

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 387 619**

51 Int. Cl.:

A61K 9/12 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/66 (2006.01)

A61K 31/683 (2006.01)

A61K 31/685 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05718468 .1**

96 Fecha de presentación: **18.04.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1740189**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.01.2007**

54 Título: **Suplementos de tensioactivos pulmonares**

30 Prioridad:
19.04.2004 US 563690 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.09.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.09.2012

73 Titular/es:
**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (CNRS)
3, RUE MICHEL ANGE
75016 PARIS, FR y
UNIVERSITE LOUIS PASTEUR INDUSTRIE**

72 Inventor/es:
**KRAFFT, Marie-Pierre;
VANDAMME, Thierry;
GERBER, Frédéric y
SHIBATA, Osamu**

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 387 619 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

Suplementos de tensioactivos pulmonares

Campo de la invención

5 La invención presente se refiere generalmente a composiciones de tensioactivos pulmonares y a los métodos para el tratamiento de enfermedades pulmonares. La invención específicamente revela el uso de compuestos fluorados altamente biocompatibles, incluyendo fluorocarbonos en el tratamiento de diversas afecciones pulmonares.

Antecedentes de la invención

10 El tensioactivo pulmonar nativo consiste en una mezcla compleja de fosfolípidos, lípidos neutros y proteínas. El tensioactivo comprende aproximadamente 90% de lípidos y 10% de proteínas con una composición de lípidos de 55% de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), 25% de fosfatidilcolina (PC), 12% de fosfatidilglicerol (PG), 3,5% de fosfatidiletanolamina (PE), esfingomielina y fosfatidilinositol (PI).

15 Las funciones del tensioactivo pulmonar son reducir la tensión superficial dentro de los alvéolos. Ayuda a mediar la transferencia de oxígeno y dióxido de carbono, promueve la expansión alveolar y cubre la superficie de los alvéolos pulmonares. Una tensión superficial reducida permite que los alvéolos permanezcan abiertos a presión reducida. Además, el tensioactivo pulmonar soporta la expansión alveolar variando la tensión superficial según tamaño alveolar.

20 Los suplementos de tensioactivo en la actualidad se utilizan terapéuticamente cuando el tensioactivo pulmonar presente no permite una función respiratoria eficiente. La suplementación de tensioactivo se utiliza comúnmente para tratar el síndrome de dificultad respiratoria (RDS), cuando las deficiencias de tensioactivo comprometen la función pulmonar. Mientras que RDS es principalmente una enfermedad de los recién nacidos, una forma adulta de la enfermedad, el síndrome de dificultad respiratoria de adulto (SDRA), tiene muchas características en común con RDS, de esta forma prestándose a terapias similares. Más generalmente, existen diversas formas de lesión pulmonar aguda que están relacionadas con una disfunción del tensioactivo pulmonar.

25 La etiología primaria de RDS es atribuida a cantidades insuficientes de tensioactivo pulmonar. Aquellos en mayor riesgo son los bebés nacidos antes de las 36 semanas de gestación con desarrollo pulmonar prematuro. Los neonatos nacidos con menos de 28 semanas de gestación tienen un 60-80% de probabilidades de desarrollar RDS. RDS es una afección potencialmente mortal.

30 La dificultad respiratoria en adultos ocurre como una complicación de numerosos trastornos, incluyendo un trauma que induce un shock, infección, quemadura o el daño pulmonar directo. La patología se observa histológicamente como un daño difuso a la pared alveolar, con formación de membrana hialina y daño capilar. La formación de membrana hialina, ya sea en SDRA o RDS, crea una barrera para el intercambio de gases. La disminución en la entrega del oxígeno produce una pérdida del epitelio pulmonar, produciendo una disminución en la producción de tensioactivo y focos de alvéolos colapsados. Esto puede iniciar un ciclo vicioso de hipoxia y daño al pulmón.

35 En aquellas patologías donde el tensioactivo pulmonar nativo es deficiente o no funcional, las moléculas de DPPC están inmobilizadas en forma de islotes cristalinos y no pueden difundirse de nuevo en la superficie alveolar, lo que puede empeorar considerablemente el ciclo respiratorio.

La terapia de reemplazo de tensioactivo ha sido recientemente utilizada ya sea sola o en combinación con la terapia de ventilación. Los primeros trabajos con reemplazos de tensioactivo utilizaban preparaciones de tensioactivo pulmonar humano obtenidas del lavado pulmonar.

40 La segunda generación de sustitutos de tensioactivos son preparaciones purificadas de tensioactivo pulmonar bovino y porcino. Como con el tensioactivo humano, la preparación de tensioactivo pulmonar bovino es compleja. Las fuentes son pocas y la disponibilidad es limitada. Además, mientras que el uso de tensioactivo pulmonar bovino en neonatos no presenta un problema inmunológico, las aplicaciones de tensioactivo bovino en adultos podrían sensibilizar inmunológicamente a los pacientes a otros productos bovinos. Además, sigue sin probarse la ausencia de riesgo de transmisión de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

45 También se han propuesto formulaciones de tensioactivos sintéticos. Por ejemplo, el documento de patente europea EP 050 793 revela una combinación de hexadecanol y DPPC.

50 La ventilación con fluorocarbonos líquidos se ha propuesto en el documento de patente de Estados Unidos N° 5.853.003 y se demostró que era seguro, que mejoraba la función pulmonar y aumentaba el volumen pulmonar en pacientes con dificultad respiratoria grave (Greenspan et al., Biomedical instrumentation and Technology (1999) 33:253-259; Leach et al., New England Journal of Medicine (1996) 335:761-767). La biocompatibilidad de los fluorocarbonos ha sido debatida (Riess, Chemical Reviews 101:2797-2919 (2001); Riess, Tetraedron (2002) 58:4113-4131).

Compendio de la invención

Una monocapa de DPPC de Langmuir es aceptada como modelo del tensioactivo pulmonar. Con la compresión, una monocapa de DPPC experimenta una fase de transición de un estado de fluido líquido expandible a un estado cristalino de líquido condensado. De esta forma se forman islotes cristalinos debido a la alta energía cohesiva de las moléculas de DPPC. Durante la expansión (en el curso de un ciclo de respiración), las moléculas de DPPC involucradas en los islotes cristalinos no se vuelven a difundir con la suficiente rapidez en la superficie de los alvéolos. Por esa razón, DPPC por sí sola no puede funcionar como un tensioactivo pulmonar eficaz.

Los inventores han descubierto que compuestos altamente fluorados, y en particular fluorocarbonos, en forma líquida o gaseosa, hacen posible la inhibición de la transición de líquido expandible a líquido condensado, y por lo tanto, evitan la formación de islotes cristalinos cuando se comprime una monocapa de fosfolípidos de Langmuir.

Sobre esa base, se proporciona un método para mejorar la fluidez y/o la difusión del tensioactivo pulmonar nativo en un ser humano o un animal con necesidad de dicho tratamiento, en donde al ser humano o animal se le administra una composición de fluorocarbono.

La composición de fluorocarbono puede estar en forma de líquido o ser gaseosa y puede administrarse tal cual o como un aerosol o vaporizada.

Un compuesto preferido altamente fluorado es un fluorocarbono tal como el perfluorooctileno (PFOE) o bis(perfluorobutiletano) (F-44E). Un fluorocarbono todavía preferido es un fluorocarbono bromado, y un fluorocarbono todavía más preferido es el bromuro de perfluorooctilo (PFOB).

En una realización preferida, el fluorocarbono es administrado en asociación con un fosfolípido, tal como dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC).

En el caso donde se utiliza el fluorocarbono en asociación con un fosfolípido, la relación molecular entre estos dos componentes preferiblemente está en el intervalo entre 1 y 300.

Sólo una pequeña cantidad de fluorocarbono es necesaria para mejorar la fluidez de la monocapa de tensioactivo pulmonar.

El fluorocarbono es administrado en forma de líquido o vapor (gaseosa), y preferentemente en una cantidad correspondiente a de alrededor de 0,005 a alrededor del 4% de fluorocarbono en volumen/kg de peso corporal, preferiblemente de unos 0,005% a aproximadamente el 2% en volumen/kg de peso corporal.

El fluorocarbono puede administrarse tal cual o en forma de una emulsión de agua-en-fluorocarbono, o en forma de una emulsión de aceite-en-fluorocarbono.

La composición de fluorocarbono también puede servir como un sistema de administración de fármaco. Además se anticipa que un agente terapéutico adicional pueda estar disperso en la preparación de fluorocarbono.

La invención proporciona además una composición terapéutica que comprende un fluorocarbono y un fosfolípido, y opcionalmente un agente terapéutico, por ejemplo, prednisona o epinefrina.

En una realización preferida, la composición está en forma de una emulsión que comprende una fase continua de fluorocarbono. En una realización más preferida, la emulsión con una fase de fluorocarbono continua contiene una sustancia farmacológicamente activa pulmonar tal como un antibiótico, un agente antimicobacteriano tuberculoestático, un agente anticáncer, sustancias vasoactivas pulmonares, etc.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un gráfico que muestra la variación de la tensión superficial versus el área molecular, para DPPC sola y para DPPC en contacto con 200 μ l de PFOB líquido. El gráfico muestra la influencia del PFOB líquido en la monocapa de DPPC. La meseta que refleja la coexistencia de la fase fluida y los islotes cristalinos, claramente visibles en la isoterma de DPPC sola, ya no se ve en la isoterma de DPPC en contacto con el fluorocarbono líquido.

La Figura 2 es un gráfico que muestra la tensión superficial versus el área molecular, para DPPC sola y para DPPC en contacto con una atmósfera de nitrógeno saturada con PFOB gaseoso. El gráfico muestra la influencia del PFOB gaseoso sobre la monocapa de DPPC. La meseta refleja la coexistencia de la fase fluida y los islotes cristalinos, claramente visibles en la isoterma de DPPC sola, que ya no se ven en la isoterma de DPPC en contacto con el fluorocarbono gaseoso.

La Figura 3 es un conjunto de fotografías de microscopía de fluorescencia que muestran que los islotes cristalinos, inicialmente presentes en la monocapa de DPPC comprimida a $10 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ (A) progresivamente desaparecen con el tiempo cuando la monocapa se pone en contacto con el PFOB gaseoso (B, C, D, visualización de la monocapa después de 3, 5 y 7 minutos, respectivamente).

La Figura 4 es un gráfico que muestra la tensión superficial versus el área molecular, para DPPC sola y para DPPC en contacto con una atmósfera de nitrógeno saturada con bis(perfluorobutil)etano (F-44E) gaseoso. El gráfico muestra la influencia del F-44E gaseoso en la monocapa de DPPC. La meseta que refleja la coexistencia de la fase fluida y los islotes cristalinos, claramente visibles en la isoterma de DPPC sola, ya no se ve en la isoterma de DPPC en contacto con el F-44E gaseoso.

La Figura 5 muestra el análisis por difracción de rayos x por incidencia rasante de la monocapa de DPPC comprimida a $40 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ antes (■) y después (○) de la adición del F-44E gaseoso. Los dos picos de difracción observados en la ausencia del fluorocarbono son característicos de la organización molecular de DPPC en islotes cristalinos (■). Después de la saturación con F-44E gaseoso, puede verse claramente que estos picos han desaparecido (○), lo que muestra la disolución de los islotes y la fluidización de la monocapa de DPPC.

Descripción detallada de la invención

Los compuestos útiles en esta invención (en lo sucesivo denominados "fluorocarbonos") pueden ser hidrocarburos poli-perfluorados lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados. Estos compuestos también pueden comprender heteroátomos tales como oxígeno o nitrógeno o átomos de halógenos distintos de flúor, en particular bromo. Generalmente, el compuesto es líquido o gaseoso a temperatura ambiente (25°C). Preferentemente, el compuesto tiene de 2 a 12 átomos de carbono. Existe un gran número de compuestos compatibles con la aplicación biomédica descrita.

Se pueden usar por ejemplo fluorocarbonos de cadena lineal o ramificada tales como perfluoropropano, perfluorobutano, perfluorohexano, perfluorooctano, bis(*F*-alquil)etanos, $\text{C}_n\text{F}_{2n+1}\text{CH}=\text{CHC}_n\text{F}_{2n+1}$, tales como $\text{iC}_3\text{F}_9\text{CH}=\text{CHC}_6\text{F}_{13}$ ("F-i36E"), $\text{C}_4\text{F}_9\text{CH}=\text{CHC}_4\text{F}_9$ ("F-44 E"), $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{CH}=\text{CHC}_6\text{F}_{13}$ ("F-66E"), fluorocarbonos cíclicos, tales como $\text{C}_{10}\text{F}_{18}$ (F-decalina, perfluorodecalina o "FDC"), *F*-di- o *F*-trimetilbicyclo-3,3,1-nonano ("nonano"); aminas perfluoradas, tales como *F*-tripropilamina ("FTPA") y *F*-tributilamina ("FTBA"), *F*-4-metiloctahidroquinolizina ("FMOQ"), *F*-*n*-metildecahidroisoquinolina ("FMIQ"), *F*-*n*-metildecahidroquinolina ("FHQ"), *F*-*n*-ciclohexilpirrolidina ("FCHP") y *F*-2-butiltetrahidrofurano ("FC-75" o "RM101"). Puede usarse también cualquier otro fluorocarbono contemplado para usos biomédicos tales como los descritos por Riess (Chemical Reviews (2001) 101:2797-2919).

Otros fluorocarbonos incluyen perfluorocarbonos bromados, tales como 1-bromo-heptadecafluorooctano ($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{Br}$, designado a veces como bromuro de perfluorooctilo o "PFOB"), 1-bromopentadecafluoroheptano ($\text{C}_7\text{F}_{15}\text{Br}$) y 1-bromotridecafluorohexano ($\text{C}_6\text{F}_{13}\text{Br}$, a veces conocido como bromuro de perfluorohexilo o "PFHB"). Otros fluorocarbonos bromados se revelan en el documento de patente de los Estados Unidos N° 3.975.512. También se contemplan fluorocarbonos que tienen otros sustituyentes distintos del flúor, tales como el cloruro de perfluorooctilo, dicloruro de perfluorohexilo, hidruro de perfluorooctilo y compuestos similares con diferente número de átomos de carbono.

Fluorocarbonos adicionales previstos según esta invención incluyen éteres o poliéteres perfluoroalquilados, tales como $(\text{CF}_3)_2\text{CFO}(\text{CF}_2\text{CF}_2)_2\text{OCF}(\text{CF}_3)_2$; $(\text{CF}_3)_2\text{CFO}(\text{CF}_2\text{CF}_2)_3\text{OCF}(\text{CF}_3)$; $(\text{CF}_3)\text{CFO}(\text{CF}_2\text{CF}_2)\text{F}$; $(\text{CF}_3)_2\text{CFO}(\text{CF}_2\text{CF}_2)_2\text{F}$; $(\text{C}_6\text{F}_{13})_2\text{O}$. Además, se incluyen compuestos de fluorocarbono-hidrocarburos, tales como, por ejemplo compuestos que tienen la fórmula general $\text{C}_n\text{F}_{2n+1}\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ (también llamados alcanos semifluorados o -FnHn', $\text{C}_n\text{F}_{2n+1}\text{OC}_n\text{H}_{2n+1}$; o $\text{C}_n\text{F}_{2n+1}\text{CH}=\text{CHC}_n\text{H}_{2n+1}$, donde *n* y *n'* son iguales o diferentes y *n* varía de 4 a 10 y *n'* oscila entre 2 y 20. Tales compuestos incluyen, por ejemplo, perfluorooctileno ($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{C}_2\text{H}_5$, "PFOE"), perfluorohexileno ($\text{C}_6\text{F}_{13}\text{C}_2\text{H}_5$, "PFH E") y perfluorohexildecano ($\text{C}_6\text{F}_{13}\text{C}_{10}\text{H}_{21}$, "F6H10") o perfluorobutil-1-undecano ($\text{C}_4\text{F}_9\text{CH}=\text{CHC}_{10}\text{H}_{21}$ "F4H8E"). Será apreciado que los éteres, los tioéteres y otros compuestos mixtos de fluorocarbono-hidrocarburos variadamente modificados también se engloban dentro de la amplia definición de materiales de "fluorocarbono" adecuados para su uso en la invención presente. También se contemplan mezclas de fluorocarbonos.

Fluorocarbonos preferidos son el bromuro de perfluorooctilo (PFOB), bis(perfluorobutil) eteno (F-44E) y perfluorooctileno (PFOE).

Además, el fluorocarbono puede ser tal cual o puede combinarse con otros materiales, tales como tensioactivos (incluyendo tensioactivos fluorados) y materiales dispersos.

En particular, un agente terapéutico puede combinarse (por ejemplo dispersarse) con el fluorocarbono.

Agentes terapéuticos adecuados incluyen, pero no se limitan a, antibióticos tales como la gentamicina, eritromicina y doxiciclina; antimicrobianos tuberculoestáticos tales como la pirazinamida, etambutol e isoniazida; agentes anticancerosos tales como el cis-platino, ciclofosfamida, 5-fluorouracilo y doxorubicina; sustancias vasoactivas pulmonares y reguladores de la hipertensión pulmonar tales como la tolazolina; estimulantes respiratorios tales como el doxapram; broncodilatadores vasoactivos o bronco constrictores tales como la acetilcolina, prisolina, epinefrina y teofilina; agentes mucolíticos tales como la acetilcisteína; esteroides tales como la cortisona o prednisona; agentes antivíricos tales como la ribavirina.

Existen abundantes datos que demuestran la biocompatibilidad de los fluorocarbonos. Son susceptibles a las técnicas de esterilización. Por ejemplo, generalmente pueden ser esterilizados con el calor (tal como en un autoclave) o esterilizados por radiación. Además, también se contempla la esterilización por ultrafiltración.

El fluorocarbono puede proporcionarse como un líquido o en forma gaseosa.

5 La inhalación o introducción forzada (presión positiva), oral o nasal de la composición de fluorocarbono puede lograrse por cualquiera de una variedad de métodos conocidos en la técnica. Estos incluyen la suspensión mecánica por agitación de la composición en una cámara cerrada seguida de la inhalación, o la introducción forzada de la suspensión por una abertura en la cámara. Las micro partículas pueden ser inhaladas por medio de sistemas de administración de aerosoles ordinarios que son bien conocidos en la técnica. El paciente puede recibir una suspensión de partículas que se coloca en una corriente de aire tal como por inyección de la composición dispersa en un tubo de ventilación de presión positiva o en un tubo endotraqueal en el momento de inspiración o cuando se fuerza el aire en los pulmones. Dosis medidas pueden inyectarse mecánicamente en dichos dispositivos. La composición de fluorocarbono puede ser dispersa en el aire utilizando el efecto Venturi, en donde el aire se mueve en ángulo recto a través de un tubo Venturi causando que la composición de fluorocarbono sea atraída a través del tubo y dispersa en el aire que es inhalado o mecánicamente introducido en los pulmones. La entrega pulsátil de la composición de fluorocarbono en un volumen de gas y la inhalación del bolo de aerosol es conocida también en la técnica como se describe en la solicitud PCT publicada del documento de patente internacional WO 94/07514 y las técnicas de administración descritas en este documento pueden utilizarse en la invención presente.

Las composiciones líquidas de fluorocarbonos pueden dirigirse a regiones específicas de las vías respiratorias pulmonares del paciente por un número de diferentes medios convencionales, tales como un broncoscopio, un catéter y similares.

20 El fluorocarbono introducido en el pulmón del paciente puede estar en forma de líquido o vapor. La cantidad de composición de fluorocarbono administrada puede corresponder a alrededor de 0,005 a aproximadamente 4% de fluorocarbono líquido en volumen/kg de peso corporal, preferiblemente de alrededor de 0,005% a aproximadamente 2%.

El método de la invención mejora la fluidez del tensioactivo pulmonar, principalmente al evitar la formación de islotes cristalinos de fosfolípidos, tales como islotes cristalinos de DPPC, y/o por redispersión de los islotes de fosfolípidos que puedan haberse formado.

25 Esto es útil en el contexto de la deficiencia de tensioactivo pulmonar, como en las enfermedades que se enumeran a continuación.

Además de RDS en neonatos, SDRA en adultos causada por el shock hipovolémico severo, contusión pulmonar, pulmón del bazo, angustia respiratoria postraumática, atelectasia postquirúrgica, shock séptico, fracaso orgánico múltiple, enfermedad de Mendelssohn, enfermedad pulmonar obstructiva, neumonía, edema pulmonar o cualquier otra condición que produce la deficiencia de tensioactivo pulmonar o dificultad respiratoria son candidatos para la suplementación de fluorocarbonos y para el método de la invención.

El tratamiento de fibrosis pulmonar, enfisema y bronquitis crónica pueden todos beneficiarse de la terapia de fluorocarbono como se propone en esta solicitud.

35 En una realización preferida, el fluorocarbono se administra con un agente tensioactivo, por ejemplo, un lípido o un fosfolípido. El agente tensioactivo puede ser una molécula anfifílica o una mezcla de moléculas anfifílicas, o puede ser una preparación de tensioactivo pulmonar artificial, o pueden ser extraído de tensioactivo pulmonar de seres humanos o de mamíferos. Preferentemente, el agente tensioactivo es un fosfolípido. Los fosfolípidos pueden ser una mezcla de fosfolípidos. Preferentemente se selecciona del grupo que consiste en fosfolípidos de tensioactivo pulmonar nativo, es decir dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), diestearoilfosfatidilcolina, fosfatidilcolina (PC), fosfatidilglicerol (PG), dioleofosfatidiletanolamina (PE), dipalmitoilfosfatidilamina, esfingomielina y fosfatidilinositol (PI), cardiolípidos, y fosfolípidos de soja y yema de huevo. En otra realización, el fluorocarbono puede también ser administrado con una mezcla de fosfolípidos y glicoproteínas, tales como SP-A, SP-B, SP-C y SP-D, que son componentes de la composición natural del tensioactivo pulmonar. Los compuestos de fluorocarbono generalmente son poco solubles en agua. Por lo tanto, es posible preparar emulsiones que comprendan un compuesto de fluorocarbono, fosfolípidos y agua.

45 Dichas emulsiones permiten la fácil administración tanto de uno o más fluorocarbonos como de uno o más fosfolípidos en dosis controladas.

Las emulsiones pueden ser preparadas mezclando una fase acuosa y, disueltos o dispersos en el agua, los fosfolípidos, con la fase de fluorocarbono, opcionalmente en presencia de un tensioactivo adicional adecuado. Una o ambas fases pueden además contener a uno o más agentes terapéuticos, como se describió anteriormente.

50 Tensioactivos apropiados incluyen en particular compuestos fluorados anfifílicos tales como dimorfolinofosfatos fluorados.

Preferentemente, la fase acuosa se agrega lentamente a la fase de fluorados que contiene un emulsionante, en particular un tensioactivo fluorado.

55 La emulsión previa obtenida se puede luego homogeneizar, mediante procedimientos que son bien conocidos como tales, con el fin de producir una emulsión con una distribución de tamaño de gota pequeña.

En el caso donde el fluorocarbono es utilizado en asociación con un fosfolípido, la relación molecular de fluorocarbono/fosfolípidos entre estos dos componentes preferentemente está en el intervalo de 1 a 300. En una realización preferida, la relación molecular entre los fosfolípidos y el fluorocarbono está en el intervalo de 1 a 50.

5 Un ejemplo de composición útil en la invención es una composición terapéutica que comprende una emulsión de agua en PFOB que contiene DPPC. Otro ejemplo de composición es una composición terapéutica que comprende una emulsión de agua en PFOE que contiene DPPC.

Otros ejemplos de composiciones incluyen estas composiciones anteriores complementadas con un agente activo pulmonar, tal como la prednisona o epinefrina.

10 Así, la invención contempla el uso de un fluorocarbono, opcionalmente en combinación con un agente tensioactivo, especialmente un fosfolípido, por ejemplo, un fosfolípido de un tensioactivo pulmonar nativo, para la fabricación de un medicamento diseñado para mejorar la difusión y/o la fluidez del tensioactivo pulmonar nativo en los pacientes que necesiten dicho tratamiento.

Los pacientes pueden ser un ser humano o un animal, preferiblemente un mamífero. Puede ser un paciente recién nacido, un bebé, un niño o un adulto de cualquier edad.

15 La invención será más ilustrada por los ejemplos siguientes.

Ejemplos

20 La monocapa de tensioactivo pulmonar nativo fue modelada por medio de una monocapa de Langmuir de DPPC. En este modelo, se difundieron las moléculas de DPPC utilizando un disolvente de propagación sobre la superficie del agua contenida en un recipiente en forma de bolsa recubierto con Teflon®. Después de la evaporación del disolvente, las moléculas de DPPC progresivamente fueron comprimidas usando dos barreras móviles de Teflon®. Se midió la variación de la tensión superficial en función de la compresión por medio de un sensor de presión tal como una hoja de Wilhelmy.

Ejemplo 1:

Fluidificación de una monocapa de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) con bromuro de perfluorooctilo líquido (PFOB)

25 Se pusieron en contacto cantidades pequeñas de bromuro de perfluorooctilo (PFOB) en forma líquida (1-200 µl), con la monocapa de DPPC, lo que produjo la desaparición de la fase de transición líquido expandido/líquido condensado del fosfolípido. Así, en presencia de PFOB, las moléculas de DPPC no formaron islotes cristalinos y se distribuyeron fácilmente sobre la superficie del agua. La Figura 1 compara las isotermas de compresión de una monocapa de DPPC sola y en contacto con el fluorocarbono. En ausencia de fluorocarbono, se observa la presencia de una meseta que refleja la coexistencia del estado líquido expandido (fase fluida) y el estado líquido condensado (islotes cristalinos). Esta meseta desapareció totalmente en presencia del fluorocarbono. La monocapa de DPPC es totalmente fluida.

Ejemplo 2:

Fluidificación de una monocapa de DPPC por PFOB gaseoso

35 Colocando el recipiente de Langmuir en un espacio cerrado saturado con vapor de PFOB, es posible estudiar las interacciones entre la monocapa de DPPC y el PFOB gaseoso. Como se muestra en la Figura 2, la meseta que refleja la coexistencia del estado líquido expandido (fase fluida) y el estado líquido condensado (islotes cristalinos) desaparece cuando la monocapa se pone en contacto con el PFOB gaseoso.

La monocapa de DPPC es totalmente fluida.

40 La microscopía de fluorescencia hace posible visualizar la disolución de los islotes cristalinos de las moléculas de DPPC cuando la monocapa se pone en contacto con PFOB gaseoso (Figura 3A). Después de 3 minutos, el tamaño de los islotes se convierte en pequeño (Figura 3B) y después de 5 minutos, el fenómeno se está convirtiendo en preciso: la monocapa de DPPC se ha redistribuido casi por completo (Figura 3C) y después de 7 minutos, los islotes han desaparecido por completo (Figura 3D).

Ejemplo 3:

Fluidificación de una monocapa de DPPC por bis (perfluorobutil)eteno (F-44E) gaseoso

Del mismo modo, cuando la monocapa de DPPC se pone en contacto con F-44E gaseoso, la meseta que refleja la coexistencia del estado líquido expandido y el estado líquido condensado desaparece, como se muestra en la isoterma de compresión de DPPC (Figura 4).

50 Un estudio de difracción de rayos X de incidencia rasante del efecto del F-44E gaseoso sobre la monocapa de DPPC puso en evidencia claramente la desaparición de los islotes cristalinos y la redifusión eficiente de las moléculas de DPPC en presencia de F-44E gaseoso (Figura 5).

Ejemplo 4:*Vaporización de PFOB*

5 Se colocaron 2,50 ml de PFOB estéril en el tanque de un vaporizador/compresor neumático tal como el aerosol Omron CX3, opcionalmente equipado con un kit de vaporización de Omron CX3, o cualquier otro sistema de vaporización (Hudson TUp-draftII/Pulmo-aide, Airlife Mysty/Pulmo-Aide, Respigard/Pulmo-aide, etc.). Después se vaporizó el PFOB según las recomendaciones del fabricante.

Ejemplo 5:*Formación del aerosol de PFOB utilizando HFA-227 como gas propulsor*

10 Se introdujeron 6 ml de PFOB en un recipiente de aluminio (Cebal, Clichy, Francia) (23,6 x 60 x 20 mm; 20 ml) (ST004, GL001 y TD 00033, Lablabo, Annemasse, Francia) que puede contener un volumen de 1 ml.

Se introdujeron utilizando un sistema de llenado adecuado (Pamasol P20 16, Suiza), 4 ml de 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA-227, Solkane® 227 pharma) en el receptáculo de aluminio. El receptáculo se cerró con una boquilla de pulverización y un botón.

Ejemplo 6:

15 *Formación del aerosol de PFOB utilizando N₂ como gas propulsor*

El Protocolo del ejemplo 5 fue seguido reemplazando HFA-227 por N₂ y utilizando un sistema de llenado adecuado.

Ejemplo 7:*Preparación de una emulsión de agua fisiológica en PFOB*

20 Se preparó una emulsión que contenía 5% v/v de agua fisiológica (solución de NaCl al 0,9% p/v), 3% p/v de perfluorooctil (undecil)dimorfolinofosfato (F8H11DMP, utilizado como agente emulsionante) y 95% v/v PFOB. Se dispersó F8H11DMP (3 g) en 95 ml de PFOB utilizando un mezclador de baja energía (Ultra-Turrax® T25 equipado con un S25N25F, Ika Labortechnik, Stanfen, Alemania) a una temperatura inferior a 40° C. Se agregaron después 5 ml de agua fisiológica gota a gota con agitación constante.

25 La emulsión previa así obtenida se homogeneizó bajo alta presión utilizando un Microfluidizer® 110T (Microfluidics, Nueva Jersey, EEUU) durante unos 10 minutos a una temperatura inferior a 40° C. La emulsión obtenida fue opalescente, y el promedio del tamaño de las gotitas de agua fue de 60 ± 5 nm (3000 Zeta Sizer, de Malvern Instrument). Esta emulsión se esterilizó por filtración a través de una membrana de 22 µm antes de ser embotellada en viales de 10 ml (con el 8% de capacidad retenida).

La media del tamaño de las gotas de agua después de un año de almacenamiento a 25° C fue de 100 ± 7 nm.

Ejemplo 8:*Preparación de una emulsión de agua fisiológica en PFOB que contenía DPPC*

35 Se preparó una emulsión que contenía agua al 5% v/v, DPPC al 5% p/v, perfluorooctil (undecil)dimorfolinofosfato al 3% p/v y PFOB al 95% v/v. El perfluorooctil (undecil)dimorfolinofosfato se dispersó en el PFOB utilizando un mezclador de baja energía (Ultra-Turrax) a una temperatura inferior a 40° C, como se describió en el ejemplo 7. Se preparó, por separado, una dispersión de DPPC (5% p/v) en agua fisiológica utilizando un mezclador Ultra-Turrax. La dispersión acuosa de fosfolípidos (5 ml) se añadió después gota a gota a la fase fluorada, manteniendo la agitación.

40 La emulsión previa así obtenida se homogeneizó a alta presión mediante un Microfluidizer® 110T (Microfluidics, Nueva Jersey, EEUU) durante alrededor de 10 minutos a una temperatura inferior a 40° C como se describió en el Ejemplo 1. La emulsión así obtenida fue opalescente y el promedio del tamaño de las gotitas de agua fue 70 ± 5 nm (Zeta Sizer 3000, Malvern Instrument). Esta emulsión fue esterilizada, embotellada y almacenada como se describió en el Ejemplo 7. La media del tamaño de las gotitas después de un año de almacenamiento a 25° C fue de 120 ± 10 nm.

Ejemplo 9:*Preparación de una emulsión de agua fisiológica en perfluorooctiletano (PFOE) que contenía DPPC*

45 La emulsión se preparó siguiendo el protocolo del Ejemplo 8, usando PFOE en lugar de PFOB. Se obtuvo una emulsión opalescente. El promedio del tamaño de las gotitas de agua fue de 65 ± 5 nm (Zeta Sizer 3000, Malvern Instrument). La emulsión fue esterilizada, embotellada y almacenada como se describió en el Ejemplo 7. El promedio del tamaño de las gotitas después de un año de almacenamiento a 25° C fue 110 ± 10 nm.

Ejemplo 10:

Preparación de una emulsión de tampón isotónico en PFOB que contenía DPPC y un agente broncodilatador vasoactivo, epinefrina

5 Se obtuvo una emulsión que contenía una solución de tampón isotónico al 5% v/v (pH 3,0 – 3,5), 0,02 p/v de epinefrina, PPC al 1% p/v, F8H11DMP (perfluorooctil) undecil(dimorfolinofosfato) al 3% p/v y PFOB al 95% v/v como se indica a continuación: 0,75 g de F8H11DMP fueron dispersados en 23,75 ml de PFOB como se describió en el Ejemplo 7. Por separado, 0,25 g de DPPC y 5 mg de epinefrina fueron dispersados juntos en 1,25 ml de tampón isotónico. Esta dispersión se agregó gota a gota a la fase de los compuestos fluorados con agitación constante. La emulsión previa obtenida fue homogeneizada bajo alta presión con un Emulsiflex-B3® (Avestin, Ottawa, Canadá). Se obtuvo una emulsión opalescente, con gotitas de agua de un promedio de tamaño de 40 nm ± 3 (Zeta Sizer 3000, Malvern Instrument). Esta emulsión fue esterilizada, embotellada y almacenada como se describió en el Ejemplo 7. El promedio del tamaño de las gotitas después de un año de almacenamiento a 25° C fue de 70 ± 5 nm.

Ejemplo 11:

Preparación de una emulsión de agua fisiológica en PFOE que contenía DPPC y epinefrina

15 La emulsión fue preparada siguiendo el protocolo del ejemplo 10, usando PFOE en lugar de PFOB. Se obtuvo una emulsión opalescente con gotitas de un promedio de tamaño de 55 ± 5 nm (Zeta Sizer 3000, Malvern Instrument). La emulsión fue esterilizada, embotellada y almacenada como se describe en el Ejemplo 7. El promedio del tamaño de las gotitas después de un año de almacenamiento a 25° C fue 118 ± 10 nm.

Ejemplo 12:

20 *Preparación de una emulsión de agua fisiológica en PFOB que contenía a un agente antiinflamatorio, prednisona*

Se obtuvo una emulsión que contenía agua fisiológica al 4,7% v/v, prednisona al 0,02% p/v, perfluorobutil-1-undeceno (F4H8E) al 20% v/v, perfluorohexildeceno (F6H10) al 4,7% v/v, perfluorooctil (undecil)dimorfolinofosfato (F8H11DMP) al 4,8 p/v y PFOB al 67% v/v como se indica a continuación: se disolvieron 2 mg de prednisona en 2 ml de F4H8E con agitación y calefacción moderada. Se agregaron después 0,5 ml de F6H10 y 7 ml de PFOB (que contenían 0,5 g de F8H11DMP) a temperatura ambiente. Después se agregaron 0,5 ml de agua fisiológica a la solución bajo agitación utilizando un Ultra-Turrax® T25. La emulsión previa se homogenizó después a alta presión mediante un Emulsiflex-B3®. Se obtuvo una emulsión opalescente, con gotitas de un promedio de tamaño de 125 ± 12 nm (Zeta Sizer 3000, Malvern Instrument). Esta emulsión se esterilizó por filtración en membrana y se almacenó en viales de 2,5 ml, como se describió en el Ejemplo 7. El promedio de tamaño de las gotitas después de seis meses de almacenamiento a 25° C fue de 170 ± 20 nm.

Ejemplo 13:

Preparación de una emulsión de agua fisiológica en PFOE que contenía prednisona

La emulsión fue preparada siguiendo el protocolo del ejemplo 12, utilizando PFOE en lugar de PFOB. Se obtuvo una emulsión opalescente con gotitas de un promedio de tamaño de 146 ± 15 nm (Zeta Sizer 3000, Malvern Instrument). La emulsión fue esterilizada, embotellada y almacenada como se describió en el Ejemplo 12. El promedio del tamaño de las gotitas de agua después de un almacenamiento de seis meses a 25° C fue de 210 nm ± 25 nm.

Ejemplo 14:

Vaporización de una emulsión de agua fisiológica en PFOB

La emulsión preparada siguiendo el Ejemplo 7 se vaporizó siguiendo el protocolo descrito en el Ejemplo 4.

Ejemplo 15:

Formación del aerosol de una emulsión de agua fisiológica en PFOB que contenía DPPC (gas propulsor: HFA-227)

La emulsión preparada siguiendo el Ejemplo 8 se convirtió en aerosol siguiendo el protocolo descrito en el Ejemplo 5.

Ejemplo 16:

45 *Formación del aerosol de una emulsión de agua fisiológica en PFOB que contenía DPPC y epinefrina (gas propulsor: HFA-227)*

La emulsión preparada siguiendo el Ejemplo 10 se convirtió en aerosol siguiendo el protocolo descrito en el Ejemplo 5.

Ejemplo 17:

Formación del aerosol de una emulsión de agua fisiológica en PFOB que contenía prednisona (gas propulsor: HFA-227)

La emulsión preparada siguiendo el Ejemplo 12 se convirtió en aerosol siguiendo el protocolo descrito en el Ejemplo 5.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de fluorocarbono para uso como un medicamento para mejorar la fluidez y/o la difusión del tensioactivo pulmonar nativo en un ser humano o animal.
2. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde la composición de fluorocarbono es en forma de aerosol.
3. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde la composición de fluorocarbono es en forma de vapor.
4. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde la composición de fluorocarbono contiene o está asociada con un agente tensioactivo.
5. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 4, en donde el agente tensioactivo es un lípido.
6. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 4, en donde el agente tensioactivo es un fosfolípido.
7. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 6, en donde el fosfolípido es dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC).
8. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde la composición de fluorocarbono es adecuada para administrarse en forma de líquido o vapor en una cantidad que corresponde a alrededor de 0,005 a alrededor del 4% de fluorocarbono líquido en volumen por kg de peso corporal.
9. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde la composición de fluorocarbono es adecuada para administrarse en forma de una emulsión de agua en fluorocarbono.
10. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde el fluorocarbono es adecuado para administrarse en forma de una emulsión de aceite en fluorocarbono.
11. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde además un agente terapéutico se dispersa en la composición de fluorocarbono.
12. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde el fluorocarbono es bromuro de perfluorooctilo (PFOB).
13. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde el fluorocarbono es bis(perfluobut)etano (F-44E).
14. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde el fluorocarbono es un alcano semifluorado de fórmula $C_nF_{2n+1}C_nH_{2n+1}$, donde n varía desde 4 hasta 10 y n' desde 2 hasta 20.
15. La composición de fluorocarbono para uso según la reivindicación 1, en donde el fluorocarbono es perfluorooctiletano (PFOE).
16. Una composición terapéutica que comprende un fluorocarbono y un fosfolípido que está en forma de una emulsión que comprende una fase continua de fluorocarbono.
17. La composición de la reivindicación 16, en donde el fluorocarbono es el bromuro de perfluorooctilo (PFOB).

18. La composición de la reivindicación 16, en donde el fluorocarbono es bis(perfluorobutil)etano (F-44E).
19. La composición de la reivindicación 16, en donde el fluorocarbono es un alcano semifluorado de fórmula $C_nF_{2n+1}C_nH_{2n+1}$, donde n varía desde 4 hasta 10 y n' desde 2 hasta 20.
20. La composición de la reivindicación 16, en donde el fluorocarbono es el perfluorooctetano (PFOE).
- 5 21. La composición de la reivindicación 16, en donde el fosfolípido es la dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC).
22. La composición de la reivindicación 16, que además comprende un agente terapéutico.
23. La composición de la reivindicación 16, que comprende una emulsión de agua-en-PFOB, que contiene DPPC y prednisona o epinefrina.

1/3

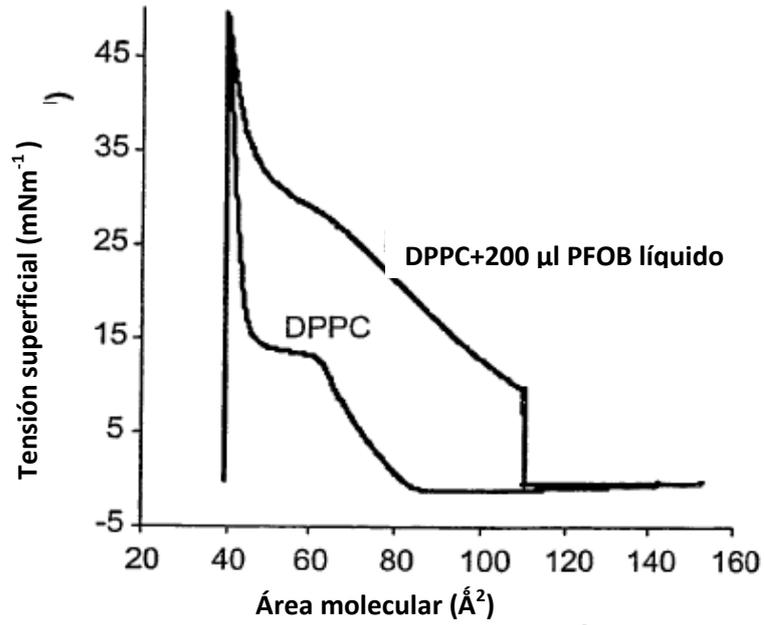


FIG.1

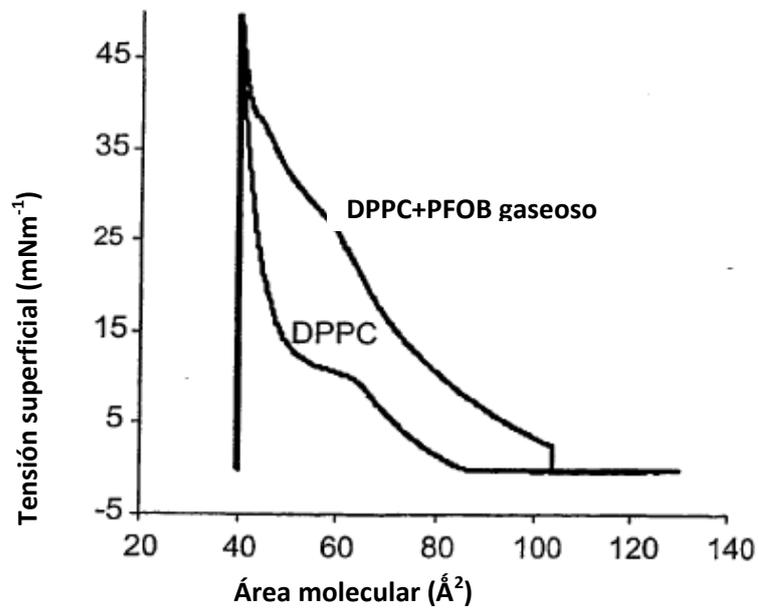


FIG.2

2/3

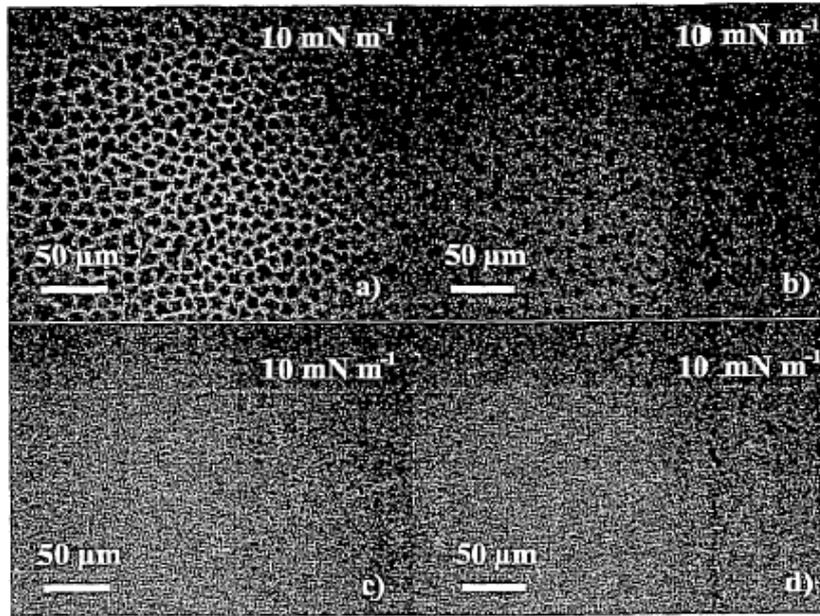


FIG.3

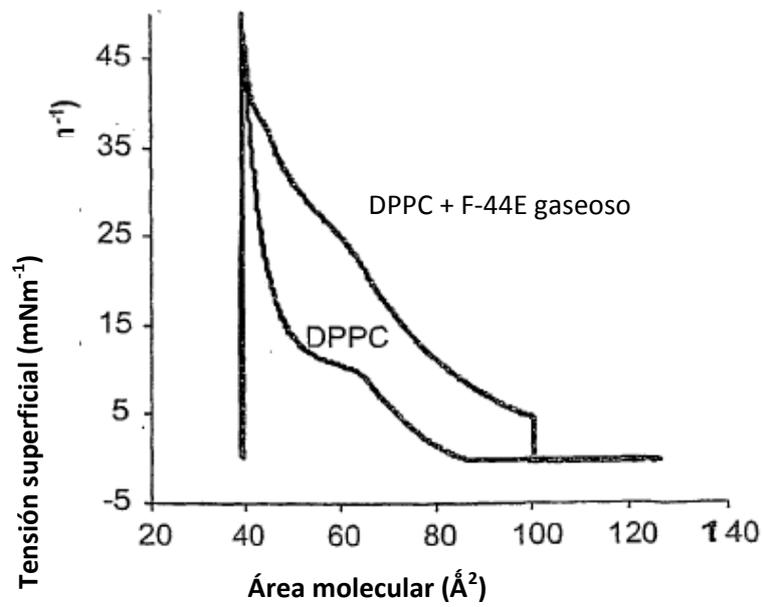
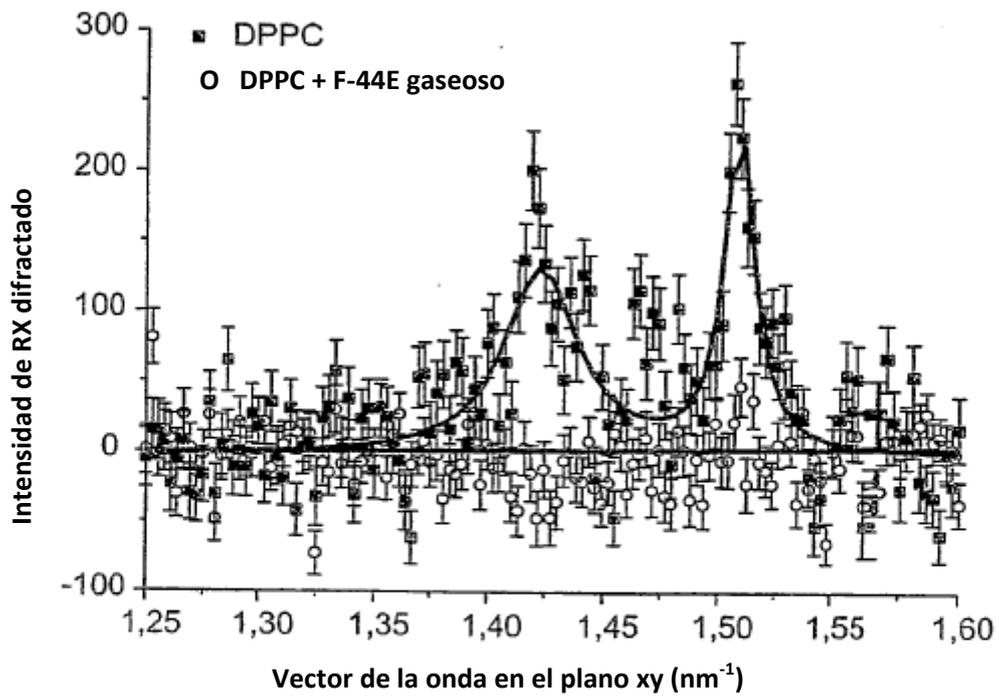


FIG.4

3/3

FIG.5