

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 046**

51 Int. Cl.:
A61K 45/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06717499 .5**
96 Fecha de presentación: **06.01.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1841458**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.10.2007**

54 Título: **Régimen para el tratamiento con tensioactivos para tratar o prevenir la displasia broncopulmonar**

30 Prioridad:
06.01.2005 US 641805 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
08.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
08.05.2012

73 Titular/es:
**DISCOVERY LABORATORIES, INC.
2600 KELLY ROAD
WARRINGTON PA 18976, US**

72 Inventor/es:
**KILLIAN, Anthony;
SCHABER, Christopher;
SEGAL, Robert y
GUARDIA, Carlos**

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 380 046 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

Régimen para el tratamiento con tensioactivos para tratar o prevenir la displasia broncopulmonar .

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reclama beneficio bajo 35 U.S.C. §119(e) para la solicitud con el Núm. de Serie 60/641.805 presentada el 6 de Enero de 2005.

Campo

Esta invención se refiere al tratamiento de los trastornos pulmonares. En particular, se proporcionan regímenes para el tratamiento o la prevención de la displasia broncopulmonar y enfermedades relacionadas, que presenta el uso de tensioactivos pulmonares.

10 Antecedentes

Los tensioactivos pulmonares naturales (TP) son composiciones de proteínas/lípidos que son producidas naturalmente en los pulmones y son críticas para la capacidad de los pulmones para absorber oxígeno. Revisten toda la superficie alveolar de los pulmones y las vías respiratorias conductoras terminales que conducen a los alvéolos. Los tensioactivos facilitan la respiración modificando continuamente la tensión superficial del fluido que normalmente está presente en el interior de los alvéolos. En ausencia de suficiente tensioactivo, o en caso de que el tensioactivo se degrade, los alvéolos tienden obstruirse y los pulmones no absorben suficiente oxígeno. Disminuyendo la tensión superficial de las vías respiratorias conductoras terminales, el tensioactivo mantiene la patencia, esto es, mantiene abiertas las vías respiratorias. La pérdida de patencia conduce a la obstrucción de las vías respiratorias y a una función pulmonar comprometida. Los tensioactivos humanos contienen principalmente: fosfolípidos, siendo el principal el dipalmitoil fosfatidil-colina (DPPC), y cuatro polipéptidos tensioactivos, A, B, C y D siendo la proteína tensioactiva B (SP-B) la más esencial para la función respiratoria. Los tensioactivos pulmonares naturales y sintéticos se utilizan comúnmente para tratar el síndrome de dificultad respiratoria en lactantes prematuros poco después del nacimiento.

La displasia broncopulmonar (DBP o DB), también referida como enfermedad pulmonar crónica (EPC), es una enfermedad pulmonar, amenazadora de la vida ocasionalmente, común que se produce por lo general en lactantes prematuros que sobreviven al síndrome de dificultad respiratoria (SDR) y otras complicaciones de los prematuros. Con la adopción casi universal de los esteroides prenatales y el uso post-natal de tensioactivos pulmonares exógenos, un gran número de lactantes con poco peso al nacer en riesgo sobreviven ahora a la enfermedad pulmonar aguda de los prematuros solamente para desarrollar enfermedad pulmonar crónica. Antes del uso generalizado de tensioactivos derivados de animales o sintéticos, la DBP se caracterizó histológicamente por lesión en las vías respiratorias y fibrosis. Desde la llegada de la terapia de sustitución de tensioactivos, los lactantes parecen experimentar menos compromiso de las vías respiratorias y fibrótico del descrito en informes anteriores pero tienen anomalías en la alveolarización y la vascularización. El cambio en la naturaleza de la afección ha conducido a los neonatólogos a referirse a una "nueva DBP". La DBP también se puede desarrollar en lactantes a término que requieren soporte respiratorio al nacer o poco después.

La terapia con tensioactivos ha disminuido la frecuencia con la que lactantes moderadamente prematuros, más grandes desarrollan la enfermedad, pero las ventajas de la supervivencia con tensioactivos en lactantes extremadamente prematuros ha dado como resultado un desplazamiento de la incidencia de DBP hacia bebés más prematuros, más pequeños. Se sabe que los esteroides post-natales a dosis anti-inflamatorias disminuyen modestamente las consecuencias fisiológicas de la DBP, pero a expensas de los resultados neuro-evolutivos. Adicionalmente, los esteroides pueden disminuir la alveolarización. Los derivados de vitamina A estimulan la alveolarización en animales, pero los resultados clínicos han sido modestos. A pesar de la interesante base lógica, se ha demostrado que los antioxidantes tienen un valor escaso. El que óxido nítrico inhalado disminuya la probabilidad de DBP en lactantes con muy poco peso al nacer aguarda los resultados de las pruebas clínicas en curso.

Las causas de DBP o de EPC son probablemente multi-factoriales. Sin embargo, los antecedentes fisiopatológicos y las consecuencias de la DBP pueden sugerir un nuevo enfoque para la prevención con fármacos que ya están en uso clínico. Se ha demostrado que la disminución de la distensibilidad pulmonar como consecuencia de un edema pulmonar inicialmente leve se corresponde con el posterior desarrollo de una DBP. La migración de neutrófilos al pulmón aumenta en presencia de edema pulmonar e hiperoxia. Cuando estas células son activadas, liberan proteasas y mediadores inflamatorios incluyendo oxidantes que pueden dañar más el pulmón. Estos eventos degradan la función pulmonar necesitándose ventilación mecánica para muchos lactantes inicialmente retirados del ventilador y aumentando los requerimientos de ventilador para aquellos que nunca se pudieron retirar. El propio tensioactivo es una diana de las proteasas, especies oxidantes y mediadores de molécula pequeña y pueden ser inactivados por muchas proteínas del plasma encontradas en el fluido broncoalveolar en presencia de extravasación capilar.

Existen documentos en la técnica que comentan el uso de tensioactivos tales como Ped. Pulmon.14:4-9, (1992) que describe un tratamiento del Síndrome de Dificultad Respiratoria (SDR) en lactantes pre-término, que comprende administrar una embolada de tensioactivo en la hora siguiente al nacimiento, y repetir la dosis 12 o 24 horas más tarde.

5 El documento WO 97/19701 describe el uso de productos conjugados covalentes de glicosaminoglicanos administrados junto con tensioactivos. En concreto, se utilizan productos conjugados de heparina como terapia coadyuvante a los tensioactivos para prevenir el Síndrome de Dificultad Respiratoria y la displasia broncopulmonar. D2 también describe el uso de tales productos conjugados para prevenir la trombogénesis, en particular en las vías respiratorias pulmonares, tales como los encontrados en el síndrome de dificultad respiratoria en lactantes y en
10 adultos y sobre las superficies en contacto con la sangre.

El documento WO 02/062289 describe un método para tratar lactantes, niños o adultos que padecen dificultad pulmonar causada por una escasa o insuficiente producción de tensioactivo. Éste es particularmente adecuado para tratar lactantes prematuros que padecen Síndrome de Dificultad Respiratoria. El método comprende administrar un compuesto de leptina a un individuo con una producción deteriorada de tensioactivo durante un
15 tiempo y en una cantidad suficiente para aumentar la producción de tensioactivo.

Se necesitan tratamientos para prevenir o aliviar la DBP y trastornos pulmonares relacionados. La presente invención se refiere a uso de un tensioactivo pulmonar como se reivindica más adelante. Las realizaciones preferidas de la invención se muestran en las reivindicaciones dependientes.

Breve Resumen

20 Se describe un método para tratar o prevenir la DBP en un lactante tratado con tensioactivo pulmonar para el síndrome de dificultad respiratoria ("SDR"). Después del tratamiento para el síndrome de dificultad respiratoria con tensioactivo pulmonar, se administra tensioactivo pulmonar al lactante en una cantidad y durante un tiempo eficaz para tratar o prevenir la DBP. Por lo general, la administración de tensioactivo pulmonar para la DBP se inicia después del tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria con tensioactivo pulmonar, por ejemplo, en el
25 siguiente intervalo de dosificación una vez completado el tratamiento para el SDR, el día 3 de vida del lactante, o cuando se haya completado el tratamiento para el SDR. En ciertos casos, la administración del tensioactivo pulmonar puede continuar al menos 36 semanas después de la edad post-menstrual ("EPM") del lactante o alternativamente al menos 28 días después de la edad post-natal del lactante. De acuerdo con la invención, la administración del tensioactivo pulmonar continúa al menos hasta el día 14 o el día 18 de vida del lactante. Además, el tratamiento se inicia en cualquier momento desde el día 3 de vida del lactante hasta el día 10.

Asimismo se describe un método para tratar o prevenir la DBP en un lactante que requiere soporte respiratorio. El tensioactivo pulmonar se administra al lactante en una cantidad y durante un tiempo eficaz para tratar o prevenir la DBP. El TP se puede administrar hasta que el lactante ya no requiere soporte respiratorio. El TP se puede administrar el día 1 o después del día 1 de vida del lactante y continúa al menos hasta 28 días de edad post-natal del lactante. La administración se puede iniciar el día 1 de la vida del lactante o el día 3 de la vida del lactante. De acuerdo con la presente invención, la administración se inicia antes de que el lactante haya sido diagnosticado de DBP y el lactante se trata con tensioactivo pulmonar al menos una vez después del día 2 o 3 de la vida del lactante. La administración se puede iniciar el día 1 de la vida del lactante o el día 2 de la vida del lactante y el lactante se trata con tensioactivo pulmonar al menos una vez después del día 2 o 3, hasta el día 10 de la vida del
35 lactante. De acuerdo con la presente invención, el tratamiento se continúa al menos hasta el día 10, el día 14, o el día 18 de la vida del lactante. La administración del TP se puede iniciar en cualquier momento desde el día 3 hasta el día 18, o del día 3 hasta el día 10 de la vida del lactante. El lactante que requiere soporte respiratorio puede manifestar o no el síndrome de dificultad respiratoria.

45 Los métodos de administración del tensioactivo pulmonar a un lactante son conocidos en la técnica. La administración puede ser mediante administración endotraqueal, aerosol e inhalación. El término "inhalación" incluye, por ejemplo, tanto inhalación de polvo seco como inhalación de un aerosol húmedo.

El uso de tensioactivo pulmonar de acuerdo con las realizaciones preferidas de la invención puede ser por medio de otra terapia respiratoria, tal como ventilación mecánica, presión positiva continua de las vías respiratorias (CPAP por sus siglas en inglés) incluyendo CPAP nasal (nCPAP) o administración de otros agentes terapéuticos.

50 Preferiblemente, el método comprende administrar un tensioactivo pulmonar sintético. Es particularmente preferido un tensioactivo pulmonar que contiene un péptido que tiene una secuencia del SEQ ID NO: 1.

Otros rasgos y ventajas de la invención se comprenderán a partir de la descripción detallada y de los siguientes ejemplos.

Descripción Detallada

A menos que se especifique de otro modo, todos los procedimientos médicos descritos o referidos en la presente memoria se realizan de acuerdo con los patrones actuales de asistencia médica conocidos por los médicos y/u otros profesionales de la asistencia sanitaria.

5 Asimismo se debe comprender que la terminología utilizada en la presente memoria tiene el propósito de describir realizaciones concretas solamente, y no se pretende que sea limitante. Según se utiliza en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", y "el" y "la" incluyen los referentes plurales a menos que el contenido dicte claramente lo contrario. De este modo, por ejemplo, la referencia a un "péptido" incluye una combinación de dos o más péptidos, y similares.

10 Según se utiliza en la presente memoria se pretende que "alrededor de" cuando se refiere a un valor medible tal como una cantidad, una duración temporal, y similares, incluya variaciones de $\pm 20\%$ o $\pm 10\%$, más preferiblemente $\pm 5\%$, incluso más preferiblemente $\pm 1\%$, y aún más preferiblemente $\pm 0,1\%$ del valor especificado, ya que estas variaciones son apropiadas para realizar los métodos descritos.

15 A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado comúnmente comprendido por los expertos en la técnica a la cual pertenece la invención. Aunque se puede utilizar cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente memoria en la práctica para someter a ensayo la presente invención, los materiales y métodos preferidos se describen en la presente memoria. Al describir y reivindicar la presente invención, se utilizará la siguiente terminología.

20 "Polipéptido," "péptido" "peptoides" y "proteína" se utilizan indistintamente para hacer referencia a un polímero de residuos aminoacídicos. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido de origen natural correspondiente, así como polímeros de aminoácidos de origen natural y polímeros de aminoácidos de origen no natural. Miméticos de aminoácidos hace referencia a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funciona de una manera similar a un aminoácido de origen natural. Los residuos no naturales están bien descritos en la literatura científica y de patentes; más abajo se describen algunas composiciones no naturales ilustrativas útiles como miméticos de residuos de aminoácidos naturales y sus pautas. Por ejemplo los miméticos de aminoácidos aromáticos se pueden generar reemplazando, p. ej., D- o L-naftilalanina; D- o L-fenilglicina; D- o L-2-tienoilalanina; D- o L-1, -2,3-, o 4-pirenoilalanina; D- o L-3 tienoalalanina; D- o L-(2-piridinil)-alanina; D- o L-(3-piridinil)-alanina; D- o L-(2-pirazinil)-alanina; D- o L-(4-isopropil)-fenilglicina; D-(trifluorometil)-fenilglicina; D-(trifluorometil)-fenilalanina; D-p-fluoro-fenilalanina; D- o L-p-bifenilfenilalanina; K- o L-p-metoxi-bifenilfenilalanina; D- o L-2-indol(alquil)alaninas; y, D- o L-alquilalaninas, donde alquil puede ser metil, etil, propil, hexil, butil, pentil, isopropil, iso-butyl, sec-butyl, iso-pentil sustituido o no sustituido, o un aminoácido no ácido. Los anillos aromáticos de un aminoácido no natural incluyen, p. ej., anillos aromáticos de tiazolilo, tiofenilo, pirazolilo, benzimidazolilo, naftilo, furanilo, pirroloilo, y piridilo.

35 "Péptido" incluye péptidos que son variaciones conservativas de aquellos péptidos ilustrados específicamente en la presente memoria. "Variación conservativa" según se utiliza en la presente memoria indica la sustitución de un residuo de aminoácido por otro residuo biológicamente similar. Los ejemplos de las variaciones conservativas incluyen, pero no están limitados a, la sustitución de un residuo hidrófobo tal como isoleucina, valina, leucina, alanina, cisteína, glicina, fenilalanina, prolina, triptófano, tirosina, norleucina o metionina por otro, o la sustitución de un residuo polar por otro, tal como la sustitución de arginina por lisina, ácido glutámico por aspártico, o glutamina por asparragina, y similares. Los aminoácidos hidrófilos neutros que se pueden sustituir por otro incluyen asparragina, glutamina, serina y treonina. "Variación conservativa" también incluye el uso de un aminoácido sustituido en lugar de un aminoácido parental no sustituido siempre que los anticuerpos originados para el polipéptido sustituido también presenten una reacción inmunológica con el polipéptido no sustituido. Tales sustituciones conservativas están dentro de la definición de las clases de péptidos descritas en la presente memoria. "Catiónico" según se utiliza en la presente memoria hace referencia a cualquier péptido que posea una carga positiva neta a pH 7,4. La actividad biológica de los péptidos se puede determinar mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica y descritos en la presente memoria.

50 Los péptidos descritos en la presente memoria se pueden sintetizar mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, se pueden emplear métodos comúnmente utilizados tales como la protección con t-BOC o FMOC de los grupos amino alfa. Ambos métodos implican una síntesis por etapas por medio de la cual se añade un solo aminoácido en cada etapa empezando desde el extremo C del péptido (Véase, Coligan et al., Current Protocols in Immunology, Wiley Interscience, 1991, Unidad 9). Los péptidos de la invención se pueden sintetizar, por ejemplo, mediante métodos de síntesis de péptidos en fase sólida bien conocidos descritos por Merrifield, en J. Am. Chem. Soc. 85: 2149, 1962, y Stewart y Young, 1969, en Solid Phase Peptides Synthesis, págs. 27-62, utilizando un copoli(estireno-divinilbenzeno) que contiene 0,1-1,0 mMoles de aminas/g de polímero. Una vez completada la síntesis química, se pueden desproteger los péptidos y escindirlos del polímero mediante tratamiento con HF líquido-anisol al 10% durante alrededor de 1/4 - 1 hora a 0°C. Tras la evaporación de los reactivos, los

5 péptidos se extraen del polímero con solución de ácido acético al 1% que después se liofiliza para proporcionar la sustancia bruta. Ésta se puede purificar normalmente por medio de técnicas tales como la filtración en gel sobre Sephadex G-15 utilizando ácido acético al 5% como disolvente. La liofilización de las fracciones apropiadas de la columna proporcionará el péptido homogéneo o los derivados del péptido, que después se pueden caracterizar por medio de técnicas convencionales tales como análisis de aminoácidos, cromatografía en capa fina, cromatografía líquida de alta resolución, espectroscopía de absorción ultravioleta, rotación molar, solubilidad, y cuantificar por medio de la degradación de Edman en fase sólida.

10 Cuando se utiliza "recombinante" con referencia a una proteína indica que la proteína ha sido modificada por medio de la introducción de un ácido nucleico o proteína heterólogos o la alteración de un ácido nucleico o proteína nativos.

15 Para los fines de la presente invención, la DBP se diagnostica en torno a los 28 días de edad, en torno a las 36 semanas EPM, o como se muestra en la Tabla 1 más abajo. Un lactante que o bien sigue con ventilación mecánica o bien requiere oxígeno adicional con el fin de mantener niveles de saturación de oxígeno ("SaO₂") mayores o iguales al 90% (con la excepción de lactantes que requieren oxígeno adicional durante las tomas) a las 36 semanas EPM o a los 28 días de edad se dice que tiene DBP. Generalmente, también se realizarán radiografías de tórax a los lactantes a los 28 días de edad con el fin de confirmar el diagnóstico de DBP. Las radiografías de pulmones con DBP tienen a menudo una apariencia espumosa, de tipo esponja. Las radiografías son ensayos de diagnóstico que utilizan haces de energía electromagnética invisible para producir imágenes de los tejidos, huesos, y órganos internos sobre una película.

20 Como alternativa, la DBP se puede diagnosticar utilizando los criterios mostrados en la Tabla 1 de más abajo de Jobe y Bancalari, en Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163:1723-1729.

Tabla 1

Edad Gestacional	< 32 semanas	≥ 32 semanas
Momento de la evaluación	• 36 semanas EPM o regreso a la casa, lo que suceda primero	• > 28 días pero < 56 días de edad post-natal o regreso a la casa, lo que suceda primero
	• Lactantes que ya han sido tratados con oxígeno > 21 % durante al menos 28 días más	• Lactantes que ya han sido tratados con oxígeno > 21 % durante al menos 28 días más
DBP Leve	Respiración del aire ambiente a las 36 semanas EPM o regreso a la casa, lo que suceda primero	Respiración del aire ambiente a los 56 días de edad post-natal o regreso a la casa, lo que suceda primero,
DBP Moderada	Necesidad de oxígeno < 30% a las 36 semanas EPM o regreso a la casa, lo que suceda primero	Necesidad de oxígeno < 30% a los 56 días de edad post-natal o regreso a la casa, lo que suceda primero
DBP Grave	Necesidad de oxígeno ≥ 30% y/o presión positiva (p. ej., PPV o NCPAPA) a las 36 semanas EPM o regreso a la casa, lo que suceda primero	Necesidad de oxígeno ≥ 30% y/o presión positiva (p. ej., PPV o NCPAPA) a los 56 días de edad post-natal o regreso a la casa, lo que suceda primero

Los lactantes tratados con oxígeno > 21% y/o presión positiva por enfermedades no respiratorias (p. ej., apnea central o parálisis del diafragma) como se proporciona en la Tabla 1 no tienen DBP a menos que también desarrollen enfermedad del parénquima pulmonar y muestren rasgos clínicos de dificultad respiratoria. Un día de tratamiento con oxígeno > 21 % significa que el lactante recibe oxígeno > 21 % durante más de 12 horas ese día. El tratamiento con oxígeno > 21% y/o la presión positiva a las 36 semanas EPM, o a los 56 días de edad post-natal o regreso a la casa, no deben reflejar un evento "agudo", sino que en lugar de eso deben reflejar la terapia diaria habitual del lactante durante varios días antes y después de las 36 semanas EPM, 56 días de edad post-natal, o regreso a la casa.

Para los fines de la presente invención, el "Síndrome de Dificultad Respiratoria" se define como el que está presente en un lactante a las 24 horas de edad con una necesidad de una fracción de oxígeno inspirado ("FiO₂") ≥ 0,30 combinado con la demostración de un patrón reticulogranular en la radiografía de tórax obtenida entre las 20 y 28 horas de edad.

"Oxígeno adicional" hace referencia a cualquier requerimiento de oxígeno adicional para mantener niveles de saturación de oxígeno ≥ 90%. Esto puede incluir ventilación mecánica y/o CPAP si se está administrando oxígeno adicional (≥ 21% de FiO₂).

"Lactante" incluye lactantes recién nacidos. Típicamente un lactante recién nacido es un lactante nacido prematuramente o de otro modo de menos de 4 semanas de edad. Para los fines utilizados en la presente memoria, lactantes de menos de 2 años de edad.

"Soporte respiratorio" incluye cualquier intervención que trate enfermedades respiratorias incluyendo, por ejemplo, la administración de oxígeno adicional, ventilación mecánica, CPAP, tratamiento con albuterol, y similares.

"Tratamiento" hace referencia a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o alivio de la enfermedad o afección, p. ej., DBP. El tratamiento el Día 1 (o DOL 1) es el día en el que se produce el Tiempo 0 (momento del nacimiento) y DOL 2, 3, etcétera, comienzan a las 00:00 (medianoche) cada día después del Tiempo 0.

"Prevención" hace referencia a la prevención de la enfermedad o afección, p. ej., DBP, en el paciente. Por ejemplo, si un lactante que muestra síndrome de dificultad respiratoria, o que requiere cualquier forma de soporte respiratorio en el nacimiento, se trata con los métodos de la presente invención y más tarde no es diagnosticado de DBP, p. ej., a los 28 días de edad o a las 36 semanas EPM, se entenderá que se ha prevenido la DBP en ese lactante.

"Actividad tensioactiva" hace referencia a la capacidad de cualquier sustancia, tal como una molécula orgánica, proteína o polipéptido, ya sea sola o combinada con otras moléculas, para disminuir la tensión superficial en una interfase aire/agua. La medición se puede realizar con el Balance de Wilhelmy o Surfactómetro de burbuja pulsante por medio de un análisis *in vitro*. Véase, por ejemplo King et al, Am. J. Physiol. 1972, 223:715-726, o Enhorning, J. Appl. Physiol., 1977, 43:198-203. En resumen, el Surfactómetro Enhorning (Surfactometer Internacional, Toronto, Ontario) mide el gradiente de presión (δP) a través de una interfase líquido-aire de una burbuja que pulsa a una tasa de 20 ciclos/min entre un radio máximo (0,55 mm) y mínimo (0,4 mm). La burbuja, formada en una cámara con muestras de 20 μ l, encerrada en agua, a 37°C, se controla por medio de un microscopio óptico mientras se registran los cambios de presión sobre registrador con una gráfica lineal en tira calibrado para 0 y -2 cm de H₂O. Además, se pueden realizar fácilmente mediciones *in vivo* de los aumentos de distensibilidad o flujo de aire a una presión dada de aire que entra en el pulmón, tal como en el análisis de Robertson, Lung, 1980, 158:57-68. En este análisis, la muestra que se va a evaluar se administra a través de un tubo endotraqueal a conejos fetales o corderos que han nacido prematuramente por cesárea. (Estos "bebés prematuros" carecen de su propio TP, y son ayudados por un ventilador). Las mediciones de la distensibilidad pulmonar, los gases en sangre y la presión del ventilador proporcionan índices de actividad. Los análisis *in vitro* de actividad del tensioactivo, que se evalúa como la capacidad para disminuir la tensión superficial de una burbuja pulsátil, y los análisis *in vivo* que utilizan conejos fetales han sido descritos con detalle por Revak et al, en Am. Rev. Respir. Dis., 1986, 134:1258-1265.

En la presente memoria se describe la administración terapéutica o profiláctica de tensioactivo pulmonar (TP) a lactantes que muestran o están en riesgo de desarrollar displasia broncopulmonar (DB o DBP). La administración de TP se puede iniciar en un lactante que muestra síndrome de dificultad respiratoria, siguiendo el tratamiento de dicho síndrome con tensioactivo pulmonar o mediante otro método (p. ej., ventilación) o una combinación de los mismos. Por lo general, el SDR en lactantes se trata por medio de terapia con TP entre las primeras horas y uno o dos días después del nacimiento. En la presente memoria se describe la administración de TP para el tratamiento o la prevención del DBP, iniciada después del tratamiento del SDR, p. ej., más o menos del día 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, o 14 de vida, o cuando se haya completado el tratamiento para el SDR. El lactante se podrá tratar con tensioactivo pulmonar al siguiente intervalo de dosificación apropiado para dicho tratamiento una vez completado el tratamiento del SDR. Por ejemplo, cuando se administra el TP en forma de líquido mediante instilación intra-traqueal, el tratamiento con TP para DBP será alrededor de 6 horas después del último tratamiento de TP para SDR. Un médico clínico será capaz de determinar, basándose en los protocolos de administración conocidos en la técnica, cuándo se debe iniciar la dosificación de TP para el tratamiento de la DBP.

El lactante puede no recibir terapia con TP para el SDR pero no obstante se puede administrar TP para tratar o prevenir la DBP, de acuerdo con la presente invención. El tratamiento con TP se inicia después del episodio de síndrome de dificultad respiratoria. En ciertas realizaciones preferidas, la administración se inicia antes de que el lactante haya sido diagnosticado de DBP y se trata al lactante con tensioactivo pulmonar al menos una vez después del día 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 de la vida del lactante. La administración de TP se puede iniciar, por ejemplo, el día o más o menos después del día 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14 de vida del lactante. Los métodos para diagnosticar el síndrome de dificultad respiratoria son conocidos en la técnica y por consiguiente no se describen en la presente memoria con detalle.

Los lactantes que van a ser tratados con los métodos de acuerdo con la presente invención pueden requerir soporte respiratorio pero no muestran necesariamente síndrome de dificultad respiratoria. Estos lactantes o bien todavía no han sido diagnosticados de SDR o bien no han sido tratados con TP para el SDR. En estos lactantes, se puede iniciar el tratamiento tan pronto como se reconoce que estos lactantes requieren soporte respiratorio. En ciertas realizaciones, esto será más o menos el día 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, o 14 de vida, o entre alrededor del día 3 y el día 10 de la vida del lactante. En ciertas realizaciones, esto puede ser más tarde del día 10 de la vida del lactante, *p. ej.*, el día 14, el día 18 o más tarde.

La terapia con TP se puede suministrar concomitantemente con otras formas de soporte respiratorio. Por lo general, la terapia con TP se inicia antes de que el lactante haya sido diagnosticado de DBP. En ciertas realizaciones, los métodos de la presente invención evitarán que el lactante desarrolle DBP.

El tratamiento se prolonga durante un período de tiempo considerado apropiado por un médico u otro profesional de la medicina para lograr un efecto terapéutico o profiláctico. El tratamiento se puede prolongar, por ejemplo, hasta que el lactante ya no requiera soporte respiratorio o incluso más. Por lo general, el tratamiento continúa durante una a dos semanas, *p. ej.*, hasta más o menos el día 14 o el día 18 de la vida del lactante. Sin embargo, la duración del tratamiento puede ser más corta, *p. ej.*, una semana, o más largo, *p. ej.*, extendiéndose tres o más semanas, o hasta que el lactante regrese a casa desde los cuidados intensivos neonatales o desde el hospital. Por ejemplo, el tratamiento puede continuar durante al menos 36 semanas EPM del lactante o al menos 28 días de edad post-natal del lactante. En ciertas realizaciones, cuando el lactante no muestra síndrome de dificultad respiratoria al nacer pero, días más tarde desarrolla una afección que requiere soporte respiratorio, no se puede iniciar el tratamiento con TP hasta bastante después del día 3 de la vida del lactante y de este modo el tratamiento continuará por lo general pasado el día 14 o el día 18 de la vida del lactante. En lactantes nacidos prematuramente, por ejemplo, con independencia de si el lactante manifiesta síndrome de dificultad respiratoria en el nacimiento o cerca de él, se puede prolongar el tratamiento, por ejemplo, hasta 36 semanas EPM o incluso más tarde.

En diferentes realizaciones, el TP se administra periódicamente o continuamente a lo largo de todo el período de tratamiento, a dosis y protocolos de utilización de acuerdo con las instrucciones convencionales y/o de los fabricantes (*véase, p. ej.*, el Ejemplo 1).

El TP seleccionado para su uso en los métodos de la invención puede ser el mismo, o diferente al TP utilizado para el SDR. Cualquier TP actualmente en uso, o desarrollado en el futuro para su uso en el SDR y otras afecciones pulmonares, es adecuado para su utilización en la presente invención.

Un tensioactivo pulmonar de acuerdo con la presente invención puede comprender un péptido catiónico que puede ser obtenido de fuentes animales o sintéticamente. Los péptidos ilustrativos para su uso en la presente memoria incluyen polipéptidos pulmonares tensioactivos de origen natural y no natural, tales como, por ejemplo, uno o una combinación de polipéptidos SP-A, SP-B, SP-C, o SP-D derivados de animales; polipéptidos SP-A, SP-B, SP-C, o SP-D recombinantes; polipéptidos SP-A, SP-B, SP-C, o SP-D obtenidos sintéticamente; análogos de SP-A, SP-B, SP-C, y SP-D; miméticos de los polipéptidos SP-A, SP-B, SP-C, y SP-D; variantes modificadas conservativamente de los mismos que conservan su actividad; y fragmentos de los mismos que conservan su actividad. Un mimético de un polipéptido tensioactivo pulmonar es generalmente un polipéptido que está diseñado para imitar los atributos esenciales de las proteínas tensioactivas humanas. En la presente invención, el polipéptido tensioactivo pulmonar comprende un péptido catiónico que consiste en al menos alrededor de 10 residuos de aminoácido. Otros ejemplos son al menos 11 residuos de aminoácido, y no más de alrededor de 80, más normalmente menos de alrededor de 35 y preferiblemente menos de alrededor de 25 residuos de aminoácido.

Las secuencias de aminoácidos ilustrativas de polipéptidos del tensioactivo pulmonar para su uso en la presente memoria, los métodos de aislamiento de los mismos, y de producción de los mismos mediante técnicas de ingeniería genética son conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Núms. 5.874.406; 5.840.527; 4.918.161; 5.827.825; 6.660.833, 5.006.343; 5.455.227; 5.223.481; 5.753.621; 5.891.844; 4.861.756; 5.272.252; 5.024.95; 5.238.920; 5.302.481; 6.022.955; 5.874.406; 5.840.527; 5.827.825; 6.013.619; 6.660.833; y las Publicaciones Internacionales Núms. WO 8603408 y WO 8904326. Un péptido tensioactivo pulmonar preferido para su uso en la presente memoria es un polipéptido SP-B o SP-C o un mimético del polipéptido.

El tensioactivo pulmonar sintético puede comprender uno más fosfolípidos y un polipéptido, en el que el polipéptido, cuando se mezcla con un fosfolípido, forma un tensioactivo pulmonar sintético que tiene una actividad tensioactiva mayor que la actividad tensioactiva del fosfolípido solo. Un polipéptido tensioactivo pulmonar particularmente preferido para su uso en la presente memoria es un polipéptido SP-B o un mimético de polipéptido. SP-B es la proteína del tensioactivo pulmonar natural conocida por ser la proteína tensioactiva más importante para disminuir la tensión superficial y promover el intercambio de oxígeno. Los miméticos del polipéptido SP-B son pequeños polipéptidos hidrófobos, generalmente con un tamaño de menos de alrededor de 80 aminoácidos. Muchos miméticos del polipéptido SP-B poseen un motivo catiónico hidrófobo repetitivo. Como el polipéptido SP-B natural, los miméticos de SP-B, preferiblemente, disminuyen la tensión superficial de los conductos terminales de las vías respiratorias y promueven el intercambio de oxígeno.

Un mimético de SP-B preferido para su uso en la presente invención es el péptido KL4, que es un péptido catiónico que contiene residuos de lisina y leucina repetitivos. KL4 es representativo de una familia de miméticos de polipéptidos tensioactivos pulmonares que se describen, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos Núms. 5.260.273, 5.164.369, 5.407.914 y 6.613.734. Los métodos para preparar el péptido KL4 se pueden encontrar en la Patente de los Estados Unidos 5.164.369.

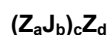
Los miméticos de polipéptidos tensioactivos pulmonares pueden hacer referencia a polipéptidos con una secuencia de residuos de aminoácido que tiene un carácter hidrófobo compuesto de menos de cero, preferiblemente menos de o igual a -1, más preferiblemente menos de o igual a -2. El valor del carácter hidrófobo compuesto para un péptido se determina asignando a cada residuo de aminoácido de un péptido su correspondiente valor de carácter hidrófobo como describen Hopp et al., en Proc. Natl. Acad. Sci. 78: 3824-3829, 1981. Para un péptido dado, los valores del carácter hidrófobo se suman, representando la suma el valor del carácter hidrófobo compuesto. Estos polipéptidos hidrófobos realizan por lo general la función de la región hidrófoba de SP18. Por consiguiente, la secuencia de aminoácidos del mimético del polipéptido tensioactivo pulmonar puede imitar el patrón de residuos hidrófobos e hidrófilos de SP18 y realizar la función de la región hidrófoba de SP 18. SP18 es una apoproteína tensioactiva pulmonar conocida, es descrita más meticulosamente por Glasser et al., en Proc. Natl. Acad. Sci. 84: 4007-4001, 1987. Se debe entender, no obstante, que los polipéptidos y otras moléculas de tensioactivo descritos en la presente memoria no están limitados a moléculas que tienen secuencias como la de SP18 nativa. Por el contrario, algunas moléculas de tensioactivo preferidas tienen un pequeño parecido con SP 18 con respecto a una secuencia de residuos de aminoácidos específica, excepto que tienen actividad tensioactiva similar y secuencias de residuos cargados/no cargados (o hidrófobos/hidrófilos) alternantes.

De acuerdo con la presente invención, los polipéptidos para su uso en la presente memoria tienen regiones con residuos de aminoácidos hidrófobos e hidrófilos alternantes y se caracterizan por tener al menos 10 residuos de aminoácido representados por la fórmula:



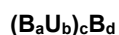
Z y U son residuos de aminoácido tales que en cada aparición Z y U se seleccionan independientemente. Z es un residuo de aminoácido hidrófilo, seleccionado preferiblemente del grupo que consiste en R, D, E y K. U es un residuo de aminoácido hidrófobo, seleccionado preferiblemente del grupo que consiste en V, I, L, C, Y, y F. Las letras, "a", "b", "c", y "d" son números que indican el número de residuos hidrófilos o hidrófobos. La letra "a" tiene un valor medio de alrededor de 1 a alrededor de 5, preferiblemente de alrededor de 1 a alrededor de 3. La letra "b" tiene un valor medio de alrededor de 3 a alrededor de 20, preferiblemente de alrededor de 3 a alrededor de 12, muy preferiblemente, de alrededor de 3 a alrededor de 10. La letra "c" es de 1 a 10, preferiblemente, de 2 a 10, muy preferiblemente de 3 a 6. La letra "d" tiene un valor medio de alrededor de 0 a 3, preferiblemente de 1 a 2.

También se describen polipéptidos tensioactivos que incluyen una secuencia que tiene agrupamientos alternantes de residuos de aminoácido representados por la fórmula:



donde Z es un residuo de aminoácido seleccionado independientemente del grupo que consiste en R, D, E, y K; J es un ácido α -aminoalifático carboxílico; a tiene un valor medio de alrededor de 1 a alrededor de 5; b tiene un valor medio de alrededor de 3 a alrededor de 20; c es de 1 a 10; y d es de 0 a 3.

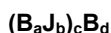
También se describen polipéptidos que tienen agrupamientos alternantes de regiones de residuos de aminoácido representados por la fórmula:



donde B es un residuo de aminoácido seleccionado independientemente del grupo que consiste en H, 5-hidroxilisina, 4-hidroxiprolina, y 3-hidroxiprolina; y U es un residuo de aminoácido seleccionado independientemente del grupo

que consiste en V, I, L, C, Y, y F. En una variación preferida, B es un aminoácido derivado de colágeno y se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en 5-hidroxisilina, 4-hidroxirolina, y 3-hidroxirolina; a tiene un valor medio de alrededor de 1 a alrededor de 5; b tiene un valor medio de alrededor de 3 a alrededor de 20; c es de 1 a 10; y d es de 0 a 3.

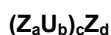
5 Adicionalmente se describen polipéptidos tensioactivos que incluyen una secuencia que tiene grupos de residuos de aminoácido alternantes representados por la fórmula:



10 donde B es un residuo de aminoácido seleccionado independientemente del grupo que consiste en H, 5-hidroxisilina, 4-hidroxirolina, y 3-hidroxirolina; y J es un ácido α -aminoalifático carboxílico; a tiene un valor medio de alrededor de 1 a alrededor de 5; b tiene un valor medio de alrededor 3 a alrededor de 20; c es de 1 a 10; y d es de 0 a 3.

15 Donde "J" está incluido en la fórmula relevante, J es un ácido α -aminoalifático carboxílico que tiene de cuatro a seis carbonos, inclusive. En variaciones, J es ácido un α -aminoalifático carboxílico que tiene seis o más carbonos, inclusive. En otras variaciones, J se selecciona del grupo que consiste en ácido α -aminobutanoico, ácido α -aminopentanoico, ácido α -amino-2-metilpropanoico, y ácido α -aminohexanoico.

Los polipéptidos tensioactivos de la presente invención pueden comprender una secuencia que tiene incluida una secuencia que tiene agrupamientos de residuos de aminoácidos alternantes representados por la fórmula:



20 donde Z es un residuo de aminoácido seleccionado independientemente del grupo que consiste en R, D, E, y K; y U es un residuo de aminoácido seleccionado independientemente del grupo que consiste en V, I, L, C, Y y F; del grupo que consiste en V, I, L, C y F; o del grupo que consiste en L y C; a tiene un valor medio de alrededor de 1 a alrededor de 5; b tiene un valor medio de alrededor de 3 a alrededor de 20; c es de 1 a 10; y d es de 0 a 3.

25 En las fórmulas anteriores, Z y U, Z y J, B y U, y B y J son residuos de aminoácido que, en cada aparición, se seleccionan independientemente. Además, en cada una de las fórmulas anteriormente mencionadas, a tiene generalmente un valor medio de alrededor 1 a alrededor de 5; b tiene generalmente un valor medio de alrededor de 3 a alrededor de 20; c es de 1 a 10; y d es de 0 a 3.

30 Z y B pueden ser residuos de aminoácido cargados. Z y B son residuos de aminoácido hidrófilos o cargados positivamente. De acuerdo con la invención, Z se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en R, D, E y K. No obstante también se describe Z seleccionado del grupo que consiste en R y K. Adicionalmente se describe B seleccionado del grupo que consiste en H, 5-hidroxisilina, 4-hidroxirolina, y 3-hidroxirolina. B puede ser H o alternativamente B es un residuo de aminoácido constitutivo del colágeno y se selecciona del grupo que consiste en 5-hidroxisilina, (δ -hidroxisilina), 4-hidroxirolina, y 3-hidroxirolina.

35 U y J pueden ser residuos de aminoácido no cargados. U y J pueden ser residuos de aminoácido hidrófobos. De acuerdo con la invención U se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en V, I, L, C, Y, y F. En otra realización preferida, U se selecciona del grupo que consiste en V, I, L, C, y F. Sin embargo, también se describe U seleccionado del grupo que consiste en L y C. U puede ser L.

40 De un modo similar, B puede ser un aminoácido seleccionado preferiblemente del grupo que consiste en H, 5-hidroxisilina, 4-hidroxirolina, y 3-hidroxirolina. De manera alternativa, B se puede seleccionar del grupo que consiste en aminoácidos derivados de colágeno, que incluyen 5-hidroxisilina, 4-hidroxirolina, y 3-hidroxirolina.

45 Los aminoácidos cargados y no cargados se pueden seleccionar entre los grupos de aminoácidos modificados. Por ejemplo, un aminoácido cargado se puede seleccionar del grupo que consiste en citrulina, homoarginina, u ornitina, por nombrar unos pocos ejemplos. De un modo similar, el aminoácido no cargado se puede seleccionar del grupo que consiste en ácido α -aminobutanoico, ácido α -aminopentanoico, ácido α -amino-2-metilpropanoico, y ácido α -aminohexanoico.

50 De acuerdo con la presente invención, los elementos "a", "b", "c" y "d" son números que indican el número de residuos cargados o no cargados (o residuos hidrófilos o hidrófobos). "a" tiene un valor medio de alrededor de 1 a alrededor de 5, preferiblemente de alrededor de 1 a alrededor de 3, más preferiblemente de alrededor de 1 a alrededor de 2, e incluso más preferiblemente, 1.

"b" tiene un valor medio de alrededor de 3 a alrededor de 20, preferiblemente de alrededor de 3 a alrededor de 12, más preferiblemente de alrededor de 3 a alrededor de 10, incluso más preferiblemente en el intervalo de alrededor de 4-8. En un ejemplo, "b" es alrededor de 4.

"c" es de 1 a 10, preferiblemente de 2 a 10, más preferiblemente en el intervalo de 3-8 o 4-8, e incluso más preferiblemente de 3 a 6. En un ejemplo, "c" es alrededor de 4.

"d" es de 0 a 3 o de 1 a 3. En un ejemplo, "d" es de 0 a 2 o de 1 a 2; en otro ejemplo, "d" es 1.

5 Al establecer que un residuo de aminoácido se selecciona independientemente, se quiere significar que en cada aparición, se selecciona un residuo del grupo especificado. Esto es, cuando "a" es 2, por ejemplo, cada uno de los residuos hidrófilos representados por Z será seleccionado independientemente y de este modo puede incluir RR, RD, RE, RK, DR, DD, DE, DK, y similares. Al establecer que "a" y "b" tienen valores medios, se quiere significar que aunque el número de residuos en la secuencia repetida (*p. ej.*, Z_aU_b) puede variar algo dentro de la secuencia del péptido, los valores medios de "a" y "b" estarían de alrededor de 1 a alrededor de 5 y de alrededor de 3 a alrededor de 20, respectivamente.

10 Por ejemplo, utilizando la fórmula $(Z_aU_b)_cZ_d$ para el péptido denominado "KL8" en la Tabla 2 de más abajo, la fórmula se puede re-escribir como $K_1L_8K_1L_8K_1L_2$, donde el valor medio de "b" es seis [esto es, $(8+8+2)/3=6$], c es tres y d es cero.

15 Los polipéptidos descritos en la presente memoria también se pueden someter a diferentes cambios, tales como inserciones, deleciones y sustituciones, ya sean conservativas o no conservativas, donde tales cambios proporcionan ciertas ventajas en su uso.

20 Se pueden añadir residuos adicionales en cualquier extremo de un polipéptido de la presente invención, por ejemplo con el propósito de proporcionar un "conector" por medio del cual dicho polipéptido pueda ser convenientemente fijado a una marca o matriz sólida, o portador. Las marcas, matrices sólidas y portadores que se pueden utilizar con los polipéptidos descritos en la presente memoria son conocidos en la técnica.

25 Los conectores de residuos de aminoácidos tienen normalmente al menos un residuo y pueden tener 40 o más residuos, más a menudo de 1 a 10 residuos. Los residuos de aminoácido típicos utilizados para conectar tirosina, cisteína, lisina, ácido glutámico y aspártico, o similares. Además, una secuencia de polipéptidos descrita en la presente memoria puede diferir de la secuencia natural por la secuencia que es modificada mediante acilación NH_2 terminal, *p. ej.*, acetilación, o amidación de ácido tioglicólico, carboxilamidación terminal, *p. ej.*, amoníaco, metilamina, y similares.

Los miméticos del polipéptido SP-B ilustrativos que se pueden utilizar en la presente invención incluyen, pero no están limitados a, aquellos mostrados en la Tabla 2.

Tabla 2: Péptidos Miméticos de Tensioactivos Pulmonares

Denominación ¹	SEQ ID NO	Secuencia de Residuos de Aminoácido
KL4	1	KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK
DL4	2	DLLLLDLLLLDLLLLDLLLLD
RL4	3	RLLLLRLLLLRLLLLRLLLLR
RL8	4	RLLLLLLLLRLLLLLLLLRLL
R2L7	5	RRLLLLLLRLLLLLLLLRRL
	6	RLLLLCLLLRLLLLCLLLR
	7	LLLLCLLLRLLLLCLLLRLL
	8	RLLLLCLLLRLLLLCLLLRLLLLCLLLR DLLLLDLLLLDLLLLDLLLLD
RCL1	9	RLLLLCLLLRLLLLCLLLR
RCL2	10	RLLLLCLLLRLLLLCLLLRLL

Denominación ¹	SEQ ID NO	Secuencia de Residuos de Aminoácido
RCL3	11	RLLLLCLLLRLLLLCLLLRLLLLCLLL
KL8	12	KLLLLLLLLKLLLLLLLLKLL
KL7	13	KKLLLLLLLLKLLLLLLLLKLL

¹ La denominación es una abreviatura de la secuencia de residuos de aminoácido indicada.

Asimismo se describen una variedad de moléculas tensioactivas, incluyendo proteínas, polipéptidos, y moléculas que incluyen residuos de aminoácido, así como una variedad de composiciones tensioactivas. Una amplia variedad de otras moléculas, incluyendo aminoácidos de origen natural pero poco comunes, metabolitos y catabolitos de aminoácidos naturales, aminoácidos sustituidos, y análogos de aminoácidos, así como aminoácidos en configuración "D", son útiles en moléculas y composiciones de la presente invención. Además, los derivados, análogos y miméticos de aminoácidos "designados" también son útiles en diferentes compuestos, composiciones y métodos de la presente invención, así como polímeros incluyendo estructuras de cadenas principales compuestas por conexiones no amídicas.

Por ejemplo, además de los L-aminoácidos, los metabolitos de aminoácidos tales como homoarginina, citrullina, ornitina, y ácido α -aminobutanoico también son útiles en los tensioactivos pulmonares. De este modo, en las diferentes fórmulas descritas más arriba, "Cargado", Z, o B puede comprender homoarginina, citrullina, u ornitina, así como una variedad de otras moléculas identificadas en la presente memoria. De un modo similar, J puede comprender ácido α -aminobutanoico (también conocido como ácido α -aminobutírico), ácido α -aminopentanoico, ácido α -aminohexanoico, y una variedad de otras moléculas identificadas en la presente memoria.

Adicionalmente, los aminoácidos sustituidos que no derivan generalmente de proteínas, pero que se conocen en la naturaleza, son útiles como se describe en la presente memoria, incluyendo los siguientes ejemplos: L-canavanina; 1-metil-L-histidina; 3-metil-L-histidina; 2-metil-L-histidina; ácido α,ϵ -diaminopimélico (forma L, forma meso, o ambas); sarcosina; L-ornitina betaína; betaína de histidina (herzinina); L-citrullina; L-fosfoarginina; D-octopina; o-carbamil-D-serina; ácido γ -aminobutanoico; y β -lisina. Los D-aminoácidos y análogos de D-aminoácidos, incluyendo los siguientes, también son útiles en proteínas, péptidos y composiciones de la presente invención: D-alanina, D-serina, D-valina, D-leucina, D-isoleucina, D-alloisoleucina, D-fenilalanina, ácido D-glutámico, D-prolina, y D-alohidroxiprolina, por nombrar algunos ejemplos. Lo anterior también se puede utilizar en moléculas tensioactivas de acuerdo con la presente invención; por consiguiente son particularmente preferidos para su uso aquellos correspondientes a la fórmula $\{(Cargado)_a (No\ cargado)_b\}_c (Cargado)_d$.

Una amplia variedad de aminoácidos, incluyendo metabolitos y catabolitos de los mismos, pueden ser incorporados a moléculas que presentan actividad tensioactiva. Por ejemplo, moléculas tales como ornitina, homoarginina, citrulina, y ácido α -aminobutanoico son componentes útiles de moléculas que presentan actividad tensioactiva como se describe en la presente memoria. Las moléculas tensioactivas descritas en la presente memoria también pueden comprender moléculas de cadena lineal más largas; ácido α -aminopentanoico u ácido α -aminohexanoico son dos ejemplos adicionales de tales moléculas útiles.

En la presente memoria se describen una amplia variedad de aminoácidos modificados, incluyendo análogos, metabolitos, catabolitos, y derivados, con independencia del momento o localización en los que se produce la modificación. En esencia, se pueden situar los aminoácidos modificados en tres categorías: (1) catabolitos y metabolitos de aminoácidos; (2) aminoácidos modificados generados por medio de modificación post-traduccional (*p. ej.*, modificación de cadenas laterales); y (3) modificaciones realizadas en los aminoácidos por medio de procesos no metabólicos o no catabólicos (*p. ej.*, la síntesis de aminoácidos modificados o derivados en el laboratorio).

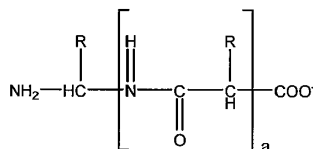
Asimismo se contempla que se pueden diseñar fácilmente cadenas laterales de aminoácidos de las unidades residuales que incluyen cadenas laterales más largas o más cortas añadiendo o sustrayendo grupos metileno en cualquier cadena lineal o ramificada, o disposiciones de anillos hidrocarbonados o heterocíclicos. Las estructuras de cadenas lineales y ramificadas también pueden contener átomos distintos de carbono tales como S, O, o N. Los ácidos grasos también pueden ser constituyentes útiles de moléculas tensioactivas en la presente

memoria. Las cadenas laterales designadas pueden terminar con (R') o sin (R) apéndices de grupos cargados o polares.

Además, los análogos, incluyendo moléculas resultantes del uso de diferentes conectores, también son útiles como se describe en la presente memoria. Las moléculas con cadenas laterales conectadas entre sí por medio de conexiones distintas de conexiones amídicas *p. ej.*, moléculas que contienen cadenas laterales de aminoácidos u otras cadenas laterales (R- o R'-) donde los componentes se conectan por medio de conexiones carboxi, fosfoéster, etileno, metileno, cetona o éter, por nombrar unos pocos ejemplos, también son útiles como se describe en la presente memoria. En esencia, cualquier cadena lateral de aminoácido, molécula que contiene R o R' puede ser útil como se describe en la presente memoria, siempre que la molécula incluya residuos hidrófilos e hidrófobos alternantes (esto es, moléculas componentes) y presente actividad tensioactiva como se describe en la presente memoria.

Adicionalmente se contemplan moléculas que comprenden dímeros de péptidos unidos por un conector apropiado, *p. ej.*, dímeros de péptidos conectados por moléculas de cistina. Tales conectores o puentes pueden entrecruzar de ese modo diferentes cadenas de polipéptidos, dímeros, trímeros, y similares. Otros conectores útiles que se pueden utilizar para conectar dímeros de péptidos y/u otros multímeros de péptidos incluyen aquellos enumerados más arriba *p. ej.*, conexiones carboxi- o fosfo-éster, etileno, metileno, cetona o éter, por nombrar unos pocos ejemplos.

Si bien se aprecia que muchos polipéptidos útiles descritos en la presente memoria comprenden aminoácidos de origen natural en forma "L" que están unidos por medio de conexiones peptídicas, se debe entender también que las moléculas que incluyen análogos de las cadenas laterales de aminoácidos, conexiones no amídicas (*p. ej.*, cadenas principales diversas) pueden presentar asimismo una actividad tensioactiva significativa y pueden poseer otras ventajas. Por ejemplo, si fuera deseable construir una molécula (*p. ej.*, para su uso en una composición tensioactiva) que no sea fácilmente degradada, se puede desear sintetizar una molécula de polipéptido que comprenda una serie de D-aminoácidos. Las moléculas que comprenden una serie de aminoácidos conectados por medio de una cadena principal "retro", esto es, una molécula que tiene enlaces amídicos internos construida en la dirección inversa desde el extremo carboxilo al extremo amino, también son más difíciles de degradar y por tanto pueden ser útiles en diferentes aplicaciones, como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, lo siguiente ilustra una molécula ilustrativa con un enlace "retro" en la cadena principal:



En otra variación, se puede desear construir una molécula que adopte una conformación más "rígida"; un método para lograr esto sería añadir grupos metilo u otros grupos al átomo de carbono α de los aminoácidos.

Como se ha observado antes, se pueden añadir otros grupos además de un grupo CH₃ al átomo de carbono α , esto es, las moléculas tensioactivas de la presente invención no están limitadas a aquellas que incorporan un CH₃ en el carbono α solo. Por ejemplo, cualquiera de las cadenas laterales y moléculas descritas más arriba pueden ser sustituidas por el grupo CH₃ indicado en el componente del carbono α .

Según se utiliza en la presente memoria, se pretende que los términos "análogos" y "derivados" de polipéptidos y residuos de aminoácido incluyan metabolitos y catabolitos de aminoácidos, así como moléculas que incluyen conexiones, cadenas principales, cadenas laterales o grupos laterales que difieren de los encontrados normalmente en lo que se denominan aminoácidos en forma L de "origen natural". (Los términos "análogo" y "derivado" también pueden ser utilizados convenientemente de manera indistinta en la presente memoria.) De este modo, los D-aminoácidos, moléculas que imitan a los aminoácidos y los aminoácidos con cadenas laterales "diseñadas" (esto es, que pueden sustituir uno o más aminoácidos en una molécula que tiene actividad tensioactiva) también están incluidos en los términos "análogos" y "derivados" en la presente memoria.

También se contempla en la presente invención un amplio surtido de moléculas tensioactivas útiles, incluyendo aminoácidos que tienen uno o más grupos R o R' ampliados o sustituidos. De nuevo, un experto en la técnica debe apreciar a partir de las descripciones que se pueden realizar una variedad de modificaciones para aminoácidos individuales, para las conexiones, y/o para la propia cadena, cuyas modificaciones producirán moléculas que posean una actividad tensioactiva como se describe en la presente memoria.

En ciertos métodos descritos en la presente memoria el tensioactivo pulmonar puede comprender uno o más lípidos. En cuyo caso, la composición tensioactiva puede comprender, por ejemplo, desde tan poco como alrededor de 0,05 a 100 % en peso de lípido, con tal que la composición resultante tenga actividad tensioactiva. El

porcentaje en peso representa el porcentaje de un compuesto en peso en una composición en peso. De este modo, una composición que tiene 50 por ciento en peso de lípido contiene, por ejemplo, 50 gramos de lípidos por 100 gramos de composición total. El término "lípido" según se utiliza en la presente memoria hace referencia a un compuesto de origen natural, sintético o semi-sintético (esto es, natural modificado) que es generalmente anfipático. Los lípidos comprenden por lo general un componente hidrófilo y un componente hidrófobo. Los lípidos ilustrativos incluyen, pero no están limitados a, fosfolípidos, ácidos grasos, alcoholes grasos, grasas neutras, fosfátidos, aceites, glicolípidos, agentes tensioactivos (tensioactivos), alcoholes alifáticos, ceras, terpenos y esteroides. La expresión semi-sintético (o natural modificado) indica un compuesto natural que ha sido modificado químicamente de alguna manera. Preferiblemente, los lípidos son ácidos grasos, alcoholes, ésteres y éteres de los mismos, aminas grasas, o combinaciones de los mismos.

Los ejemplos de los fosfolípidos incluyen fosfolípidos nativos y/o sintéticos. Los fosfolípidos que se pueden utilizar incluyen, pero no están limitados a, fosfatidilcolinas, fosfatidilgliceroles, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilserinas, ácidos fosfatídicos, fosfatidilinositoles, esfingolípidos, diacilglicéridos, cardiopina, ceramidas, cerebrósidos y similares. Los fosfolípidos ilustrativos incluyen, pero no están limitados a, dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC), dilauril fosfatidilcolina (DLPC) (C12:0), dimiristoil fosfatidilcolina (DMPC) (C14:0), diestearoil fosfatidilcolina (DSPC), diftanoil fosfatidilcolina, nonadecanoil fosfatidilcolina, araquidoil fosfatidilcolina, dioleoil fosfatidilcolina (DOPC) (C18:1), dipalmitoleoil fosfatidilcolina (C16:1), linoleoil fosfatidilcolina (C18:2), miristoil palmitoil fosfatidilcolina (MPPC), estearoil miristoil fosfatidilcolina (SMPC), esteroil palmitoil fosfatidilcolina (SPPC), palmitoiloleoil fosfatidilcolina (POPC), palmitoil palmitoleoil fosfatidilcolina (PPoPC), dipalmitoil fosfatidiletanolamina (DPPE), palmitoiloleoil fosfatidiletanolamina (POPE), dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE), dimiristoil fosfatidiletanolamina (DMPE), distearoil fosfatidiletanolamina (DSPE), dioleoil fosfatidilglicerol (DOPG), palmitoiloleoil fosfatidilglicerol (POPG), dipalmitoil fosfatidilglicerol (DPPG), dimiristoil fosfatidilglicerol (DMPG), diestearoil fosfatidilglicerol (DSPG), dimiristoilfosfatidilserina (DMPS), diestearoilfosfatidilserina (DSPS), palmitoiloleoil fosfatidilserina (POPS), lecitina de soja, lecitina de yema de huevo, esfingomiélin, fosfatidilinositoles, difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, ácidos fosfatídicos, y fosfatidilcolina de huevo (EPC).

Los ejemplos de los ácidos grasos y alcoholes grasos incluyen, pero no están limitados a, esteroides, ácido palmítico, alcohol cetílico, ácido laúrico, ácido mirístico, ácido esteárico, ácido fitánico, ácido dipalmítico, y similares. Preferiblemente, el ácido graso es ácido palmítico y preferiblemente el alcohol graso es alcohol cetílico.

Los ejemplos de los ésteres de ácidos grasos incluyen, pero no están limitados a, palmitato de metilo, palmitato de etilo, palmitato de isopropilo, palmitato de colesterilo, palmitato de palmitilo, palmitato de sodio, palmitato de potasio, tripalmitina, y similares.

Un ejemplo de un lípido semi-sintético o modificado natural es cualquiera de los lípidos descritos más arriba que haya sido modificado químicamente. La modificación química puede incluir numerosas modificaciones; no obstante, una modificación preferida es la conjugación de uno o más grupos polietilenglicol (PEG) con las porciones deseadas del lípido. El polietilenglicol (PEG) ha sido ampliamente utilizado en biomateriales, biotecnología y medicina principalmente debido a que el PEG es un polímero biocompatible, no tóxico, no inmunogénico y soluble en agua. Zhao y Harris, ACS Symposium Series 680: 458-72, 1997. En el área de la liberación de fármacos, los derivados de PEG han sido ampliamente utilizados en el anclaje covalente (esto es, "PEGilación") a proteínas para reducir la inmunogenicidad, la proteólisis y el aclaramiento del riñón y para aumentar la solubilidad. Zalipsky, Adv. Drug Del. Rev. 16: 157-82, 1995.

Los lípidos que se han conjugado con PEG son referidos en la presente memoria como "PEG-lípidos". Preferiblemente, cuando se utilizan PEG-lípidos, estos están presentes en alcoholes y/o aldehídos.

El tensioactivo pulmonar puede comprender otros excipientes, incluyendo, pero no limitados a, diferentes azúcares tales como dextrosa, fructosa, lactosa, maltosa, manitol, sacarosa, sorbitol, trehalosa, y similares, tensioactivos tales como, por ejemplo, polisorbato-80, polisorbato-20, trioleato de sorbitán, tiloxapol y similares, polímeros tales como PEG, dextrano y similares, sales tales como NaCl, CaCl₂ y similares, alcoholes, tales como alcohol cetílico, y tampones.

Las composiciones tensioactivas ilustrativas se pueden preparar utilizando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede preparar una composición tensioactiva ilustrativa que comprende lípidos y polipéptidos mezclando una solución de un polipéptido tensioactivo con una suspensión de liposomas, o mezclando el polipéptido tensioactivo con una suspensión de liposomas, o mezclando el polipéptido tensioactivo y los fosfolípidos directamente en presencia de un disolvente orgánico.

Preferiblemente, el tensioactivo pulmonar comprende fosfolípidos y ácidos grasos o alcoholes grasos libres, *p. ej.*, DPPC (dipalmitoil fosfatidilcolina), POPG (palmitoil-oleoil fosfatidilglicerol) y ácido palmítico (PA). Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.789.381.

En ciertas realizaciones preferidas, el tensioactivo pulmonar es Lucinactant u otra formulación de tensioactivo pulmonar que comprende la proteína tensioactiva sintética KLLLLKLLLLKLLLLKLLLL (KL4; SEQ ID NO:

1). El Lucinactant, es una combinación de DPPC, POPG, ácido palmítico (PA) y el péptido KL4 (razón en peso de aproximadamente 7,5 : 2,5 : 1,35 : 0,267). En ciertas realizaciones, el producto farmacéutico se formula a concentraciones, por ejemplo, de 10, 20, y 30 mg/ml de contenido de fosfolípido. En otras ciertas realizaciones, el producto farmacéutico se formula a concentraciones mayores, *p. ej.*, a un contenido de 40, 60, 90, 120 o más mg/ml de fosfolípido, con incrementos concomitantes en la concentración de KL4.

Cualquier tensioactivo pulmonar actualmente en uso, o desarrollado en el futuro para su uso en un sistema de dificultad respiratoria y otras afecciones pulmonares, es adecuado para su uso en la presente invención. Estos incluyen tensioactivos pulmonares de origen natural y sintéticos. TP sintético, según se utiliza en la presente memoria, hace referencia tanto a tensioactivos pulmonares sin proteína como a tensioactivos pulmonares que comprenden péptidos sintéticos, incluyendo miméticos peptídicos de proteínas tensioactivas de origen natural. Los productos TP actuales incluyen, pero no están limitados a, Lucinactant (Surfaxin[®], Discovery Laboratories, Inc., Warrington, PA), tensioactivo lipídico bovino (BLES[®], BLES Biochemicals, Inc. Londres, Ont), Calfactant (Infasurf[®], Forest Pharmaceuticals, St. Louis, MO), tensioactivo bovino natural (Alveofact[®], Thomae, Alemania), tensioactivo bovino (Surfactant TA[®], Tokyo Tanabe, Japón), Poractant alfa (Curosurf[®], Chiesi Farmaceutici SpA, Parma, Italia), Pumactant (Alec[®], Britannia Pharmaceuticals, UK), Beractant (Survanta[®], Abbott Laboratories, Inc., Abbott Park, IL) y Colfosceril palmitato (Exosurf[®], GlaxoSmithKline, plc, Middlesex, U.K.). En una realización preferida, el TP es Lucinactant u otra formulación de TP que comprende la proteína tensioactiva sintética KLLLLKLLLLKLLLLKLLLL (KL4; SEQ ID NO: 1).

Los regímenes de tratamiento descritos en la presente memoria se pueden combinar con otras terapias respiratorias. En ciertas realizaciones, la administración de TP se realiza a lactantes que están intubados y se mantienen con ventilación, ya sea ventilación convencional o ventilación de alta frecuencia, durante un período de tiempo o a lo largo de todo la duración del tratamiento con TP.

Se pueden utilizar modos de administración alternativos, así como formulaciones de TP alternativas. Por ejemplo, el TP se puede formular mediante aerosol (nebulización) y administrar por medio de CPAP nasal, prongs nasales o naso-faríngeos combinados con un flujo bajo de oxígeno, o por medio de una máscara facial o cámara de oxígeno de Hood.

El tensioactivo pulmonar en aerosol se puede administrar como se proporciona en la solicitud de los Estados Unidos copendiente 11/130.783, presentada el 17 de Mayo de 2005. La administración puede ser conjunta con otra terapia respiratoria pulmonar no invasiva que implique la administración de presión positiva en las vías respiratorias. El término "terapia respiratoria pulmonar no invasiva" hace referencia a una terapia respiratoria que no utiliza la ventilación mecánica y puede incluir CPAP, presión positiva de dos niveles en las vías respiratorias (BiPAP), ventilación mandatoria intermitente sincronizada (SIMV), y similares. El empleo de tales terapias implica el uso de diferentes gases respiratorios, como apreciará el experto en la técnica. Los gases respiratorios utilizados para la terapia respiratoria pulmonar no invasiva son referidos a veces en la presente memoria como "gas CPAP", "aire CPAP", "nCPAP", "gas de ventilación", "aire de ventilación", o simplemente "aire". Sin embargo, se pretende que esos términos incluyan cualquier tipo de gas utilizado normalmente para la terapia respiratoria pulmonar no invasiva, incluyendo pero no limitados a los gases y las combinaciones gaseosas enumerados más arriba para su uso como gas acondicionador. En ciertas realizaciones, el gas utilizado para la terapia respiratoria pulmonar no invasiva es el mismo que el gas acondicionador. En otras realizaciones, los respectivos gases son diferentes entre sí.

En ciertas realizaciones, los métodos de liberación pulmonar de esta invención se emplean conjuntamente con CPAP. Se ha demostrado que el uso de CPAP permite un incremento de la capacidad funcional residual y una mejora de la oxigenación. La laringe se dilata y la resistencia de la vía respiratoria supraglótica es normal. También hay una mejora de la sincronía de los movimientos respiratorios toraco-abdominales y una mejora del reflejo de inflación de Hering-Breuer después de la oclusión de las vías respiratorias. Se ha demostrado que la CPAP es útil en el tratamiento de diversas afecciones tales como la apnea del sueño, los ronquidos, ARDS, IRDS, y similares.

Con el fin de llevar a cabo la administración de CPAP, se requieren una fuente de presión y un dispositivo de liberación o un aparato de liberación. El flujo de aire que produce la CPAP se genera típicamente en las proximidades de las vías respiratorias nasales convirtiendo la energía cinética de un chorro de gas humidificado fresco en una presión positiva de las vías respiratorias. Una tasa de flujo continuo de gas de respiración de alrededor 5 a alrededor de 12 litros/minuto genera una CPAP correspondiente de alrededor de 2 a alrededor de 10 cm de H₂O. Se pueden aplicar diferentes modificaciones al sistema de CPAP que incluyen sensores que pueden individualizar la cantidad de presión basándose en la necesidad del paciente.

Por lo general, las tasas de flujo y las presiones adecuadas para lograr la CPAP se basan en las características del paciente que está siendo tratado. Las tasas de flujo adecuadas pueden ser calculadas fácilmente por el médico clínico a cargo. La presente invención incluye el uso de una variedad de tasas de flujo para el gas de ventilación, incluyendo tasas de flujo bajas, moderadas y altas. Como alternativa, el aerosol se puede suministrar sin presión positiva añadida, esto es, sin CPAP como terapia respiratoria simultánea.

Preferiblemente, el flujo de aire que genera la CPAP que se está liberando al paciente tiene un nivel de humedad que evitará niveles inaceptables de sequedad de los pulmones y las vías respiratorias. De este modo, el aire que genera la CPAP es a menudo humidificado por medio del burbujeo a través de un hidratador, o similares para lograr una humedad relativa preferiblemente mayor de alrededor de 70%. Más preferiblemente, la humedad es mayor de alrededor de 85% y aún más preferiblemente de 98%.

Una fuente adecuada de flujo de aire que induce CPAP es la unidad de CPAP de tubo sumergido (resistencia espiratoria sumergida). Esta es referida comúnmente como CPAP de burbuja.

Otra fuente preferida de presión es una válvula de flujo espiratorio que utiliza válvulas de resistencia variable sobre el limbo espiratorio de los circuitos de CPAP. Esto se logra por lo general por medio de un ventilador.

Otra fuente preferida es el Infant Flow Driver o "IFD" (Electro Medical Equipment, Ltd., Brighton, Sussex, Reino Unido). El IFD genera presión a nivel nasal y emplea una fuente de flujo convencional y un manómetro para generar un chorro de suministro a alta presión capaz de producir un efecto de CPAP. Se sugiere en la literatura que la dirección del chorro de suministro de alta presión responde a la presión ejercida en la cavidad nasal por los esfuerzos del paciente y esto reduce las variaciones en la presión del aire durante el ciclo de inspiración.

Otros sistemas de CPAP incluyendo aquellos que contienen características similares a los sistemas recién comentados también se contemplan en la presente memoria.

La corriente de aerosol generada de acuerdo con la liberación de aerosol se libera preferiblemente al paciente por medio de un dispositivo de liberación nasal que puede implicar, por ejemplo máscaras, prongs nasales individuales, prongs binasales, prongs nasofaríngeos, cánulas nasales y similares. El dispositivo de liberación se elige con el fin de minimizar el trauma, mantener un precinto para evitar la pérdida de aerosol, y minimizar el trabajo que el paciente debe realizar para respirar.

Cuando se utiliza una preparación en aerosol, la composición tensioactiva puede ser suministrada en forma finamente dividida, opcionalmente combinada con un propelente adecuado. Los propelentes útiles son típicamente gases en condiciones ambiente y se condensan bajo presión incluyendo, por ejemplo, alcanos inferiores y alcanos fluorados, tales como freón. Cuando la composición tensioactiva se libera en forma de aerosol, el aerosol puede estar envasado en un recipiente adecuado a presión.

La dosificación adecuada del tensioactivo, ya sea en aerosol o liberada en forma de un líquido o polvo seco dependerá de la edad del paciente y de la gravedad del trastorno y será fácilmente determinable por el médico clínico a cargo. La dosificación real del tensioactivo pulmonar variará por supuesto de acuerdo con factores tales como el grado de exposición y el estado concreto del sujeto (*p. ej.*, la edad del sujeto, el tamaño, el estado físico, el grado de los síntomas, los factores de susceptibilidad, y similares). Por "dosis eficaz" en la presente memoria se quiere significar una dosis que produce los efectos para los cuales se administra.

Cuando el tensioactivo se suministra a lactantes nacidos prematuramente en forma de un líquido, se libera una alícuota de la composición tensioactiva, preferiblemente mediante instilación intratraqueal, para proporcionar una dosis eficaz de tensioactivo en los pulmones del paciente tratado. Preferiblemente, una única dosis de tensioactivo oscila entre, por ejemplo, alrededor 20 a alrededor de 300 mg de fosfolípido total (TPL)/kg, más preferiblemente de alrededor de 60 a alrededor de 175 mg TPL/kg. Entendiéndose, por supuesto, que la dosis exacta de tensioactivo dependerá de factores tales como la edad y el estado del paciente, la gravedad de la afección que se está tratando, y otros factores dentro del conocimiento práctico del médico clínico a cargo. Cuando la composición tensioactiva se libera en forma de aerosol, tal como se describe en la Solicitud de los Estados Unidos co-pendiente Núm. 11/130.783, presentada el 17 de Mayo, 2005, la dosis eficaz de tensioactivo pulmonar puede ser, por ejemplo, de alrededor de 1 mg de TPL/kg tensioactivo a alrededor de 1000 mg TPL/kg de tensioactivo, preferiblemente de alrededor de 2 mg de TPL/kg de tensioactivo a alrededor de 175 mg de TPL/kg tensioactivo. Cuando la composición de tensioactivo es liberada en forma de una formulación de polvo seco, la dosis eficaz de tensioactivo pulmonar puede ser, por ejemplo, de alrededor de 1 mg de TPL/kg de tensioactivo a alrededor de 1000 mg o más de TPL/kg de tensioactivo, preferiblemente de alrededor de 2 mg de TPL/kg de tensioactivo a alrededor de 175 mg de TPL/kg de tensioactivo. Otros métodos de liberación incluyen el lavado, lavado pulmonar, y similares. Cuando se emplean de ese modo, los intervalos de dosificación estarán dentro del conocimiento práctico del experto en la técnica.

La frecuencia de dosificación puede variar, pero por lo general es una vez cada 2-3 días. No obstante, el paciente puede recibir las dosis más frecuentemente, *p. ej.*, cada 6-8 horas, dos veces al día, o una vez al día, o menos frecuentemente, *p. ej.*, dos veces por semana o incluso una vez a la semana. Como alternativa, el paciente puede recibir las dosis más frecuentemente al principio en el régimen de tratamiento, y con una frecuencia descendente más adelante en el régimen de tratamiento, *p. ej.*, una vez cada dos días durante una semana, seguido de dos veces por semana hasta el final del período de tratamiento. Dependiendo de la forma de dosificación, *p. ej.*, aerosol o polvo seco en comparación con la instilación líquida, el paciente puede recibir las dosis de manera continuada durante parte o todo el período de tratamiento.

En el uso de acuerdo con la invención, el lactante se puede tratar con otros agentes terapéuticos, profilácticos o complementarios, tales como esteroides, óxido nítrico, antioxidantes o captadores de oxígeno reactivo, broncodilatadores, diuréticos, agentes antimicrobianos o anti-infecciosos, agentes anti-hipertensores, o agentes anti-inflamatorios (*p. ej.*, inhibidores de PLA₂, inhibidores de proteasa o elastasa, inhibidores de PDE-4, por nombrar unos pocos), como apreciaría un experto en la técnica. Dicho tratamiento puede incluir la administración concomitante del TP con otros agentes terapéuticos, profilácticos o complementarios. La administración concomitante puede implicar la administración simultánea (esto es, al mismo tiempo), anterior, o posterior del agente complementario con respecto a la administración del tensioactivo pulmonar. Cuando se administran combinados, cada componente puede ser administrado al mismo tiempo o sucesivamente en cualquier orden en diferentes momentos. De este modo, cada componente se puede administrar por separado pero suficientemente próximo en el tiempo con el fin de proporcionar el efecto terapéutico deseado. La administración concomitante de un TP con otros agentes terapéuticos, profilácticos o complementarios representa la administración del TP y otros agentes en un momento tal que ambos tengan un efecto terapéutico. Un experto normal en la técnica, no tendría dificultad para determinar el calendario, la secuencia y las dosificaciones apropiadas de la administración para los fármacos concretos de la presente invención.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para describir la invención con mayor detalle. Se pretende que ilustren, no que limiten, la invención.

REALIZACIONES ILUSTRATIVAS

EJEMPLO 1: Protocolo para la Administración de Lucinactant a Lactantes Prematuros con Riesgo de Displasia Broncopulmonar

Este ejemplo proporciona un protocolo para la administración de Lucinactant a lactantes prematuros con un peso muy bajo al nacer (VLBW) que han sido intubados y han recibido tensioactivos para la prevención o el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria (SDR). El protocolo ha sido utilizado en una prueba clínica para evaluar la seguridad y eficacia del Lucinactant en lactantes VLBW con riesgo de desarrollar DBP.

Se utilizaron dos regímenes de dosificación de Lucinactant (90 mg/kg de peso al nacer o 175 mg/kg de peso al nacer). Se trataron los lactantes nacidos con un peso corporal de 600 a 900 gramos y que permanecían intubados al día de vida (DOL) 3 en previsión de un empeoramiento de la enfermedad pulmonar. El tratamiento se administró los días 3, 5, 7, 10 y 14, si el lactante permanecía intubado. Se debe observar que el Día 1 (o DOL 1) es el día en el se produce el Tiempo 0 (momento del nacimiento) y los DOL 2, 3, etcétera, comenzando a las 00:00 (medianoche) cada día siguiente después del Tiempo 0.

El Lucinactant se administró de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, la administración de Lucinactant es por medio de una jeringa unida por lo general a un catéter con un orificio terminal pasado a través de una válvula Bodai o equivalente de manera que la punta del catéter termina en el extremo distal del tubo endotraqueal. El lactante se coloca en posición decúbito lateral izquierda con la cabeza erguida y se le administra lentamente la mitad del volumen de la jeringa. Después de permitir un breve período de recuperación, el lactante se coloca en posición decúbito lateral derecha y se le administra el resto del contenido de la jeringa. La dosis se administró en cuartas partes (alternando la colocación en decúbito izquierda-derecha) si se determinara que fuera necesario.

La eficacia del protocolo de tratamiento se determinó realizando las siguientes evaluaciones: (1) proporción de lactantes que siguen con ventilación mecánica u oxígeno con el tiempo; (2) incidencia de muerte o DB a los 28 días y 36 semanas de edad post-menstrual (post-concepción); (3) fracción de AUC de oxígeno inspirado (FiO₂) los días 3-28 y presión media de las vías respiratorias; (4) distensibilidad pulmonar evaluada mediante bucles de presión-volumen obtenidos del ventilador antes y a las 6 y 24 horas después de la dosis; y (5) medidas subrogadas de eficacia incluyendo la evaluación de las propiedades de disminución de la tensión superficial de los productos aspirados traqueales y concentración de factores de crecimiento y mediadores inflamatorios en los productos aspirados traqueales como parte del cuidado intensivo neonatal rutinario.

EJEMPLO 2: Protocolo para la Administración de Lucinactant Liberado en Forma de Aerosol Por Medio de nCPAP para la Prevención del SDR en Lactantes Prematuros

Este ejemplo proporciona un protocolo para la administración de Lucinactant en forma de aerosol por medio de nCPA a lactantes prematuros. Este protocolo ha sido utilizado en estudio abierto, fase piloto 2, para evaluar la viabilidad, la seguridad, y la tolerabilidad del Lucinactant liberado en forma de aerosol por medio de nCPAP para la prevención del SDR en neonatos prematuros.

Se administró el Lucinactant utilizando un dispositivo de máquina vibradora aprobado (Aeroneb-Pro[®] o equivalente) y se liberó por medio de nCPAP en los 30 minutos siguientes al nacimiento. En un primer grupo de tratamiento, se administraron 20 mg/ml de Lucinactant en los primeros 30 minutos de vida continuamente a lo largo de tres horas. Se permitieron hasta 3 re-tratamientos a lo largo de un período de 48 horas, separando cada

tratamiento al menos por 3 horas (desde el final del tratamiento previo). En un segundo grupo de tratamiento, se administraron 20 mg/ml de Lucinactant en los primeros 30 minutos de vida continuamente a lo largo de tres horas. Se permitieron hasta tres re-tratamientos a lo largo de un período de 48 horas, separando cada tratamiento al menos una hora (desde el final del tratamiento previo).

5 Los neonatos prematuros cualificados se incluyeron sucesivamente y se estratificaron por su edad gestacional (estrato 1: 30-32 semanas completadas seguido por el estrato 2: 28-29 semanas completadas) en el primer grupo del régimen de tratamiento (3 horas en tratamiento con aerosol/3 horas fuera del tratamiento con aerosol) y recibieron Lucinactant en aerosol por medio de nCPAP. Se evaluaron los datos de seguridad y tolerabilidad después de la inclusión de cada cinco neonatos. Una vez que se completó la inclusión en el primer grupo de tratamiento, los neonatos se incluyeron sucesivamente y se estratificaron en el segundo grupo de tratamiento (3 horas en tratamiento con aerosol/1 hora fuera del tratamiento con aerosol). Todos los neonatos incluidos fueron evaluados a los 28 días de edad.

10 Los 17 neonatos experimentaron al menos 1 efecto adverso con independencia de su relación. Se informó sobre un total de 83 efectos adversos; de estos efectos adversos, 8 (47,1%) se consideraron relacionados con el fármaco del estudio, 2 (11,8%) se consideraron relacionados con el dispositivo, y 6 (35,3%) se consideraron relacionados tanto con el fármaco del estudio como con el dispositivo. Los efectos adversos más comunes, con independencia de la relación con el tratamiento del estudio fueron apnea (16/17, 94,1%), disminución de la saturación de oxígeno (12/17, 70,6%), conducto arterioso persistente (6/17, 35,3%), hipocalcemia (5/17, 29,4%). Se informó sobre un total de 5 efectos adversos graves durante el transcurso del estudio. Dos de los efectos adversos graves se consideraron relacionados con el dispositivo. No se produjeron muertes durante este estudio.

15 El estudio demostró que es viable liberar el Lucinactant por vía nCPAP y el tratamiento era generalmente seguro y bien tolerado. Se incluyeron observaciones clave de que 15 de los 17 neonatos no tuvieron evidencia de DBP el día 28.

20 A partir de la descripción anterior, los expertos en la técnica pueden darse cuenta de diferentes modificaciones y cambios en las composiciones y métodos.

25

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de un tensioactivo pulmonar en la preparación de un medicamento para la prevención de la displasia broncopulmonar en un lactante, donde el lactante ha sido tratado con tensioactivo pulmonar para el síndrome de dificultad respiratoria en un régimen de dosificación que comprende la administración de tensioactivo pulmonar para la displasia broncopulmonar después de que el tratamiento para el síndrome de dificultad respiratoria con tensioactivo pulmonar haya concluido, y donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar para la displasia broncopulmonar continua hasta al menos el día 10 de la vida del lactante.
- 10 2. El uso según se reivindica en la reivindicación 1, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar iniciada al siguiente intervalo de dosificación después de completar el tratamiento para el síndrome de dificultad respiratoria con tensioactivo pulmonar.
3. El uso según se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar iniciada el día 3 de la vida del lactante.
- 15 4. El uso según se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar continua hasta al menos el día 14 de la vida del lactante.
- 20 5. El uso según se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar continua hasta el día 18 de la vida del lactante.
- 25 6. El uso según se reivindica en las reivindicaciones 1 o 2, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar iniciada en cualquier momento desde el día 3 hasta el día 10 de la vida del lactante.
7. El uso del tensioactivo pulmonar en la preparación de un medicamento para la prevención de la displasia broncopulmonar en un lactante que requiere soporte respiratorio y que está en riesgo de desarrollar displasia broncopulmonar y donde el tensioactivo pulmonar se utiliza en un régimen de dosificación que comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar hasta al menos el día 10 de la vida del lactante.
- 30 8. El uso según se reivindica en la reivindicación 7, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar iniciada en o después del día 1 de la vida del lactante y continúa hasta al menos el día 28 de la vida del lactante.
9. El uso según se reivindica en la reivindicación 7, donde la administración del tensioactivo pulmonar se inicia en o después del día 2 de la vida del lactante.
- 35 10. El uso según se reivindica en la reivindicación 7, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar iniciada en o después del día 3 de la vida del lactante.
- 40 11. El uso según se reivindica en la reivindicación 7, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar continua hasta al menos el día 14 de la vida del lactante.
12. El uso según se reivindica en la reivindicación 7, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar continua hasta al menos el día 18 de la vida del lactante.
- 45 13. El uso según se reivindica en la reivindicación 7, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar iniciada en cualquier momento desde el día 3 al día 8 de la vida del lactante.
14. El uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, donde el lactante no manifiesta síndrome de dificultad respiratoria.
- 50 15. El uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, donde el lactante manifiesta síndrome de dificultad respiratoria.
16. El uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar mediante administración endotraqueal.

17. El uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar por medio de inhalación.

5 18. El uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el régimen de dosificación comprende la administración de una cantidad eficaz del tensioactivo pulmonar acompañado de otra terapia respiratoria.

19. El uso según se reivindica en la reivindicación 18, donde la otra terapia respiratoria es la ventilación convencional, la ventilación de alta frecuencia o la presión positiva continua de las vías respiratorias.

10 20. El uso según se reivindica en la reivindicación 20, donde la otra terapia respiratoria es la administración de uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo: óxido nítrico, esteroides, antioxidantes, vitaminas, derivados de vitaminas, captadores de oxígeno reactivo, broncodilatadores, diuréticos, agentes antimicrobianos, agentes anti-infecciosos, agentes anti-hipertensores, o agentes anti-inflamatorios.

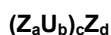
21. El uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el tensioactivo pulmonar es un tensioactivo pulmonar sintético.

15 22. El uso según se reivindica en la reivindicación 21, donde el tensioactivo pulmonar sintético comprende un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos:

KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK (SEQ ID NO: 1)

23. El uso según se reivindica en la reivindicación 21 o la reivindicación 22, donde el tensioactivo pulmonar sintético comprende un mimético de polipéptido de SP-B.

20 24. El uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 21 a 23, donde el tensioactivo pulmonar sintético comprende un polipéptido que tiene al menos 10 residuos de aminoácido y que comprende regiones con residuos de aminoácido hidrófobos e hidrófilos alternantes de fórmula:



donde Z y U son residuos de aminoácido tales que en cada aparición se seleccionan independientemente;

25 Z es un residuo de aminoácido hidrófilo seleccionado entre R, D, E y K.

U es un residuo de aminoácido hidrófobo seleccionado entre V, I, L, C, Y, y F;

a es entre 1 y 5;

b es entre 3 y 20;

c es entre 1 y 10; y

30 d es entre 0 y 3.