, el procedimiento de hemodiálisis.

Finalmente, la cuarta etapa es devolver al sujeto los otros componentes celulares y los constituyentes de plasma tratados de la sangre.

5 Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar un paquete para el tratamiento de pacientes que padecen afecciones patológicas asociadas con el nivel inducido de beta amiloide. El kit puede comprender una cantidad de un portador que lleva el agente de captura y de unión de beta amiloide, en combinación con un material de dializado para uso en un procedimiento de diálisis. En una realización, la composición se combina con bicarbonato de sodio en forma de polvo o líquido. En otra realización, la composición se combina con una mezcla de ácido dializado. En otra realización, la composición se introduce directamente en el dializado.

10 Otro objeto más de la presente invención es tratar un sujeto que padece una afección patológica seleccionada de un grupo que consiste en: enfermedad de Alzheimer (AD), diabetes, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, cataratas, distrofia muscular y síndrome de Down.

Los objetos adicionales y ventajas que se acompañan proporcionados por la presente invención se harán evidentes a partir de las descripciones detalladas de las realizaciones, tal como se expone a continuación; a saber:

Breve descripción de los dibujos

15 Los dibujos adjuntos se presentan para describir adicionalmente la presente invención y para proporcionar una comprensión clara de diversas realizaciones de la presente invención a través de ejemplos ilustrativos. Estos ejemplos, que se dice que son ilustrativos, no deben considerarse como limitantes con respecto al alcance de la presente invención.

20 La figura 1 muestra una ilustración de una secuencia parcial de APP770 en la que KLVFF, que sirve principalmente como agente de captura y de unión para mezclar con una solución de dializado, está subrayado;

La figura 1A muestra un péptido tetrámero del agente de captura y de unión como se describe en la figura 1;

La figura 1B muestra una ilustración del péptido tetrámero del agente de captura y de unión unido a una polietilenglicol maleimida de 8 brazos;

25 La figura 2 muestra un diagrama de bloques que ilustra el uso de un agente de captura y de unión, tal como el ilustrado en las figuras 1A y 1B, en la preparación de una formulación de fluido de diálisis para uso en un procedimiento de diálisis;

La figura 3 muestra un diagrama de bloques que ilustra un sistema extracorpóreo para reducir el nivel de péptidos beta amiloides diana en sangre; y

30 La figura 4 muestra un diagrama de flujo que ilustra el método para reducir el nivel de beta amiloide en la sangre de un sujeto que requiere dicho tratamiento mediante circulación sanguínea extracorpórea.

Descripción detallada de la invención

35 La presente invención proporciona principalmente el uso de una composición para la preparación de una formulación de fluido de diálisis destinada para el tratamiento extracorpóreo, a través de un procedimiento de filtración de sangre, de una afección patológica asociada con la inducción del nivel de beta amiloide en un sujeto. La composición consiste ventajosamente en un agente de captura y de unión para capturar y unir beta amiloides diana, cuyo uso se ha descrito en los documentos de la técnica citada anteriormente como clínicamente seguros y eficaces para reducir los niveles de beta amiloide en sangre de sujetos que padecen afecciones patológicas relacionadas con el nivel inducido de beta amiloides y uno o más de los grupos de síntomas que presentan característicamente un alto nivel de beta amiloides.

40 Con referencia a la figura 1, se muestra una ilustración de la secuencia parcial de APP770. El péptido de β -amiloide, A β 1-42, (SEQ ID NO: 1) se muestra en negrita y cursiva. Por otro lado, A β 1-40 (SEQ ID NO: 2) tendría IAT truncado desde el C-terminal. Por último, KLVFF (SEQ ID NO: 4) está subrayado. El péptido KLVFF, o cualquiera de sus variantes, es el componente primario de la composición reivindicada de la presente invención. Esta composición sería superior para atraer, capturar y unir péptidos beta amiloides neurotóxicos que a menudo están presentes en la sangre o, más específicamente, en el componente de plasma de la sangre. Las características del péptido KLVFF y su forma análoga inversa, péptidos FFVLK, han sido descritas por Zhang et al en sus publicaciones anteriores.

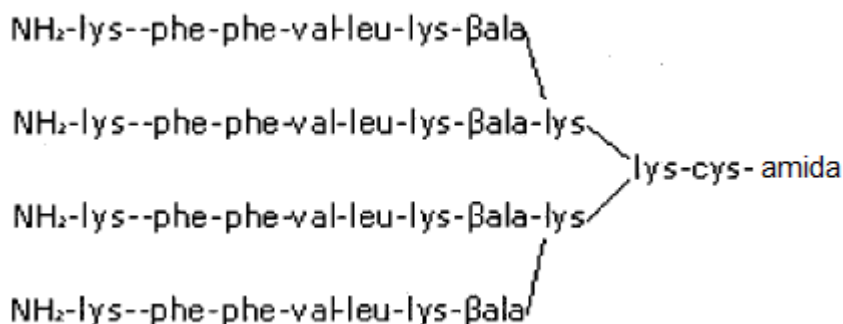
45 Los péptidos relacionados con KLVFF podrían ser monómeros, dímeros, trímeros u oligómeros superiores unidos entre sí en una forma lineal o ramificada, tal como, pero no se limitan a, la siguiente tabla:

Tabla 1.

Estructura del conjugado	Copias del péptido
Lys-Leu-Val-Phe-Phe-Cys	1 (nativo)
phe-phe-val-leu-lys-cys	1 (retro-inverso)
[phe-phe-val-leu-lys-βAla]2-lys-cys (ramificado)	2 (retro-inverso) 4 (retro-inverso)
[phe-phe-val-leu-lys-PEG-lys-]3-cys (lineal)	3 (retro-inverso)

La minúscula es para D-aminoácidos. βAla es beta-alanina, C-terminal es forma no cargada, amidado, N-terminal es forma cargada positiva, libre, PEG puede terminarse por un grupo amino en un extremo y un grupo carboxilato en el otro extremo. En una realización preferida, el residuo de cisteína se une a través de su tiol de cadena lateral al portador.

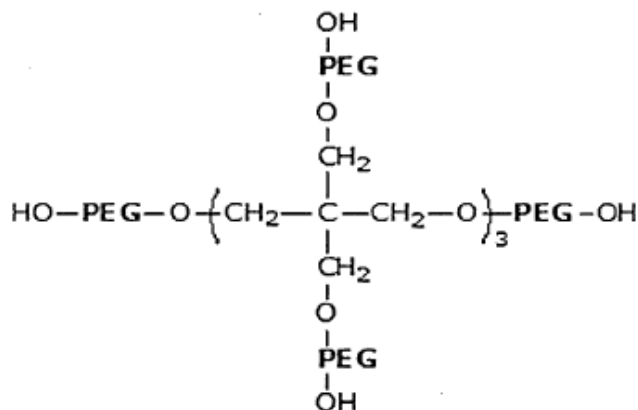
Con referencia a la figura 1A, se muestra la composición del agente de captura y de unión que tiene un péptido tetramérico que contiene cuatro copias del péptido monómero en secuencia inversa (retro-inverso), ffvlk, como se muestra a continuación:



La estructura anterior se proporciona preferiblemente en un polvo de bicarbonato que se puede mezclar con un fluido de diálisis estándar. Se prefiere además que un fluido de diálisis estándar tome la forma de un dializado ultrapuro. Un tipo de dializado ultrapuro es una combinación de agua y otros productos químicos que eliminan los desechos de la sangre. La ventaja principal de usar un dializado ultrapuro es que habría menos riesgo de caída de la presión arterial durante el procedimiento de tratamiento. Esto garantiza que el procedimiento de circulación se lleve a cabo de forma coherente, y existe un entorno estable para el agente de captura y de unión, péptidos KLVFF o FFVLK, para capturar y unirse a las beta amiloides que pueden estar presentes en el componente plasmático de la sangre.

Con referencia a la figura 1B, se representa un agente de captura y de unión del tetramérico que está unido, a través de su cadena lateral cys, a una polietilenglicol maleimida de 8 brazos para formar una molécula del agente de captura y de unión con 32 brazos capturadores de beta amiloide, como se muestra a continuación:

8ARM-PEG-OH: polietilenglicol de 8 brazos (núcleo de tripentaeritritol) MW: 40,000 Da



Con referencia ahora a la figura 2, se muestra un diagrama de bloques que ilustra el uso de un agente de unión, tal como el ilustrado en la figura 1A y 1B, en la preparación de una formulación de fluido de diálisis. La composición, que consiste principalmente en el agente de unión como se describe en la figura 1, puede consistir adicionalmente en una cantidad eficaz de cada uno de los siguientes componentes: ácido, agua y bicarbonato de sodio. La composición resultante se puede mezclar luego adecuadamente con una solución de dializado estándar en una cámara de mezclado. Con el fin de garantizar que una cantidad apropiada de cada una de la composición resultante y la solución de concentrado de dializado, se puedan usar controladores de velocidad de flujo individuales. La mezcla resultante ahora forma un fluido de diálisis que se puede transferir desde la cámara de mezclado al lado del dializado a través de una unidad de transferencia de fluido con suficiente potencia para bombear una cantidad de fluido de diálisis requerida en un modo de operación preferido de la presente invención. Adyacente al lado del dializado está el lado del circuito sanguíneo. El lado del circuito sanguíneo está configurado para recibir sangre de otra unidad de transferencia de fluido que está diseñada para bombear la sangre desde un sujeto a una velocidad de flujo predeterminada. Entre el lado del dializado y el lado del circuito sanguíneo está la membrana permeable. Esta membrana se caracteriza por un material poroso que tiene poros de tamaño suficiente para permitir que los péptidos beta amiloides neurotóxicos pasen a través de él, pero de cierto tamaño para no permitir el paso de otros componentes celulares de la sangre, la mayoría de los cuales son generalmente importantes ya que lo mismo se requiere para mantener el estado fisiológico del mismo. Es la capacidad de atracción y unión del agente de captura y de unión que desempeña un papel importante en el procedimiento de eliminación sustancial de cualquier cantidad de péptidos beta amiloides neurotóxicos que puedan estar presentes en la sangre recién extraída de un paciente. Mientras que la sangre que contiene beta amiloides neurotóxicos pasa a través del lado del circuito sanguíneo en una primera dirección uniforme, el agente de captura y de unión se usa en la preparación del fluido de diálisis que fluye dentro del lado del dializado en una dirección uniforme opuesta a la primera dirección, está capturando sustancialmente la mayoría de las beta amiloides en el mismo. El agente de captura y de unión atrae a las beta amiloides que pasan a través de la membrana permeable. El propio agente de captura y de unión se puede formular para que sea lo suficientemente grande como para que no pase a través del material poroso de la membrana permeable. A este respecto, solo las beta amiloides que tienen tamaños (o pesos moleculares) que son más pequeños que el material poroso de la membrana permeable puede pasar a través de este.

Con referencia ahora a la figura 3, se muestra un diagrama de bloques que ilustra un sistema extracorpóreo para reducir el nivel de péptidos beta amiloides diana en la sangre. El sistema comprende principalmente de dos componentes, a saber, un dispositivo de filtración de sangre y la composición que consiste principalmente en un agente de captura y de unión, como se describe en la figura 1A y 1B. El dispositivo de filtración de sangre está configurado para separar constituyentes de plasma de otros componentes celulares de la sangre. Además, el dispositivo de filtración de sangre incluye un lado del circuito sanguíneo adaptado para recibir la sangre extraída, un lado del dializado adaptado para recibir un fluido de diálisis, y una membrana permeable que separa el lado del circuito sanguíneo y el lado del dializado. Por otro lado, el segundo componente, que es la composición mencionada y descrita anteriormente, consiste principalmente en un agente de unión para péptidos beta amiloides diana. La composición se introduce directamente en el fluido de diálisis contenido en el lado del dializado. El agente de unión tiene una capacidad de unión suficiente para capturar y unir los péptidos beta amiloides neurotóxicos de la transferencia de constituyentes del plasma del lado del circuito sanguíneo al lado del dializado. En una realización preferida, la membrana permeable tiene tamaños de poro que son sustancialmente mayores que los tamaños de los péptidos beta amiloides (en forma de oligómero) permitiendo así que los péptidos beta amiloides pasen a través de la membrana permeable mientras el agente de unión los atrae para su eliminación. En todo el procedimiento de filtración de sangre, se pueden añadir componentes auxiliares conocidos que se conocen en la técnica son equipos de monitor de presión y unidades de transferencia de fluido que son capaces de bombear sangre. En otra realización preferida, el detector de aire y la trampa de aire, que incluyen abrazaderas, también se pueden emplear en el sistema de manera que, sustancialmente, no puede pasar ninguna cantidad de aire a través de la sangre. Como alguien con experiencia ordinaria en el arte, incluso una cantidad muy pequeña de aire que penetra en la circulación sanguínea

puede causar aeroembolismo o embolia gaseosa. Esta es una condición patológica que es causada principalmente por la presencia de burbujas de gas en un sistema vascular. Mediante el uso de trampa de aire, el sistema vascular todavía puede funcionar deseablemente. Además, también se puede emplear un controlador de volumen de fluido (no mostrado) en el sistema. Este tipo de controlador se usa comúnmente para lograr el equilibrio de fluidos que, a su vez, afecta la eficiencia de todo el sistema de proporcionar el procedimiento de diálisis, como se describió preferiblemente anteriormente.

En términos generales, las máquinas de diálisis se usan en el tratamiento de diversas enfermedades, tales como enfermedades relacionadas con el riñón. Cuando los riñones funcionan normalmente, participan en la eliminación de sustancias tóxicas del cuerpo. Sin embargo, cuando los riñones no funcionan correctamente debido a enfermedades, a menudo es necesario eliminar las toxinas del cuerpo mediante una técnica conocida como diálisis. El paciente está conectado a una máquina de diálisis para que ya sea la sangre o el fluido peritoneal puedan fluir desde el paciente hacia la máquina y luego regresar al paciente. Durante este procedimiento estándar de diálisis, el fluido entra en contacto con una membrana de diálisis. La membrana de diálisis es porosa y permite el paso de sustancias de bajo peso molecular, incluidas las toxinas. Tales máquinas, y el uso de tales máquinas, son familiares para un experto en el arte.

En una realización de la presente invención, se usa una máquina de diálisis similar a la usada en la eliminación de sustancias tóxicas de un paciente con enfermedad renal. Usando una máquina de diálisis típica, la técnica de la invención comprende la incorporación de un "agente de captura y de unión" en la solución reguladora de diálisis que luego se usa junto con una máquina de diálisis para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (AD) mediante terapia de extracción de beta amiloides como se contempla en este documento y, por ejemplo, según los principios científicos básicos descritos en los documentos de la técnica citada anteriormente. En otra realización preferida, este agente de captura y de unión es el péptido KLVFF.

Como es familiar para un experto en el arte, existen dos rutas de flujo en una máquina de diálisis típica. Una ruta proporciona un flujo tortuoso de sangre o fluido peritoneal a lo largo de una cara de la membrana de diálisis permeable estándar. La ruta tortuosa toma la sangre o el fluido del paciente, a través de la máquina y a lo largo de la cara de la membrana, y finalmente regresa al sujeto. La otra ruta proporciona contacto a lo largo de la otra cara de la membrana de diálisis mediante el dializado o solución reguladora (junto con, por lo general, una cantidad apropiada de agua) que recibirá las toxinas. Normalmente, las dos rutas funcionan en "contracorriente" entre sí, de manera que la sangre o el fluido fluyen a lo largo de la membrana en una primera dirección y el dializado o solución reguladora fluye a lo largo de la otra cara de la membrana en una dirección generalmente opuesta a la primera dirección. Como se contempla en este documento, la solución de dializado o solución reguladora puede comprender un agente de captura y de unión. Aunque las dos soluciones estarán separadas en todo momento por la membrana de diálisis, todas las sustancias por debajo del peso molecular de corte de la membrana de diálisis (por ejemplo, el tamaño de poro de la membrana permeable) podrán transferirse hacia adelante y hacia atrás. En una máquina de diálisis estándar, la solución reguladora se puede reemplazar continuamente para aumentar la tasa de extracción de toxinas. Sin embargo, si se usa un agente de captura y de unión que tiene una fuerza de unión particularmente potente, puede no ser necesario reemplazar la solución reguladora. Como se describió previamente, el agente de captura y de unión puede contener un polipéptido que puede prepararse para consistir en tres o más secuencias de aminoácidos que están unidas entre sí a través de un enlazante con uno o más brazos de captura. El aumento del número de brazos de captura del enlazante aumenta la longitud total de los mismos. La longitud total de los brazos de captura es directamente proporcional a la capacidad de unión del agente de captura y de unión de manera que una cadena más larga de brazos de captura produce una mayor capacidad del agente de unión para capturar y unirse a beta amiloide diana. En una realización anterior, la presente invención proporciona ventajosamente un conjunto de 8 brazos para lograr una capacidad de unión óptima.

La membrana de diálisis estándar puede ser una de una membrana con base generalmente sintética o una membrana de dializado basada en celulosa tradicional. Además, las membranas de hemodiálisis de alto flujo tienen nuevas tecnologías que permiten el paso de moléculas de mayor tamaño a través de la membrana a través de poros más grandes soportados por la difusión y la convección. Alternativamente, están disponibles versiones de nanotecnología más recientes. La nanotecnología se está usando en algunas de las membranas de flujo alto más recientes para crear un tamaño de poro uniforme. El objetivo de las membranas de alto flujo es pasar moléculas relativamente grandes, como la microglobulina beta-2 (que tiene un peso molecular aproximado de 11,600 Dalton), pero no pasar la albúmina (que tiene un peso molecular aproximado de 66,400 Dalton).

Una única cadena beta amiloide tiene un peso molecular aproximado de 4,200 Dalton. Sin embargo, hemos identificado que ADDLS, que es una forma neurotóxica de las beta amiloides más prevalentes en el cuerpo cuando hay plagas, son un agregado de 8 péptidos beta amiloides en su mayoría combinados para tener un peso molecular resultante de 33,600 Dalton. De este modo, es preferible usar una membrana que pueda permitir el paso a estas moléculas más grandes, tales como membranas que pueden permitir el paso a través de estas, de moléculas con un peso molecular de hasta 45,000 Dalton hasta 50,000 Dalton.

En una realización, el agente de captura y de unión comprende la secuencia peptídica de KLVFF o una variante de la misma, por ejemplo, un análogo retro o inverso (véase, por ejemplo, la tabla 1 en la solicitud relacionada adjunta del solicitante). Este péptido se puede unir a un gel reticulante/portador de poli (etilenglicol) para aumentar el peso

molecular total del gel portador unido y dicha secuencia peptídica, evitando así su transporte a través de la membrana de diálisis. Dicho agente de captura y unión y portador se puede unir con éxito a beta amiloides, lo que puede eliminar a las beta amiloides de la sangre o del fluido que pasa a través de la máquina de diálisis y a lo largo de la membrana. Se deberían usar aproximadamente de 10 mg a aproximadamente 100 mg del gel portador por tratamiento y serían suficientes, aunque estas cantidades pueden variar, por ejemplo, dependiendo de diversos parámetros de cada paciente particular. La combinación de agente de captura y de unión, gel y agua puede comprender además un dializado estándar ya que un tratamiento de hemodiálisis de alto flujo requiere electrolitos y otros elementos para ser introducidos en la sangre (los electrolitos y otros elementos pueden pasar a través de la membrana y a la sangre o fluido, como se hace comúnmente en un tratamiento de diálisis típico para el equilibrio del pH y otras consideraciones y como entenderán los expertos en el arte).

En una realización adicional, el agente de captura y de unión se puede configurar de manera que el propio agente de captura y de unión no pueda pasar a través de los poros de la membrana seleccionada. Sin embargo, un tamaño molecular de aproximadamente 33,600 Dalton no es necesariamente necesario para lograr esto, ya que el gel sintético no se pliega como los péptidos beta amiloides (o ADDLS) que se encuentran en el cuerpo. De este modo, el agente de captura y de unión puede necesitar solamente tener un peso molecular de aproximadamente 15,000 Dalton a 20,000 Dalton para evitar el paso a través de los poros de la membrana, ya que su volumen hidrodinámico hace que su peso molecular aparente sea grande.

Dicho agente de captura y de unión potenciado puede añadirse al agua u otra solución de diálisis convencional o solución reguladora para uso en la máquina de diálisis para el tratamiento de diálisis de un sujeto o paciente que padece AD u otra afección patológica asociada con niveles anormales in vivo de péptidos beta amiloides. Alternativamente, el gel portador puede usarse todavía de manera que el agente de captura y de unión potenciado esté unido al gel portador. La combinación del agente de captura y aglutinante y agua (y opcionalmente gel portador) puede comprender además un dializado estándar ya que un tratamiento de hemodiálisis de alto flujo requiere electrolitos y otros elementos para salir a la sangre (los electrolitos y otros elementos pueden pasar a través de la membrana y dentro de la sangre o fluido, como se hace comúnmente en un tratamiento de diálisis típico para el equilibrio de pH y otras consideraciones útiles y relacionadas).

En otra realización, la presente invención puede incluir una versión modificada de una máquina de diálisis típica para el tratamiento de AD, en la que se usa una solución reguladora con una máquina de diálisis, comprendiendo la solución reguladora un agente de captura y de unión como se describe en este documento. El agente de captura y de unión puede ser, por ejemplo, la secuencia del péptido KLVFF. Dicho agente de captura y de unión puede aumentar la efectividad de dicho tratamiento de diálisis para extraer toxinas encontradas en pacientes con la enfermedad de Alzheimer (AD) que tienen péptidos beta amiloides. Tal como el sistema se puede denominar, por ejemplo, una terapia a modo de enjuague de desintoxicación de beta amiloide.

En otra realización más, la presente invención puede incluir un sistema para tratar a un paciente que lo necesita, que comprende, una máquina de diálisis que comprende una membrana altamente permeable; y un dializado que comprende al menos un gel portador y un agente de captura y de unión unido al gel portador. La máquina de diálisis puede ser cualquier máquina de hemodiálisis como la conocida en la técnica. La membrana permeable puede ser una membrana sintética, que incluye, pero no se limitan a, membranas apropiadas para diálisis de alto flujo. El gel portador puede ser un gel reticulante/portador de poli (etilenglicol), o una proteína portadora como se conoce en la técnica, o cualquier otra molécula transportadora o dispositivo diseñado para recuperar el volumen hidrodinámico o el peso molecular del reactivo atrapante. El agente de captura y de unión puede ser un péptido KLVFF o un análogo retro o un reverso u otra variante del mismo. Alternativamente, el agente de captura y de unión puede tener un tamaño molecular mayor que el péptido KLVFF. Además, dicho agente de captura y de unión puede tener un tamaño molecular equivalente a un peso molecular de aproximadamente 15,000 Dalton a 20,000 Dalton. El dializado puede comprender además agua u otra solución reguladora apropiado para diálisis. Dicho sistema se puede usar para tratar un sujeto que lo necesite, por ejemplo, un paciente con enfermedad de Alzheimer (AD) o cualquier otra patología relacionada con beta amiloide en la que se desee la extracción de péptidos beta amiloides de un sujeto.

Como se contempla en este documento, un sujeto que lo necesita incluye un ser humano que padece una afección patológica asociada con niveles anormales in vivo de péptidos beta amiloides (beta amiloides). En una realización particular, tales afecciones patológicas se seleccionan del grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer, la diabetes, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, las cataratas, la distrofia muscular y el síndrome de Down.

Con referencia ahora a la figura 4, donde se muestra un diagrama de flujo que ilustra un método para reducir los niveles de beta amiloide en la sangre de un sujeto que requiere tal tratamiento mediante circulación extracorpórea. El método para reducir los niveles de beta amiloide en la sangre de un sujeto que requiere dicho tratamiento mediante circulación extracorpórea comprende principalmente cuatro (4) etapas primarias. La primera etapa es extraer sangre del sujeto a una velocidad de flujo predeterminado usando un dispositivo de filtración de sangre configurado para separar los constituyentes del plasma de otros componentes celulares de la sangre. El dispositivo de filtración de sangre incluye un lado del circuito sanguíneo adaptado para recibir la sangre extraída, un lado del dializado adaptado para recibir un fluido de diálisis, y una membrana permeable que separa el lado del circuito sanguíneo y el lado del dializado. La segunda etapa, que avanza, se dirige al procedimiento de introducción de una

cantidad eficaz de una composición que consiste principalmente en un agente de captura y de unión para péptidos beta amiloides directamente en el fluido de diálisis contenido en el lado del dializado. El agente de captura y de unión tiene una capacidad de unión suficiente para atraer y capturar los péptidos beta amiloides neurotóxicos de los constituyentes del plasma que circulan en el lado del circuito sanguíneo. En una realización preferida de la presente invención, la membrana permeable es un tipo semipermeable que tiene tamaños de poro que son sustancialmente mayores que los tamaños de los péptidos beta amiloides (esto es, 50,000 Dalton) permitiendo así que los péptidos beta amiloides pasen a través de la membrana semipermeable. Después de esta etapa está la tercera etapa, en la que la sangre contenida en el lado del circuito sanguíneo se está haciendo circular en la misma. La circulación toma una dirección sustancialmente uniforme o ruta de flujo. El lado del circuito sanguíneo, como se conoce en la técnica, puede estar situado a lo largo de la periferia del lado para el fluido de diálisis o el dializado. Este lado del dializado es donde se está introduciendo la composición que consiste en el agente de captura y de unión. El agente de captura y de unión luego se puede capturar y unir a las beta amiloides, y también a los dímeros y oligómeros de los mismos, que a menudo están presentes en la composición de plasma de la sangre. La circulación de la sangre, a través de un procedimiento de hemodiálisis regular, proporciona la separación del plasma. Esto permite que el agente de captura y de unión capture y se una a las beta amiloides que pasan a través de la membrana semipermeable. Finalmente, la cuarta etapa es devolver de nuevo al sujeto los otros componentes celulares y, posteriormente, los constituyentes del plasma tratados de la sangre sin beta amiloides. Esta etapa implica una ruta a la misma membrana. La sangre vuelve al cuerpo del sujeto y ahora está sustancialmente libre de beta amiloides. El efecto terapéutico de este método sería entonces prevenir cualquier condición patológica que esté estrechamente asociada con el nivel anormal de beta amiloides in vivo.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a un método de tratamiento de un sujeto que padece una afección patológica asociada con niveles anormales in vivo de péptido beta amiloide que comprende administrar a dicho sujeto el procedimiento de detoxificación de diálisis de la presente invención para extraer los péptidos beta amiloides del sujeto, y dicha extracción reduce los niveles de péptidos beta amiloides en el sujeto. En una realización particular, la afección patológica se selecciona del grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer, el síndrome de Down, la diabetes, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, las cataratas y la distrofia muscular.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para reducir la probabilidad de que un sujeto desarrolle una afección patológica asociada con niveles anormales de péptidos beta amiloides que comprende administrar a dicho sujeto el procedimiento de detoxificación de diálisis de la presente invención por un tiempo y en una cantidad suficiente para extraer péptidos beta amiloides del sujeto y dicho procedimiento da como resultado niveles reducidos in vivo de péptidos beta amiloides en el sujeto.

Dicho sistema y método, como los dos descritos anteriormente, se pueden usar en la sangre de un paciente que lo necesita, y además se puede usar con la frecuencia que se requiera, e incluso se puede usar repetida o continuamente para eliminar tales toxinas de la sangre. Además, la alta eficacia de desintoxicación por parte del agente de captura y de unión también puede dar como resultado una menor frecuencia de tratamientos requeridos.

En una realización adicional, la presente invención puede incluir un paquete para el tratamiento de pacientes que lo necesitan, y el paquete puede comprender una cantidad de un gel portador que comprende un agente de captura y de unión. El paquete también puede comprender una solución de dializado o un fluido de diálisis.

Bajo procedimientos de tratamiento como se describió anteriormente, las beta amiloides en la sangre, junto con su forma de oligómero (especialmente ADDLS), están obligados a capturar y aglutinar gel de agente potenciado a medida que las beta amiloides y ADDLS pasan a través de la altamente membrana permeable, limpiando así la sangre de estas toxinas a medida que la sangre pasa a través de la membrana de diálisis.

A lo largo de esta discusión, el término "dializado" se ha usado como sinónimo de los términos "soluciones reguladoras" y "fluido de diálisis" para definir el fluido que atrae y captura toxinas de la sangre o fluido a medida que la sangre o el fluido pasan a través de la máquina de diálisis.

Ventajas

La presente invención proporciona las siguientes ventajas:

(1) Proporciona una acción de unión que es específica para beta amiloides;

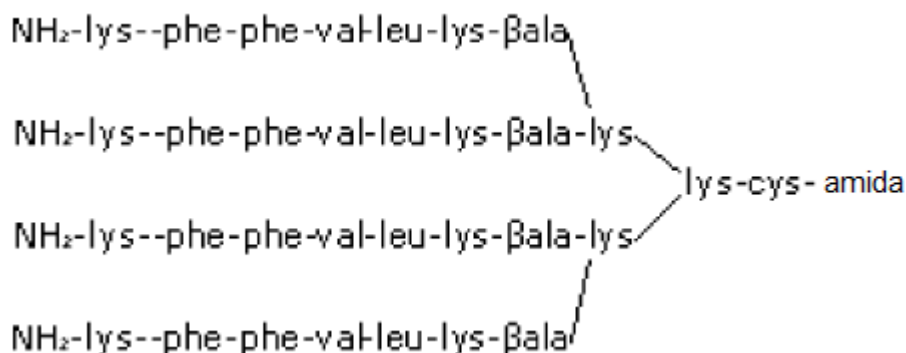
(2) No depende de la naturaleza mecánica (por ejemplo, filtración usando una membrana) de eliminación de beta amiloide; en su lugar, simplemente utiliza un agente de unión para capturar las beta amiloides de los componentes de la sangre;

(3) Proporciona un procedimiento mediante el cual se crea sistemáticamente el mayor potencial de unión; y

(4) Proporciona un procedimiento que no implica la introducción de sustancias extrañas en el cuerpo, eliminando así la posible respuesta del sistema inmune que, a su vez, se puede traducir en eventos de riesgo adverso.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de una formulación de fluido de diálisis eficaz para el tratamiento extracorpóreo, a través de un procedimiento de filtración sanguínea, de una afección patológica asociada a beta amiloide en un sujeto, dicho procedimiento comprende la preparación de una composición que comprende el péptido KLVFF, o una variante del mismo, como agente de captura y de unión, y un portador del mismo, y mezcla de dicha composición con una solución de dializado, en el que la variante incluye el péptido FFVLK que es un análogo inverso del péptido KLVFF.
2. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el fluido de diálisis consta de ácido, agua y bicarbonato de sodio, y en el que el fluido de diálisis consiste además en sustancias que se requieren para restablecer el equilibrio iónico de la sangre.
3. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el sujeto tiene una afección patológica seleccionada de un grupo que consiste en: enfermedad de Alzheimer, diabetes, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, cataratas, distrofia muscular y síndrome de Down.
4. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el agente de captura y de unión, o uno de sus derivados, se transforma en una forma de dosificación junto con al menos un portador y/o sustancia auxiliar sólida, líquida o semilíquida.
5. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el agente de captura y de unión es un péptido tetramero que contiene cuatro copias del péptido monómero en secuencia inversa, como se muestra a continuación:



6. Un procedimiento según la reivindicación 5, en el que el agente de captura y de unión del tetramero está unido, a través de su cadena lateral cys, a una polietilenglicol maleimida de 8 brazos para formar una molécula del agente de captura y de unión con 32 brazos de captura de beta amiloide.
7. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el procedimiento de filtración de sangre consiste en un dispositivo de filtración de sangre configurado para separar los constituyentes de plasma de otros componentes celulares de la sangre, en el que el dispositivo de filtración de sangre incluye un lado del circuito sanguíneo adaptado para recibir la sangre extraída. un lado del dializado adaptado para recibir la formulación de fluido de diálisis, y una membrana permeable que separa el lado del circuito sanguíneo y el lado del dializado.
8. Un procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque el agente de captura y de unión tiene una capacidad de unión suficiente para atraer y unir los péptidos beta amiloides neurotóxicos de los constituyentes del plasma que circulan en el lado del circuito sanguíneo.
9. Un procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque la membrana permeable es una membrana semipermeable que tiene tamaños de poro que son sustancialmente mayores que los tamaños de los péptidos beta amiloides y una forma agregada de los mismos, permitiendo así que los péptidos beta amiloides y las formas agregadas de los mismos pasen a través de la membrana semipermeable.
10. Un procedimiento según la reivindicación 7, en el que el dispositivo de filtración de sangre es una máquina de hemodiálisis.
11. Un procedimiento según la reivindicación 7, en el que la membrana permeable se caracteriza por un material poroso que permite que las sustancias de bajo peso molecular, incluyendo una amplia gama de toxinas, pasen a través de esta.
12. Un procedimiento según la reivindicación 9, en el que la membrana semipermeable es cualquiera de las siguientes: una membrana de base sintética y una membrana a base de celulosa.

651	660	670	680	690	700
TTRPGSGLTN	IKTEEISEVK	MDAEFRHDSG	<u>YEVHHQKLVE</u>	<u>FAEDVGSNKG</u>	
701	710	720	730	740	750
<u>AIHGLMVGGV</u>	<u>VIATVIVITL</u>	VMLKKKQYTS	IHHGVVEVDA	AVTPEERHLS	
751	760	770			
KMQQNGYENP	TYKFPEQMQN				

FIG. 1

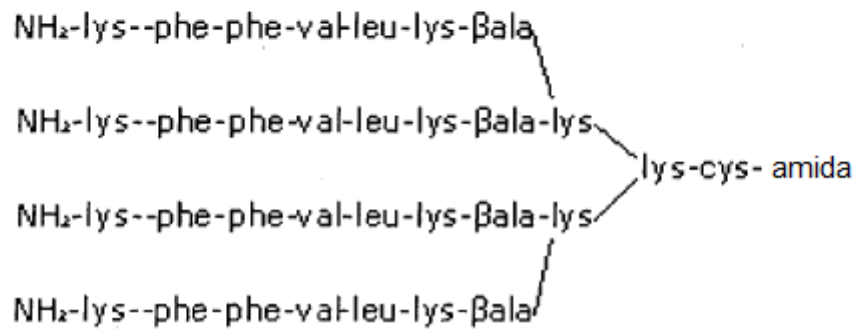


FIG. 1A

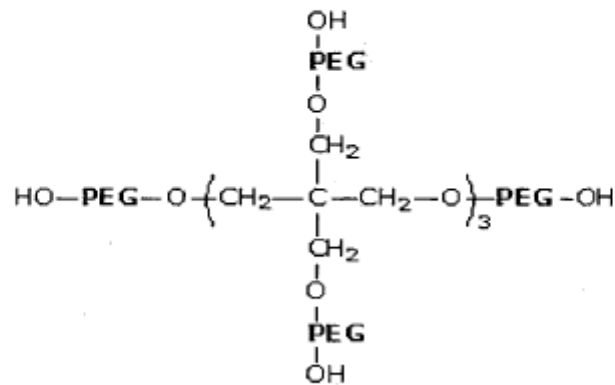


FIG. 1B

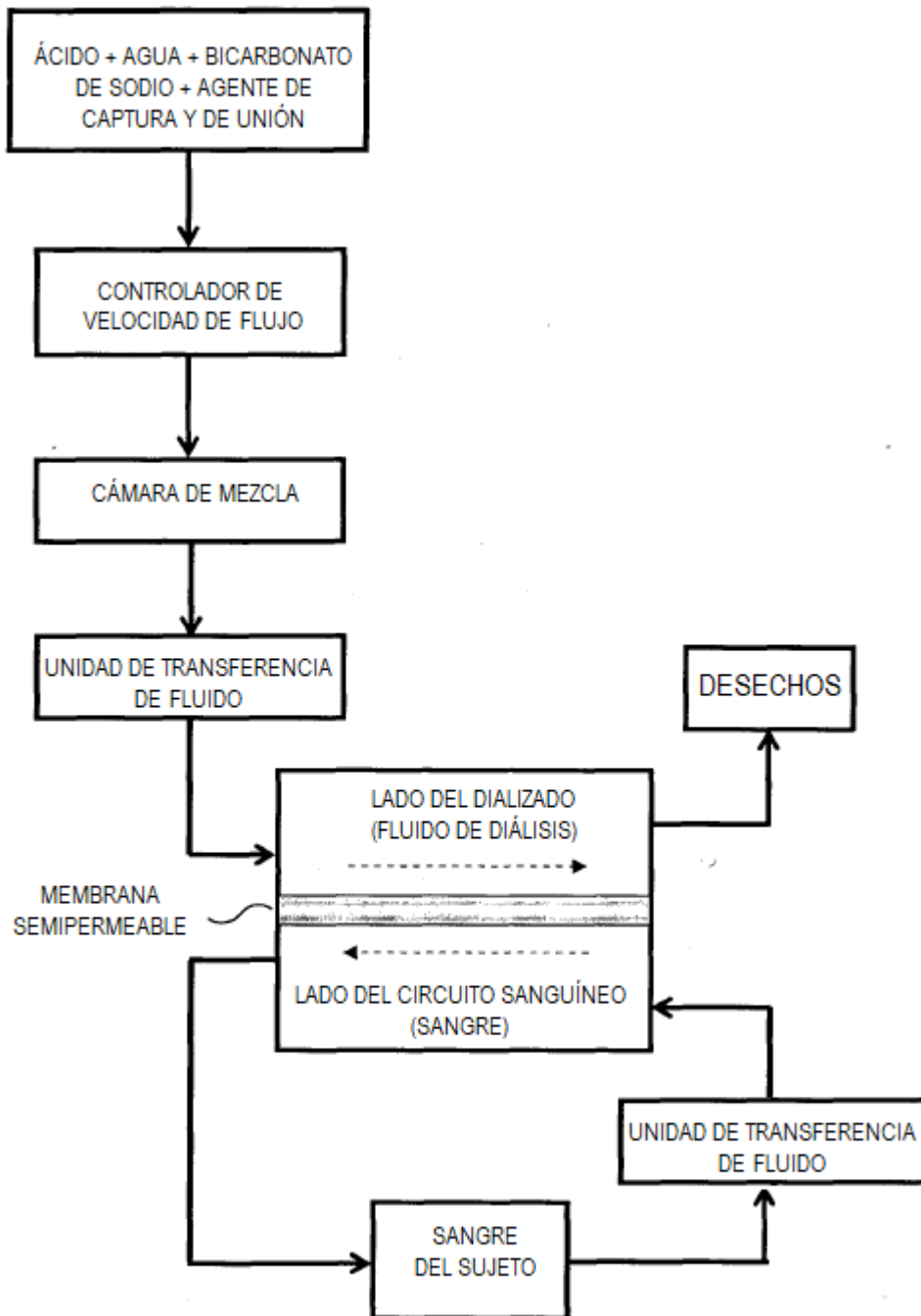


FIG. 2

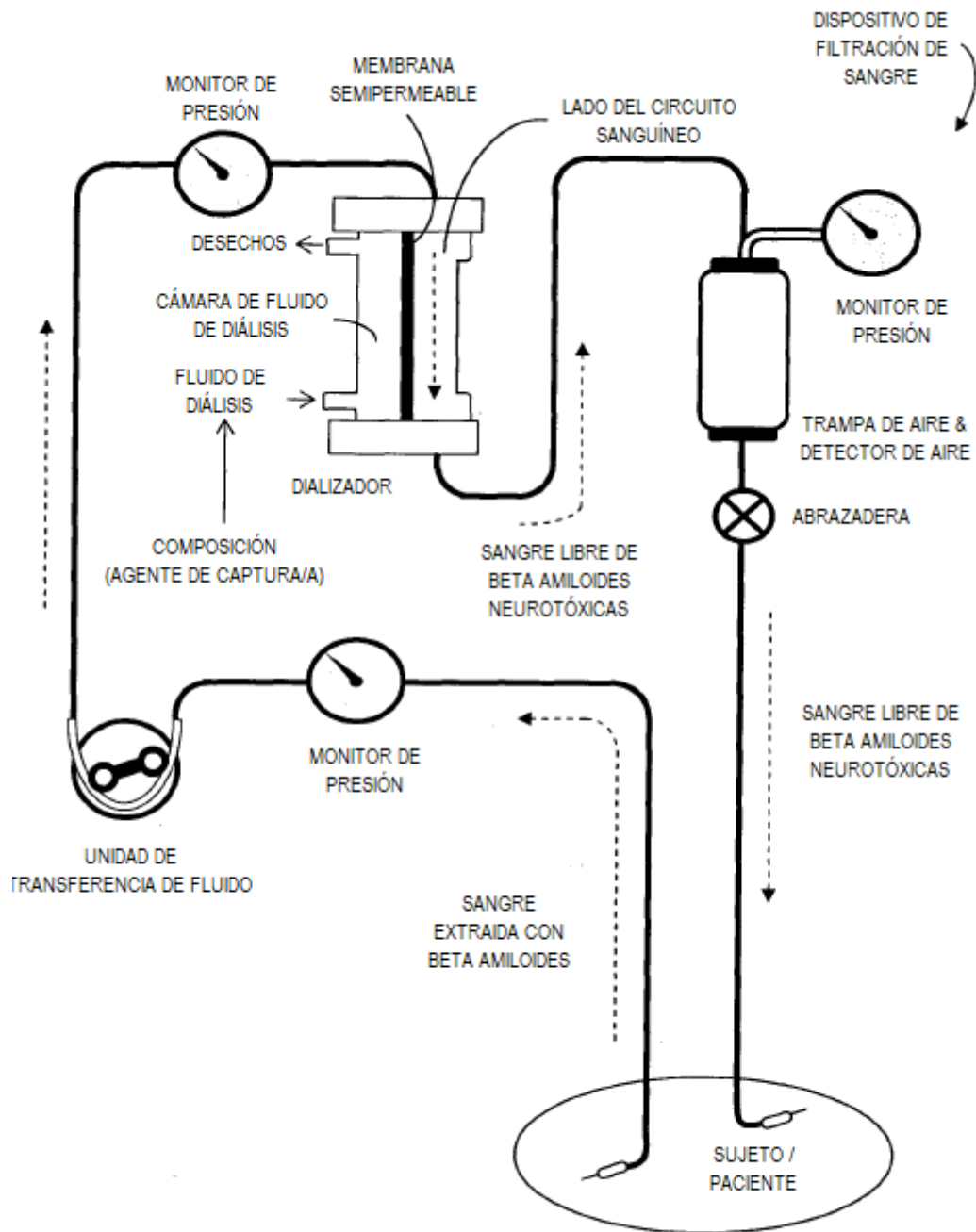


FIG. 3

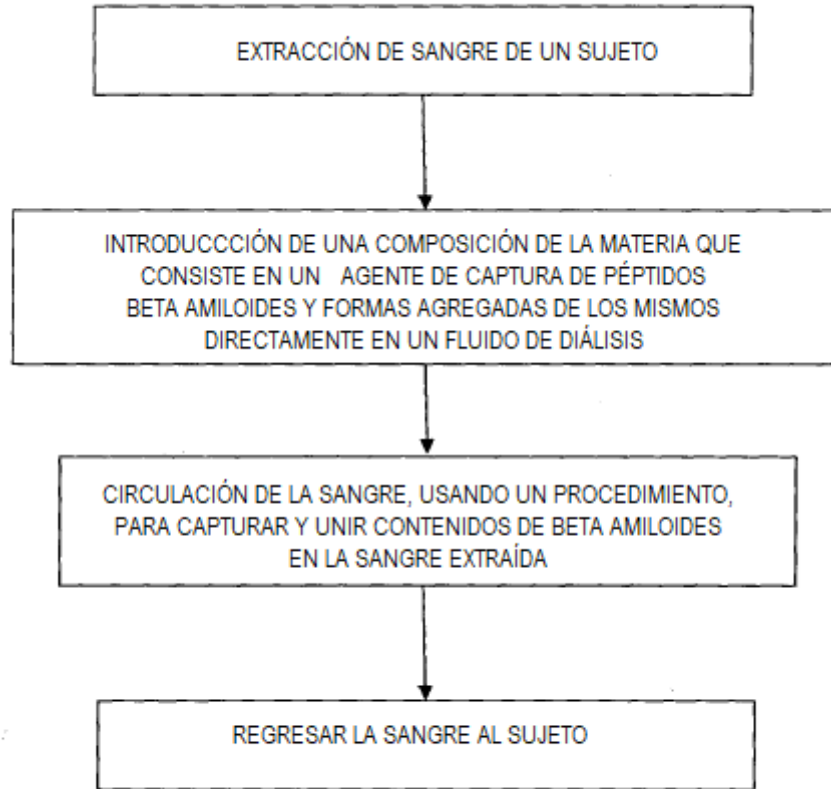


FIG. 4