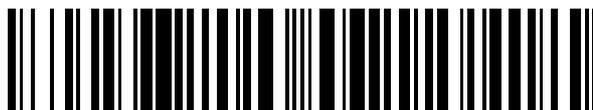


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 806**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/42** (2006.01)  
**A61K 47/48** (2006.01)  
**A61K 38/39** (2006.01)  
**A61K 9/14** (2006.01)  
**A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 38/17** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2008 E 08756691 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.01.2016 EP 2170270**

54 Título: **Composiciones para administrar medicamentos en los pulmones, y usos de las mismas**

30 Prioridad:

**05.06.2007 US 942026 P**

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

**08.03.2016**

73 Titular/es:

**PAKA PULMONARY PHARMACEUTICALS, INC.  
(100.0%)  
24 LIBERTY STREET  
ACTON MA 01720, US**

72 Inventor/es:

**GUARNIERI, FRANK**

74 Agente/Representante:

**CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes**

**ES 2 562 806 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

Composiciones para administrar medicamentos en los pulmones, y usos de las mismas.

### 5 ANTECEDENTES

En los trastornos pulmonares, incluyendo enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis crónica y enfisema, hay una obstrucción crónica del flujo de aire entrante y saliente de los pulmones. La obstrucción que se manifiesta en estos trastornos a menudo es permanente y avanza con el tiempo. Las exacerbaciones, que son un empeoramiento agudo de la función respiratoria, dan como resultado un aumento de la morbilidad y la mortalidad.

En las últimas décadas, la investigación para tratar trastornos pulmonares crónicos, tales como EPOC se ha centrado en la identificación de inhibidores de la elastasa de los neutrófilos humanos (HNE). La HNE es una proteasa capaz de degradar numerosas proteínas incluyendo las proteínas estructuras fibronectina, colágeno y elastina. Cuando se expresa de forma aberrante, la HNE es una de las enzimas más destructivas del cuerpo. La HNE se asocia a la destrucción tisular y la inflamación y está implicada en numerosas enfermedades pulmonares, incluyendo EPOC, fibrosis quística y síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), así como otras enfermedades del cuerpo. Sin embargo, el desarrollo de los inhibidores de HNE ha sido difícil y a pesar de décadas de investigación, actualmente sólo hay un tratamiento de HNE en el mercado con aprobación para su uso sólo en Japón.

El desarrollo de inhibidores de HNE y otros fármacos diseñados para el tratamiento de los pulmones se ha centrado en tratamientos sistémicos. Un obstáculo principal de tal enfoque, ya se administre el fármaco se administra por vía oral, parenteral, o por inhalación, es conseguir tiempos de residencia significativos en los pulmones. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de tratamientos pulmonares eficaces.

Los documentos WO03/011316, WO2005055994, WO2007005672, WO03090682 desvelan un agente pulmonar activo (un inhibidor de la elastasa o un corticosteroide o un broncodilatador o un antibiótico o un quimioterapéutico), pero no en una unión covalente a un agente tensioactivo.

### 30 RESUMEN

La divulgación proporciona métodos y composiciones para administrar medicamentos a los pulmones de acuerdo con la reivindicación 1. Actualmente se aprecia que un problema clave asociado al tratamiento de enfermedades pulmonares es la dificultad de obtener tiempos de residencia suficientes de las moléculas del fármaco activo en los pulmones. Los pulmones son expertos en la eliminación de materia extraña, de tal forma que las moléculas del fármaco activo pueden eliminarse del pulmón antes de lograr el efecto medicinal deseado.

Los tensioactivos pulmonares se secretan por los neumocitos tipo II en los pulmones para reducir la tensión superficial dentro de los alvéolos, por lo tanto, impidiendo un colapso alveolar durante la espiración. Los tensioactivos pulmonares, son un complejo de lípidos y proteínas, se extienden por toda la superficie alveolar para reducir la tensión superficial y se mantienen en el pulmón durante períodos prolongados. Por lo tanto, el tiempo de residencia de las moléculas del fármaco activo en el pulmón puede aumentarse uniendo covalentemente la molécula de fármaco activo a un lípido o proteína tensioactivo. La administración de moléculas de fármaco activo unidas covalentemente a un lípido o proteína tensioactiva proporciona un aumento de la duración de acción en el pulmón que da como resultado dosis sustancialmente menores y mejor cumplimiento del paciente, y la localización de la molécula de fármaco activo en el pulmón que da como resultado una disminución de la toxicidad sistémica, y concentraciones pulmonares localizadas significativamente más altas para una mayor eficacia.

En un aspecto, la invención proporciona una composición de fármaco, formulada para su inhalación, que comprende un agente tensioactivo que tiene una afinidad para la interfaz alveolar/gaseosa humana. El agente tensioactivo comprende al menos una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero, o un imitador del mismo, que es sustancialmente no inmunógeno en seres humanos.

El agente tensioactivo se une covalentemente a un fármaco pulmonar activo, que se une a una diana de superficie extracelular o celular accesible para la interfaz pulmonar/gaseosa. La diana de superficie extracelular o celular puede ser, a modo de ejemplo, elastasa, un receptor TNF, un receptor EGF, un receptor adrenérgico, o un receptor P2X purinérgico. En ciertas realizaciones, el agente tensioactivo unido covalentemente a un fármaco pulmonar activo, que se une a una diana de superficie extracelular o celular se administra a un sujeto que padece una enfermedad pulmonar, incluyendo, pero sin limitación tuberculosis, asma y cáncer de pulmón. Por ejemplo, el agente responsable de la tuberculosis (TB) evita la destrucción y realiza una multiplicación intracelular regulando en descenso la apoptosis en macrófagos. Los macrófagos que llevan TB sobreexpresan el receptor P2X purinérgico (Placido y col., Cell Immunol. 244: 10-8 (2006)). Los agonistas de P2X, tal como ATP, inducirán la apoptosis en estos macrófagos y, por lo tanto, eliminarán la TB parásita (Pfeiffer y col., J. Leukoc. Biol. 75: 1173 (2004)). Los derivados de benzoílo de ATP son potentes agonistas extracelulares del receptor P2X y pueden unirse covalentemente al agente tensioactivo y administrarse a través de la inhalación como un tratamiento de la TB de

larga duración. Los agonistas para el receptor  $\beta$ 2-adrenérgico son broncodilatadores bien establecidos para el tratamiento del asma (Anderson, Clin. Rev. Allergy Immunol. 31: 119-30 (2006)). Sin embargo, el receptor  $\beta$ 2-adrenérgico se expresa de manera ubicua y, por lo tanto, una dosificación repetida tendrá probablemente efectos secundarios sistémicos perjudiciales. La unión covalente de un agonista del receptor  $\beta$ 2-adrenérgico a un péptido tensioactivo aislará básicamente el agente activo en el pulmón, evitando o disminuyendo así las potenciales toxicidades sistémicas. El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se ha validado en el mercado como una diana anticáncerosa (Carney, Expert Rev. Mol. Diagn. 7: 309-19 (2007) con productos tales como herceptina, para tratar el cáncer de mama. Las metaloproteasas de matriz han demostrado que liberan agonistas endógenos de EGFR a través de un mecanismo de desprendimiento de la superficie celular (Horiuchi y col., Mol. Biol. Cell 18: 176-188 (2007)). La inhibición de la activación de EGFR es un tratamiento potencial para el cáncer pulmonar de células no pequeñas (Y.H. Ling y col., Molecular Pharmacology 72: 248-58 (2007)). El EGFR puede desactivarse en los pulmones fijando uno o más inhibidores de moléculas pequeñas de MMP a los péptidos pulmonares tensioactivos que se van a administrar por inhalación. Estos ejemplos, que incluyen enfisema, tuberculosis, asma y cáncer de pulmón de células no pequeñas, demuestran la generalidad de la unión covalente de moléculas terapéuticas a agentes que residen preferiblemente en el pulmón con administración por inhalación.

En otra realización, el agente tensioactivo se une covalentemente a un fármaco pulmonar activo y una molécula de transporte permeable de la membrana celular que entra en las células pulmonares. Los agentes que funcionan dentro de la célula incluyen, pero sin limitación, retinoides, inhibidores de la survivina, y promotores de la caspasa.

En otra realización, el agente tensioactivo comprende un tensioactivo pulmonar humano o un tensioactivo pulmonar mamífero no humano, o una fracción de los mismos. Los tensioactivos pulmonares mamíferos no humanos ejemplares incluyen tensioactivos pulmonares bovinos, porcinos u ovinos, o una fracción de los mismos. El agente puede comprender, u obtenerse a partir de, un tensioactivo pulmonar mamífero recogido de los pulmones de un ser humano o un mamífero no humano.

En otra realización, el agente tensioactivo comprende al menos una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero, una variante alélica del mismo, o un imitador sistémico del mismo. El agente puede comprender un polipéptido tensioactivo natural, tal como SP-A, SP-B, SP-C, SP-D, porciones de los mismos, o mezclas de los mismos. El agente puede comprender una mezcla de SP-A, SP-B, SP-C, SP-D o porciones de los mismos. Los péptidos ejemplares incluyen al menos aproximadamente un fragmento de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 aminoácidos de un polipéptido tensioactivo natural. El agente tensioactivo puede comprender al menos una porción de SP-B. Los polipéptidos de SP-B ejemplares incluyen al menos aproximadamente un fragmento de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 aminoácidos de SP-B. Un péptido de SP-B puede ser un péptido amino-terminal o un péptido carboxi-terminal. Un péptido de SP-B ejemplar puede ser un péptido aminoterminal de 25 aminoácidos.

En otra realización, el agente tensioactivo comprende un péptido producido sintéticamente. Un peptidomimético puede comprender al menos un mutante de delección o sustitución aminoacídica de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero. Un peptidomimético puede comprender al menos un mutante de delección o sustitución aminoacídica de un polipéptido tensioactivo pulmonar humano.

En otra realización, el agente tensioactivo puede comprender un polipéptido tensioactivo que se produce de forma recombinante. Un polipéptido tensioactivo pulmonar de mamífero recombinante, tal como SP-A, SP-B, SP-C, SP-D, o una porción de los mismos, puede producirse expresando el ADN que codifica SP-A, SP-B, SP-C, SP-D, o una porción de los mismos, en un sistema de expresión procariota o eucariota. Los polipéptidos tensioactivos recombinantes pueden ser los mismos o diferentes de los polipéptidos tensioactivos pulmonares mamíferos. Un polipéptido recombinante puede comprender al menos un mutante de delección o sustitución aminoacídica de un mamífero, preferiblemente un polipéptido tensioactivo pulmonar humano.

En otra realización, el agente tensioactivo comprende tanto un polipéptido tensioactivo como un lípido.

El agente tensioactivo se une covalentemente a un fármaco pulmonar activo. El fármaco pulmonar activo puede unirse covalentemente a una proteína o lípido tensioactivo. El fármaco pulmonar activo puede unirse covalentemente a un aminoácido amino o carboxi-terminal o un aminoácido interno de un polipéptido tensioactivo. En ciertas realizaciones, más de un fármaco pulmonar activo está unido a un agente tensioactivo. En otras realizaciones, un único fármaco pulmonar activo se une a un agente tensioactivo y se mezcla con al menos un fármaco pulmonar activo diferente unido a un agente tensioactivo.

En una realización, la molécula de fármaco pulmonar activo se extiende con un aminoácido o enlazador mimético, tal como un enlazador de glicina, para crear un aminoácido sintético que puede usarse en una síntesis peptídica automática. Después, la molécula extendida (es decir, el fármaco más el enlazador aminoácido) puede unirse al agente tensioactivo a través de un grupo amino o hidroxilo.

El fármaco pulmonar activo se une a una diana unida a la superficie extracelular o celular que es accesible para la interfaz pulmonar/gaseosa. El fármaco pulmonar activo puede ser un inhibidor de la elastasa, un corticosteroide, un broncodilatador, un antibiótico, o un agente quimioterapéutico. En ciertas realizaciones, más de un fármaco

pulmonar activo puede unirse covalentemente a un agente tensioactivo y administrarse en combinación. Cuando más de un fármaco pulmonar activo se une covalentemente a un agente tensioactivo, el fármaco puede ser el mismo fármaco, un miembro de la misma clase del fármaco, o un miembro de una clase de fármaco diferente.

5 La composición de fármaco se administra a los pulmones de un paciente humano mediante un dispositivo de inhalación. Los dispositivos de inhalación ejemplares incluyen inhaladores de dosis fija, inhaladores de dosis medida y nebulizadores.

10 En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar un sujeto que padece o está en riesgo de padecer una enfermedad pulmonar. El método comprende administrar un conjugado que comprende un fármaco pulmonar activo unido covalentemente a un agente tensioactivo caracterizado por una afinidad para la interfaz alveolar/gaseosa humana, en el que el agente tensioactivo comprende al menos una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero o un imitador del mismo que es sustancialmente no inmunógeno en seres humanos. El conjugador se administra al sujeto por inhalación en una cantidad eficaz para inducir un efecto farmacológico en los pulmones.

15 El método de administración dirige el fármaco pulmonar activo a los pulmones de un sujeto que necesita el mismo. El método de administración reduce la biodisponibilidad sistémica del fármaco con respecto a la administración por inhalación de un fármaco no conjugado. El método de administración aumenta el tiempo de residencia del fármaco en el pulmón con respecto a la administración por inhalación de un fármaco no conjugado.

20 En una realización, la administración de un conjugado de agente tensioactivo de fármaco pulmonar activo reduce la frecuencia de dosificación relacionada con la administración de un fármaco no conjugado. La etapa de administración puede repetirse una vez al día, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días o semanalmente. La etapa de administración puede realizarse usando un inhalador, un aerosol, particulados con o sin propulsores, dosificaciones medidas, o un nebulizador.

25 En ciertas realizaciones, el sujeto que necesita tratamiento padece una inflamación o enfermedad pulmonar o está en riesgo de padecer una enfermedad pulmonar. El sujeto que necesita tratamiento puede padecer enfisema, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria (TDR), neumonía, tuberculosis u otra infección bacteriana, fibrosis quística, y/o cáncer de pulmón.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

35 La figura 1A muestra la secuencia de ácido nucleicos que codifica la proteína tensioactiva humana A (SEQ ID NO: 1). La figura 1B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva humana A (SEQ ID NO: 2).

40 La figura 2A muestra la secuencia de ácido nucleicos que codifica la proteína tensioactiva humana B (SEQ ID NO: 3). La figura 2B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva humana B (SEQ ID NO: 4). La figura 2C muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva humana madura B (SEQ ID NO: 5).

45 La figura 3A muestra la secuencia de ácido nucleicos que codifica la proteína tensioactiva humana C (SEQ ID NO: 6). La figura 3B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva humana C (SEQ ID NO: 7). La figura 3C muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva humana madura C (SEQ ID NO: 8).

La figura 4A muestra la secuencia de ácido nucleicos que codifica la proteína tensioactiva humana D (SEQ ID NO: 9). La figura 4B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva humana D (SEQ ID NO: 10). La figura 4C muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva humana madura D (SEQ ID NO: 11).

50 La figura 5A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva bovina A (SEQ ID NO: 12). La figura 5B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva bovina A (SEQ ID NO: 13).

55 La figura 6A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva bovina B (SEQ ID NO: 14). La figura 6B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva bovina B (SEQ ID NO: 15).

La figura 7A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva bovina C (SEQ ID NO: 16). La figura 7B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva bovina C (SEQ ID NO: 17).

60 La figura 8A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva bovina D (SEQ ID NO: 18). La figura 8B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva bovina D (SEQ ID NO: 19).

La figura 9A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva porcina A (SEQ ID NO: 20). La figura 9B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva porcina A (SEQ ID NO: 21).

65 La figura 10A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína tensioactiva porcina parcial B (SEQ ID NO: 22). La figura 10B muestra una secuencia de aminoácidos parcial para la proteína

tensioactiva porcina B (SEQ ID NO: 23).

La figura 11A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva porcina C (SEQ ID NO: 24). La figura 11B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva porcina C (SEQ ID NO: 25).

La figura 12A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva porcina D (SEQ ID NO: 26). La figura 12B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva porcina D (SEQ ID NO: 27).

La figura 13A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva ovina A (SEQ ID NO: 28). La figura 13B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva ovina A (SEQ ID NO: 29).

La figura 14A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva ovina B (SEQ ID NO: 30). La figura 14B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva ovina B (SEQ ID NO: 31).

La figura 15A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína tensioactiva ovina C (SEQ ID NO: 32). La figura 15B muestra la secuencia de aminoácidos para la proteína tensioactiva ovina C (SEQ ID NO: 33).

La figura 16A muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína tensioactiva ovina parcial D (SEQ ID NO: 34). La figura 16B muestra una secuencia de aminoácidos parcial para la proteína tensioactiva ovina D (SEQ ID NO: 35).

La figura 17 es una tabla que representa inhibidores de elastasa de neutrófilos humanos (HNE) ejemplares. Los números de referencia se enumeran en la tabla correspondiente a los identificadores de compuestos a los que se hace referencia en Philip D. Edwards y Peter R. Bernstein en "Synthetic Inhibitors of Elastase," Medicinal Research Reviews, Vol. 14, No. 2, 127-194 (1994).

La figura 18 es un diagrama esquemático que representa la síntesis química de un inhibidor de enfisema representativo. El inhibidor de enfisema como se muestra contiene un enlazador de glicina. El enlazador de glicina (dentro del círculo) convierte el compuesto en un aminoácido sintético que puede usarse en una reacción de síntesis peptídica estándar para el acoplamiento covalente a los 1-25 aminoácidos N-terminales de SP-B.

La figura 19 es una tabla que representa dianas ejemplares para su uso como inhibidores de HNE. La diana 2 fijada al extremo N de los primeros 25 residuos del péptido B tensioactivo humano forma la diana C. De forma análoga, la diana 3 fijada al extremo N de los primeros 25 residuos del péptido B tensioactivo humano forma la diana B.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

### Proteínas Tensioactivas

El agente tensioactivo comprende al menos una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero que es sustancialmente no inmunógeno en seres humanos. El polipéptido, o porción del mismo, puede ser un resto tensioactivo pulmonar mamífero o un imitador sintético del mismo. Los polipéptidos tensioactivos ejemplares pueden ser miméticos obtenidos de animales, recombinantes, sintéticos, análogos o peptídicos.

Las proteínas tensioactivas pulmonares incluyen SP-A, SP-B, SP-C, SP-D, o porciones de las mismas, en solitario o junto con lípidos (Patente de Estados Unidos 5.302.581). En algunas realizaciones, el agente tensioactivo comprende el polipéptido tensioactivo de longitud completa. En otras realizaciones, el agente tensioactivo comprende una porción de un polipéptido tensioactivo. Por ejemplo, el SP-B humano es un polipéptido de residuos de 79 aminoácidos, sin embargo, los residuos de 25 aminoácidos N-terminales de SP-B poseen efectos terapéuticos comparables a todo el péptido (Kurutz y Lee, Biochem., 41, 9627-36 (2002)). Los péptidos ejemplares de proteínas tensioactivas pulmonares naturales pueden tener al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 aminoácidos de longitud. Los péptidos ejemplares de SP-B humanos se muestran en la Tabla 1.

En una realización, el agente tensioactivo comprende un tensioactivo pulmonar humano obtenido por lavado pulmonar de cadáveres humanos en autopsia o por lavado pulmonar de adultos que dan su consentimiento.

En ciertas realizaciones, el agente tensioactivo comprende un tensioactivo pulmonar mamífero no humano o una fracción del mismo. Los tensioactivos no humanos ejemplares incluyen tensioactivos pulmonares bovinos, porcinos u ovinos, o una fracción de los mismos. El tensioactivo no humano puede obtenerse de los pulmones de un mamífero no humano usando técnicas que se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, puede obtenerse un tensioactivo porcino a partir de cerdos recién nacidos y/o adultos cosechando el lavado broncoalveolar (BAL) de los pulmones con solución salina como se describe en Bernhard y col., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 17: 41-50 (1997). El fluido de BAL cosechado se centrifuga para retirar las células y después, el fluido BAL sin células se centrifuga adicionalmente para generar un gránulo de tensioactivo sin procesar. El tensioactivo ovino puede obtenerse a partir de lavados de pulmones enteros de ovejas adultas como se describe por Brackenbury y col., Am. J. Respir. Cir. Care Med. 163: 1135-1142 (2001). El lavado alveolar cosechado se centrifuga para retirar los desechos celulares seguido de centrifugación adicional para obtener un gránulo correspondiente a un gránulo de agregado tensioactivo. El tensioactivo bovino también puede obtenerse de los lavados pulmonares de vacas adultas como se describe por

Panda y col. (J Colloid Interface Sci., 311: 551-5 (2007)). También puede usarse Alveofact®, un extracto de tensioactivo bovino natural que contiene fosfolípidos, lípidos neutros, polipéptidos pSP-B y SP-C.

También pueden usarse proteínas y polipéptidos obtenidos a partir de o que tienen características similares a las del tensioactivo de pulmón humano. Por ejemplo, SP-B puede aislarse del tensioactivo bovino usando extracción orgánica diferencial, cromatografía en columna, y/o SDS-PAGE preparativa como se describe por Beers y col., Am. J. Physiol Lung Cell Mol. Physiol. 262: L773-L778 (1992).

Los polipéptidos tensioactivos pulmonares mamíferos, o una porción de los mismos, también pueden producirse de forma recombinante. SP-A, SP-B, SP-C, SP-D recombinantes, o una porción de los mismos, pueden obtenerse por expresión de una secuencia de ADN que codifica SP-A, SP-B, SP-C, SP-D, o una porción de los mismos, en un sistema de expresión procariota o eucariota adecuado usando diversas técnicas conocidas. Se conocen bien vectores recombinantes, que se adaptan fácilmente para incluir un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido tensioactivo o una porción del mismo, células huésped que contienen los vectores recombinantes, y métodos para preparar dichos vectores y células huésped, así como su uso para la producción de los polipéptidos codificados mediante técnicas recombinantes. Los ácidos nucleicos que codifican un polipéptido tensioactivo o una porción del mismo, pueden proporcionarse en un vector de expresión que comprende una secuencia nucleotídica que codifica un polipéptido tensioactivo que se une operativamente al menos a una secuencia reguladora. Debe entenderse que el diseño del vector de expresión puede depender de tales factores como la elección de la célula huésped a transformar y/o el tipo de proteína deseada que se va a expresar. Debería considerarse el número de copias del vector, la capacidad para controlar ese número de copias, y la expresión de cualquier otra proteína codificada por el vector, tales como marcadores antibióticos. Los ácidos nucleicos objeto pueden usarse para provocar la expresión y sobreexpresión de un polipéptido cinasa o fosfatasa en las células propagadas en el cultivo, por ejemplo, para producir proteínas o polipéptidos, incluyendo proteínas de fusión o polipéptidos.

Las células huésped pueden transfectarse con un gen recombinante para expresar un polipéptido tensioactivo, o una porción del mismo. La célula huésped puede ser cualquier célula procariota o eucariota. Por ejemplo, un polipéptido puede expresarse en células bacterianas, tales como *E. coli*, células de insecto (baculovirus), levadura, o células mamíferas. En aquellos casos en los que la célula huésped es humana, puede o no estar en un sujeto vivo. Se conocen otras células huésped adecuadas por los expertos en la técnica. Además, la célula huésped puede complementarse con moléculas de ARNt que no se encuentran típicamente en el huésped para optimizar la expresión del polipéptido. Otros métodos adecuados para maximizar la expresión del polipéptido se conocerán por los expertos en la técnica.

Se conocen bien en la técnica métodos para producir polipéptidos. Por ejemplo, una célula huésped transfectada con un vector de expresión que codifica un polipéptido tensioactivo, o una porción del mismo, puede cultivarse en las condiciones apropiadas para permitir que se produzca la expresión del polipéptido. El polipéptido puede secretarse y aislarse de una mezcla de células y medio que contiene el polipéptido. Como alternativa, el polipéptido puede retenerse citoplasmáticamente. Después, las células se cosechan, se lisan, y la proteína se aísla de los lisados celulares.

Un cultivo celular incluye células huésped, medios y otros subproductos. Los medios adecuados para el cultivo celular se conocen bien en la técnica. El polipéptido puede aislarse de un medio de cultivo celular, células huésped, o tanto usando técnicas conocidas en la técnica para purificar proteínas, incluyendo precipitación de sulfato de amonio o etanol, extracción de ácido, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, cromatografía de filtración en gel, cromatografía en fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de afinidad, cromatografía de hidroxilapatita, cromatografía de lecitina, ultrafiltración, electroforesis, purificación por inmunoafinidad con anticuerpos específicos para epítopos particulares de un polipéptido de la invención, y se emplea para la purificación cromatografía líquida de alto rendimiento ("HPLC"). Por lo tanto, puede usarse una secuencia nucleotídica que codifica todos o una porción seleccionada de un polipéptido tensioactivo para producir una forma recombinante de la proteína a través de procesos celulares microbianos o eucariotas. Ligar la secuencia en una construcción polinucleotídica, tal como un vector de expresión, y la transformación o transfección en huéspedes, ya sean eucariotas (levadura, aves, insectos o mamíferos) o procariotas (células bacterianas), son procedimientos convencionales. Pueden emplearse procedimientos similares, o modificaciones de los mismos, para preparar polipéptidos recombinantes de la invención por medios microbianos o tecnología de cultivo tisular.

Los vehículos de expresión para la producción de una proteína recombinante incluyen plásmidos y otros vectores. Por ejemplo, los vectores adecuados para la expresión de un polipéptido de la invención incluyen plásmidos de los tipos: plásmidos derivados de pBR322, plásmidos derivados de pEMBL, plásmidos derivados de pEX, plásmidos derivados de pBTac y plásmidos derivados de pUC para su expresión en células procariotas, tal como *E. coli*.

En ciertas realizaciones, los vectores de expresión mamíferos contienen tanto secuencias procariotas para facilitar la propagación del vector en las bacterias, como una o más unidades de transcripción eucariotas que se expresan en células eucariotas. Los vectores derivados de pcDNA1/amp, pcDNA1/neo, pRc/CMV, pSV2 gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo y pHyg son ejemplos de vectores de expresión de mamíferos adecuados para la transfección de células eucariotas. Algunos de estos vectores se modifican con secuencias de plásmidos

bacterianos, tal como pBR322, para facilitar la replicación y la selección de resistencia a fármacos tanto en células procariotas como eucariotas. Como alternativa, pueden usarse derivados de virus, tales como el virus del papiloma bovino (BPV-I), o el virus Epstein-Barr (pHEBo, derivado de pREP y p205) para la expresión transitoria de proteínas en células eucariotas. Los diversos métodos empleados en la preparación de los plásmidos y la transformación de organismos huésped se conocen bien en la técnica. Para otros sistemas de expresión adecuados tanto para células procariotas como eucariotas, así como procedimientos recombinantes generales, véase Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2ª Ed., ed. de Sambrook, Fritsch y Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) Capítulos 16 y 17. En algunos casos, puede ser deseable expresar la proteína recombinante mediante el uso de un sistema de expresión de baculovirus. Los ejemplos de dichos sistemas de expresión de baculovirus incluyen vectores derivados de pVL (tal como pVL1392, pVL1393 y pVL941), vectores derivados de pAcUW (tal como pAcUW1), y vectores derivados de pBlueBac (tal como el [beta]-gal que contiene pBlueBac III).

En otra realización, la producción de proteínas puede conseguirse usando sistemas de traducción *in vitro*. Los sistemas de traducción *in vitro* son, generalmente, un sistema de traducción que es un extracto sin células que contiene al menos los elementos mínimos necesarios para la traducción de una molécula de ARN en una proteína. Un sistema de traducción *in vitro* comprende típicamente al menos ribosomas, ARNt, iniciador metionil-tRNAMet, proteínas o complejos implicados en la traducción, por ejemplo, eIF2, eIF3, el complejo de unión a cubierta (CB), que comprende la proteína de unión a cubierta (CBP) y el factor de iniciación eucariota 4F (eIF4F). Se conocen bien en la técnica una diversidad de sistemas de traducción *in vitro* e incluyen kits disponibles en el mercado. Los ejemplos de sistemas de traducción *in vitro* incluyen lisados eucariotas, tales como lisados de reticulocitos de conejo, lisados de ovocitos de conejo, lisados de células humanas, lisados de células de insecto y extractos de germen de trigo. Los lisados están disponibles en el mercado en fabricantes tales como Promega Corp., Madison, Wis.; Stratagene La Jolla, Calif.; Amersham, Arlington Heights, IU.; y GIBCOBRL, Grand Island, N. Y. Los sistemas de traducción *in vitro* típicamente comprenden macromoléculas, tales como enzimas, traducción, factores de iniciación y elongación, reactivos químicos y ribosomas. Además, puede usarse un sistema de transcripción *in vitro*. Dichos sistemas comprenden típicamente al menos una holoenzima de ARN polimerasa, ribonucleótidos y cualquier factor de iniciación, elongación y terminación de la transcripción necesario. La transcripción y la traducción *in vitro* pueden acoplarse en una reacción de un solo paso para producir proteínas a partir de uno o más ADN aislados. Cuando se desea la expresión de un fragmento carboxi terminal de un polipéptido, es decir un mutante de truncamiento, puede ser necesario añadir un codón de inicio (ATG) al fragmento oligonucleotídico que contiene la secuencia deseada que se va a expresar. Se conoce bien en la técnica que una metionina en la posición N terminal puede escindirse enzimáticamente mediante el uso de la enzima metionina aminopeptidasa (MAP). MAP se ha clonado de *E. coli* (Ben- Bassat y col., (1987) J Bacteriol. 169: 751-757) y Salmonella typhimurium y su actividad *in vitro* se ha demostrado en proteínas recombinantes (Miller y col., (1987) PNAS USA 54: 2718-1722). Por lo tanto, la eliminación de una metionina N-terminal, si se desea, puede conseguirse *in vivo* expresando dichos polipéptidos recombinantes en un huésped que produce MAP (por ejemplo, *E. coli* o CM89 o *S. cerevisiae*), o *in vitro* mediante el uso de MAP purificado (por ejemplo, procedimiento de Miller y col.).

Los polipéptidos de la invención también pueden someterse a diversos cambios, tales como inserciones, deleciones y sustituciones, ya sean conservativas o no conservativas, donde dichos cambios proporcionan cierta ventaja en su uso. Las sustituciones conservativas son aquellas en las que un residuo aminoacídico se reemplaza por otro residuo biológicamente similar. Los ejemplos de sustituciones conservativas incluyen la sustitución de un residuo hidrófobo tal como isoleucina, valina, leucina o metionina por otro, o la sustitución de un residuo polar por otro, tal como entre arginina y lisina, entre ácidos glutámico y aspártico, o entre glutamina y asparagina, y similares. La expresión "sustitución conservativa" también incluye el uso de un aminoácido sustituido en lugar de un aminoácido precursor no sustituido proporcionado de tal forma que un polipéptido también muestra la actividad de unión necesaria.

Los polipéptidos de la invención también pueden truncarse con respecto al polipéptido maduro de longitud completa. Los polipéptidos pueden truncarse en el extremo amino, el extremo carboxi, o ambos extremos. Los polipéptidos pueden truncarse en al menos un aminoácido, o al menos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 o 70 aminoácidos.

Un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero, o una porción del mismo, puede sintetizarse a partir de aminoácidos mediante técnicas que se conocen por los expertos en la técnica de polipéptidos. Puede encontrarse un resumen de muchas técnicas disponibles en J. M. Steward y J. D. Young, "Solid Phase Peptide Synthesis", W. H. Freeman Co., San Francisco, 1969, y J. Meienhofer, "Hormonal Proteins and Peptides", Vol. 2, pág. 46, Academic Press (Nueva York), 1983 para la síntesis peptídica en fase sólida, y E. Schroder y K. Kubke, "The Peptides", Vol. 1, Academic Press (Nueva York), 1965 para la síntesis en solución tradicional.

En general, estos métodos comprenden la adición secuencial de uno o más residuos aminoacídicos o residuos aminoacídicos protegidos adecuadamente a una cadena peptídica creciente. Normalmente, el grupo amino o carboxilo del primer residuo aminoacídico se protege por un grupo protector adecuado que puede eliminarse selectivamente. Se utiliza un grupo protector diferente que puede eliminarse selectivamente para aminoácidos que contienen un grupo de cadena reactiva (por ejemplo, lisina).

Usando una síntesis en fase sólida como ejemplo, el aminoácido protegido o derivado se une a un soporte sólido

inerte a través de su grupo carboxilo o amino desprotegido. Después, el grupo protector del grupo amino o carboxilo se elimina selectivamente y el siguiente aminoácido en la secuencia que tiene el grupo de complementariedad (amino o carboxilo) adecuadamente protegido se mezcla y se hace reaccionar en condiciones adecuadas para la formación del enlace amida con el residuo ya unido al soporte sólido. Después, el grupo protector del grupo amino o carboxilo se elimina de este residuo aminoácido recién añadido, y después se añade el siguiente aminoácido (adecuadamente protegido), y así sucesivamente. Después de que todos los aminoácidos deseados se han unido en la secuencia apropiada, cualquier grupo protector del grupo terminal o lateral restante (y cualquier soporte sólido) se retira secuencialmente o simultáneamente, para proporcionar el polipéptido final. Después, ese polipéptido se lava mediante disolución en un alcohol alifático inferior y se seca. El polipéptido tensioactivo secado puede purificarse adicionalmente mediante técnicas conocidas, si se desea.

En ciertas realizaciones, pueden usarse métodos usados comúnmente, tales como protección t-BOC o f-MOC de los grupos alfa-amino. Ambos métodos implican síntesis por etapas, por lo que se añade un único aminoácido en cada etapa partiendo del extremo C del péptido (Véase, Coligan y col., Current Protocols in Immunology, Wiley Interscience, 1991, Unit 9). Los péptidos de la invención pueden sintetizarse, por ejemplo, mediante métodos de síntesis peptídica en fase sólida ya conocidos descritos en Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149, 1962, y Stewart e Young, 1969, Solid Phase Peptides Synthesis, págs. 27-62, usando un copoli(estirenodivinilbenceno) que contiene aminoras 0,1-1,0 mMol/g de polímero. Una vez terminada la síntesis química, los péptidos pueden desprotegerse y escindirse del polímero por tratamiento con HF líquido-anisol al 10 % durante aproximadamente 1/4-1 horas a 0 °C. Después de la evaporación de los reactivos, los péptidos se extraen del polímero con una solución al 1 % de ácido acético que después se liofiliza para producir el material en bruto. Esto normalmente puede purificarse mediante tales técnicas como filtración en gel en Sephadex G-15 usando ácido acético al 5 % como un disolvente. La liofilización de fracciones apropiadas de la columna producirá el péptido homogéneo o derivados peptídicos, que después pueden caracterizarse por dichas técnicas convencionales como análisis de aminoácidos, cromatografía de capa fina, cromatografía líquida de alto rendimiento, espectroscopía de absorción ultravioleta, rotación molar, solubilidad, y cuantificarse mediante la degradación de Edman en fase sólida.

En una realización, los péptidos SP-B recombinantes y/o sintéticos contienen los aminoácidos 2, 4, 6 y 9 de la SEQ ID NO: 5. Las prolinas 2, 4 y 6 y el triptófano 9 de la SEQ ID NO: 5 pueden constituir motivos estructurales esenciales para la función de la proteína. En algunas realizaciones, los péptidos SP-B pueden estar sustituidos en cualquier residuo aminoácido distinto del aminoácido triptófano 9 (con respecto a la SEQ ID NO: 5).

Un imitador de polipéptido tensioactivo pulmonar es generalmente un polipéptido que se crea para imitar los atributos básicos de una proteína tensioactiva humana. Un péptido mimético ejemplar imita SP-B. Un ejemplo de un imitador de SP-B es KL4, un péptido de residuo de 21 aminoácidos que comprende la secuencia KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK (SEQ ID NO: 94). Esta proteína mimética SP-B también se conoce como Lucinactant (Surfaxin®, Discovery Laboratories).

#### Lípidos Tensioactivos

En ciertas realizaciones, un agente tensioactivo para su uso en la invención comprende una proteína tensioactiva, una porción de la misma, o una mezcla de la misma, que se asocia a lípidos tensioactivos naturales *in vivo*. En otras realizaciones, un agente tensioactivo para su uso en la invención comprende un lípido o un complejo lípido-proteína.

El tensioactivo pulmonar mamífero natural es un complejo de fosfolípidos, fosfolípidos neutros y proteínas. El agente tensioactivo para su uso en la invención desvelada en el presente documento puede comprender uno o más lípidos. En algunas realizaciones, el agente tensioactivo puede comprender, por ejemplo, desde un mínimo de aproximadamente el 0,05 al 100 % en peso de lípido, siempre que la composición resultante tenga actividad tensioactiva. Por por ciento en peso se refiere al porcentaje de un compuesto en peso en una composición en peso. Por lo tanto, una composición que tiene un 50 por ciento en peso de lípido contiene, por ejemplo, 50 gramos de lípidos por 100 gramos de composición total. Un agente tensioactivo puede contener del 0,1 al 50 por ciento en peso de lípido, aunque pueden usarse concentraciones mayores de lípido. Los agentes tensioactivos que contienen tanto fosfolípido como un polipéptido tensioactivo, o una porción del mismo, pueden contener, por lo tanto, del 0,1, 1, 10, 50, 80 a casi el 100 por ciento en peso de lípido, y aproximadamente del 50, 20, 10 a menos del 1 por ciento en peso de polipéptido tensioactivo. Como alternativa, los agentes tensioactivos pueden contener las relaciones inversas de lípido con respecto al polipéptido resultante.

El término "lípido", como se usa en este documento, se refiere a un compuesto de origen natural, sintético o semi-sintético (es decir, natural modificado) que generalmente es anfipático. Los lípidos comprenden típicamente un componente hidrófilo y un componente hidrófobo. Los lípidos ejemplares incluyen, pero sin limitación, fosfolípidos, ácidos grasos, alcoholes grasos, grasas neutras, fosfatidas, aceites, glucolípidos, alcoholes alifáticos, ceras, terpenos y esteroides. La expresión semi-sintético (o natural modificado) representa un compuesto natural que se ha modificado químicamente de alguna manera.

Los ejemplos de fosfolípidos incluyen fosfolípidos nativos y/o sintéticos. Los fosfolípidos que pueden usarse incluyen, pero sin limitación, fosfatidilcolinas (saturadas e insaturadas), fosfatidilgliceroles, fosfatidiletanolaminas,

fosfatidilserinas, ácidos fosfatídicos, fosfatidilinositales, esfingolípidos, diacilglicéridos, cardiolipina, ceramidas, cerebrosidas y similares. Los fosfolípidos ejemplares incluyen, pero sin limitación, dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC), dilauril fosfatidilcolina (DLPC) (C12:0), dimiristoil fosfatidilcolina (DMPC) (C14:0), diestearoil fosfatidilcolina (DSPC), difitiail fosfatidilcolina, nonadecanoil fosfatidilcolina, araquidil fosfatidilcolina, dioleoil fosfatidilcolina (DOPC) (C18:1), dipalmitoleoil fosfatidilcolina (C16:1), linoleoil fosfatidilcolina (C18:2), miristoil palmitoil fosfatidilcolina (MPPC), esteroil 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), distearoil fosfatidilglicerol (DSPG), dimiristoilfosfatidilserina (DMPS), distearoilfosfatidilserina (DSPS), palmitoiloleoil fosfatidilserina (POPS), lecitina de soja, lecitina de yema de huevo, esfingomielina, fosfatidilinositales, difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, ácidos fosfatídicos y fosfatidilcolina de huevo (EPC).

Los ejemplos de ácidos grasos y alcoholes grasos incluyen, pero sin limitación, esteroides, ácido palmítico, alcohol cetílico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido esteárico, ácido fitánico, ácido dipalmítico, y similares. Los ácidos grasos ejemplares incluyen ácido palmítico.

Los ejemplos de ésteres de ácidos grasos incluyen, pero sin limitación, palmitato de metilo, palmitato de etilo, palmitato de isopropilo, palmitato de colesterilo, palmitato palmitilo, palmitato sódico, palmitato potásico, tripalmitina, y similares.

El polipéptido tensioactivo y los lípidos tensioactivos interactúan mediante interacciones hidrostáticas. Los aminoácidos cargados interactúan con los grupos principales polares de lípidos y los aminoácidos hidrófobos interactúan con cadenas laterales de acil fosfolípido. Por ejemplo, SP-B y SP-C son proteínas hidrófobas. Tanto SP-B como SP-C se unen preferiblemente a lípidos aniónicos, tal como fosfatidilglicerol (PG), y no DPPC. SP-A y SP-D son proteínas hidrófilas e interactúan con una amplia gama de lípidos anfipáticos, incluyendo glicerofosfolípidos, esfingofosfolípidos, glicoesfingolípidos, lípido A, y lipoglicanos. SP-A se une a DPPC. A modo de ejemplo, se observan interacciones hidrostáticas con el mimético SP-B, KL4 y los lípidos en tensioactivo natural o lípidos comprendidos en el agente tensioactivo. Por ejemplo, los residuos de lisina en el péptido KL4 interactúan con los grupos principales de carga de DPPC y los residuos de leucina hidrófobos interactúan con las cadenas laterales de acil fosfolípido de fosfatidilglicerol.

En ciertas realizaciones, una composición de fármaco como se desvela en el presente documento comprende un agente tensioactivo que comprende una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero o un imitador del mismo, y no comprende adicionalmente un lípido o una mezcla de lípidos. Las composiciones farmacológicas administradas por inhalación que comprenden agentes tensioactivos que comprenden únicamente una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero, o un imitador del mismo, pueden interactuar con un tensioactivo natural en los pulmones a través de interacciones hidrostáticas. Por ejemplo, SP-B recombinante puede interactuar con un tensioactivo natural en los pulmones uniendo fosfolípidos aniónicos, tal como fosfatidilglicerol.

En otras realizaciones, una composición de fármaco como se desvela en el presente documento comprende un agente tensioactivo que comprende tanto una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero, o un imitador del mismo, como al menos un lípido. Para facilitar la absorción de composiciones de fármacos que comprenden tanto un polipéptido, o imitador del mismo, como al menos un lípido en un tensioactivo natural en los pulmones, pueden usarse monocapas de fosfolípidos que imitan a las que se encuentran en un tensioactivo natural. Las mezclas lipídicas ejemplares incluyen dipalmitoilfosfatidilcolina/palmitoiloleoilfosfatidilglicerol, por ejemplo, en una relación 7:3 de p/p. El polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero puede insertarse en la monocapa fosfolípida y la mezcla proteína/lípido puede absorberse en el tensioactivo natural en la interfaz alveolar/gaseosa en los pulmones tras la inhalación.

#### Fármaco Pulmonar Activo

Los fármacos pulmonares activos pueden incluir, pero sin limitación, inhibidores de la elastasa, corticosteroides, broncodilatadores, antibióticos y ácidos quimioterapéuticos.

Los inhibidores de elastasa ejemplares incluyen los compuestos mostrados en la figura 17. Otros inhibidores de elastasa ejemplares incluyen los compuestos descritos por Philip D. Edwards y Peter R. Bernstein en "Synthetic Inhibitors of Elastase", Medicinal Research Reviews, Vol. 14, Nº 2, 127-194 (1994), que se incorpora en la presente memoria por referencia. Dos o más inhibidores de elastasa pueden unirse a un agente tensioactivo de la invención y administrarse en combinación. Como alternativa, un inhibidor de la elastasa puede unirse a un agente tensioactivo y administrarse junto con un segundo inhibidor de elastasa unido a un agente tensioactivo.

Los corticosteroides ejemplares que pueden administrarse en los pulmones incluyen, pero sin limitación, aclometasona, aldosterona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, ciclesonida, clobetasol, clobetasona, clocortolona, cloprednol, cortisona, cortivazol, deflazacort, deoxicorticosterona, desonida,

- desoximatasona, desoxicortona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difluprednato, fluclorolona, fludrocortisona, fludroxicortida, flumetasona, flunisolida, fluocinolona acetona, fluocinonida, fluocortina, flucortolona, fluorometolona, fluperolona, fluprednideno, fluticasona, formocortol, halcinonida, halometasona, hidrocortisona/cortisol, hidrocortisona aceponato, hidrocortisona buteprato, hidrocortisona butirato, loteprednol, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, metilprednisolona aceponato, mometasona furoato, parametasona, prednicarbo, prednisona, prednisolona, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona y ulobetasol. Dos o más corticosteroides pueden unirse a un agente tensioactivo de la invención y administrarse en combinación. Como alternativa, un corticosteroide puede unirse a un agente tensioactivo y administrarse junto con un segundo corticosteroide unido a un agente tensioactivo.
- Los fármacos pulmonares activos también pueden incluir, broncodilatadores, tales como agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico de acción corta, agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico de acción prolongada, anti-colinérgicos de acción corta, y anti-colinérgicos de acción prolongada. Los agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico de acción corta no limitantes incluyen salbutamol o albuterol, terbutalina, fenoterol, bromhidrato de fenoterol, rimiterol, reproterol, pirbuterol, isoprenalina, orciprenalina, bitolterol y broxaterol. Los agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico de acción prolongada no limitantes incluyen salmeterol, xinafoato de salmeterol, formoterol, fumarato de formoterol, clenbuterol y procaterol. Los anti-colinérgicos de acción corta no limitantes incluyen ipratropio, bromuro de ipratropio, oxitropio y sus sales. Los anti-colinérgicos de acción prolongada no limitantes incluyen tiotropio y bromuro de tiotropio monohidrato. Otros broncodilatadores pueden incluir, pero sin limitación, aminofilina, iorciprenalina, oxtrifilina, sulfato de terbutalina y teofilina. Dos o más broncodilatadores pueden unirse a un agente tensioactivo de la invención y administrarse en combinación. Como alternativa, un broncodilatador puede unirse a un agente tensioactivo y administrarse junto con un segundo broncodilatador unido a un agente tensioactivo.
- Los antibióticos ejemplares que pueden administrarse en el pulmón incluyen, pero sin limitación, penicilinas, penicilinas e inhibidores de beta-lactamasa, cefalosporinas (generación I, II, III y IV), macrólidos y lincosaminas, quinolonas y fluoroquinolonas, carbapenemos, monobactamas, aminoglucósidos, glicopéptidos, tetraciclinas, sulfonamidas, rifampina, oxazolidonas, estreptograminas, sulfanomidas, y otros. Dos o más antibióticos pueden unirse a un agente tensioactivo de la invención y administrarse en combinación. Como alternativa, un antibiótico puede unirse a un agente tensioactivo y administrarse junto con un segundo antibiótico unido a un agente tensioactivo.
- Las penicilinas ejemplares incluyen, pero sin limitación, amoxicilina, ampicilina, bacampicilina, carbenicilina, carbenicilina indanilo, mezlocilina, piperacilina y ticarcilina.
- Las penicilinas e inhibidores de beta-lactamasa ejemplares incluyen, pero sin limitación, amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactama, bencilpenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, fenoximetilpenicilina, carbenicilina, metilicilina, oxacilina, penicilina G (benzatina, potasio, procaína), penicilina V, propicilina, epicilina, ciclacilina, piperacilina y tazobactama, ticarcilina y ácido clavulánico, y nafcilina.
- Las cefalosporinas ejemplares (generación I) incluyen, pero sin limitación, cefadroxilo, cefazolina, cefalexina, cefalotina, cefapirina y cefradina. Las cefalosporinas (generación II) incluyen, pero sin limitación, cefaclor, cefamandol, cefoicida, ceforanida, cefoxitina, cefprozilo, ceftmetazol, cefuroxima, cefuoxima axetilo y loracarbef. Las cefalosporinas (generación III) incluyen, pero sin limitación, cefdinir, ceftibuteno, cefditoren, cefatamet, cefoperazona, cefixima, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima y ceftriaxona. Las cefalosporinas (generación IV) incluyen, pero sin limitación, cefepima.
- Los macrólidos y lincosaminas ejemplares incluyen, pero sin limitación, azitromicina, claritromicina, clindamicina, diritromicina, eritromicina, lincomicina, telitromicina y troleandomicina.
- Las monobactamas incluyen, pero sin limitación, aztreonam. Los carbapenemos incluyen, pero sin limitación, doripenem, imipenem-cilastatina y meropenem.
- Los aminoglucósidos incluyen, pero sin limitación, amikacina, sulfato de amikacina, gentamicina, sulfato de genatmicina, kanamicina, metilmicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina y paromicina.
- Los glucopéptidos incluyen, pero sin limitación, dalbavancina, oritavancina, telavancina, teicoplanina y vancomicina.
- Las tetraciclinas incluyen, pero sin limitación, demeclociclina, doxiciclina, metaciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina y cloretetraciclina.
- Las oxazolidononas incluyen, pero sin limitación, linezolidina. Las estreptograminas incluyen, pero sin limitación, quinoprisitina y dalfopristina.
- Las sulfonamidas incluyen, pero sin limitación, mafenida, sulfadiazina de plata, sulfacetamida, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfasalazina, sulfanilamida, sulfisoxazol, trimetoprima-sulfametoxazol y sulfametizol.

Otros antibióticos incluyen, pero sin limitación, bacitracina, cloramfenicol, Colistemetato, Fosfomicina, Isoniazida, Metenamina, Metronidazol, Mupirocina, Nitrofurantoína, Nitrofurazona, Novobiocina, Polimixina B, Espectinomina, Trimetoprima, Colistina, Cicloserina, Capreomicina, Pirazinamida, ácido para-aminosalicílico, eritromicina etilsuccinato más sulfisoxazol, y tigeciclina.

5 Los fármacos quimioterapéuticos que pueden administrarse en el pulmón incluyen, pero sin limitación, agentes alquilantes, antiestrógenos, aclarrubicina, actinomicina D, aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoína, allopurinol, altretamina, amifostina, anastrozol, asparaginasa, bexaroteno, bisantreno, bleomicina, busulfan, BCNU (carmustina), calusterona, capecitabina, carboplatino, celecoxib, clorambucilo, cisplatino, cladribina, ciclofosfamida, inhibidor de la  
10 ciclooxigenasa-2, citarabina, CCNU (lomustina), dacarbazina, daunorrubicina, daunomicina, denileucina diftotox, dexrazoxano, diaziquona, docetaxel, doxorubicina, epirubicina, epoetina alfa, esorubicina, estramustina, etopósido (VP-16), exemestano, Filgrastim, floxuridina, fludarabina, 5-fluorouracilo, fulvestrant, galactitol, gemcitabina, gemtuzumab, acetato de goserelina, hidroxiaurea, ibritumomab tiuxetan, idarrubicina, ifosfamida, imatinib mesilato, interferón alfa, interferón gamma, irinotecano, iroplatin, letrozol, leucovorina, levamisol, lonidamina, acetato de  
15 megrestrol, melfalan, mercaptopurina, mesna, metotrexato, metoxsaleno, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, mitoguazona, fenpropionato de nandrolona, Nofetumomab, mostaza nitrogenada, oprelvekina, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, pegademasa, pegaspargasa, pegfilgrastima, pentostatina, pipobromano, plicamicina, porfímero sódico, procarbazona, progestinas, prednimustina, PCNU, quinacrina, rasburicasa, rituximab, sargramostima, estreptozocina, talco, tamoxifeno, temozolomida, tenipósido (VM-26), testolactona, tioguanina, tiotepa, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tertrinoína, mostaza de uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina y zoledronato.

25 Dos o más agentes quimioterapéuticos pueden unirse a un agente tensioactivo de la invención y administrarse en combinación. Como alternativa, un agente quimioterapéutico puede unirse a un agente tensioactivo y administrarse junto con un segundo agente quimioterapéutico unido a un agente tensioactivo. Las terapias de combinación ejemplares incluyen paclitaxel y carboplatino, cisplatino y vinorelbina tartrato, cisplatino y etopósido, y carboplatino y etopósido.

#### 30 Enlace Covalente

Pueden usarse muchas estrategias para unir covalentemente un fármaco pulmonar activo a un agente tensioactivo para su uso en la invención. Generalmente, el fármaco pulmonar activo puede unirse covalentemente al agente tensioactivo usando un enlace o un enlazador que conserva el sitio nativo del fármaco y mantiene un tiempo de permanencia significativo del agente tensioactivo en la interfaz pulmonar/aire. Puede añadirse al menos un residuo  
35 adicional al extremo amino o carboxi o en un residuo aminoacídico interno de un polipéptido tensioactivo desvelado en el presente documento, para generar un enlazador para unir covalentemente una molécula de fármaco al agente tensioactivo. En una realización ejemplar, SP-B se extiende por al menos un aminoácido para crear un aminoácido sintético mediante síntesis peptídica automatizada. Un fármaco puede configurarse con el aminoácido, por ejemplo, un residuo glicina a través de un grupo amino o hidroxilo. Los enlaces covalentes representativos pueden incluir un éster, una amida o una urea. (March, Advanced Organic Chemistry, 4<sup>a</sup> Ed., John Wiley & Sons, 1992).

45 Los enlazadores de residuos aminoacídicos tienen normalmente al menos un residuo y pueden ser 40 o más residuos, con más frecuencia de 1 a 10 residuos, y con mayor frecuencia de 1 a 5 residuos aminoacídicos de longitud. El enlazador normalmente es un aminoácido pequeño neutro polar o no polar. Los residuos aminoacídicos típicos usados para la unión son glicina, tirosina, cisteína, lisina, ácido glutámico y ácido aspártico, o similares.

En otras realizaciones, el enlazador puede ser un enlazador heterobifuncional que no es un aminoácido de origen natural.

#### 50 Métodos de Administración

Las composiciones de la invención se administran en los pulmones por inhalación. Pueden usarse dispositivos de inhalación, tal como inhaladores (incluyendo un inhalador de polvo seco e inhaladores de dosis medida) y nebulizadores (también conocidos como atomizadores) para administrar las composiciones desveladas en los  
55 pulmones. Los inhaladores de polvo seco ejemplares pueden obtenerse en Inhale Therapeutic Systems como se describe en las Pat. de Estados Unidos N° 5.458.135; 5.740.794; 5.785.049. También pueden obtenerse inhaladores de polvo seco en 3M como se describe en la Patente de Estados Unidos 6.029.661.

Las composiciones desveladas en el presente documento también pueden administrarse usando un inhaladora de dosis medida (MDI) que contiene una solución o una suspensión de fármaco en un propulsor líquido farmacéuticamente inerte, por ejemplo, un clorofluorocarbono (CFC) o fluorocarbono, como se describe en la Pat. de Estados Unidos N° 5.320.094 y la Pat. de Estados Unidos N° 5.672.581. Los inhaladores de dosis medida están diseñados para administrar una dosis unitaria fija de medicamento por accionamiento o "inhalación", por ejemplo, en el intervalo de 10 a 5000 microgramos de medicamento por inhalación. Pueden obtenerse inhaladores de dosis  
65 medida ejemplares en 3M como se describe en las Patentes de Estados Unidos N° 5.224.183; 5.290.534; 5.511.540; 6.454.140; y 6.615.826. Los inhaladores de dosis medida también pueden no contener CFC. Las composiciones de

fármaco que se van a usar con un inhalador pueden estar en forma de partículas sólidas en aerosol o gotas de líquido o suspensión.

5 Como alternativa, las composiciones descritas en el presente documento pueden disolverse o suspenderse en un disolvente, por ejemplo, agua o solución salina, y administrarse por nebulización. Los nebulizadores ejemplares para administrar una solución en aerosol incluyen AERx™ (Aradigm), Ultravent® (Mallinkrodt), Pari LC Plus™ o Pari LC Star™ (Pari GmbH, Alemania), DeVilbiss Pulmo-Aide, y Acorn II® (Marquest Medical Products).

#### 10 Formulación del Fármaco

10 Las composiciones de fármaco desveladas en el presente documento pueden formularse en una solución y/o una suspensión de partículas en un vehículo apropiado para la inhalación en las vías respiratorias y los pulmones. Dichos vehículos también se conocen bien por el experto familiarizado con inhalantes para la administración de gotas finas e insuflaciones para la administración de partículas finas inhalables, del orden de, por ejemplo, 15 aproximadamente de 0,5 a 1 micrómetro, y preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,7 micrómetros, compuestas por polvos, nebulizaciones o aerosoles, en las vías respiratorias como se describe Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª edición, 1980, Ed. By Arthur Osol, que se incorpora en la presente memoria por referencia.

20 En una realización, las composiciones de fármacos para su administración por inhalación pueden administrarse en forma de polvos. El fármaco o composición en polvo se sitúa normalmente dentro de un recipiente tal como una cápsula de gelatina dura o un envase de blíster, o un dispositivo multi-dosis. La cápsula o blíster se rompe o se abre dentro de un dispositivo inhalador, permitiendo así que el polvo se inhale. Generalmente, el tamaño de partícula medio del fármaco usado para la inhalación está entre 1 y 10 micrómetros, siendo el intervalo de tamaño entre 2 y 25 5 micrómetros particularmente adecuado para penetrar las vías respiratorias periféricas de los pulmones. Dichos intervalos de tamaño de partícula se consiguen comúnmente por micronización o secado por pulverización.

30 A menudo una composición de fármaco en polvo se administra como una composición que comprende una combinación o mezcla del medicamento con un vehículo inerte. Normalmente, el vehículo inerte tiene un tamaño de partícula medio sustancialmente mayor que el del fármaco. Esto proporciona, entre otras ventajas, una mejora en las propiedades de flujo y la precisión de la dispensación de la composición.

35 Los materiales de vehículos que se describen comúnmente para el fármaco producido incluyen carbonato de calcio y azúcares, por ejemplo sacarosa, manitol o dextrosa, o más particularmente, lactosa, que son farmacéuticamente aceptables y no tienen problemas de toxicidad, ya que cualquier residuo absorbido durante la dosificación se tolera bien tras la digestión o puede eliminarse fácilmente por disolución (por ejemplo, en el caso de los azúcares) o depuración mucociliar del pulmón.

40 La composición en la cápsula o blíster es con frecuencia aproximadamente 25 mg. Esto peso representa probablemente la cantidad máxima de polvo que puede inhalarse cómodamente sin demasiados efectos secundarios, tal como tos, y también corresponde a la cantidad mínima que se dispensa normalmente por las máquinas de llenado.

45 En ciertas realizaciones, las composiciones formuladas para la inhalación de polvo comprenden un vehículo presente a una concentración de aproximadamente el 95,0 al 99,99 %. Más particularmente, del 97,0 al 99,9 %, especialmente del 98,0 al 99,8 %, en peso. Los procesos para preparar dichos polvos, mediante la aplicación o adaptación de métodos conocidos, también constituyen características de la invención.

50 En otras realizaciones, la composición de fármaco puede formularse como una formulación en aerosol usando métodos ya conocidos en la técnica. Un método usado ampliamente para dispensar tal formulación en aerosol implica preparar una formulación en suspensión del fármaco en forma de un polvo finamente dividido en un gas propulsor licuado. Como alternativa, puede prepararse una formulación en solución donde el fármaco se disuelve en un sistema propulsor, que puede contener solubilizantes y codisolventes para facilitar la disolución del fármaco. Normalmente se usan inhaladores de dosis medida presurizados (pMDI) para dispensar dichas formulaciones a un 55 paciente. Los propulsores pueden incluir propulsores de clorofluorocarbono (CFC), fluorocarbono (FC) o hidrofuroalcano (HFA).

#### Métodos de Tratamiento

60 La divulgación también proporciona métodos para tratar un sujeto que padece inflamación pulmonar o enfermedad pulmonar. En otra realización, la divulgación proporciona un método para tratar un sujeto que está en riesgo de padecer un trastorno pulmonar. El método comprende administrar al sujeto un conjugado que comprende un fármaco pulmonar activo unido covalentemente a un agente tensioactivo, que tiene una afinidad para la interfaz alveolar/gaseosa humana y que comprende al menos una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero o un imitador del mismo que es sustancialmente inmunógeno en seres humanos. El conjugado se administra al 65 sujeto por inhalación en una cantidad eficaz para inducir un efecto farmacológico en los pulmones. El sujeto puede

ser un ser humano, mono, chimpancé, caballo, perro, gato, vaca, oveja, cerdo, rata o ratón. En realizaciones ejemplares, el sujeto es un ser humano.

5 El sujeto que necesita tratamiento padece inflamación pulmonar o padece o tiene el riesgo de padecer una enfermedad pulmonar. Las enfermedades pulmonares ejemplares que pueden tratarse con la composición de fármaco que se describe en el presente documento incluyen, pero sin limitación, enfisema, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria (SDR), neumonía, tuberculosis u otra infección bacteriana, fibrosis quística, y/o cáncer de pulmón.

## 10 Dosificación

La administración fármacos pulmonares activos conjugados con un agente tensioactivo reduce la frecuencia de dosificación con respecto a la administración de un fármaco no conjugado. En ciertas realizaciones, la etapa de administración puede repetirse una vez al día, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días, o semanalmente.

## Ejemplos

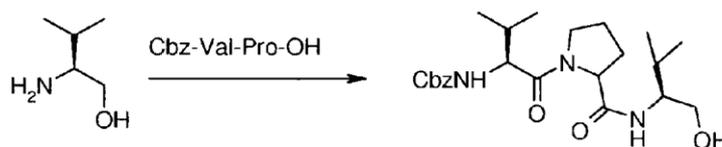
### 20 **Ejemplo 1: Conjugación de Inhibidores de Elastasa de Neutrófilos Humanos con un péptido SP-B**

Un panel de potentes inhibidores de elastasa de neutrófilos humanos (HNE) de molécula pequeña puede configurarse con un péptido SP-B que comprende los 25 aminoácidos amino terminal de SP-B (FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKG) (SEQ ID NO: 88). El peso molecular total del péptido SP-B que comprende los 25 aminoácidos amino terminal es 2926,97 después de la eliminación de la molécula de agua. Los inhibidores de HNE se conjugan en 25-mer N-terminal SP-B usando un enlazador de glicina similar al enlace representado en la figura 18.

### 30 **Ejemplo 2: Síntesis de la Diana B**

Todos los disolventes usados para la reacción eran disolventes de calidad LR. La temperatura ambiente (TA) indica una temperatura que varía de 27-32 °C. Todas las reacciones se controlaron por TLC a menos que se especifique otra cosa. Las soluciones se evaporaron a presión reducida usando un evaporador rotatorio. El espectro de RMN se tomó en un Varian 400 MHz. La cromatografía en columna se hizo usando una malla 100-200 de gel de sílice a menos que se especifique otra cosa.

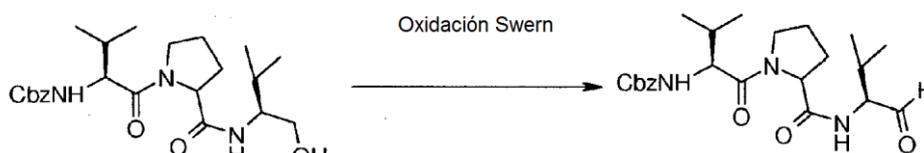
#### 35 **Síntesis de la Fase 1**



**Esquema 1**

40 Una solución de Cbz-Val-Pro-OH (5 g, 14 mmol) en tetrahidrofurano seco (85 ml) se enfrió a -20 °C en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción se le añadió N-metilmorfolina (1,74 ml, 15 mmol) seguido de cloroformiato de isobutilo (2 ml, 15 mmol). La mezcla de reacción se agitó a -20 °C durante 15 min y después se dejó enfriar a -40 °C. A la mezcla de reacción se le añadió gota a gota una solución de L-Valinol (1,62 g, 15 mmol) en tetrahidrofurano (25 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se diluyó con acetato de etilo (60 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron sucesivamente con HCl 1 N (60 ml), NaHCO<sub>3</sub> (30 ml) y salmuera (30 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar el producto deseado (5,7 g). Tr HPLC: 5,76; LCMS (M+1): 434; Rendimiento: 92,5 %.

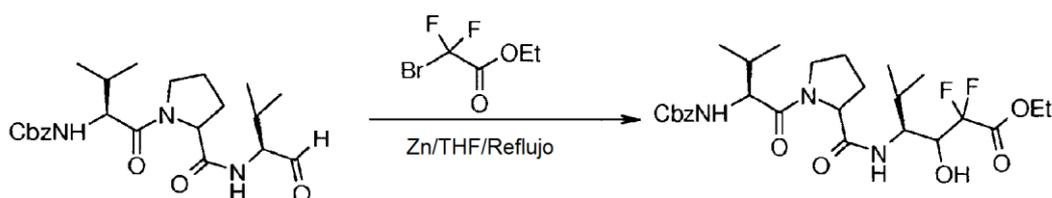
#### 50 **Síntesis de la Fase 2**



**Esquema 2**

Una solución de cloruro de oxalilo (2,45 ml, 28 mmol) en diclorometano seco (110 ml) se enfrió a  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se añadió gota a gota una solución de DMSO (4,09 ml, 57,7 mmol) en diclorometano (35 ml) durante un periodo de 1 h, manteniendo la temperatura de la mezcla de reacción a  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La mezcla de reacción se dejó calentar a  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se añadió gota a gota una solución de la fase 1 (6,1 g, 14 mmol) en diclorometano (35 ml) durante un periodo de 1 h. La mezcla de reacción se agitó a  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se añadió gota a gota diisopropiletilamina (10 ml, 57,7 mmol) durante un periodo de 1 h. La reacción se calentó a temperatura ambiente y después se lavó con HCl 1 N (60 ml) y salmuera (60 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto deseado (5,7 g). Tr HPLC: 6,81; LCMS (M+1): 432; Rendimiento: 94 %.

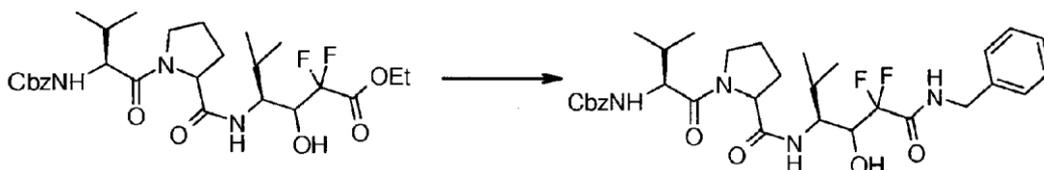
### Síntesis de la Fase 3



Esquema 3

Una suspensión de cinc (2,5 g, 39 mmol) y la fase 2 (5,64 g, 13 mmol) en tetrahidrofurano seco (100 ml) se calentó a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió bromodifluoroacetato de etilo (7,93 g, 39 mmol) y la reacción se calentó a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, el tetrahidrofurano se retiró a presión reducida y se añadió acetato de etilo (100 ml). La mezcla de reacción se lavó con  $\text{KHSO}_4$  1 M (50 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato sódico. La capa orgánica se filtró y se concentró a presión reducida para dar el producto en bruto, que después se purificó por HPLC preparativa para dar el producto deseado (2,9 g). Tr HPLC: 7,44; LCMS (M+1): 556; Rendimiento: 40 %.

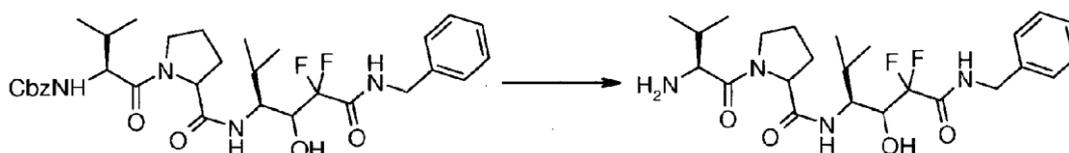
### Síntesis de la Fase 4



Esquema 4

Una solución de la fase 3 (1,8 g, 3,2 mmol) y bencil amina (1,06 ml, 9,7 mmol) en etanol (40 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante 48 h más en una atmósfera de nitrógeno. El disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (50 ml) y la solución se lavó con HCl 1 N (20 ml) y salmuera (20 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el disolvente se retiró al vacío para dar el producto deseado (1,7 g). Tr HPLC: 7,56; LCMS (M+1): 616; Rendimiento: 88 %.

### Fase 5



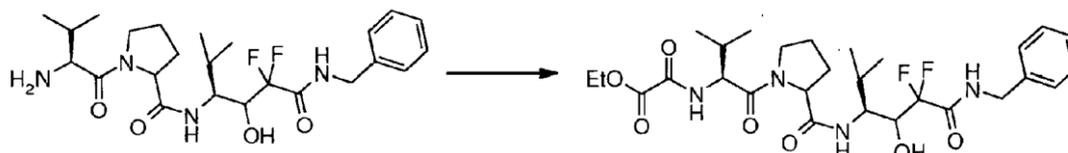
Esquema 5

Una mezcla de la fase 4 (1,85 g, 3 mmol) e hidróxido de paladio al 20 % (1 g) en acetato de etilo (50 ml) se puso en un recipiente a presión a 200 psi (1,38 MPa) durante 20 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el

filtrado se concentró al vacío para dar el producto deseado junto con algo de material de partida, .que se usó tal cual para una reacción adicional sin purificación (1,1 g). Tr HPLC: 4,90; LCMS (M+1): 482; Rendimiento: 80 %.

#### Fase 6

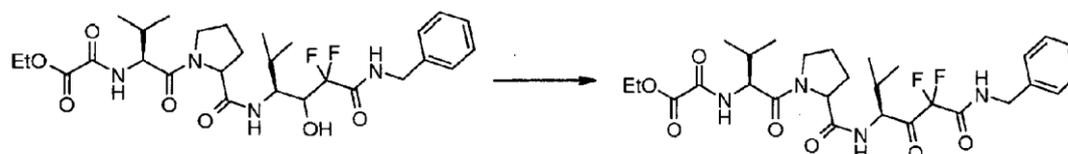
5



Esquema 6

A una solución de la fase 5 (1 g, 2,1 mmol) en diclorometano seco (50 ml) a 0 °C se le añadió trietilamina (0,25 ml, 1,8 mmol). Después, se añadió gota a gota una solución de cloruro de etil oxalilo (0,2 ml, 1,87 mmol) en diclorometano (20 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h más. La mezcla de reacción se inactivó con agua (25 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó a presión reducida para dar el producto deseado, que después se purificó por HPLC preparativa. Tr HPLC: 6,72; LCMS (M+1): 583; Rendimiento: 0,5 g (42 %).

#### Fase 7

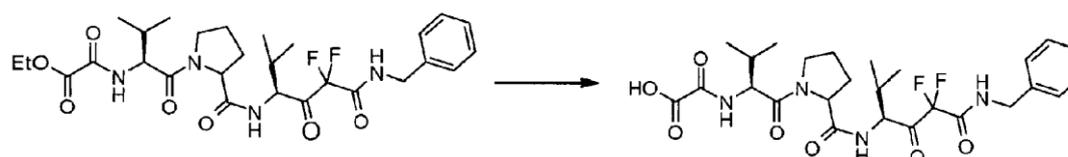


Esquema 7

Se añadió ácido trifluoroacético (0,92 ml, 12,02 mmol) a una solución agitada de la fase 6 (1,75 g, 3 mmol) y peryodinano de Dess-Martin (5,1 g, 12,02 mmol) en diclorometano seco (25 ml). La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió acetato de etilo (100 ml) y la mezcla se lavó con tiosulfato sódico saturado (60 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (60 ml) y salmuera (60 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó a presión reducida para dar el producto deseado, que se usó tal cual para la siguiente etapa. Tr HPLC: 7,32; LCMS (M+1): 581; Rendimiento: 1,7 g (97 %).

25

#### Fase 8

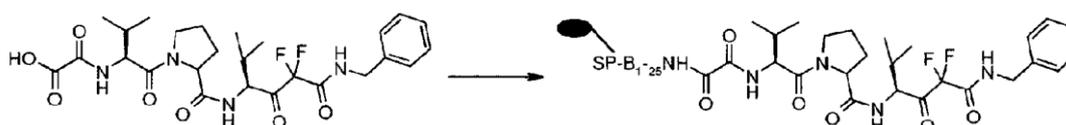


Esquema 8

Una solución de la fase 7 (2,2 g, 3,7 mmol) en 1:1 de metanol-agua (20 ml) se trató con NaOH 1 N (0,18 g, 4,5 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró para retirar el metanol, se acidificó con HCl 1 N y se extrajo con acetato de etilo (60 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó a presión reducida para dar el producto deseado, que después se purificó por HPLC preparativa. Tr HPLC: 6,47-6,61; LCMS (M+1): 553; Rendimiento: 500 mg (24 % después de prep.).

35

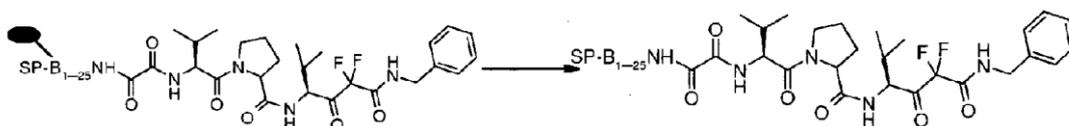
#### Fase 9



Esquema 9

Una resina de Wang (2,5 g, 0,5 equiv.) se trató con piperidina al 20 % en DMF (15 ml) y se agitó durante aproximadamente una hora. Después, se lavó con DMF (2 veces, 15 ml), DCM (3 veces, 15 ml) y después se secó al vacío. Se realizó una prueba Kaiser sobre la resina para garantizar una eliminación completa del grupo F-moc. Después, se usó para el acoplamiento con el producto de la fase 8. A una solución de la resina en DMF se le añadió una solución del ácido anterior (97 mg, 0,176 mmol) en DMF (5 ml) seguido de la adición de PyBoP (91 mg, 0,176 mmol) y N-metil morfolina (0,24 ml, 0,22 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar en un agitador durante aproximadamente 3 h. La solución se decantó, se añadió de nuevo un lote fresco de los reactivos anteriores y se dejó agitar adicionalmente durante 3 h. Este proceso se repitió aproximadamente 4 veces. La solución se decantó, y la resina se lavó con DMF (3 veces, 15 ml), DCM (3 veces, 15 ml) y se secó al vacío. Se realizó la prueba Kaiser sobre la resina para garantizar que el acoplamiento se ha producido.

#### Fase 10

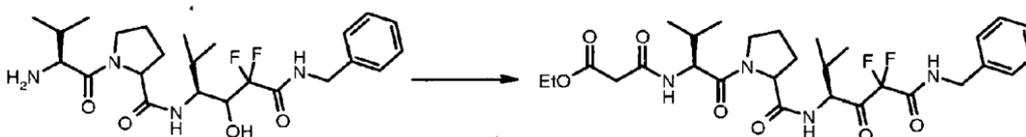


Esquema 10

Procedimiento para preparar la solución de escisión. TFA (81 %), fenol (5 %), Tioanisol (5 %), 1,2-Etanoditiol (2,5 %), agua (3 %), Dimetilsulfuro (2 %), yoduro de amonio (1,5 %). A la resina se le añadió la solución de escisión y se dejó en agitación en un agitador durante aproximadamente 3 h. La resina se filtró a través de algodón y se lavó con TFA. Después, el filtrado se concentró al vacío y se trituró con éter frío para dar un sólido de color blanco, que después se purificó por HPLC preparativa para dar el producto deseado. LCMS (M/3): 1155; Rendimiento: 46 mg (1,84 %).

#### Ejemplo 3: Síntesis de la Diana C

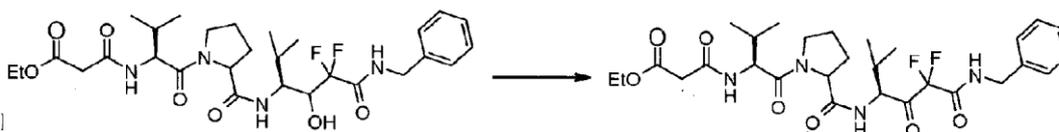
##### Fase 6



Esquema 11

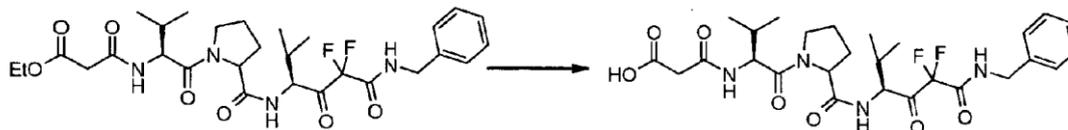
A una solución de la fase 5 (3,2 g, 6,6 mmol) en THF seco (50 ml) a temperatura ambiente se le añadió mono etil malonato (0,7 ml, 6 mmol) seguido de HOBT (1,63 g, 12 mmol), EDCI (1,27 g, 6,6 mmol) y N-metil morfolina (1,6 ml, 15 mmol). Después, la mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 4 h. Después, la mezcla de reacción se inactivó con agua y se evaporó a presión reducida para retirar el THF. Después, la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró para dar el producto en bruto que después se purificó por HPLC preparativa (0,98 g). Tr HPLC: 6,44; LCMS (M+1): 596; Rendimiento: 25 % después de prep.

##### Fase 7



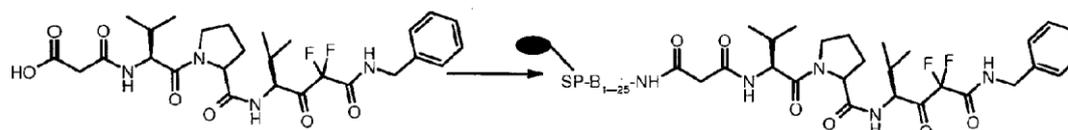
Esquema 12

Se añadió ácido trifluoroacético (0,45 ml, 5,7 mmol) a una solución agitada de la fase 6 (0,86 g, 1,45 mmol) y peryodinano de Dess-Martin (2,46 g, 5,7 mmol) en diclorometano seco (30 ml). La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió acetato de etilo (50 ml) y la mezcla se lavó con tiosulfato sódico saturado (20 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (20 ml) y salmuera (20 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró, y el disolvente se retiró al vacío para dar el producto deseado (0,74 g). Tr HPLC: 7,05; LCMS (M+1): 595; Rendimiento: 86 %.

**Fase 8****Esquema 13**

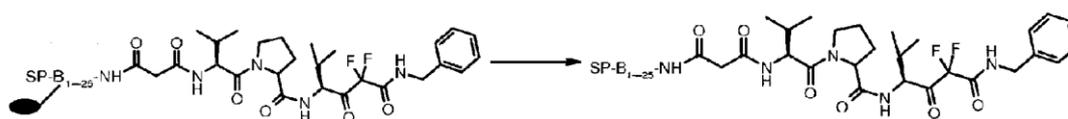
- 5 Una solución de la fase 7 (0,75 g, 1,2 mmol) en 1:1 de metanol-agua (5 ml:5 ml) se trató con NaOH 1 N (0,060 g, 1,5 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró para retirar el metanol, se acidificó con HCl 1 N (hasta pH 2) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para dar el producto deseado, que después se purificó por HPLC preparativa (0,4 g). Tr HPLC: 6,01-6,51; LCMS (M+1): 567; Rendimiento: 56 % después de prep.

10

**Fase 9****Esquema 14**

- 15 Una resina Wang (2 g, 0,08 mmol) se trató con piperidina al 20 % en DMF (20 ml) y se agitó durante aproximadamente una hora. Después, se lavó con DMF (2 veces), DCM (3 veces) y después se secó a presión reducida. Se realizó una prueba Kaiser sobre la resina para garantizar la eliminación completa del grupo F-moc. Después, se usó para acoplamiento con la fase ., A una solución de la resina (2 g, 0,08 mmol) en DMF (5 ml) se le añadió una solución del ácido anterior (0,1 g, 0,16 mmol) en DMF (3 ml), seguido de la adición de PyBoP (0,83 g, 0,16 mmol) y N-metil morfolina (0,2 ml, 0,2 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación en un agitador durante aproximadamente 3 h. La solución se decantó, se añadieron de nuevo lotes frescos de los reactivos anteriores y se dejó adicionalmente en agitación durante 3 h. Este proceso se repitió aproximadamente 4 veces. La solución se decantó, y la resina se lavó con DMF (3 veces), DCM (3 veces) y se secó a presión reducida. Se realizó una prueba Kaiser sobre la resina para garantizar que el acoplamiento se ha producido.

25

**Fase 10****Esquema 15**

- 30 Procedimiento para preparar la solución de escisión. TFA (81 %), fenol (5 %), Tioanisol (5 %), 1,2-Etanoditiol (2,5 %), agua (3 %), Dimetilsulfuro (2 %), yoduro de amonio (1,5 %). A la resina se le añadió la solución de escisión (25 ml) y se dejó en agitación en un agitador durante aproximadamente 3 h. La resina se filtró a través de algodón y se lavó con TFA. Después, el filtrado se concentró a presión reducida y se trituró con éter frío para dar un sólido de color blanco, que después se purificó por HPLC preparativa para dar el producto deseado (0,080 g). LCMS (M/3): 1160; Rendimiento: 2,4 %.

35

**Ejemplo 4: Lavado Broncoalveolar de los Pulmones tras Exposición a HNE**

- 40 Se usaron un total de 14 animales en este estudio. Los ratones anestesiados recibieron 0,1 ml de solución administrada por un catéter de punta roma en la abertura de la traquea y se dejó que los animales aspirasen la solución en sus pulmones. Todos los animales se expusieron al tratamiento durante 2 horas y se anestesiaron de nuevo. El lavado broncoalveolar de los pulmones se realizó como se describe a continuación. Los cuatro animales a los que se les dio HNE (el agente causante de enfisema) tenían un nivel de células sanguíneas pulmonares medio en peso de 0,053 gramos. La administración de la Diana 2 (un potente inhibidor de HNE desarrollado por Zeneca en principio de 1990) con la HNE, redujo el nivel sanguíneo medio en los pulmones en un 34 % hasta 0,035 gramos. La administración de la Diana C (la molécula de Zeneca unida covalentemente al extremo N de los primeros 25

45

residuos del péptido B tensioactivo humano) con la HNE redujo el nivel sanguíneo medio en los pulmones en un 87 % hasta 0,007 gramos.

5 Se usó un conjunto de animales para determinar la concentración óptima de HNE para el estudio. Una muestra inicial expuesta a 50 microgramos de HNE no sobrevivió a la exposición. La cantidad de HNE se redujo a 40 microgramos para mantener un efecto perjudicial máximo pero al que se pueda sobrevivir. Los animales expuestos a 40 microgramos de HNE pudieron sobrevivir lo suficiente para realizar el estudio completo. Todos los animales restantes en el estudio completo se expusieron a 40 microgramos de HNE.

10 La Diana 2 (la molécula de Zeneca) se administró en un exceso molar de 70 veces con respecto a HNE. En los estudios cinéticos, la Diana 2 tiene una afinidad 2 nM. La Diana C (la molécula de Zeneca unida covalentemente a los primeros 25 residuos del péptido tensioactivo humano B) pierde aproximadamente dos órdenes de magnitud de potencia en comparación con la Diana 2 en los estudios cinéticos y, por lo tanto, la Diana C tiene aproximadamente una afinidad 200 nM para HNE. Por consiguiente, la Diana C se administró a los animales en un exceso molar de 15 100 veces con respecto a HNE en estos estudios.

El lavado broncoalveolar (BAL) se realiza 1) anestesiando los animales; 2) realizando una traqueotomía en los animales y abriendo el tórax y separando las costillas para permitir una expansión pulmonar completa; 3) presurizando 1 ml de solución en tampón PBS en los pulmones a través del catéter de la traqueotomía; 4) aspirando la solución de los pulmones; 5) centrifugando la solución recuperada para separar la fracción de glóbulos rojos de la fracción líquida; y 6) pesando la fracción de glóbulos rojos.

Tabla 2: Mediciones del Nivel Células Sanguíneas de Pulmón

Tratamiento	Grupo de ratones 1	Grupo de ratones 2	Grupo de ratones 3	Grupo de ratones 4	Media de los Grupos
PBS/DMSO	0	0	0	No realizado	0
HNE/DMSO	0,09 g	0,049 g	0,021 g	0,051 g	0,053 g
Diana 2+HNE	0,03 g	0,041 g	0,03 g	0,039 g	0,035 g
Diana C+HNE	0	0,007 g	0,014 g	No realizado	0,007 g

25 **EQUIVALENTES**

La invención puede realizarse en otras formas específicas sin apartarse del espíritu o las características esenciales de la misma. Por lo tanto, las realizaciones anteriores se considerarán en todos los aspectos ilustrativas en lugar de limitantes en la invención descrita en el presente documento. Por lo tanto, el de la invención se indica por las reivindicaciones adjuntas en lugar de por la descripción anterior, y todos los cambios que entran dentro del significado o rango de equivalencia de las reivindicaciones pretenden incluirse en la presente.

Tabla 1: Péptidos SP-B humanos ejemplares (truncamientos C-terminal)

Péptidos SP-B humanos	SEQ ID NO
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQLVCRVLVLR	SEQ ID NO: 36
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQLVCRVLVLR	SEQ ID NO: 37
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQLVCRVLVLR	SEQ ID NO: 38
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQLVCRVLV	SEQ ID NO: 39
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQLVCRVL	SEQ ID NO: 40
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQLVCR	SEQ ID NO: 41
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQLVCR	SEQ ID NO: 42
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQLV	SEQ ID NO: 43
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQL	SEQ ID NO: 44
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLPQL	SEQ ID NO: 45
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRMLP	SEQ ID NO: 46
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRML	SEQ ID NO: 47

ES 2 562 806 T3

FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGRM	SEQ ID NO: 48
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLGR	SEQ ID NO: 49
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLLG	SEQ ID NO: 50
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTLL	SEQ ID NO: 51
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDTL	SEQ ID NO: 52
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLDT	SEQ ID NO: 53
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILLD	SEQ ID NO: 54
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VILL	SEQ ID NO: 55
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VII	SEQ ID NO: 56
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS VI	SEQ ID NO: 57
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS V	SEQ ID NO: 58
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYS	SEQ ID NO: 59
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERY	SEQ ID NO: 60
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAER	SEQ ID NO: 61
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAE	SEQ ID NO: 62
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLA	SEQ ID NO: 63
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCL	SEQ ID NO: 64
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQC	SEQ ID NO: 65
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQ	SEQ ID NO: 66
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGIC	SEQ ID NO: 67
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGGI	SEQ ID NO: 68
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAGG	SEQ ID NO: 69
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVAG	SEQ ID NO: 70
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLVA	SEQ ID NO: 71
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPLV	SEQ ID NO: 72
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVPL	SEQ ID NO: 73
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVVP	SEQ ID NO: 74
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRVV	SEQ ID NO: 75
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCRV	SEQ ID NO: 76
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVCR	SEQ ID NO: 77
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQVC	SEQ ID NO: 78
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQV	SEQ ID NO: 79
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVAQ	SEQ ID NO: 80
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAVA	SEQ ID NO: 81
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVAV	SEQ ID NO: 82
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAVA	SEQ ID NO: 83
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALAV	SEQ ID NO: 84
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGALA	SEQ ID NO: 85
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGAL	SEQ ID NO: 86
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKGA	SEQ ID NO: 87
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKG	SEQ ID NO: 88
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPK	SEQ ID NO: 89
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIP	SEQ ID NO: 90
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMI	SEQ ID NO: 91
FPIPLPYCWLCRALIKRIQAM	SEQ ID NO: 92
FPIPLPYCWLCRALIKRIQA	SEQ ID NO: 93

## REIVINDICACIONES

1. Una composición de fármaco formulada para su inhalación, que comprende:
- 5 un agente tensioactivo **caracterizado por** una afinidad para la interfaz alveolar/gaseosa humana, comprendiendo dicho agente tensioactivo al menos una porción de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero o un imitador del mismo sustancialmente no inmunógeno en seres humanos; y, unida covalentemente a dicho agente,
- 10 un fármaco pulmonar activo que se une a una diana unida a una superficie extracelular o celular accesible para la interfaz pulmonar/gaseosa, en la que el fármaco pulmonar activo se selecciona entre: un inhibidor de la elastasa, un corticosteroide, un broncodilatador, un antibiótico, y un agente quimioterapéutico.
2. La composición de la reivindicación 1, en la que el agente comprende un polipéptido tensioactivo pulmonar humano, un tensioactivo pulmonar no humano, por ejemplo un polipéptido tensioactivo pulmonar porcino o bovino, o peptidomimético que comprende mutante de delección o sustitución aminoacídica de un polipéptido tensioactivo pulmonar mamífero, o una fracción del mismo.
3. La composición de la reivindicación 1, en la que el agente comprende una porción sintética o producida de forma recombinante del componente polipeptídico de un resto tensioactivo pulmonar mamífero.
- 20 4. La composición de la reivindicación 3, en la que el agente comprende al menos una porción de SP-A, SP-B, SP-C, SP-D, o una mezcla de los mismos, por ejemplo el fragmento de 25 aminoácidos del extremo N de SP-B.
- 25 5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente un lípido.
6. La composición de la reivindicación 1, en la que dicho agente comprende, o se obtiene a partir de, un tensioactivo pulmonar mamífero recogido de los pulmones de un mamífero.
- 30 7. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que el fármaco pulmonar activo es un corticosteroide seleccionado entre: betametasona, budesonida, cortisona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona y triamcinolona.
- 35 8. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que fármaco pulmonar activo es un broncodilatador seleccionado entre: salbutamol, albuterol, terbutalina, fenoterol, bromhidrato de fenoterol, rimiterol, reproterol, pirbuterol, isoprenalina, orciprenalina, bitolterol, broxaterol, salmeterol, xinafoato de salmeterol, formoterol, fumarato de formoterol, clenbuterol, procateterol, ipratropio, bromuro de ipratropio, tiotropio, bromuro de tiotropio monohidrato, aminofilina, iorciprenalina, oxtrifilina, sulfato de terbutalina y teofilina.
- 40 9. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que el fármaco pulmonar activo es un antibiótico seleccionado entre: amoxicilina, ampicilina, bacampicilina, carbenicilina, carbenicilina indanilo, mezlocilina, piperacilina, ticarcilina, antoxiciclina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactama, bencilpenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, fenoximetilpenicilina, carbenicilina, meticilina, oxacilina, penicilina G (benzatina, potasio, procaína), penicilina V, propicilina, epicilina, ciclacilina, piperacilina y tazobactama, ticarcilina y ácido clavulánico, nafcilina, cefadroxilo, cefazolina, cefalexina, cefalotina, cefapirina, cefradina, cefaclor, cefamandol, cefoicida, ceforanida, cefoxitina, cefprozilo, ceftmetazol, cefuroxima, cefuoxima axetilo, loracarbef, cefdinir, ceftibuteno, cefditoren, cefatamet, cefoperazona, cefixima, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, azitromicina, claritromicina, clindamicina, diritromicina, eritromicina, lincomicina, telitromicina, troleandomicina, aztreonam, doripenem, imipenem-cilastatina, meropenem, amikacina, sulfato de amikacina, gentamicina, sulfato de genatmicina, kanamicina, metilmicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, paromicina, dalbavancina, oritavancina, telavancina, teicoplanina, vancomicina, demeclociclina, doxiciclina, metaciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, cloretetraciclina, linezolid, quinoprisitina y dalfopristina, mafenida, sulfadiazina de plata, sulfacetamida, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfasalazina, sulfanilamida, sulfisoxazol, trimetoprima-sulfametoxazol, sulfametizol, bacitracina, cloramfenicol, colistimetato, fosfomicina, isoniazida, metenamina, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoína, nitrofurazona, novobiocina, polimixina B, espectinomina, trimetoprima, colistina, cicloserina, capreomicina, pirazinamida, ácido para-aminosalicílico, etilsuccinato de eritromicina más sulfisoxazol, y tigeciclina.
- 50 10. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que el fármaco pulmonar activo es un agente quimioterapéutico seleccionado entre: agentes alquilantes, antiestrógenos, aclarubicina, actinomicina D, aldesleukina, aleantuzumab, alitretinoína, allopurinol, altretamina, amifostina, anastrozol, asparaginasa, bexaroteno, bisantreno, bleomicina, busulfan, BCNU (carmustina), calusterona, capecitabina, carboplatino, celecoxib, clorambucilo, cisplatino, cladribina, ciclofosfamida, inhibidor de la ciclooxigenasa-2, citarabina, CCNU (lomustina), dacarbazina, daunorrubicina, daunomicina, denileucina difitox, dextrazoxano, diaziquona, docetaxel, doxorubicina, epirubicina, epoetina alfa, esorrubicina, estramustina, etopósido (VP-16), exemestano, Filgrastim, floxuridina,
- 60 65

- 5 fludarabina, 5-fluorouracilo, fulvestrant, galactitol, gemcitabina, gemtuzumab, acetato de goserelina, hidroxiurea, ibrutumomab tiuxetan, idarrubicina, ifosfamida, imatinib mesilato, interferón alfa, interferón gamma, irinotecano, iroplatino, letrozol, leucovorina, levamisol, lonidamina, acetato de megrestrol, melfalan, mercaptopurina, mesna, metotrexato, metoxsaleno, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, mitoguazona, fenpropionato de nandrolona,
- 10 Nofetumomab, mostaza nitrogenada, oprelvekina, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, pegademasa, pegaspargasa, pegfilgrastim, pentostatina, pipobroman, plicamicina, porfímero sódico, procarbazina, progestinas, prednimustina, PCNU, quinacrina, rasburicasa, rituximab, sargramostim, estreptozocina, talco, tamoxifeno, temozolomida, tenipósido (VM-26), testolactona, tioguanina, tiotepa, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, terrinoína, mostaza de uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina y zoledronato.
11. La composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores dispuesta en un dispositivo de inhalación para su uso por un paciente humano.
- 15 12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para su uso en el tratamiento por inhalación de una enfermedad o afección del pulmón humano.
13. La composición de la reivindicación 12, en la que dicha composición se administra una vez al día, cada dos días, cada tres días, cada cinco días, o semanalmente.
- 20 14. La composición de la reivindicación 12 o 13, en la que dicha administración reduce la biodisponibilidad sistémica del fármaco con respecto a la administración por inhalación de un fármaco no conjugado.
- 25 15. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en la que dicha administración aumenta el tiempo de residencia del fármaco en el pulmón con respecto a una administración por inhalación de un fármaco no conjugado.

Figura 1

A.

```

1 ccaagcagct ggaggctctg tgtgtgggtc gctgatttct tggagcctga aaagaaagta
61 acacagcagg gatgaggaca gatggtgtga gtcagtgaga gcagcagctg gacccagagc
121 catgtggctg tgccctctgg ccctcaacct catcttgatg gcagcctctg gtgctgtgtg
181 cgaagtgaag gacgtttgtg ttggaagccc tggatcccc ggcactcctg gatcccacgg
241 cctgccaggc agggacggga gagatggtct caaaggagac cctggcctc caggcccat
301 gggccacct ggagaaatgc catgtcctcc tggaaatgat gggctgcctg gagccctgg
361 tatecctgga gagtgtggag agaaggggga gcctggcgag aggggcctc caggcctcc
421 agctcatcta gatgaggagc tccaagccac actccacgac tttagacatc aaatcctgca
481 gacaagggga gccctcagtc tgcagggetc cataatgaca gtaggagaga aggtcttctc
541 cagcaatggg cagtccatca cttttgatgc cttcaggag gcatgtgcca gagcaggcgg
601 ccgcattgct gtccaagga atccagagga aaatgaggcc attgcaagct tcgtgaagaa
661 gtacaacaca tatgcctatg taggcctgac tgagggtccc agccctggag acttccgcta
721 ctccagcggg acccctgtaa actacaccaa ctggtaccga ggggagccc caggctgggg
781 aaaagagcag tgtgtggaga tgtacacaga tggcagtg aatgacagga actgctgta
841 ctcccagctg accatctgtg agttctgaga ggcatttagg ccatgggaca gggaggagcc
901 tctctggcct tcggcctcca tcctgaggct ccacttggtc tgtgagatgc tagaactccc
961 tttcaaca

```

(SEQ ID NO: 1)

B.

```

MWLCPLALNLILMAASGAVCEVKDVCVGSPIPGTPGSHGLPGRDGRDGLKGDPPGPPMGPPG
EMPCPPGNDGLPGAPGIPGECGEKGEPPERGPPGLPAHLDEELQATLHDFRQILQTRGALSLQ
GSIMTVGEKVFSSNGQSITFDALQEACARAGGRIAVPRNPEENEAIASFVKYNTYAYVGLTEG
PSPGDFRYS DGT PVNYTNWYRGEPA GRGKEQCVEMYTDGQW NDRNCLYSRLTICEF

```

(SEQ ID NO: 2)

Figura 2

A.

1 gccatggctg agtcacacct gctgcagtgg ctgctgctgc tgctgcccac gctctgtggc  
61 ccaggcactg ctgcctggac caacctatcc ttggcctgtg cccagggccc tgagttctgg  
121 tgccaaagcc tggagcaagc attgcagtgc agagccctag ggcattgcct acaggaagtc  
181 tggggacatg tgggagccga tgacctatgc caagagtgtg aggacatcgt ccacatcctt  
241 aacaagatgg ccaaggaggc cttttccag gacacgatga ggaagtctct ggagcaggag  
301 tgcaacgtcc tcccctttaa gctgctcatg ccccagtga accaagtgtc tgacgactac  
361 ttcccctgg tcatcgacta ctccagaac cagactgact caaacggcat ctgtatgcac  
421 ctgggctgtg gcaaatcccg gcagccagag ccagagcagg agccagggat gtcagacccc  
481 ctgcccacac ctctgcggga ccctctgcca gacctctgc tggacaagct cgtcctcctt  
541 gtgctgcccg gggccctcca ggcgaggcct gggcctcaca cacaggatct ctccgagcag  
601 caattcccca ttctctctcc ctattgctgg ctctgcaggg ctctgatcaa gcggatccaa  
661 gccatgattc ccaaggggtg gctagctgtg gcagtggccc aggtgtgccc cgtggtaact  
721 ctgggtggcg gcggcatctg ccagtgcctg gctgagcgt actccgtcat ctgctcgac  
781 acgctgctgg gccgcatgct gcccagctg gctgcccgc tcgtctctcg gtgtccatg  
841 gatgacagcg ctggcccacg gtcgcccaga ggagaatggc tgcccgcaga ctctgagtg  
901 cacctctgca tgtccgtgac cccccaggc gggaaacagc gcgagcaggc cataccacag  
961 gcaatgtccc aggcctgtgt tggtcctgg ctggacaggg aaaagtgcaa gcaatbtgtg  
1021 gagcagcaca cgcccagct gctgacctg gtgcccagg gctgggatgc ccacaccac  
1081 tgccaggccc tgggggtgtg tgggacctg tccagccctc tccagtgtat ccacagcccc  
1141 gacctttgat gagaactcag ctgtccagct gcaaaaggaa agccaagtga gacgggctct  
1201 gggaccatgg tgaccaggct ctcccctgc tccctggccc tggccagctg ccaggctgaa  
1261 aagaagcctc agctcccaca ccccccctc caccgccctt cctcggcagt cacttccact  
1321 ggtggaccac gggcccccag cctgtgtctg gcttgtctg tctcagctca accacagtct  
1381 gacaccagag cccacttcca tctctctggt tgtgaggcac agcgaggca gcatctggag  
1441 gagctctgca gctcccacac ctaccacgac ctcccaggc tgggtcagg aaaaaccagc  
1501 cactgcltta caggacaggg ggttgaagct gagccccgc tcacaccac ccccatgcac  
1561 tcaaaagattg gattttacag ctacttgcac ttcaaaatc agaagaataa aaaatgggaa  
1621 catacagaac tctaaaagat agacatcaga aattgttaag ttaagctttt tcaaaaaatc  
1681 agcaattccc cagcgtagtc aagggtggac actgcacgct ctggcatgat gggatggcga  
1741 ccgggcaagc ttctctctc gagatgctct gctgcttgag agctattgct ttgttaagat  
1801 ataaaaaggg gtttcttttt gtcttctgt aaggtggact tccagctttt gattgaaagt  
1861 cctagggtga ttctatttct gctgtgattt atctgctgaa agctcagctg gggttgtgca  
1921 agctagggac ccattcctgt gtaatacaat gctgcaaca atgctaataa agtcctattc  
1981 tcttttatga aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaa

(SEQ ID NO: 3)

B.

MAESHLLQWLLLLLLPTLCGPGTAAWTTSSLACAQGFQEFWCQSLEQALQCRALGHCLQEVWGHVG  
ADDLQCECEDIVHILNKMAKEAIFQDTMRKFLEQECNVLPKLLMPQCNQVLDYFPLVIDYFQ  
NQTDSNGICMHLGLCKSRQPEPEQEPGMSDPLPKPLRDPLPDPLLDKLVLPVLPALQARFGPH  
TQDLSEQQFPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYSVI  
LLDTLLGRMLPQLVCRVLVLRCSMDDSAGPRSPTGEWLPRDSECHLCMSVTTQAGNSSEQAIPQA  
MLQACVGSWLDREKCKQFVEQHTPQLLTLVPRGWAHTTCQALGVCMTSSPLQCIHSPDL

(SEQ ID NO: 4)

C.

FPIPLPYCWLCRALIKRIQAMIPKALAVAVAQVCRVVPLVAGGICQCLAERYSVILDTLLGR  
MLPQLVCRVLVLRCSM

(SEQ ID NO: 5)

Figura 3

A.

1 cttatctcgg cttegtttct ggagggccag gaacaaacag gcttcaaagc caagggcttg  
 61 gctggcacac agggggcttg gtccttcacc tctgtcccct ctccctacgg acacataaa  
 121 gaccctggtc acacctggga gaggaggaga ggagagcata gcacctgcag caagatggat  
 181 gtgggcagca aagaggtcct gatggagagc ccgcccgaact actccgcagc tccccggggc  
 241 cgatttggca ttcccctgctg cccagtgcac ctgaaacgcc ttcttategt ggtgggtggtg  
 301 gtggctctca tegtctgtgt gattgtggga gccctgctca tgggtctcca catgagccag  
 361 aaacacacgg agatggttct ggagatgagc attgggggcg cggaagccca gcaacgcctg  
 421 gccctgagtg agcacctggt taccactgcc acctctcca tcggctccac tggcctcgtg  
 481 gtgtatgact accagcagct gctgatcgcc tacaagccag ccctctggcag ctgctgtac  
 541 atcatgaaga tagctccaga gagcatcccc agtcttgagg ctctcaatag aaaagtccac  
 601 aacttccaga tggaatgctc tctgcaggcc aagcccgcag tgctctagtc taagctgggc  
 661 cagggcagagg gycgagatgc aggetcagca ccctccggag gggacccggc ctctctgggc  
 721 atggccgtga acaccctgtg tggcgaggtg ccgctctact acatctagga cgcctccggt  
 781 gagcagggtc agtgggaagc ccaacgggaa agyaaaagcc ccgggcaaaag ggtcttttgc  
 841 agcttttgcg gacgggcaag aagctgcttc tgcccacacc gcagggaaa accctggaga  
 901 aatgggagct tggggagagg atgggagtg gcagaggtg caccagggg ccggggaact  
 961 cctgccacaa cagaataaag cagcctgatt g

(SEQ ID NO: 6)

B.

MDVGSKEVLMESPPDYSAAPRGRFGIPCCPVHLKRLLIIVVVVLIIVVVIVGALLMGLHMSQKH  
 TEMVLEMSIGAPEAQORLALSEHLVTTATFSIGSTGLVVYDYQQLLIAYKPAPGTCCYIMKIAP  
 ESIPSLEALNRKVHNFQMECSLQAKPAVPTSKLGQAEGRDAGSAPSGGDP AFLGMAVNTLCGEV  
 PLYYI

(SEQ ID NO: 7)

C.

FGIPCCPVHLKRLLIIVVVVLIIVVVIVGALLMGLHMSQKHTEMVLEMSIGAPEAQORLALSEH  
 LVTATATFSIGSTGLVVYDYQQLLIAYKPAPGTCCYIMKIAPESIPSLEALNRKVHNFQMECSLQ  
 AKPAVPTSKLGQAEGRDAGSAPSGGDP AFLGMAVNTLCGEV PLYYI (SEQ ID NO: 8)

Figura 4

A.

```

1 agtttgettg gagctcctgg ggctaacaa aaagaacct gccatgctgc tcttctcct
61 ctctgcactg gtctgtctca cacagcccct gggctacctg gaagcagaaa tgaagaccta
121 ctcccacaga acaatgccc a gtgcttgac cctggtcctg tgtagctcag tggagagtgg
181 cctgcctggt cgcgatggac gggatgggag agagggccct cggggcgaga agggggaccc
241 aggtttgcca ggagctgcag ggcaagcag gatgcctgga caagctggcc cagttgggcc
301 caaaggggac aatggctctg ttggagaacc tggaccaaaag ggagacactg ggccaagtgg
361 acctccagga cctcccggty tgectgggtcc agctggaaga gaaggtcccc tggggaagca
421 ggggaacata ggacctcagg gcaagccagg cccaaaagga gaagctgggc ccaaaggaga
481 agtaggtgcc ccaggcatgc agggctcggc aggggcaaga ggcctcgcag gccctaaggg
541 agagcgaggt gtccctggtg agcgtggagt cctggaaac acaggggcag cagggctgpc
601 tggagccatg ggtcccaggg gaagtccagg tgcagggga cccccggat tgaaggggga
661 caaaggcatt cctggagaca aaggagcaaa gggagaaagt gggcttcag atgttgcttc
721 tctgaggcag caggttgagg ccttacaggg acaagtacag cacctccag ctgctttctc
781 tcagtataag aaagttgagc tcttccaaa tgcccgaagt gtcggggaga agatlllcaa
841 gacagcagge ttgtaaaac catttacgga ggcacagctg ctgtgcacac aggctggtgg
901 acagttggcc tctccagcct ctgocgctga gaatgccc ttgcaacagc tggctgtagc
961 taagaacgag gctgctttcc tgagcatgac tgattccaag acagagggca agttcaccta
1021 ccccacagga gactccctgg tetattccaa ctgggcccc a gggagccca acgatgatgg
1081 cgggtcagag gactgtgtgg agatcttcac caatggcaag tggaatgaca gggcttggtg
1141 agaaaagcgt cttgtggtct gcgagttctg agccaactgg ggtgggtggg scagtgcttg
1201 gcccaggagt ttggccagaa gtcaaggctt agacctcat gctgccaata tctaataaa
1261 aaggtgacca tctgtgccc gaaaaaaaa aaaaaaaaa

```

(SEQ ID NO: 9)

B.

```

MLLFLLSALVLLTQPLGYLEAMKTYSHRTMPSACTLVMCSSVESGLPGRDGRDREGPRGEKG
DPGLPGAAGQAGMPGQAGPVGPKGDNGSVGEPGPKGDTGSPGPPGPPGVPGPAGREGPLGKQGN
IGPQKPKGPKGEAGPKGEVGA PGMQGSAGARGLAGPKGERGVPGERGVPNTGAAGSAGAMGPQ
GSPGARGPPGLKGDKGIPGDKGAKGESGLPDVASLRQQVEALQGQVQHLQAAFSQYKKVELFPN
GQSVGEKIFKTAGFVKPFTEAQLLCTQAGQLASPRSAENAALQQLVVAKNEAFLSMTDSKT
EGKFTYPTGESLVYSNWAPGEPNDDGGSEDCVEIFTNGKWNDRACGEKRLVVCEF

```

(SEQ ID NO: 10)

C.

```

AMKTYSHRT MPSACTLVMC SSVESGLPGR DGRDREGPR GEKGDPLPG AAGQAGMPGQ AGPVGPKGDN
GSVGEPPKPKG DTGSPGPPGP PGVPGPAGRE GPLGKQGNIG PQGKPKGPKGE AGPKGEVGA PGMQGSAGAR
LAGPKGERGV PGERGVPNT GAAGSAGAMG PQGSPARGP PGLKGDKGIP GDKGAKGESG LPDVASLRQQ
VEALQGQVQH LQAAFSQYK VELFPNGQSV GEKIFKTAGF VKPFTEAQLL CTQAGQLAS PRSAENAAL
QQLVVAKNEA AFLSMTDSKT EGKFTYPTGE SLVYSNWAPG EPNDDGGSED CVEIFTNGKWNDRACGEKRL
VVCEF

```

(SEQ ID NO: 11)

Figura 5

A.

1 ggctatggag gcagggagca tgggctgtgt tcgtgcagga ggagctgctg gagcaggcgc  
61 catgctgctg tgctctttga cccttacct cctctggatg ttggctctctg gctcagagtg  
121 cgatgtcaag gaagtttgtc ttggaagccc tggcattcct ggcactcctg gatccccatg  
181 cctgccagga agagatggga gagatggat caaaggagac cctgggccc caggccccc  
241 gggccccct ggaggaatgc caggcctccc tgggctgat gggatgactg gagccccctg  
301 cctccctgga gagcgtggag aaaagggaga gcttggcgag agaggtctc cagggttcc  
361 agcatatcta gatgaagagc tccagggcac actccatgag atcagacac aagtccctgca  
421 gtcacagggc gtccctcgtt tcaggggtc cgtgctggcg gtgggagaga aggtctctc  
481 taccaatggg cagtcagtc attttgatgc cattaagag ttatgtgcca gagtagggtg  
541 acatattgct gcccgagga gtccagagga gaatgaagc attgtgagca tcgtgaagaa  
601 gtacaacact tatgcttacc tgggctggt cgaaggcccc accgctggag acttctatta  
661 cctggatgga gccctgtga attatacaca ttggatccca ggggagccca gggccgggg  
721 taaagagaag tgtgtagaaa tatacacaga tggctcagtg aatgacaaga actgctgca  
781 gtaccgactg gccatctgtg agttctgagc aggcacaaa gccacaggtt ggacacagtc  
841 ctatcttcc ttttagctc catcctggg atccacctg tctatgaatc aggtgctata  
901 attccttctg ggtatcaga attgaagca ctcttgagca ctccactcct gggtggatcc  
961 tgactcctcc ccaatgatca ctaatcagtc tgactcccc agaaccctt ctcagcattg  
1021 cactcttggc agccactcta actttgccc tctgcaagag acagagggtt cttcctcct  
1081 tttcttctcc agttccttta tttatagatg gcaacagtaa ggtcctgaga tgaaggttcc  
1141 ctccacagca ccacactgcc tacttctctg cccccctcta ctctgtctt gcagctcaat  
1201 gcttgcccag cctcatcaag atttagcagt gctgctcaag cacaatgata gatgtacttc  
1261 tgggaaattt cacatgtgtg gagctaagga tacatttggg tttatctatc aacctgagat  
1321 ctgtggggag gcactctgtt aggtctcca tgaagtcaga gggccaggtg gtgctccagc  
1381 atgatggaag ccaacttatt cctagtgatt ggcaggtatt atccacttc ttgagtetta  
1441 ggggtgcaag caacacctct aaggaagatg tcacccccac catagacatt acccaagtac  
1501 ctgctctctg atgaacacat tccccacctc tcagaaatc agtgaggagt tcacgctcct  
1561 tgtcacacca cgttttattg agcacatact atataccaag caccgtgaca tgcacttcta  
1621 agacatatga tttaatcttc acacagtgtc atgggatgag catcatttcc cccaacttcc  
1681 tatacaagga cactgaaatt tagagaagtt aaatgttttg catttttttt ttttaacat  
1741 gaagcaattg gcagaggctg gtttcaaacc catctacctg gacctaaagc ttgtgctcat  
1801 aattacctct cctctcatt gaacagagat gattcacgtg taataaatca tgaatgtgtt  
1861 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
1921 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
1981 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa

(SEQ ID NO: 12)

B.

MLLCSLTLTLWVMSGLECDVKEVCLGSPGIPGTPGSHGLPGRDGRDGIKGDPPGPPMGPPG  
GMPGLPGRDGMTGAPGLPGERGEKPEPGERGPPGFPAYLDEELQGLHEIRHQVLSQGVLRLLQ  
GSVLAVGEKVFSTNGQSVNFDAIKELCARVGGHIAAPRSPRENEAIVSIVKKNYNTYAYLGLVEG  
PTAGDFYYLDGAPVNYTNWYPGEPRGRGKKEKVEIYTDGQWNDKNCLQYRLAICEF

(SEQ ID NO: 13)

Figura 6

A.

```

1 ggtccaggct gtggaggtag catggccaag tcacacctgc ttccatggct tctgctgctg
61 cccataactct gtggtcgggg cactgctgct gcatcacctt attccctggc ctgtgcccag
121 ggcctccgag tctgggtgtca aagctctggag caagcattgc agtgccagag cctagggcac
181 tgctgtagag aagctctgggg acatgtggaa gccgatgacc tgtgcccagga atgtgagaac
241 atctcccggc tctccaccaa gatggccaag gaggccattt tccaggactc agtgccgcaa
301 tttctgggag aggagtggga tgtccttcct ctgaaactgt tggcgcctct gtgtgcccac
361 ctgctgggac cctatttccc tctgatcatt gagcacttcc agagccatat gaacccgaag
421 ttcatctgtc agcacgtggg cctatgcaag cccaggcacc cagagccagg gaaggggcca
481 gagccatggg gccctctgct ggacaagctg gccctcccc tgctgcccag ggtccccag
541 gccaaagcct ggccctcagac acaggacctc tctgagcagc tgttccccat tccatcccc
601 tactgctggc tctgcccggc tctgatcaaa cggatcccag ctgtgattcc caaggggtgt
661 ctggccatga ctgtggccca ggtgtgcccac gtgggtcccc tgctggtggg cggcatctgc
721 cagtgcctgg ttgagcgtca ctccgtcctc ctctgggaca cgtgcttagg cccatgctg
781 ccccagctgg tctgcccggc cgtcctccgg tgcctccagt aggacagcgc tggcccagcc
841 ctccctggcc tgggtccctg gccctgggaaa tggctgccc aagactctga ctgcccagctc
901 tgcattgttg tgaccacca ggcagggaac agcagtgagc aggccacgcc acaggcaatg
961 cggcaggcct gccctgggac ctggctggac aggcataaag gtgagcgggt cgtggaggag
1021 aacgcgcccc ggtgtagac tctgggtgccc agtggctggg atgcccacat gccctgccc
1081 gccctgggga catgtgccc cccgttcagt cctctccagt gtgtccacag ccccacttc
1141 tgatgagaat gcacagccat gccagcctgg aaccagaggc acttccgtcc actttgggag
1201 tgaggggtgg ccaaggcctc gtcttctgga caaggaatgc agatggggct tccggcccag
1261 ggccacctgc acatcccacc agtgccagcc caactctcac cacaccccca gcactgggct
1321 gatgggacct tgtcgtgggc ccccagtcct tctctaagtc ctggcatcaa gaggacagcg
1381 gagggagaat cctgtgctgg cgtcactccc atctccatgt gcatgagatg ctagctttta
1441 caatcactct gctaaccgtt tcacaaaatt aagaattcgg aagaataaaa gtgggaacag
1501 aaagtcccag aaaaagcaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
1561 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

```

(SEQ ID NO: 14)

B.

```

MAKSHLLPWLLLLPILCGPGTAAAITYSLACAQGFQFWQSLEQALQCRALGHCLQEVDVGHVEA
DDLQCQECENISRLLTKMAKEAIFQDSVRKFLEQECVLPKLLAPLKRHLDDTYFPLIIIEHFQS
HMNPKFICQHVGLCKPRHPEPGKGPWPGLLDKLLALPLLPGVPPQAKPGPQTQDLSEQLFPIPI
PYCWL CRTLIKRIQAVIPKGVLAMTVAQVCHVVPLLVGGICQCLVERYSVILLLDTLLGRMLPQL
VGLVLRCSSEDSAGPALPALGSVPGEWLPQSDCQLCMFVTTQAGNSSEQATPQAMRQACLGT
WDRQKCFERFVEENAPRLQTLVSSGWDHMACQALGTCAAPFSPLOQCVHSPHF

```

(SEQ ID NO: 15)

Figura 7

A.

```

1 atggatgtgg gcagcaaaga ggtcttgatg gagagcccgc cggactacac agcagtcctt
61 gggggccggc tctcatccc ttgctgtccc gtgaacatca aacgccttct catcgtggtc
121 gtggttgtgg tcttgttgt cgtggtgac gtagggccc tgcctatggg ccttcacatg
181 agccagaaac atacagagat ggtctagag atgagcatca caggcccaga agcacagcaa
241 cgctggccc tgagtgagcg tgtgggaacc actgccactt tctccattgg ctccactggc
301 actgtggttt atgactacca ggggtcctg attgcctaca agccagcccc cggacctgc
361 tgctacatca tgaagatggc tccgcagaac atcccaagtc tcgaggctct caccagaaaa
421 ttgcagaact tccaggccaa gcccgaagt ccttctcga agctgggcca ggagcagggc
481 catgacgccc gctcagcatt ctctggggac ctggccttc tgggcaggac cgtgagcacc
541 ctgtgtggcg aggtgccct gtactacacc taggactggt cagggcctca ggaagcccca
601 gagggacagc ggagatccag gagcaaaggg tcttgtgac actggcagga agcagatcct
661 gtcgacacca ctgggactgg cctgcagaa atgggactgt gggggaggt gggcagagga
721 gaag
    
```

(SEQ ID NO: 16)

B.

```

MDVGSKEVLMESPPDYTAVPGRRLLIPCCPVNIKRLLIIVVVVVVLLVVVVIVGALLMGLHMSQKH
TEMVLEMSITGPEAQORLALSERVGTTATFSIGSTGTVVYDYQRLLIAYKPAPGTCCYIMKMAP
QNIPSLEALTRKLQNFQAKPQVPSKLGQEQGHDAGSAFSGDLAFLGRTVSTLCGEVPLYT
    
```

(SEQ ID NO: 17)

Figura 8

A.

```

1 aattccgggt gctatagttg ctctctgtag gactgcagac tccagtaeta gctgtgccag
61 agcaacaagt gataggaaac aagccagcat tgtaagagga catgcttctc ctccctctct
121 ccgtgctgct cctgtctaca cagccctgga gatccctggg agcagaaatg aagatctatt
181 cccagaaaaac aatggccaac gctgttaccg ttgtcatytg tagccccccg gaggatgggt
241 tgcttggtcg tgatggacga gatgggagag aaggcccccg gggggagaag ggagatccag
301 gttcaccagg acctgcagga cgagcaggaa tgctggacc agctggccct attgggctga
361 aaggagacaa tggctctgct ggagaacccg gaccaaaagg agacactgga ccacctgggc
421 ctccaggtat gcttgacca gctggaagag agggcccctc agggaagcag gggagcatgg
481 gacctcagg cacaccaggc ccaaaggag acactgggcc caaaggagga gtgggtgcc
541 caggcattca gggctcccca ggccctgcag gtctcaaagg agagagaggt gccctggty
601 agccccgagc ccttgacgt gctggggcac cagggcctgc tggagccata ggtccacagg
661 ggccttcagg tgccaggggc ccccaggac tgaagggaga cagaggtact cctggagaaa
721 gaggagcaaa gggggagagt gggcttgca aggtcaatgc tctcaggcag cgggtgggaa
781 tcttagaggg acaactacaa cggctccaga atgccttctc tcagtataag aaagcagtc
841 tcttccctaa tggccggagt gctggggaga agatctttaa gacggtaggc tctgaaaaaa
901 cgtttcagga tgcccagcag atctgcacac aggcctggag acagttgcc tccccagtt
961 ctggagctga aaacgaggcc ttgactcagc tggccacagc ccagaacaag gctgcttcc
1021 tgagcatgag cgacaccagg aaggagggta ctttcateta ccccacgggg gagccccctg
1081 tctattocaa ctgggcccc caggagccca acaatgatg cygctcagag aactgtgtg
1141 agatctttcc caatggcaag lggaaatgaca aagtctyegg agagcagcgc ctctgatct
1201 gcgagttctg agctcctcct gcacacacac acacacatag tgtgtgtgtt ggggcggtyg
1261 gggtcggggg ggggatggg cagtgccag agctgcatt ttccagtytt tgaataaaat
1321 agtgaccctc tactggccag ggcttctcca cagagccaca ggataaggcc agaggcaggg
1381 ctctatgga atacatccct cagaataaag tttgaaactg gcttcacaca aaaaaaaaa
1441 aaaaaccgga attc
(SEQ ID NO: 18)

```

B.

```

MLLLPLSVLLLLTQPWRSLGAEMKIYSQKTMANACTLVMCSPPEDGLPGRDRDGRGREGPRGEKG
DPGSPGPAGRAGMPGPAGPIGLKGDNGSAGEPGPKGDTGPPGPPGMPGPAGREGPSGKQGSMPG
PGTTPGPKGDTGPKGGVGPAGIQGSPGPAGLKGGERGAPGEPGAPGRAGAPGPAGAIGPQGPSGAR
GPPGLKGDRTPGERGAKGESGLAEVNALRQVRVGILEGQLQRLQNAFSQYKKAMLFFPNGRSVGE
KIFKTVGSEKTFQDAQQICTQAGGQLPSPRSGAENEALTQLATAQNKAAPLSMSDTRKEGTFIY
PTGEPLVYSNWAPQEPNNDGGSENCVEIFPNKWNKVCGEQRLVICEF
(SEQ ID NO: 19)

```

Figura 9

A.

```
1 tggcagtggg agagaaggtc ttctccacca atgggcagtc agtcgctttt gatgtcatta
61 gagagtgtg tgccagagca ggtggacgca tcgctgcccc aaggagtcca gaggagaatg
121 aggccattgc aagcattgtg aagaacaca acacttatgc ttacctggc ctggttgagg
181 gcccactgc tggagacttc ttctacttgg atggaacccc tgtgaattac accaactggt
241 acccagggga acccaggggt cggggcaaag agaagtgtgt ggagatgtac acagatggcc
301 agtggaatga caggaactgc cagcagtaac gactggccat atgtgagttt tga
(SEQ ID NO: 20)
```

B.

```
AVGEKVFSTNGQSVAFDVIRELCARAGGRIAAPRSPEENEAIASIVKKHNTYAYLGLVEGPTAG
DFFYLDGTFVNYTNWYPGEPRGRGKEKCVEMYTDGQWDRNCQQYRLAICEF
(SEQ ID NO: 21)
```

Figura 10

A.

```
1 ctttccgctg gtcggtgac acttccagag ccaaatgaac ctgaaggcca tctgcaagca
61 cttgggctg tgcaaacctg agcatccaga gccaggccag gggccagagc tgacaggctc
121 tctgctggac aagctggccc tccccctgct gcccgagge ctccaggcga ggctyggcc
181 tcagacacag gatctctcca agcagaagtt cccattcct cttcccttct gctggctctg
241 cagg
(SEQ ID NO: 22)
```

B.

```
FPLVVDHFQSQMNLKAICKHLGLCKPEHPEPGQGPPELTGSLLDKLLPLLPAGLQARPGPQTQD
LSKQKFPPIPLPFCWLCR
(SEQ ID NO: 23)
```

Figura 11

A.

```

1 ctctccctcc tgggtcatat aagaccctgg tcacacttgg ggatgagcag gggaaagtgc
61 ctacagcaag atggatgtag gcagcaaaga agtcctgatg gagagcccgc cggactactc
121 agcagtccca gggggccggc tccgcatccc ctgctgtcct gtgaacctca aacgccttct
181 tgtcgtggtc gtgggtggtyg ttcttgtcgt cgtgggtgatt gtaggggcc cagctcatggg
241 tcttcacatg agccagaaac atactgagat ggtcctagag atgagcctcg cagggccaga
301 agcccagcaa cgctgggcc tgagtggagca tgtgggaacc actgccacct totcattgg
361 ctctagtggc aatgtggtct atgactacca gcggctcctg attgctaca agccagcccc
421 gggaacctgc tgctatgtca tgaagatgtc tccgcagagt atgccgagtc ttgaggctct
481 caccaaaaaa ttccagaact tccaggccaa gccctcgagc cctacctcta agctgggcca
541 ggaggaggcg cgtgtcgtg gctcagcacc ctccggggac ctggccttcc tgggcagcac
601 catgagcacc ctgtgtggcg aagtgccctt ctgttacatc taggaaacat cagggcctca
661 ggaagcccca agaggacagc aaagatccag gagcaaagag tcttgtgcag actcacagga
721 agccgcttct gggacaccac ggggactggc cctggagaaa tgggagctgt ggggagaggt
781 gggcagagga gaagcagctg ttaggggcc gggggcttct accaccaag aataaagcag
841 cctgattgaa aaaaaaaaa aaaaaaa

```

(SEQ ID NO: 24)

B.

```

MDVGSKEVLMESEPPDYSAVPGGRLRI PCCPVNLKRLLVVVVVVVLVVVVIVGALLMGLHMSQKH
TEMVLEMESLAGPEAQQLALSEHVGTATFSIGSSGNVVDYQRLLIAYKPAPGTCCYVMKMSF
QSMPSLEALTKKFQNFQAKPSTPTSKLGOEEGRVAGSAPSGDLAFLGSTMSTLCGEVPLLYI

```

(SEQ ID NO: 25)

Figura 12

A.

```

1 cgagtttgcc tggagattct gagctctaga ggacgcaact gacatgcttc tctccctct
61 ctccgtgctg atcctgctca cacagccccc gaggtcactg ggagcagaaa tgaagacctt
121 ttcccagaga gcagtggcca acgcctgcgc cctgggtcatg tgtagcccca tggagaatgg
181 cctgcctggg cgtgatggtc gggatgggag agagggccct cggggcgaga agggggatcc
241 aggtttgcca ggagctgtag ggcgagcggg gatgcctgga ctggctggcc cagttggggc
301 caaaggggac aacggctcta ctggagaacc cggagcaaaag ggagacattg gaccatgcgg
361 gcctccagga cctccaggtt tacctgggtcc agccggaaaa gaaggctcct cagggcagca
421 ggggaacata ggacctccag gcacaccagg ccccaaagga gagactgggc ccaaaggaga
481 agtgggtgcc ctgggcatgc agggctctac aggggcaaga ggcctgcag gtcttaaaag
541 agagagaaag gccccggtg acgtggagc cctggaaagt gctggggcag cagggcctgc
601 tggagccacg ggcctcagg gcccttcagg tgcaggggc cccccaggac tgaaggggga
661 cagaggtcct cctggagaaa gaggagccaa gggagagagt ggactcccag gcatcactgc
721 tctgaggcaa caggtggaga ccttacaggg gcaggtacaa gcctccaga aggccttctc
781 tcaqtataag aaagtggagc tcttcccaa tggccgagt gtcggggaga agatcttcaa
841 gacgggaggc tttgaaaaga ctttccagg tctcagcag gtatgcacac aggcggggg
901 acagatggcc tccccagct ctgagactga gaacgaggcc ttgagccagc tggtcacagc
961 tcagaataag getgetttcc tgagcatgac tgacatcaag acggagggca atttcaccta
1021 cccccgggg gagccctgg tctatgcaa ctgggcccct ggggagccca acaacaatgg
1081 tggcagcagc ggagcagaga actgtgtgga gatctttccc aatggcaagt ggaatgacaa
1141 ggcctgcgga gaactgcgcc tctgatctg cgagttctga gccctgggg agggaggggc
1201 ggtgtccaga gctgtgtgct accaacgtcc caataaatag gtgacctct gctggccagg
1261 gottctccac agagccgtgg gacgagcca gaaggtaggg agcctatgga acgcctcct
1321 cagaataaag tacgaaactg gcctcacaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
1381 aaaaa

```

(SEQ ID NO: 26)

B.

```

MLLLPLSVLILLTQPPRSLGAEMKTYSQRAVANACALVMCSPMENGLPGRDGRDGRGREGPRGEKG
DPGLPGAVGRAGMPGLAGPVGPKGDNGSTGEPGAKGDIGPCPPPGPIPGPAGKEGPGSQQGN
IGPPGTPGPKGETGPKGEVGLGMQGSTGARGPAGLKGGERGAPGERGAPGSAGAAGPAGATGPQ
GPSGARGPPGLKGDGPPGERGAKGESGLPGITALRQQVETLQGVVQLQKAFSQQYKVFELFPN
GRGVGEKIFKTGGFEKTFQDAQVCTQAGGQMASPRSETENEALSQLVTAQNKAFLSMTDIKT
EGNFTYPTGEPLVYANWAPGEPNNNGSSGAENCVEIFPNGKWNKACGELRLVICEF

```

(SEQ ID NO: 27)

Figura 13

A.

1 agcatgggct gtgttcgtgc aggaggagcc gctggagcag gcgccatgct gctgtgctct  
61 ttgaccctta tgctcctctg gatgggtggct tctggcctcg agtgcgacac aaaggaagtt  
121 tgtcttggaa gccctggcat tcctggcact cccggatccc atggcctgcc aggaagagat  
181 gggagagatg gtatcaaagg agaccctggg cctccaggcc ccatgggcc ccctggagga  
241 atgccaggcc tccctgggcg tgatgggatg actggagccc ctggcctccc tggagaacgt  
301 ggagaaaagg gagagcctgg cgagagaggt cctccagggt tccagcgta tctagatgaa  
361 gagctccagg gcacactcca tgagatcaga catcaagtec tgcagtcaca gggcgtcctc  
421 attttgcagg ggtccatgct ggaagtggga gagaaggctc tctctacca tgggcagtca  
481 ctcaattttg atgccattaa agagttatgt gccagagcag gtggacacat cgctgcccc  
541 aggagtccgg aggagaatga ggccattacc agcatcgtga agaagcaca cacttatgct  
601 tacctggggc tggetgaagg cccaccgct ggagacttct attacctgga tggagcccct  
661 gtgaattata ccaactggta cccaggggag cccaggggcc ggggtaaaga gaagtgtgta  
721 gagatataca cagatggtca gtggaatgac aagaactgcc tgcagtaccg actggccatc  
781 tgtgagttct gagcaggcac caaagccaca ggatggacag agtcctatct ttcctttcag  
841 cctccatcct gggaatccac ctggtctatg gatcagggtgc tataattcct ttgtggctat  
901 cagaagtgaa ggcactcttg atcactccac tcctgggtgg atcctaactc ctcccfaatg  
961 atcactaatc agtctgactc cccagaacc ccttctcage attgactct tggcagccac  
1021 tctaactttg cccttctgca agagacagag gtttctttcc tctccttctt gtcagttcc  
1081 tttatttata gatggcaaca gtaaggtcct gagatgaagg ttcctccat agcaccacac  
1141 tgggtgcctg ctctctggcc cctctactc tgtctttgca gctcactgct tgcccagcct  
1201 catcaagatt tagcagtct gctcaagcac aatgataggt ggacttctgg gaaatttccac  
1261 acatgtggag ctaaggatac atttgggttt atctatcaac ctgagatcta tggggaggca  
1321 tcttgtagg ctctccatga agtcagagg tcagggtggtg cccagcatg atggaggcca  
1381 atttattcct agtgattggc aggtattatc cacttctctg agtcttgggg tgtcagccag  
1441 ggcctctaag gaagatctta cccccaccg agacattacc caagtaactg cctgctgatg  
1501 aacacattcc ccacctctc agaactcagt gaggagtcca caccactgt cacaccacca  
1561 tttattgagc acatactata caccaagcac cttgacatgc acttctaaaa catettatgt  
1621 gatttaatct tcacacagtg tcatgggatg agcattattt tcccctatct tttatataac  
1681 aacgctgaaa tttagagaag ttaaagtgtt tgagtttctt ttttaaaaca tgaagcaatt  
1741 ggcagaggct ggtttcaaac tcactacct ggacctgaag cttgtgctca taaccacccc  
1801 acctcactga acagagatga ttcaagtgtg ataaatcatg actgtgttaa aaaaaaaaaa  
1861 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

(SEQ ID NO: 28)

B.

MLLCSLTLMLLWMVASGLECDTKEVCLGSPGIPGTPGSHGLPGR  
DGRDGIKGDPPGPMGPPGMPGLPGRDGMTGAPGLPGERGKGEPPERGPPGFPAY  
LDEELQGTLEIRHQVLQSQGVLLIQSMLEVGEKVFSTNGQSLNFD AIKELCARAGG  
HIAAPRSPEENEAITSIKKHNTYAYLGLAEGPTAGDFYYLDGAPVNYTNWYPGEPRG  
RGKEKCV E IYTDGQWNDKNCLQYRLAICEF

(SEQ ID NO: 29)

Figura 14

A.

```

1 gccaagtcac gectgctgcc gtggctgctg ctgctgctgc ccatgctctg tggctctggc
61 tctgcagctg tggggaccac ctactccctg acctgtgccc agggccccac attctgggtc
121 caaagtcttg agcaagcttt gcagtgcaga gccttagggc actgcctgca ggaagtcttg
181 ggacatgctg aagccgatga cctgtgccag gaatgtgaga acatctcccg catctccacc
241 aagatggcca aggaggccat ttccaggac acagtgcgca aattcctgga gcaggagtgc
301 gatgtctctc cgtgaaact cttgggtccc cagtgtgcc acctgctgga cactacttcc
361 cctctgatca ttgaccactt ccagagccag atgaaccgca agttcalctg tcagcatgtg
421 ggctatgca agcccaggca ccagagcaca gggaaggggc cagagccatg gggctctctg
481 ctggacaaga tggccctccc cctgctgcca ggggcccctcc aggccaaagcc tgggctccag
541 acacaggacc tctcccagca ggggttccc atccctctcc ccttctgctg gctctgccgg
601 actctgatca aacgaatcca ggtgtgatt cccaaggggt tactggccat gactgtggcc
661 caggtgtgcc acgtgtccc cctgctgctg ggcggcatct gccagtccct ggttgagctc
721 tactctgtca tctcctgga cacgctgcta ggcgcatgc tgcctccagct ggtctggggc
781 ctctctctcc ggtgtcccag cgaggacagc gctggcccag cctcctctgc cctggggctc
841 ctgctctggg aatggctgcc acaagactct gactgcccag tctgcatgtt tgtgaccact
901 caggcagggg acagcagtga gcaggccatg ccacaggcaa tgcgcccagg ctgctctggc
961 acctggctgg acaggcaaaa gtgtgagcag tttgtggagg agcatgccc ccgctacag
1021 actctggtgt ccagcggctg gcatgcccac atggcctgccc aggcctctggg gacatgtgctg
1081 actccgttca gtctctcca gtgtatccac agccccact totgatgaga acgcacagcc
1141 atggcaggtc gaactcaagg ctctgaggg ccccggcagc accatctega ctgtctctc
1201 tcaaacccgc tcacctctct gcccagaatc cccatggcgt tcagtcccag gcccgctcc
1261 cagcttctg gcctccccc agcccagagg gaagctccc tgcctgacca tggctttccc
1321 ctccacagacc acctctgca tgcactgac ctcagtacca aatgtgcttg caccagccc
1381 tgccttctct gaaactcagg ggacaccaga cattgctccc caaagatgcc aggaactctc
1441 ccctgcctg actcctccta cctgagactc ctccctgtct cctcaatgt cactgggtca
1501 gaggtgacct cttaggacag agtgggggtc agaggcagac tccatgcccag gtgctccgg
1561 agagggaagc gccctgaga agagacctgg caacttcaca gttctgtcca gagcaagccc
1621 ccaacatgaa ggtcatgtat tcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

(SEQ ID NO: 30)

B.

```

AKSRLLPWLLLLLLPMLCGLGSAAVGTTYSLTCAQGPTFWCQSLEQALQCRALGHCLQEVWGHA
ADDLCQECENISRILTKMAKEAIFQDITVRKFLEQECVDLPLKLLVLPQCRHLIDTYFPLIIDHFQ
SQMNPKFICQHVGLCKPRHPEPGKGPEPWGPLLDDKMALPLLPALQAKPGPQTQDLSQQRFP
LPFCWLCRTLIKRIQAVIPKGVLAMTVAQVCHVVPLLVGICQCLVERYSVILLDTLLGRMLPQ
LVCGLVLRCSSEDSAGPALPALGSLPGEWLPQDSECQLCMFVTTQAGNSSEQAMPQAMRQACLG
TWLDRQKCEQFVEEHAPRLQTLVSSGWDHMACQALGTATPFSPLQCIHSPHF

```

(SEQ ID NO: 31)

Figura 15

A.  
 1 gtctacagca agatggatgt gggcagcaaa gaggtcttga tggagagccc gccggactac  
 61 tcagcagtcc ccgggggccc gctccgcata cctgctgtc ccgtgaacat caaacgcctt  
 121 ctcatcgttg ttgtggttgt ggtccttgtc gtcgtggtga tcgtaggagc cctgctcatg  
 181 ggtcttcaca tgagccagaa acatacagag atggttctag agatgagcat cgcaggcccc  
 241 gaagcacagc aacgcctggc cctgagtgag cgtgtgggaa ccaactgccac tttctccatc  
 301 ggctccactg gcactgtggt glatgactac cagcggctcc tgattgccta caagccagcc  
 361 cccggaacct gctgctacat tatgaagggtg gctccgcaga gcacccaag tctcgaggct  
 421 ctcaactagaa aattgccgaa ctccagggc aagccccag tgcttctctc gaagctgggc  
 481 caggagcagg gccgtgacgc cggctcagca ttctctgggg acctggcctt cctgggcagg  
 541 accgtgagca cctgtgtgg cgaggtgccc ctgtactaca cttaggactg gtcagggcct  
 601 caggaagccc caaagggaca gtggagatcc aggagcaaag ggtcttgtgc agattggcag  
 661 gaagtggata ctgtcgacac cactgggact ggcctggag aaatgggagc tgtggggaga  
 721 ggtgggcaga ggagaagcag ttcttagggc ccaagggggc tctaccacc aaagattaaa  
 781 gcatcctgat tgcaaaaaa aaaaaaaa  
 (SEQ ID NO: 32)

B.  
 MDVGSKEVLMESPPDYSAVPGGRLRIPCCPVNIKRLLI VVVVVV L VVVVIVGALLMGLHMSQKH  
 TEMVLEMSTIAGPEAQRLALSERVGTTFATFSIGSTGTVVYDYQRLLIAYKPAPGTCCYIMKVAP  
 QSIPSLEALTRKLPNFQAKPPVPSSKLGQEQRDAGSAFSGDLAFLGRTVSTLCGEVPLYTT  
 (SEQ ID NO: 33)

Figura 16

A.  
 1 ttccctgatg gccggagtgt cgggaagaag atctttaaga cggcaggctc tgaaaaaacg  
 61 tttcaggatg ccagcagggt ctgcacacag gctggaggac agctgccctc cccacgttct  
 121 gcagctgaga atgaggcttt gactcagctg gccacagccc agaacaagac tgctttcctg  
 181 agcatgacg ataccaggaa ggagggact ttcatctacc ccacggggga gccctggtc  
 241 tattccaact gggccccca ggagcccaac aatgatggcg gctcagagaa ctgtgtggag  
 301 atct  
 (SEQ ID NO: 34)

B.  
 FPDGRSVGKKIFKTAGSEKTFQDAQVCTQAGGQLPSPRSAANEAL TQLATAQNKTAFLSMTD  
 TRKEGTFIYPTGEPLVYSNWAPQEPNNDGGSENCVEI  
 (SEQ ID NO: 35)

Figura 17

Residuos SP-B 1-25

H—Phe—Pro—Ile—Pro—Leu—Pro—Tyr—Cys—Trp—Leu—Cys—Arg—Ala—Leu—Ile—Lys—Arg—Ile—Gln—Ala—Met—Ile—Pro—Lys—Gly—OH

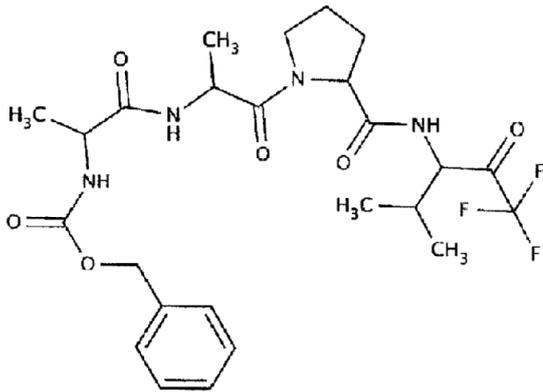
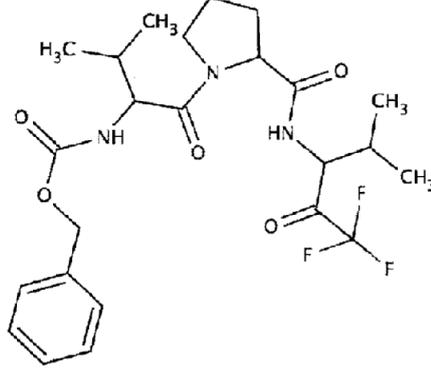
ID	Molécula	Referencia
1		5-2
2		5-3

Figura 17 Cont.

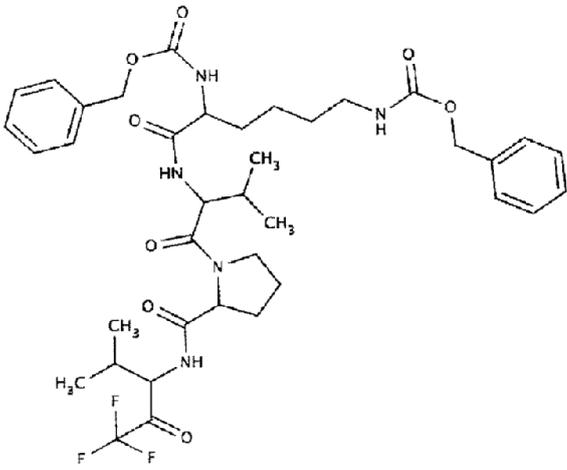
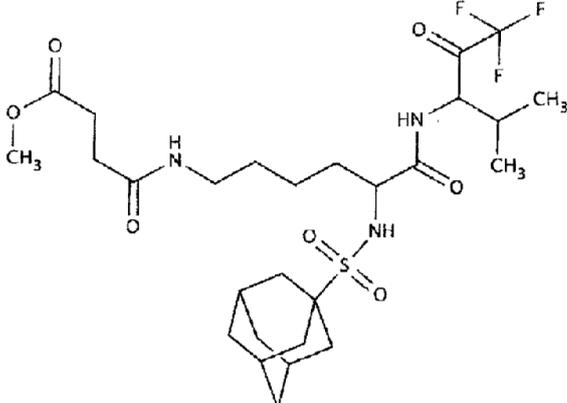
ID	Molécula	Referencia
3		6-4
4		6-5

Figura 17 Cont.

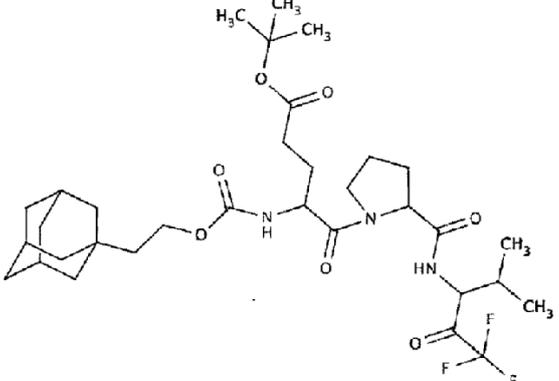
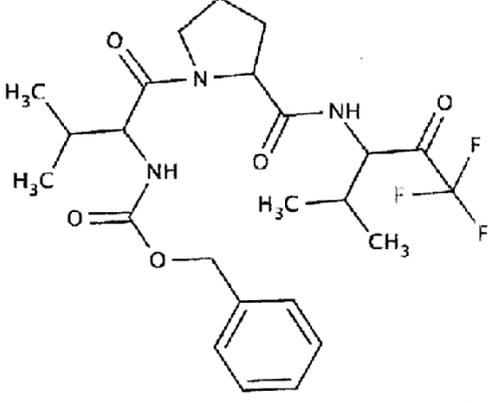
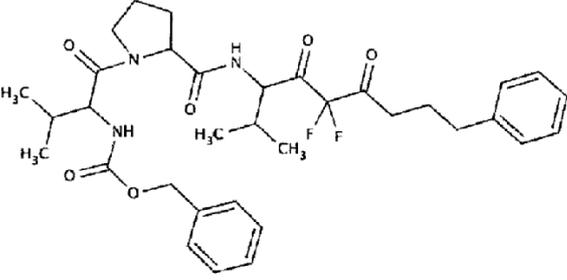
ID	Molécula	Referencia
5		6-6
6		6-7
7		7-5

Figura 17 Cont.

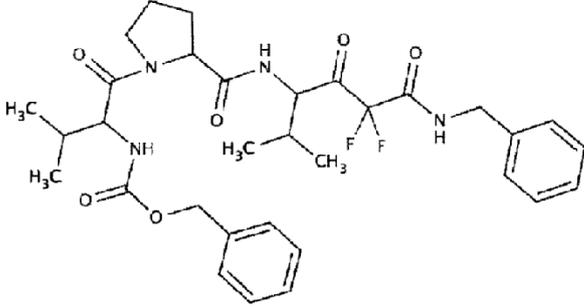
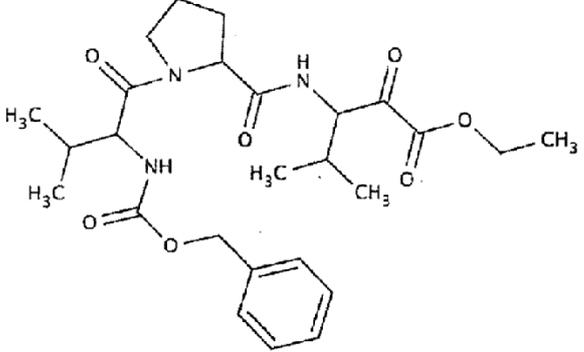
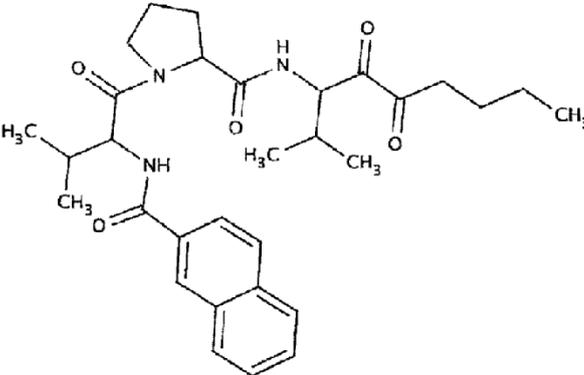
ID	Molécula	Referencia
8		7-6
9		8-3
10		8-6

Figura 17 Cont.

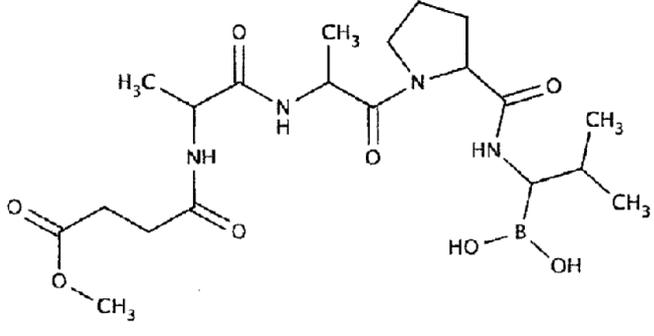
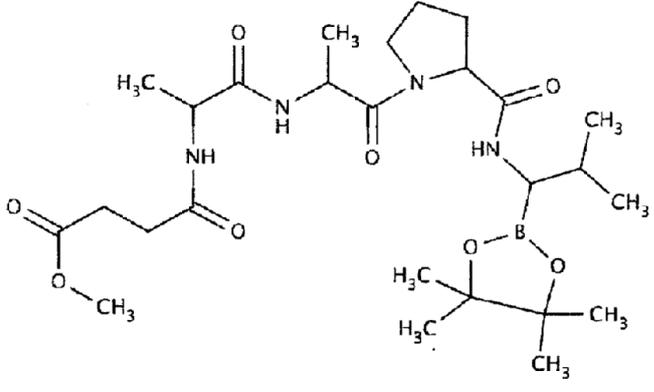
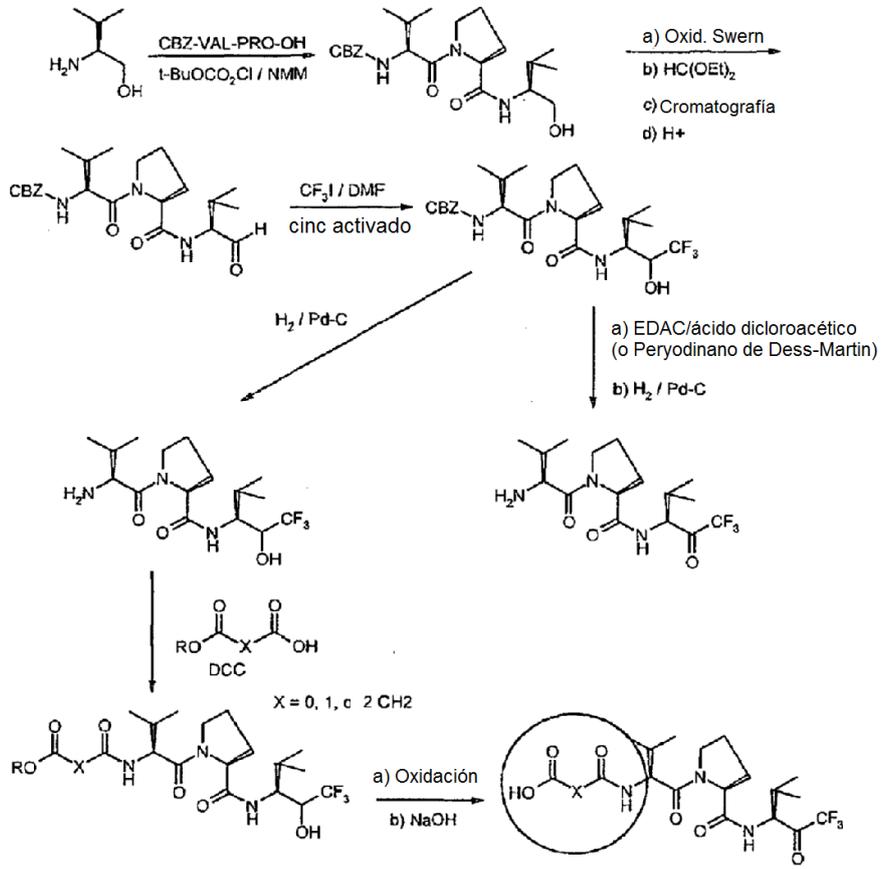
ID	Molécula	Referencia
11		10-4
12		10-5

Figura 18

**Esquema General**



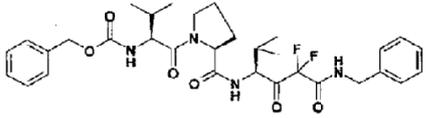
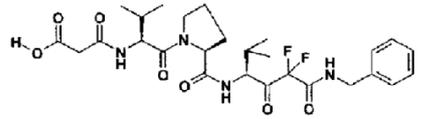
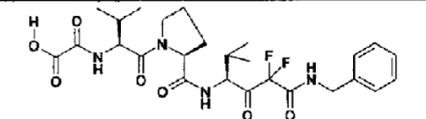
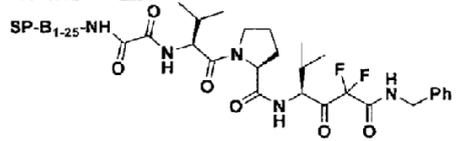
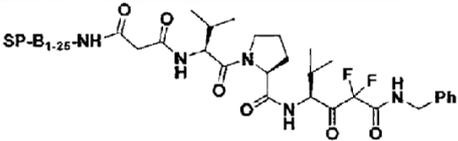
Los compuestos finales serán aproximadamente mezclas 1:1 de epímeros en el centro estereogénico  $\alpha$  con respecto a la cetona carbonilo (según J. Med. Chem. 1997, 40(12), 1876).

**Administrables**

Ligando: 50 mg

Ligando + enlazador: 50 mg más aprox. 0,5-1,0 g para la unión a péptido.

Figura 19

SL. N°	ESTRUCTURA	NOMBRE ASIGNADO	PESO MOL.
1		DIANA 1	614
2		DIANA 2	566
3		DIANA 3	552
4	PÉPTIDO	DIANA A	2926.97
5		DIANA B	3461
6		DIANA C	3475