

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 706 492**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/10** (2006.01)

**A61L 31/04** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61L 26/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.03.2015 PCT/US2015/019740**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.09.2015 WO15138475**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2015 E 15712232 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2018 EP 3116523**

54 Título: **Péptidos de autoensamblaje como agentes para la obstrucción bronquial**

30 Prioridad:

**10.03.2014 US 201461950529 P**  
**14.03.2014 US 201461953146 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**29.03.2019**

73 Titular/es:

**3-D MATRIX, LTD. (100.0%)**  
**Kojimachi-HF Building, 3-2-4-7F, Kojimachi,**  
**Chiyoda-ku**  
**Tokyo 102-0083, JP**

72 Inventor/es:

**MEHTA, MANAV;**  
**TSUKADA, HISASHI;**  
**GIL, EUN, SEOK;**  
**GILBERT, KARL, PATRICK y**  
**KOBAYASHI, SATORU**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 706 492 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**

Péptidos de autoensamblaje como agentes para la obstrucción bronquial

## 5 Campo de la descripción

Esta descripción generalmente se refiere a los materiales y métodos que pueden usarse en aplicaciones médicas, investigación y aplicaciones industriales. Más particularmente, esta descripción se refiere a materiales y métodos que pueden usarse como un agente para la obstrucción bronquial, que incluyen materiales y métodos para usar en la cirugía de reducción de volumen pulmonar (LVRS) u otros procedimientos quirúrgicos. El documento WO-A2-2013030673 describe el uso de péptidos anfífilicos en la oclusión de fugas de aire torácico. El documento EP-A1-2345433 describe el uso de péptidos anfífilicos como tapón tisular. J. Thor. Cardiovasc. Surgery 136(4), páginas 843-849 (2008) describe el uso de un sellante de fibrina autólogo en pacientes después de una cirugía de reducción de volumen pulmonar.

## 15 Breve descripción de la invención

De acuerdo con una o más modalidades, se describe un método para producir una obstrucción bronquial en un sujeto. El método puede comprender introducir un dispositivo de suministro a un área objetivo del pulmón del sujeto, ubicar un extremo del dispositivo de suministro en el área objetivo donde se desea la obstrucción bronquial, administrar a través del dispositivo de suministro una solución que comprende un péptido de autoensamblaje que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos en una cantidad eficaz y en una concentración eficaz al área objetivo para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas del área objetivo para producir la obstrucción bronquial, y retirar el dispositivo de suministro del área objetivo.

De acuerdo con una o más modalidades, se proporciona un kit para producir una obstrucción bronquial en un sujeto. El kit puede comprender un péptido de autoensamblaje que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos en una cantidad eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para producir la obstrucción bronquial, e instrucciones para administrar el péptido de autoensamblaje a un área objetivo del pulmón del sujeto.

De acuerdo con una o más modalidades, se describe una composición que comprende un péptido de autoensamblaje que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos en una cantidad eficaz y en una concentración eficaz para usar en la formación de una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para producir una obstrucción bronquial.

De acuerdo con una o más modalidades, se describe un método que facilita la producción de una obstrucción bronquial en un sujeto. El método puede comprender proporcionar una solución que comprende un péptido de autoensamblaje que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos a aproximadamente 32 aminoácidos en una cantidad eficaz y en una concentración eficaz para formar una barrera de hidrogel en un área objetivo del pulmón en condiciones fisiológicas para producir la obstrucción bronquial, y proporcionar instrucciones para administrar la solución al área objetivo del pulmón a través de la introducción de la solución a través de un dispositivo de suministro ubicado en el área objetivo.

De acuerdo con una o más modalidades, se proporciona un soporte macroscópico que consiste esencialmente en una pluralidad de péptidos de autoensamblaje. Cada uno de los péptidos de autoensamblaje comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos en una cantidad eficaz que es posible ubicarla dentro de un área objetivo de un pulmón para producir una obstrucción bronquial.

## 50 Descripción de los dibujos

Las figuras 1A-1B muestran los datos analizados en el ejemplo 1;

Las figuras 2-4 muestran los datos analizados en el ejemplo 3;

55 Las figuras 5A-5B muestran los datos analizados en el ejemplo 3;

Las figuras 6A-6B muestran los datos analizados en el ejemplo 4;

60 Las figuras 7A-7B muestran los datos analizados en el ejemplo 5;

Las figuras 8A-8B muestran los datos analizados en el ejemplo 5;

Las figuras 9A-9B muestran los datos analizados en el ejemplo 6;

65

Las figuras 10-12 muestran los datos analizados en el ejemplo 8;

las figuras 13-14 muestran los datos analizados en el ejemplo 9;

5 las figuras 15-16 muestran los datos analizados en el ejemplo 10;

las figuras 17-18 muestran los datos analizados en el ejemplo 11;

la figura 19 muestra los datos analizados en el ejemplo 12;

10 la figura 20 muestra los datos analizados en el ejemplo 13;

la figura 21 muestra los datos analizados en el ejemplo 14;

15 la figura 22 muestra los datos analizados en el ejemplo 15;

las figuras 23A-23B muestran los datos analizados en el ejemplo 16;

20 las figuras 24A-24C muestran los datos analizados en el ejemplo 18;

las figuras 25-28 muestran los materiales analizados en el ejemplo 19; la figura 28 describe "IEIK" como la sec. con núm. de ident.: 5, y

25 la figura 29 muestra un esquema de una combinación de catéter/tubo endotraqueal analizada en el ejemplo 19.

#### Descripción detallada

30 La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) es actualmente la sexta causa principal de muerte en todo el mundo y se estima que sea la tercera causa principal hacia el 2020. La COPD puede caracterizarse por el desarrollo progresivo lento de una limitación del flujo de aire que puede ser difícil de revertir. Los tratamientos pueden incluir dejar de fumar, medicación, vacunación, rehabilitación respiratoria y terapia por inhalación de oxígeno. Estos tratamientos pueden mejorar la calidad de vida de un sujeto.

35 Otros tratamientos pueden incluir cirugía de reducción de volumen pulmonar (LVRS). Esta puede usarse en casos donde otros tratamientos no mejoran la salud del sujeto. La LVRS puede incluir procedimientos de resección pulmonar, procedimientos de derivación de las vías respiratorias, con la utilización de válvulas de las vías respiratorias, con la utilización de espirales para la reducción del volumen pulmonar, ablación bronquial térmica por vapor, o un biogel para la obstrucción bronquial. La resección pulmonar es relativamente invasiva y frecuentemente puede provocar complicaciones postoperatorias. A veces el uso de un biogel puede provocar inflamación y puede existir un riesgo de anafilaxia.

40 La presente descripción se refiere a materiales y métodos para producir una obstrucción bronquial. Los materiales y métodos pueden comprender un hidrogel de péptidos de autoensamblaje que puede usarse para producir una obstrucción bronquial. En determinadas modalidades, los materiales y métodos de la presente descripción pueden proporcionar o crear una obstrucción bronquial para, por ejemplo, reducir el volumen pulmonar para mejorar la condición de un sujeto que tiene COPD.

45 Los materiales y métodos pueden proporcionar un agente obstructivo más seguro para la reducción del volumen pulmonar. Puede aplicarse fácil y repetidamente a los bronquios. El material puede introducirse en lugar de o durante una cirugía de reducción de volumen pulmonar. El material puede introducirse para producir una obstrucción bronquial en una cirugía respiratoria. El material puede introducirse para producir una obstrucción bronquial en una cirugía broncoscópica.

50 De acuerdo con una o más modalidades, un péptido de autoensamblaje puede producir, o crear una obstrucción bronquial. El material puede prevenir procedimientos quirúrgicos o reducir la frecuencia o extensión de los procedimientos quirúrgicos. El efecto de introducir el péptido de autoensamblaje o autoorganizable puede durar al menos un mes, y más típicamente puede durar varios meses. Esto puede deberse a la sostenibilidad del material en el cuerpo del sujeto. En consecuencia, en algunas modalidades, se contempla que este tratamiento puede necesitar solo inyecciones no frecuentes o una inyección. La obstrucción bronquial puede ser parcial o completa.

60 Los péptidos de autoensamblaje de la presente descripción pueden incluir aplicación, por ejemplo, administración de los péptidos de autoensamblaje a un área objetivo predeterminada o deseada. El péptido de autoensamblaje puede administrarse a un área objetivo en la forma de una solución peptídica, hidrogel, membrana u otra forma. Un área objetivo puede ser un área predeterminada de un sujeto que requiere un tratamiento en particular. En algunas

modalidades, el área objetivo puede relacionarse con un sitio quirúrgico, tal como un sitio de una reducción del volumen pulmonar, o de otra manera una parte de un pulmón, bronquios, cavidad torácica o vía respiratoria.

5 Durante el autoensamblaje, el péptido puede formar nanofibras. El autoensamblaje puede provocar gelificación del péptido en solución. La gelificación puede proporcionar o formar un hidrogel. El péptido puede formar una lámina beta espontáneamente en la solución a un nivel de pH neutro. El péptido puede formar una lámina beta espontáneamente en la solución en condiciones fisiológicas y/o en presencia de un catión y/o anión.

10 Los métodos y materiales de la presente descripción pueden usarse durante o después de un procedimiento quirúrgico. Por ejemplo, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede administrarse durante o después de un procedimiento quirúrgico.

15 Los métodos de la presente descripción pueden comprender introducir un dispositivo de suministro a un área objetivo para la obstrucción bronquial en un sujeto. El método puede proporcionar ubicar un extremo del dispositivo de suministro en el área objetivo donde se desea la obstrucción bronquial.

20 El método de la presente descripción puede comprender, además, administrar los péptidos de autoensamblaje a un objetivo predeterminado o deseado. El péptido de autoensamblaje puede administrarse a un área objetivo en la forma de una solución peptídica, hidrogel, membrana u otra forma. Un área objetivo puede ser un área predeterminada de un sujeto que requiere un tratamiento en particular. En algunas modalidades, el área objetivo puede relacionarse con una zona donde se desea la obstrucción bronquial.

25 La administración puede ocurrir a través del dispositivo de suministro al área objetivo para formar una barrera de hidrogel. Esto puede ocurrir en condiciones fisiológicas del área objetivo para producir la obstrucción bronquial.

Los materiales y métodos pueden comprender producir una obstrucción bronquial.

30 Como se usa en la presente, el término "obstrucción" está destinado a incluir una oclusión o bloqueo parcial o completo de un área objetivo. Por ejemplo, un lóbulo superior, medio y/o inferior de un pulmón puede obstruirse de manera que provoque un bloqueo mecánico allí. Puede desearse que la penetración provoque la obstrucción y retenga la obstrucción. Generalmente, la obstrucción puede desearse para tratar un sujeto, tal como un paciente con COPD. El tratamiento de un sujeto puede incluir uno o más de curar, aliviar, mitigar o mejorar un sujeto con un trastorno, más allá que lo esperado en ausencia de dicho tratamiento. El tratamiento puede ser un tratamiento mínimamente invasivo, que incluye aplicación o administración mínimamente invasiva de la solución que comprende el péptido de autoensamblaje.

40 Como se usa en la presente, el término "sujeto" está destinado a incluir animales humanos y no humanos, por ejemplo, vertebrados, animales grandes y primates. En determinadas modalidades, el sujeto es un sujeto mamífero, y en modalidades particulares, el sujeto es un sujeto humano. Aunque las aplicaciones con seres humanos se prevén evidentemente, en la presente también se contemplan aplicaciones veterinarias, por ejemplo, sin animales humanos. El término "animales no humanos" de la invención incluye todos los vertebrados, por ejemplo, no mamíferos (tales como aves, por ejemplo pollos; anfibios; reptiles) y mamíferos, tales como primates no humanos, animales domesticados y/o útiles en la agricultura, por ejemplo, oveja, perro, gato, vaca, cerdo, rata, entre otros.

45 El tratamiento u obstrucción puede ser parcial o completa. Los materiales y métodos pueden incluir administración, aplicación o inyección de un péptido de autoensamblaje, o una solución que comprende un péptido de autoensamblaje, o una composición que comprende un péptido de autoensamblaje, a un área objetivo predeterminada o deseada.

50 El método para producir la obstrucción bronquial puede comprender, además, retirar el dispositivo de suministro del área objetivo. El método puede comprender, además, visualizar una región que comprende el área objetivo antes de introducir el dispositivo de suministro. La visualización de la región que comprende el área objetivo puede ocurrir después de retirar el dispositivo de suministro del área objetivo. El seguimiento del área objetivo puede ocurrir, además, durante el procedimiento y posterior al procedimiento, por ejemplo, después de retirar el dispositivo de suministro.

55 El método para producir la obstrucción puede comprender, además, preparar la solución que comprende el péptido de autoensamblaje. En algunas modalidades, el método puede comprender, además, evaluar el sujeto para determinar la necesidad de producir una obstrucción bronquial y preparar la solución con base en la etapa de evaluación.

60 El término "péptido de autoensamblaje" puede referirse a un péptido que puede mostrar una estructura de lámina beta en solución acuosa en presencia de condiciones específicas que inducen la estructura de lámina beta. Estas condiciones específicas pueden incluir ajustar el pH de una solución del péptido de autoensamblaje. El ajuste puede ser un aumento o una disminución en el pH de la solución del péptido de autoensamblaje. El aumento del pH puede

ser un aumento del pH a un pH fisiológico. Las condiciones específicas pueden incluir, además, añadir un catión, tal como un catión monovalente o un catión divalente, a una solución del péptido de autoensamblaje. Las condiciones específicas pueden incluir, además, añadir un anión, tal como un anión monovalente o un anión divalente, a una solución del péptido de autoensamblaje. Las condiciones específicas pueden incluir condiciones relacionadas con el sitio de una cirugía o un sitio objetivo para la obstrucción bronquial. Los péptidos de autoensamblaje pueden referirse como una composición, solución peptídica, polvo del péptido, hidrogel o soporte, o ser una parte de éstos.

El término "péptido de autoensamblaje" puede referirse a un péptido que comprende un resto de autoensamblaje. Los péptidos de autoensamblaje son péptidos que son capaces del autoensamblaje en estructuras que incluyen pero sin limitarse a, membranas macroscópicas o nanoestructuras.

El término "hidrogel" puede referirse a un material que está compuesto de un polímero y un alto porcentaje de agua, por ejemplo, al menos 90 % de agua.

El péptido de autoensamblaje puede ser un péptido de autoensamblaje anfifílico. Por "anfifílico" se entiende que el péptido comprende restos hidrofóbicos y restos hidrofílicos. En algunas modalidades, un péptido anfifílico puede comprender, consistir esencialmente, o consistir en aminoácidos hidrofóbicos y aminoácidos hidrofílicos alternantes. Por alternante, se entiende que incluye una serie de tres o más aminoácidos que se alternan entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo, y no necesariamente incluye que cada uno de los aminoácidos en la secuencia peptídica se alterne entre un aminoácido hidrófobo y uno hidrófilo. El péptido de autoensamblaje, referido además en la presente como "péptido," puede administrarse al área objetivo predeterminada o deseada en la forma de una solución del péptido de autoensamblaje, composición, hidrogel, membrana, soporte u otra forma. A lo largo de esta descripción el hidrogel puede referirse, además, como una membrana o soporte. El área objetivo predeterminada o deseada puede estar en o cerca de la ubicación donde se desea una obstrucción bronquial.

La solución que comprende un péptido de autoensamblaje, referida además como una solución del péptido de autoensamblaje, puede ser una solución acuosa del péptido de autoensamblaje. El péptido de autoensamblaje puede administrarse, aplicarse, o inyectarse en una solución que está sustancialmente sin células, o es libre de células. En determinadas modalidades, el péptido de autoensamblaje puede administrarse, aplicarse, o inyectarse en una solución que está sin células o es libre de células.

El péptido de autoensamblaje también puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está sustancialmente sin fármacos o es libre de fármacos. En determinadas modalidades, el péptido de autoensamblaje puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está sin fármacos o es libre de fármacos. En algunas otras modalidades, el péptido de autoensamblaje puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está sustancialmente sin célula y sustancialmente sin fármacos. Aún en algunas otras modalidades, el péptido de autoensamblaje puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está sin células y sin fármacos.

La solución del péptido de autoensamblaje puede comprender, consistir, o consistir esencialmente en el péptido de autoensamblaje. El péptido de autoensamblaje puede estar en una forma modificada o no modificada. Por modificado, se entiende que el péptido de autoensamblaje puede tener uno o más dominios que comprenden uno o más aminoácidos que, cuando se proporciona en solución por sí mismo, no se autoensamblaría. Por no modificada, se entiende que el péptido de autoensamblaje puede no tener ningún otro dominio aparte de los que proporcionan el autoensamblaje del péptido. Es decir, un péptido no modificado consiste en aminoácidos hidrófobos e hidrófilos alternantes que pueden autoensamblarse en una lámina beta, y una estructura macroscópica, tal como un hidrogel.

Mediante la administración de la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, puede formarse una barrera de hidrogel. La barrera de hidrogel puede formarse en el área objetivo para producir una obstrucción bronquial. En algunas modalidades no limitantes, el tratamiento puede proporcionarse mediante el bloqueo de al menos un lóbulo de un pulmón, al menos parcialmente. Al menos una parte de al menos un lóbulo puede ser penetrada de manera que provoque una obstrucción. Esto se logra a través de la formación de la barrera de hidrogel. A lo largo de esta descripción, la referencia a un hidrogel, puede referirse además, o ser aplicable a la barrera de hidrogel.

En determinadas modalidades, se desea que la barrera de hidrogel pueda proporcionar un bloqueo o una obstrucción adecuados o deseados en el área objetivo. La barrera de hidrogel puede tener propiedades específicas para lograr el bloqueo o sello adecuado o deseado. Por ejemplo, la barrera de hidrogel puede tener una o más propiedades predeterminadas, por ejemplo, resistencia mecánica (módulo de almacenamiento), rigidez, viscosidad, cinética de gelificación, fuerza iónica, o nivel de pH. Las propiedades pueden ajustarse o adaptarse basadas en la adición, al péptido de autoensamblaje o a la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, de componentes descritos en la presente en cantidades y/o concentraciones específicas.

Por ejemplo, con relación a producir una obstrucción bronquial, puede desearse proporcionar una barrera de hidrogel que muestre propiedades mecánicas, penetración y dispersión adecuadas dentro de un lóbulo. Puede desearse un tiempo de gelificación más largo para promover la penetración y la dispersión en algunas modalidades.

Puede desearse, además, proporcionar una barrera de hidrogel que se convierta rápidamente en gel, es decir, la cinética de gelificación es de manera que, después de la administración, la barrera de hidrogel se forma dentro de un corto periodo de tiempo para producir una obstrucción.

5 La administración de una solución puede comprender, consistir, o consistir esencialmente en la administración de una solución que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en un péptido de autoensamblaje que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en al menos aproximadamente 7 aminoácidos. La administración de una solución puede comprender, consistir, o consistir esencialmente en la administración de una solución que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en un péptido de autoensamblaje que  
10 comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos. Esta descripción puede contemplar otros péptidos que no comprenden, consisten, o consisten esencialmente en al menos aproximadamente 7 aminoácidos.

15 El péptido de autoensamblaje puede comprender, consistir, o consistir esencialmente en, entre aproximadamente 7 a aproximadamente 32 aminoácidos. En algunas modalidades, el péptido de autoensamblaje puede comprender, consistir, o consistir esencialmente en, entre aproximadamente 12 y aproximadamente 16 aminoácidos.

20 Por alternante, se entiende que incluye una serie de tres o más aminoácidos que se alternan entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo, y no necesariamente incluye que cada uno de los aminoácidos en la secuencia peptídica se alterne entre un aminoácido hidrófobo y uno hidrófilo.

25 Los métodos para producir una obstrucción bronquial pueden comprender administrar un péptido de autoensamblaje a un área objetivo. El péptido puede administrarse como un hidrogel o formar un hidrogel después de la administración. Los métodos para producir una obstrucción bronquial pueden comprender administrar una solución que comprende un péptido de autoensamblaje a un área objetivo.

30 El término "administrar", está destinado a incluir, pero sin limitarse a, aplicar, introducir o inyectar el péptido de autoensamblaje, en una o más de diversas formas que incluyen, pero sin limitarse a, por sí mismo, a manera de solución, tal como una solución acuosa, o a manera de una composición, hidrogel, o soporte, con o sin componentes adicionales.

35 El método puede comprender introducir un dispositivo de suministro a un área objetivo del sujeto. El método puede comprender introducir un dispositivo de suministro que comprende al menos uno de una jeringa, tubo, pipeta, catéter, jeringa de catéter, u otro dispositivo basado en agujas, al área objetivo de un sujeto. El péptido de autoensamblaje puede administrarse por medio de una jeringa, tubo, pipeta, catéter, jeringa de catéter, u otro dispositivo basado en agujas al área objetivo de un sujeto. El calibre de la aguja de la jeringa puede seleccionarse para proporcionar un flujo adecuado de una composición, una solución, un hidrogel, o un líquido de la jeringa al área objetivo. Esto puede basarse en algunas modalidades en al menos uno de la cantidad de péptido de autoensamblaje en una composición, solución peptídica, o un hidrogel que se administra, la concentración de la solución peptídica,  
40 en la composición, o el hidrogel, y la viscosidad de la solución peptídica, composición, o hidrogel. El dispositivo de suministro puede ser a dispositivo convencional o diseñado para lograr al menos uno de alcanzar un área objetivo específica, lograr un régimen de dosificación específico, suministrar un volumen objetivo específico, cantidad o concentración, y suministrarlo con precisión a un área objetivo.

45 El método para producir una obstrucción bronquial puede comprender ubicar un extremo del dispositivo de suministro en el área objetivo. El área objetivo puede ser un área como se describe en la presente, tal como una parte de un sitio quirúrgico, que incluye pero sin limitarse a una parte de un pulmón. El péptido de autoensamblaje puede administrarse a manera de un dispositivo de suministro al área objetivo donde se desea producir una obstrucción bronquial. El péptido de autoensamblaje puede administrarse en una solución por medio del dispositivo de suministro al área objetivo. En algunas modalidades, la administración puede ocurrir directamente en el sitio objetivo, en el hecho de que el dispositivo de suministro se ubica en el área objetivo para proporcionar la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, por ejemplo, directamente, al área objetivo. Un volumen predeterminado del área objetivo puede llenarse con la solución que comprende el péptido de autoensamblaje. La administración de la solución puede comprender inyectar la solución al área objetivo. En algunas modalidades, un  
50 dispositivo de suministro se inserta a través de una tráquea y bronquio primario en un extremo distal de un lóbulo objetivo. El dispositivo de suministro puede retraerse una distancia predeterminada después de la inyección de un primer volumen de hidrogel. El proceso puede repetirse iterativamente entre inyección y retracción hasta llenar un volumen objetivo para crear una obstrucción bronquial. Esto puede referirse como un proceso de retracción del catéter. En algunas modalidades, el hidrogel del péptido puede penetrar sustancialmente el lumen principal y menor de los bronquios relacionados.

60 El uso de un dispositivo de suministro puede proporcionar una administración más selectiva del péptido para proporcionar una administración más precisa al área objetivo. La administración selectiva del péptido puede permitir una administración mejorada y más dirigida de la solución peptídica, composición, o hidrogel de manera que sea exitosa y se localice en la ubicación deseada de una manera precisa. La administración selectiva puede  
65

proporcionar una administración mejorada y dirigida, que mejora marcadamente la ubicación y efectividad del tratamiento respecto del uso de otro dispositivo de suministro. Los dispositivos de administración que pueden usarse en los sistemas, métodos, y kits de la descripción pueden incluir una jeringa, tubo, aguja, pipeta, catéter de jeringa, otro dispositivo basado en agujas, o catéter.

5 El uso de un dispositivo de suministro, tal como un catéter, puede incluir el uso de dispositivos acompañantes, como un cable guía usado para guiar el catéter a la posición, o un endoscopio que puede permitir la ubicación adecuada de un catéter u otro dispositivo y la visualización del área objetivo, y/o la ruta al área objetivo. El endoscopio puede ser un tubo que puede comprender al menos uno de una luz y una cámara u otro dispositivo de visualización para  
10 permitir la observación de imágenes del cuerpo del sujeto. El cable guía o endoscopio puede introducirse en el sujeto, por ejemplo, por medio de una incisión en la piel. El endoscopio puede introducirse al área objetivo antes de introducir el dispositivo de suministro al área objetivo.

15 En algunas modalidades, puede usarse un tubo endotraqueal combinado con un catéter para prevenir un flujo retrógrado del hidrogel hacia afuera del lumen durante la inyección. Una configuración del catéter con balón también puede aumentar beneficiosamente la presión para una mejor perfusión del gel, tal como dentro de los bronquios más pequeños.

20 El uso del dispositivo de suministro, tal como una jeringa, tubo, aguja, pipeta, catéter de jeringa, otro dispositivo basado en agujas, catéter, o endoscopio puede necesitar la determinación del diámetro o tamaño de la abertura en donde existe un área objetivo, de manera que al menos una parte de la jeringa, tubo, aguja, pipeta, catéter de jeringa, otro dispositivo de tipo aguja, catéter, o endoscopio pueda entrar en la abertura para administrar el péptido, solución peptídica, composición, o hidrogel al área objetivo.

25 En determinadas modalidades, el hidrogel puede formarse in vitro y administrarse a la ubicación deseada in vivo. En determinados ejemplos, esta ubicación puede ser el área objetivo. En otros ejemplos, esta ubicación puede ser corriente arriba, corriente abajo del área, o sustancialmente cerca del área. Puede desearse permitir una migración del hidrogel al área en la que se desea que gelifique. Alternativamente, otro procedimiento puede ubicar el hidrogel en el área en que se desea. La ubicación deseada o área objetivo puede ser al menos una parte de un área en la  
30 que se desea formar una obstrucción bronquial en un sujeto.

En determinados aspectos de la descripción, el hidrogel puede formarse in vivo. Una solución que comprende el péptido de autoensamblaje, tal como una solución acuosa, puede insertarse en una ubicación o área in vivo de un sujeto para formar una obstrucción bronquial en un sujeto. En determinados ejemplos, el hidrogel puede formarse in vivo en una ubicación, y permitir su migración al área en que se desea promover o producir una obstrucción bronquial, por ejemplo, una reducción del volumen pulmonar en un paciente con COPD. Alternativamente, otro procedimiento puede ubicar el hidrogel en el área en que se desea promover o producir una obstrucción bronquial. Los péptidos de la presente descripción pueden estar en la forma de un polvo, una solución, un gel, o similares. Dado que el péptido de autoensamblaje gelifica en respuesta a los cambios de pH y de la concentración de sal de la solución, se puede distribuir como un líquido que gelifica tras el contacto con un sujeto durante la aplicación o  
40 administración.

En determinados ambientes, la solución peptídica puede ser un hidrogel débil y, como resultado, puede administrarse por medio de un dispositivo de suministro como se describe en la presente.

45 De acuerdo con algunas modalidades, los péptidos de autoensamblaje pueden ser anfífilicos, con alternancia entre aminoácidos hidrófobos y aminoácidos hidrófilos.

De acuerdo con una o más modalidades, un sujeto puede evaluarse para determinar la necesidad de producir una obstrucción bronquial en un sujeto. Una vez que se ha completado la evaluación, puede prepararse una solución peptídica para administrar al sujeto basada en la etapa de evaluación. En otras modalidades, una solución peptídica puede prepararse sin la etapa de evaluación.

55 En algunas modalidades, puede usarse un agente biológicamente activo con los materiales y métodos de la presente descripción. Un agente biológicamente activo puede comprender un compuesto, que incluye un péptido, secuencia de ADN, compuesto químico, o compuesto orgánico o inorgánico que puede dar alguna actividad, regulación, modulación o ajuste de una condición u otra actividad en un sujeto o en un entorno de laboratorio. El agente biológicamente activo puede interactuar con otro componente para proporcionar dicha actividad. El agente biológicamente activo puede referirse como un fármaco de acuerdo con algunas modalidades en la presente. En determinadas modalidades, uno o más agentes biológicamente activos pueden liberarse gradualmente a la parte exterior del sistema peptídico. Por ejemplo, el uno o más agentes biológicamente activos pueden liberarse gradualmente del hidrogel. Pruebas in vitro e in vivo han demostrado esta liberación gradual de un agente biológicamente activo. El agente biológicamente activo puede añadirse a la solución o composición del péptido de autoensamblaje antes de administrar a un sujeto, o puede administrarse junto con el péptido de autoensamblaje o separadamente del péptido de autoensamblaje al sujeto. El uno o más agentes biológicamente activos pueden  
65

encapsularse dentro del sistema, por ejemplo, pueden encapsularse en el hidrogel, solución, composición o nanofibras.

5 Esta descripción se refiere a soluciones acuosas, hidrogeles, soportes, composiciones y membranas que comprenden péptidos de autoensamblaje, a veces referidos como oligopéptidos de autoensamblaje. Los péptidos de autoensamblaje pueden mostrar una estructura de lámina beta en solución acuosa en presencia de pH fisiológico y/o cationes y/o aniones, tal como un catión monovalente y/o anión monovalente, u otras condiciones aplicables a un sitio quirúrgico o en o cerca del sitio de una obstrucción bronquial deseada. Los péptidos pueden ser anfifílicos y alternar entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo. En determinadas modalidades, el péptido puede comprender una primera porción que puede ser anfifílica, que alterna entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo, y otra porción o región que no es anfifílica.

15 Los péptidos pueden ser generalmente estables en soluciones acuosas y autoensamblarse en grandes estructuras macroscópicas, soportes, o matrices cuando se exponen a condiciones seleccionadas. Las condiciones pueden ser condiciones fisiológicas, pH neutro, concentraciones de sales seleccionadas, soluciones tampón, o niveles fisiológicos de sal. Una vez que se forma el hidrogel puede no descomponerse, o puede descomponerse o biodegradarse después de un periodo de tiempo. La tasa de descomposición puede basarse al menos en parte en al menos uno de la secuencia de aminoácidos y las condiciones alrededor. La tasa de descomposición puede relacionarse con la tasa de cicatrización o crecimiento en el sitio objetivo, de manera que proporcione una adecuada obstrucción bronquial.

25 Por "macroscópico" se entiende que tiene dimensiones lo suficientemente grandes para ser visible en un aumento de 10 veces o menos. En modalidades preferidas, una estructura macroscópica es visible a simple vista. Una estructura macroscópica puede ser transparente y puede ser bidimensional o tridimensional. Típicamente cada dimensión es al menos 10  $\mu\text{m}$ , en tamaño. En determinadas modalidades, al menos dos dimensiones son al menos 100  $\mu\text{m}$ , o al menos 1000  $\mu\text{m}$  en tamaño. Frecuentemente al menos dos dimensiones son al menos 1-10 mm en tamaño, 10-100 mm en tamaño, o más.

30 En determinadas modalidades, el tamaño de los filamentos pueden ser aproximadamente 10 nanómetros (nm) a aproximadamente 20 nm. La distancia entre los filamentos pueden ser aproximadamente 50 nm a aproximadamente 80 nm.

35 La estructura macroscópica puede ser un soporte macroscópico. El soporte macroscópico puede consistir esencialmente en una pluralidad de péptidos de autoensamblaje. Cada uno de los péptidos de autoensamblaje puede comprender, consistir esencialmente, o consistir en, entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos en una cantidad eficaz que sea posible ubicarlos dentro de un área objetivo de un sistema pulmonar para producir una obstrucción bronquial. Los péptidos de autoensamblaje del soporte pueden comprender entre aproximadamente 12 a aproximadamente 16 aminoácidos. Los péptidos de autoensamblaje del soporte pueden comprender entre aproximadamente 12 a aproximadamente 16 aminoácidos que alternan entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo. El péptido de autoensamblaje puede comprender, consistir esencialmente, o consistir en (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2), (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3).

45 Las "condiciones fisiológicas" pueden ocurrir en la naturaleza en un organismo en particular, sistema celular, o sujeto, lo que puede ser diferente de las condiciones artificiales del laboratorio. Las condiciones pueden comprender una o más propiedades tales como una o más propiedades particulares o uno o más variedades de propiedades. Por ejemplo, las condiciones fisiológicas pueden incluir una temperatura o intervalo de temperaturas, un pH o intervalo de pH, una presión o intervalo de presiones, y una o más concentraciones de compuestos en particular, sales, y otros componentes. Las sales pueden comprender uno o más de aniones monovalentes, cationes monovalentes, aniones divalentes o cationes monovalentes.

50 En algunos ejemplos, las condiciones fisiológicas pueden incluir una temperatura en un intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 grados Celsius. En algunos ejemplos, la presión atmosférica puede ser aproximadamente 1 atm. El pH puede estar en el intervalo de un pH neutro. Por ejemplo, el pH puede estar en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 8. Las condiciones fisiológicas pueden incluir cationes y/o aniones tales como cationes de metales monovalentes y/o aniones monovalentes que pueden inducir la formación de hidrogel o membrana. Estos pueden incluir cloruro de sodio (NaCl). Las condiciones fisiológicas pueden incluir, además, una concentración de glucosa, concentración de sacarosa, o concentración de otro azúcar, de entre aproximadamente 1 mM y aproximadamente 20 mM. La solución del péptido de autoensamblaje puede comprender glucosa, sacarosa, u otro azúcar, o puede añadirse un azúcar o solución de azúcar a la solución del péptido de autoensamblaje.

65 En determinadas modalidades, los péptidos de autoensamblaje pueden ser péptidos de al menos aproximadamente 7 aminoácidos. En determinadas modalidades adicionales, los péptidos de autoensamblaje puede ser péptidos de al menos aproximadamente 7 aminoácidos a aproximadamente 32 aminoácidos. En determinadas modalidades

adicionales, los péptidos de autoensamblaje puede ser péptidos de entre aproximadamente 7 a aproximadamente 17 aminoácidos. En algunos otros ejemplos, los péptidos de autoensamblaje puede ser péptidos de al menos 8 aminoácidos, al menos aproximadamente 12 aminoácidos, o al menos aproximadamente 16 aminoácidos.

5 Las mezclas homogéneas y heterogéneas de péptidos caracterizados por las propiedades mencionadas anteriormente pueden formar membranas macroscópicas estables, filamentos e hidrogeles. Los péptidos que son autocomplementarios y autocompatibles pueden formar membranas, filamentos e hidrogeles en una mezcla homogénea. Los péptidos heterogéneos, que incluyen los que no pueden formar membranas, filamentos, e hidrogeles en soluciones homogéneas, que son complementarios y/o estructuralmente compatibles entre sí también pueden autoensamblarse en membranas macroscópicas, filamentos e hidrogeles.

15 Las membranas, filamentos e hidrogeles pueden no ser citotóxicos. Los hidrogeles de la presente descripción pueden digerirse y metabolizarse en un sujeto. Los hidrogeles pueden biodegradarse en 30 días o menos. Tienen una composición simple, son permeables, y son fáciles y relativamente baratos de producir en grandes cantidades. Las membranas y filamentos, hidrogeles o soportes también pueden producirse y almacenarse en una condición estéril. La duración óptima para la formación de membranas puede variar con al menos uno de la composición de aminoácidos, condiciones de la solución, y condiciones en el área objetivo.

20 Los aminoácidos de los péptidos de autoensamblaje o anfífilicos pueden seleccionarse de d-aminoácidos, l-aminoácidos, o combinaciones de estos. Los aminoácidos hidrófobos pueden incluir Ala, Val, He, Met, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr y Gly. Los aminoácidos hidrófilos pueden ser aminoácidos básicos, por ejemplo, Lys, Arg, His, Orn; aminoácidos ácidos, por ejemplo, Glu, Asp; o aminoácidos que forman enlaces de hidrógeno, por ejemplo, Asn, Gin. Los aminoácidos ácidos y básicos pueden agruparse en un péptido. Los grupos carboxilo y amino de los residuos terminales pueden estar protegidos o no. Las membranas o hidrogeles pueden formarse en una mezcla homogénea de péptidos autocomplementarios y autocompatibles o en una mezcla heterogénea de péptidos que sean complementarios y estructuralmente compatibles entre sí. Los péptidos que cumplen los criterios anteriores pueden autoensamblarse en membranas macroscópicas en las condiciones adecuadas, descritas en la presente.

30 En determinadas modalidades, pueden usarse aproximadamente 8 a aproximadamente 32 residuos en los péptidos de autoensamblaje, mientras en otras modalidades los péptidos de autoensamblaje pueden tener aproximadamente 7 a aproximadamente 17 residuos. Los péptidos pueden tener una longitud de aproximadamente 5 nm.

35 Los péptidos de la presente descripción pueden comprender, consistir esencialmente, o consistir en péptidos que tienen la secuencia de repetición de arginina, alanina, ácido aspártico y alanina (Arg-Ala-Asp-Ala (sec. con núm. de ident.: 4) (RADA (sec. con núm. de ident.: 4))).

40 Otras secuencias peptídicas pueden representarse por péptidos de autoensamblaje que comprenden, que consiste esencialmente, o que consiste en la secuencia de repetición de isoleucina, ácido glutámico, isoleucina y lisina (Ile-Glu-Ile-Lys (sec. con núm. de ident.: 5) (IEIK (sec. con núm. de ident.: 5))). Otras secuencias peptídicas pueden representarse por péptidos de autoensamblaje que comprenden, que consiste esencialmente, o que consiste en la secuencia de repetición de lisina, leucina, ácido aspártico y leucina (Lys-Leu-Asp-Leu (sec. con núm. de ident.: 6) (KLDL (sec. con núm. de ident.: 6))). Como ejemplos específicos de péptidos de autoensamblaje de acuerdo con la invención puede ser un péptido de autoensamblaje referido como "RADA16" que tiene la secuencia Arg- Ala- Asp- Ala- Arg- Ala- Asp- Ala- Arg- Ala- Asp- Ala (sec. con núm. de ident.: 1) ((RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1)) (referido además como "Puramatrix" a lo largo de la descripción), un péptido de autoensamblaje referido como "IEIK13" que tiene la secuencia Ile-Glu-Ile-Lys-Ile-Glu-Ile-Lys-Ile-Glu-Ile-Lys-Ile (sec. con núm. de ident.: 2) ((IEIK)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 2)), o un péptido de autoensamblaje referido como "KLDL12" (que puede referirse, además, como "KLD12" a lo largo de esta descripción) que tiene la secuencia Lys-Leu-Asp-Leu-Lys-Leu-Asp-Leu-Lys-Leu-Asp-Leu (sec. con núm. de ident.: 3) ((KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3)).

50 Cada una de las secuencias peptídicas descritas en la presente puede proporcionar péptidos que comprenden, que consisten esencialmente, y que consisten en las secuencias de aminoácidos mencionadas.

55 La presente descripción proporciona materiales, métodos y kits para soluciones, hidrogeles, composiciones y soportes que comprenden, que consisten esencialmente, o que consisten en los péptidos mencionados en la presente.

60 Un por ciento de 1 peso por volumen (p/v) de una solución acuosa (agua) y un por ciento de 2,5 p/v de (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) está disponible como el producto hidrogel peptídico PuraMatrix™ de 3-D Matrix Co., Ltd.

El autoensamblaje de los péptidos puede atribuirse a las uniones de hidrógeno y a las uniones hidrofóbicas entre las moléculas peptídicas por los aminoácidos que componen los péptidos.

65 Los péptidos de autoensamblaje de la presente descripción pueden tener un diámetro de las nanofibras en un intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 20 nm y un tamaño promedio del poro está en un intervalo

de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 200 nm. En determinadas modalidades, el diámetro de las nanofibras, el tamaño del poro, y la densidad de nanofibras puede controlarse mediante al menos uno de la concentración de la solución peptídica utilizada y la cantidad de solución peptídica utilizada, tal como el volumen de la solución peptídica.

Como tal, puede seleccionarse al menos uno de una concentración específica de péptido en solución y una cantidad específica de la solución peptídica para proporcionar al menos uno de un diámetro deseado de las nanofibras, tamaño del poro y densidad para proporcionar adecuadamente la formación de una obstrucción bronquial. La concentración específica y la cantidad específica de la solución peptídica pueden referirse como una "concentración eficaz" y una "cantidad eficaz".

Como se usa en la presente, una cantidad de un péptido, solución peptídica o hidrogel eficaz para producir una obstrucción bronquial en un sujeto, una "cantidad eficaz" o una "cantidad con eficacia terapéutica" se refiere a una cantidad del péptido, solución peptídica, composición, o hidrogel, que es eficaz, tras una administración única o múltiple (aplicación o inyección) a un sujeto, para tratar, o curar, aliviar, mitigar o mejorar a un sujeto con un trastorno más allá de lo esperado en ausencia de dicho tratamiento. Esto puede incluir una concentración particular o intervalo de concentraciones del péptido en la solución peptídica, composición, o hidrogel y adicionalmente, o como alternativa, un volumen particular o intervalo de volúmenes de la solución peptídica, composición o hidrogel. El método para facilitar puede comprender proporcionar instrucciones para preparar al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz.

La dosificación, por ejemplo, el volumen o la concentración, administrada (por ejemplo, aplicada o inyectada) puede variar en dependencia de la forma del péptido (por ejemplo, en una solución peptídica, hidrogel, o en una forma seca, tal como una forma liofilizada) y la vía de administración utilizada. La formulación, vía de administración, volumen y concentración exactos pueden escogerse en función de la afección del sujeto y en función del área objetivo particular o ubicación donde la solución peptídica, hidrogel u otra forma de péptido se administrarán. Pueden utilizarse o necesitarse dosis inferiores o superiores a las indicadas en la presente. Los regímenes específicos de dosificación y tratamiento para cualquier sujeto en particular pueden depender de una variedad de factores, que pueden incluir el péptido o péptidos específicos empleados, la dimensión del área que se trata, el espesor deseado del hidrogel resultante que puede ubicarse en el área objetivo deseada, y la duración del tratamiento. Otros factores que pueden afectar los regímenes específicos de dosificación y tratamiento incluyen edad, peso corporal, estado de salud general, sexo, tiempo de administración, tasa de degradación, la gravedad y el curso de la enfermedad, afección o síntomas, y el criterio del médico a cargo. En determinadas modalidades, la solución peptídica puede administrarse en una dosis única. En otras modalidades, la solución peptídica puede administrarse en más de una dosis, o en múltiples dosis. La solución peptídica puede administrarse en al menos dos dosis.

Una cantidad eficaz y una concentración eficaz de la solución peptídica pueden seleccionarse para obstruir al menos parcialmente una región bronquial, por ejemplo para promover o producir una reducción del volumen pulmonar en un sujeto. En algunas modalidades, al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz puede basarse en parte en una dimensión o diámetro del área objetivo, tal como al menos un lóbulo pulmonar. En otras modalidades, al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz se basa en parte en la velocidad de flujo de uno o más fluidos en o cerca del área objetivo. Aún en otras modalidades, al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz puede basarse en parte en una dimensión o diámetro del área objetivo del sitio bronquial o el sitio de una cirugía.

Aún en otras modalidades, al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz puede basarse en parte en al menos uno de una dimensión o diámetro del área objetivo, y la velocidad de flujo de uno o más fluidos en o cerca del área objetivo, y una dimensión o diámetro de un área objetivo para la obstrucción bronquial, por ejemplo, uno o más lóbulos pulmonares.

La cantidad eficaz puede incluir volúmenes de aproximadamente 0,1 mililitros (mL) a aproximadamente 100 mL de una solución peptídica. La cantidad eficaz puede incluir volúmenes de aproximadamente 0,1 mL a aproximadamente 10 mL de una solución peptídica. La cantidad eficaz puede incluir volúmenes de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 mL. En determinadas modalidades, la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 0,4 mL. En determinadas modalidades, la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 0,5 mL. En otras modalidades, la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 1,0 mL. Aún en otras modalidades, la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 1,5 mL. Aún en otras modalidades, la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 2,0 mL. En algunas otras modalidades, la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 3,0 mL.

En determinadas modalidades, la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 0,1 mL por 1 cm<sup>2</sup> a aproximadamente 5 mL por 1 cm<sup>2</sup> de área objetivo. La cantidad eficaz puede ser aproximadamente 0,1 mL por 1 cm<sup>2</sup> a aproximadamente 1,5 mL por 1 cm<sup>2</sup>. En determinadas modalidades, la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 1 mL por 1 cm<sup>2</sup> de área objetivo. Esta cantidad eficaz puede usarse en relación con una concentración, tal como un

por ciento de 1,5 peso por volumen o un por ciento de 2,5 peso por volumen de una solución peptídica de la presente descripción.

5 La concentración eficaz puede ser, como se describe en la presente, una cantidad que puede formar la obstrucción bronquial. Varias propiedades en o cerca del sitio objetivo pueden contribuir a la selección o determinación de la concentración eficaz que incluye al menos uno de una dimensión o diámetro del área objetivo, y la velocidad de flujo de uno o más fluidos en o cerca del área objetivo.

10 La concentración eficaz puede incluir concentraciones del péptido en la solución en un intervalo de aproximadamente un por ciento de 0,1 peso por volumen (p/v) a aproximadamente un por ciento de 10 p/v. La concentración eficaz puede incluir concentraciones del péptido en la solución en un intervalo de aproximadamente un por ciento de 0,1 p/v a aproximadamente un por ciento de 3,5 p/v. En determinadas modalidades, la concentración eficaz puede ser aproximadamente un por ciento de 1 p/v. En algunas otras modalidades, la concentración eficaz puede ser aproximadamente un por ciento de 1,5 p/v. En otras modalidades, la concentración eficaz puede ser aproximadamente un por ciento de 2,5 p/v. Aún en otras modalidades, la concentración eficaz puede ser aproximadamente un por ciento de 3,0 p/v.

20 En determinadas modalidades, una solución peptídica que tiene una mayor concentración de péptido puede proporcionar un hidrogel más eficaz que tiene la capacidad de permanecer en el lugar y proporcionar un tratamiento eficaz. Con fines de administrar la solución peptídica, mayores concentraciones de las soluciones peptídicas pueden volverse demasiado viscosas para permitir la administración eficaz y selectiva de la solución. Es posible que si no se selecciona una concentración lo suficientemente alta, el hidrogel puede no ser eficaz en el área objetivo durante el periodo de tiempo deseado.

25 La concentración eficaz puede seleccionarse para proporcionar una solución que pueda administrarse mediante inyección u otros medios mediante el uso de un diámetro en particular o catéter o aguja de calibre particular.

30 Los métodos de la descripción contemplan administraciones únicas y múltiples de una cantidad con eficacia terapéutica de los péptidos, composiciones, soluciones peptídicas, membranas, filamentos e hidrogeles como se describe en la presente. Los péptidos como se describen en la presente pueden administrarse a intervalos regulares, en dependencia de la naturaleza, gravedad y magnitud de la afección del sujeto. En algunas modalidades, un péptido, composición, solución peptídica, membrana, filamento o hidrogel puede administrarse en una administración única. En algunas modalidades, un péptido, composición, solución peptídica o hidrogel descritos en la presente se administran en administraciones múltiples. En algunas modalidades, una cantidad con eficacia terapéutica de un péptido, composición, solución peptídica, membrana, filamento o hidrogel pueden administrarse periódicamente a intervalos regulares. Los intervalos regulares seleccionados pueden basarse en cualquiera o más de la concentración inicial del péptido de la solución administrada, la cantidad administrada, y la tasa de degradación del hidrogel formado. Por ejemplo, después de una administración inicial, una administración de seguimiento puede realizarse después de, por ejemplo, 30 segundos, 1 minuto, dos minutos, 5 minutos, 10 minutos, 1 día, 2 días, 5 días, una semana, dos semanas, cuatro semanas, seis semanas u ocho semanas. La administración de seguimiento puede comprender la administración de una solución que tiene la misma concentración de péptido y volumen que la administración inicial, o puede comprender la administración de una solución de menor o mayor concentración de péptido y volumen. La selección de la adecuada administración de seguimiento de la solución peptídica puede basarse en la visualización del área objetivo y el área adyacente al área objetivo y en la determinación de las necesidades con base en la condición del sujeto. Los intervalos predeterminados pueden ser los mismos para cada administración de seguimiento, o pueden ser diferentes. En algunas modalidades, un péptido, solución peptídica o hidrogel pueden administrarse de manera crónica a intervalos predeterminados para mantener al menos una obstrucción bronquial parcial en un sujeto durante la vida del sujeto. Los intervalos predeterminados pueden ser los mismos para cada administración de seguimiento, o pueden ser diferentes. Esto puede depender de si el hidrogel formado a partir de la administración anterior se altera o degrada parcial o totalmente. La administración de seguimiento puede comprender la administración de una solución que tiene la misma concentración de péptido y volumen que la administración inicial, o puede comprender la administración de una solución de menor o mayor concentración de péptido y volumen. La selección de la adecuada administración de seguimiento de la solución peptídica puede basarse en las imágenes o en la visualización del área objetivo y el área adyacente al área objetivo y en la determinación de las necesidades con base en la condición del sujeto.

50 La administración del péptido de autoensamblaje puede comprender aplicar una solución que comprende el péptido de autoensamblaje a través de o en el área objetivo. Por ejemplo, un dispositivo de suministro puede ubicarse dentro del área bronquial de manera que administre, por ejemplo, inyecte la solución en el área bronquial.

60 Estos procedimientos de administración pueden lograrse a través de una adecuada ubicación del dispositivo de suministro. Como se analizó anteriormente, el dispositivo de suministro puede ser una jeringa. La jeringa puede tener un calibre en particular para permitir un flujo adecuado de la solución sobre o hacia el área objetivo para lograr la obstrucción bronquial.

65

Otros procedimientos relacionados con el tratamiento pueden comprender la administración de una solución salina al área objetivo antes, durante o después de aplicar la solución que comprende el péptido de autoensamblaje. Esto puede proporcionar una obstrucción superior debido a un aumento en la resistencia mecánica de la barrera resultante de hidrogel, por ejemplo, aumento del módulo de almacenamiento de la barrera resultante de hidrogel en comparación con una barrera de hidrogel que no incluye tratamiento con una solución salina.

Los péptidos de autoensamblaje de la presente descripción, tal como RADA16, pueden ser secuencias peptídicas que carecen de un resto o secuencia fisiológicamente distintos o biológicamente activos, y por lo tanto pueden no afectar la función celular intrínseca. Los restos fisiológicamente activos pueden controlar numerosos fenómenos intracelulares, tales como la transcripción, y la presencia de restos fisiológicamente activos puede conducir a la fosforilación de proteínas intracitoplasmáticas o de la superficie celular mediante enzimas que reconocen esos restos. Cuando está presente un resto fisiológicamente activo en un péptido, se puede activar o suprimir la transcripción de proteínas con varias funciones. Los péptidos de autoensamblaje de la presente descripción, pueden carecer de tales restos fisiológicamente activos y por tanto no conllevan este riesgo.

Puede añadirse un azúcar a la solución del péptido de autoensamblaje para mejorar la presión osmótica de la solución de la hipotonicidad a la isotonicidad sin reducir la obstrucción bronquial, lo que permite así el incremento de la seguridad biológica. En determinados ejemplos, el azúcar puede ser sacarosa o glucosa.

La duración óptima para la formación de membranas puede variar con la composición de aminoácidos. Un factor de estabilización contemplado por los péptidos de la presente descripción es que los péptidos complementarios mantienen una distancia constante entre las cadenas principales del péptido. Los péptidos que pueden mantener una distancia constante después del apareamiento se denominan, en la presente, como estructuralmente compatibles. La distancia entre los péptidos puede calcularse para cada par con unión de hidrógeno o ionizado al tomar la suma de la cantidad de átomos no ramificados en las cadenas laterales de cada aminoácido en el par. Por ejemplo, la lisina tiene 5 y el ácido glutámico tiene 4 átomos no ramificados en sus cadenas laterales, respectivamente. Los péptidos pueden sintetizarse químicamente o pueden purificarse a partir de fuentes naturales y recombinantes. El uso de péptidos sintetizados químicamente puede permitir que las soluciones peptídicas sean deficientes en componentes no identificados tal como componentes no identificados derivados de la matriz extracelular de otro animal o microorganismo. Por lo tanto esta propiedad puede eliminar preocupaciones de infección, que incluyen riesgo de infección viral en comparación con biomateriales convencionales derivados de tejidos. Esto puede eliminar preocupaciones de infección que incluyen infecciones como encefalopatía espongiiforme bovina (BSE), lo que vuelve al péptido altamente seguro para el tratamiento de la fuga pulmonar.

La concentración inicial del péptido puede ser un factor en el tamaño y espesor de la membrana, hidrogel o soporte formados. En general, a mayor concentración del péptido, mayor será el grado de formación de membrana o hidrogel. Los hidrogeles o soportes formados a mayores concentraciones iniciales del péptido (aproximadamente 10 mg/mL) (aproximadamente un por ciento de 1,0 p/v) pueden ser más espesos y por lo tanto, probablemente más fuertes.

La formación de las membranas, hidrogeles, composiciones o soportes puede ser muy rápida, en el orden de unos pocos segundos o unos pocos minutos. La formación de las membranas o hidrogeles puede ser irreversible. En determinadas modalidades, la formación puede ser reversible. El hidrogel puede formarse instantáneamente tras la administración a un área objetivo. La formación del hidrogel puede ocurrir dentro de aproximadamente uno a dos minutos de administración. En otros ejemplos, la formación del hidrogel puede ocurrir dentro de aproximadamente tres a cuatro minutos de administración. En determinadas modalidades el tiempo necesario para la formación del hidrogel puede basarse al menos en parte en uno o más de la concentración de la solución peptídica, el volumen de solución peptídica aplicado, y las condiciones en el área de aplicación o inyección (por ejemplo, la concentración de cationes de metales monovalentes y/o aniones en el área de aplicación, el pH del área, y la presencia de uno o más fluidos en o cerca del área, componentes adicionales añadidos a la solución antes o después de la administración al área objetivo). El proceso puede no afectarse por un pH menor o igual a 12, y por la temperatura. Las membranas o hidrogeles pueden formarse a temperaturas en el intervalo de 1 a 99 grados Celsius.

Los hidrogeles pueden permanecer en la posición en el área objetivo durante un periodo de tiempo suficiente para proporcionar un efecto deseado mediante el uso de los métodos y kits de la presente descripción. El efecto deseado mediante el uso de los materiales, composiciones, métodos y kits de la presente descripción puede ser tratar áreas o asistir en la cicatrización de áreas en las cuales se realizó un procedimiento quirúrgico en o cerca del sitio de una cirugía o el sitio de una obstrucción bronquial deseada, tal como, pero sin limitarse a, una reducción del volumen pulmonar. Por ejemplo, el efecto deseado mediante el uso de los materiales, composiciones, métodos y kits de la presente descripción puede ser asistir en una cirugía o procedimiento pulmonar para producir una obstrucción bronquial.

Los materiales y métodos de la presente descripción, que incluyen el uso de una solución, hidrogel, composición o membrana, que comprende un péptido de autoensamblaje como se describe en la presente para producir una obstrucción bronquial, se proporcionan para producir una barrera de hidrogel en un área objetivo. Una propiedad de

la barrera de hidrogel que puede determinar el adecuado éxito del tratamiento o procedimiento es la presión de ruptura, o la tolerancia a la presión de ruptura. La presión de ruptura puede referirse a la presión a la cual fallará la barrera de hidrogel. Por ejemplo, esta puede ser la presión a la cual la barrera de hidrogel ya no funciona como se desea para proporcionar un adecuado tratamiento al área objetivo. La presión de ruptura puede ser la presión a la cual el bloqueo o la oclusión o la obstrucción proporcionados por la barrera de hidrogel permiten el paso del aire a través de ella.

En algunas modalidades, puede ser conveniente proporcionar, a través del uso de los materiales y métodos de la descripción, una presión de ruptura que sea similar o mayor a la que se logra con el tejido normal (por ejemplo, tejido no dañado). Puede ser conveniente proporcionar, a través del uso de los materiales y métodos de la descripción, una presión de ruptura que sea similar a las presiones observadas a través de la función pulmonar normal o promedio. Existe un efecto del tiempo de gelificación, después de la aplicación. Para un tejido normal y saludable, generalmente puede observarse una presión de ruptura de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 cmH<sub>2</sub>O.

El periodo de tiempo en que las membranas o hidrogeles pueden permanecer en el área deseada puede ser durante aproximadamente 10 minutos. En determinados ejemplos, pueden permanecer en el área deseada durante aproximadamente 35 minutos. En algunos otros ejemplos, pueden permanecer en el área deseada durante uno o más días, hasta una o más semanas. En otros ejemplos, pueden permanecer en el área deseada hasta 30 días, o más. Pueden permanecer en el área deseada indefinidamente. En otros ejemplos, pueden permanecer en el área deseada durante un periodo de tiempo más largo, hasta que se degrade naturalmente o se retire de manera intencional. Si el hidrogel se degrada naturalmente en un periodo de tiempo, puede realizarse una aplicación o inyección del hidrogel posterior en la misma ubicación o no.

En determinadas modalidades, el péptido de autoensamblaje puede prepararse con uno o más componentes que pueden proporcionar una mayor efectividad del péptido de autoensamblaje o pueden proporcionar otra acción, tratamiento, terapia o interactuar de cualquier otra manera con uno o más componentes del sujeto. El uno o más de los componentes adicionales pueden proporcionar una mayor resistencia mecánica, según la medición del módulo de almacenamiento, G' y mejor cinética de gelificación, por ejemplo, una gelificación más rápida en un hidrogel o barrera de hidrogel.

Por ejemplo, puede ajustarse el pH del péptido de autoensamblaje, por ejemplo, en la forma de una solución o composición del péptido de autoensamblaje. El pH del péptido de autoensamblaje, en la forma de una solución o composición del péptido de autoensamblaje, puede aumentarse o disminuirse. Esto puede realizarse mediante el ajuste del pH de la solución del péptido de autoensamblaje, por medio de la adición de un controlador de pH. El controlador de pH puede ser, por ejemplo, sales, una solución salina o una solución tampón. El controlador de pH puede seleccionarse con base en la secuencia de aminoácidos del péptido de autoensamblaje, el tipo de sal o sales, la concentración de una o más sales, y el pH del controlador de pH. En determinadas modalidades, el pH de la solución que comprende el péptido de autoensamblaje está entre aproximadamente 2,5 a aproximadamente 4,0.

Las soluciones y composiciones que comprenden péptidos de autoensamblaje que se proporcionan mediante esta descripción pueden prepararse con componentes adicionales, por ejemplo, una o más sales. La preparación de la solución puede comprender la adición del péptido de autoensamblaje, por ejemplo, en la forma de un péptido en polvo o una solución peptídica, a una solución salina. En otras modalidades, la preparación de la solución puede comprender la adición de una sal o una solución salina a un péptido de autoensamblaje, en la forma de un péptido en polvo o una solución peptídica. En otras modalidades, la preparación de la solución que comprende el péptido de autoensamblaje comprende añadir agua a un péptido en polvo del péptido de autoensamblaje para proporcionar una solución acuosa del péptido. El agua puede ser agua desionizada o cualquier agua purificada adecuada para la preparación de la solución peptídica. El agua puede ser de un grado aceptable para un dispositivo médico o un grado farmacéuticamente aceptable. El péptido en polvo y el agua pueden mezclarse opcionalmente. Después puede añadirse una sal o solución salina a la solución acuosa del péptido. La sal o solución salina y la solución acuosa del péptido pueden mezclarse después.

Las soluciones salinas pueden proporcionarse para usar en la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, para añadir a la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, o para añadir al hidrogel o a la composición que comprende el péptido de autoensamblaje. Las soluciones salinas pueden proporcionarse con aniones y cationes específicos, y a concentraciones específicas para dar una propiedad deseada a la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, o al hidrogel resultante, o barrera de hidrogel. Por ejemplo la solución salina puede proporcionarse para que tenga una resistencia mecánica (módulo de almacenamiento), rigidez, viscosidad, cinética de gelificación, fuerza iónica, pH o presión de ruptura (tolerancia a la presión de ruptura).

Las soluciones salinas pueden comprender cationes y/o aniones monovalentes y/o divalentes. La solución salina puede comprender al menos un catión seleccionado del grupo que consiste en amonio, hierro, magnesio, potasio, piridinio, amonio cuaternario, sodio, potasio y calcio. La solución salina puede comprender al menos un anión

seleccionado del grupo que consiste en cloruro, sulfato, acetato, carbonato, cloruro, citrato, cianuro, fluoruro, sulfato, nitrato, nitrito y fosfato.

5 En algunas modalidades, la solución salina comprende al menos uno de cloruro de calcio, cloruro de sodio y cloruro de potasio.

10 En determinadas modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede comprender (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) a una concentración de aproximadamente un por ciento de 0,5 p/v. Esta solución puede comprender, además, una concentración de cloruro de calcio de aproximadamente 0,125 M. Esta solución puede proporcionar además un módulo de almacenamiento de aproximadamente 25 Pa.

15 En determinadas modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede comprender (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) a una concentración de aproximadamente un por ciento de 0,5 p/v. Esta solución puede comprender, además, una concentración de cloruro de calcio de aproximadamente 0,250 M. Esta solución puede proporcionar además un módulo de almacenamiento de aproximadamente 44 Pa.

20 En determinadas modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede comprender (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) a una concentración de aproximadamente un por ciento de 0,5 p/v. Esta solución puede comprender, además, una concentración de cloruro de calcio de aproximadamente 0,500 M. Esta solución puede proporcionar además un módulo de almacenamiento de aproximadamente 52 Pa.

25 En determinadas modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede comprender (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) a una concentración de aproximadamente un por ciento de 2,5 p/v. Esta solución puede comprender, además, una concentración de cloruro de calcio de aproximadamente 0,125 M. Esta solución puede proporcionar además un módulo de almacenamiento de aproximadamente 600 Pa.

30 En modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede tener una concentración de sal de entre aproximadamente 0,005 M y aproximadamente 1 M. En determinadas modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede tener una concentración de sal de entre aproximadamente 0,125 M y aproximadamente 0,500 M. En determinadas modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede tener una concentración de sal de aproximadamente 0,25 M.

35 En modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede comprender o se le puede haber añadido una solución isotónica. La solución isotónica puede ser con relación a un sujeto, por ejemplo fluidos corporales del sujeto o las condiciones fisiológicas locales en el área objetivo. La solución isotónica puede comprender al menos uno de cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio y agua. La solución puede contener ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, que pueden usarse para el ajuste del pH. Para preparar esta solución pueden disolverse 8,6 g de NaCl, 0,3 g de KCl, 0,33 g de CaCl<sub>2</sub> en un litro de agua destilada. El pH de esta solución puede ser aproximadamente 5,4. El pH de la solución puede ajustarse con un ácido o una base, o un controlador de pH. El controlador de pH puede ser bicarbonato de sodio. La solución puede referirse como solución de Ringer.

45 En modalidades, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje puede comprender o se le puede haber añadido un agente de contraste. El agente de contraste puede utilizarse para la visualización de la solución que comprende el péptido de autoensamblaje o el hidrogel o barrera de hidrogel. El agente de contraste puede proporcionar o asegurar al investigador la ubicación de la solución que comprende el péptido de autoensamblaje o el hidrogel o la barrera de hidrogel. El agente de contraste puede comprender al menos uno de iones sulfato e iones de sodio.

50 En modalidades, las propiedades de diversos péptidos de autoensamblaje, que incluyen pero sin limitarse a (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), (IEIK)<sub>3</sub>l (sec. con núm. de ident.: 2), (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3) pueden mejorarse al mantener su concentración de sal a menos de su nivel crítico de fuerza iónica antes de empezar a precipitar. El nivel crítico de fuerza iónica de sales varía en dependencia de las características intrínsecas de los aminoácidos y la composición en cada péptido. Los péptidos pueden disolverse en agua con diversas sales en lugar de agua pura para mantener su fuerza iónica a menos de su nivel crítico de fuerza iónica antes de comenzar a precipitar.

60 Esto puede impartir beneficiosamente propiedades relativamente más rígidas o mayor resistencia mecánica a la solución del péptido de autoensamblaje y a los hidrogeles a diversas concentraciones de sal lo que los vuelve adecuados para una mayor variedad de aplicaciones en comparación con los hidrogeles de péptidos mantenidos a un nivel cero de la concentración de sal. Esto también puede impartir beneficiosamente una cinética de gelificación rápida a partir de una solución peptídica a los hidrogeles de péptidos tras el cambio de fuerza iónica de sal ambiental a más de su fuerza iónica crítica antes de la precipitación tal como la fuerza iónica fisiológica, que puede ocurrir cuando la solución peptídica se administra en condiciones fisiológicas, por ejemplo, un área objetivo del sujeto.

65

- De acuerdo con uno o más aspectos, las propiedades de diversos hidrogeles de péptidos, que incluyen pero sin limitarse a (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2), (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3), pueden mejorar al mantener su nivel de pH en un valor elevado de aproximadamente 3,5 o menos y al mismo tiempo, su concentración de sales a menos de su nivel crítico de fuerza iónica antes de precipitar.
- 5 En algunas modalidades, la solución que comprende (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) tiene un pH de aproximadamente 3,5. En algunas modalidades, la solución que comprende (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3) tiene un pH de aproximadamente 3,5. En algunas modalidades, la solución que comprende (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2) tiene un pH de aproximadamente 3,7.
- 10 En algunas modalidades, un tampón, tal como una solución tampón puede añadirse a la solución del péptido de autoensamblaje o al péptido de autoensamblaje.
- 15 Un tampón puede ser una solución acuosa que consiste en una mezcla de un ácido débil y su base conjugada, o viceversa. El pH del tampón cambia muy poco cuando se le añade una cantidad pequeña o moderada de ácido o base fuerte y por lo tanto se usa para prevenir cambios en el pH de una solución. Las soluciones tampón se usan como un medio para mantener el pH a un valor casi constante en una amplia variedad de aplicaciones químicas, y es aplicable a los péptidos de autoensamblaje y a las soluciones de péptidos de autoensamblaje y las composiciones descritas en la presente.
- 20 Un tampón puede comprender al menos dos sales. Un tampón puede tener un pH de aproximadamente 7,4, tal como el tampón PBS (solución salina tamponada con fosfato). Un tampón puede tener un pH de aproximadamente 7,2, tal como el tampón DMEM. En algunas modalidades, el tampón puede ser un tampón alcalino.
- 25 En algunas modalidades, una solución o composición del péptido de autoensamblaje puede tamponarse con aproximadamente 0,15 M de al menos uno de cloruro de sodio, cloruro de potasio y cloruro de calcio. Cuando el péptido de autoensamblaje es (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), el tampón puede comprender entre aproximadamente 0,6 y aproximadamente 1,2 M de una sal. Cuando el péptido de autoensamblaje es (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2), el tampón puede comprender entre aproximadamente 0,6 y aproximadamente 1,2 M de una sal. Cuando el péptido de autoensamblaje es (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), el tampón puede comprender entre aproximadamente 0,02 y aproximadamente 0,04 M de una sal. Cuando el péptido de autoensamblaje es (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3), el tampón puede comprender entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 0,4 M de una sal.
- 30 En determinadas modalidades, se proporcionan métodos de tratamiento como los métodos para producir una obstrucción bronquial que comprenden, además, seleccionar una sal para proporcionar una resistencia mecánica predeterminada a la solución. El método puede comprender, además, seleccionar la concentración de la sal para proporcionar la resistencia mecánica predeterminada a la solución. El método puede comprender seleccionar una sal para proporcionar una fuerza iónica predeterminada a la solución. El método puede comprender, además, seleccionar la concentración de la sal para proporcionar la fuerza iónica predeterminada a la solución. El método puede comprender seleccionar una sal para proporcionar un pH predeterminado a la solución. El método puede comprender, además, seleccionar la concentración de la sal para proporcionar el pH predeterminado a la solución.
- 35 Pueden incluirse péptidos adicionales que comprenden una o más secuencias de aminoácidos o restos biológica o fisiológicamente activos como uno de los componentes junto con el péptido de autoensamblaje. Otros componentes pueden incluir compuestos biológicamente activos tal como un fármaco u otro tratamiento que pueda proporcionar algún beneficio al sujeto. Por ejemplo, un fármaco para el tratamiento del cáncer o fármaco contra el cáncer puede administrarse con el péptido de autoensamblaje, o puede administrarse separadamente.
- 40 El péptido, solución peptídica o hidrogel puede comprender fármacos moleculares pequeños para tratar el sujeto o para prevenir la hemólisis, la inflamación y la infección. Los fármacos moleculares pequeños pueden seleccionarse del grupo que consiste en glucosa, sacarosa, sacarosa purificada, lactosa, maltosa, trehalosa, dextrano, iodo, cloruro de lisozima, dimetil isopropil azuleno, tocoferol tretionina, iodo povidona, alprostadil alfadex, alcohol anisado, salicilato de isoamilo, alcohol  $\alpha,\alpha$ -dimetil feniletílico, bacdanol, helional, sulfazina de plata, bucladesina de sodio, alprostadil alfadex, sulfato de gentamicina, hidrocloreuro de tetraciclina, fusidato de sodio, hidrato de mupirocina de calcio y benzoato de isoamilo. Pueden contemplarse otros fármacos moleculares pequeños. Los fármacos basados en proteínas pueden incluirse como un componente a administrarse, y pueden incluir eritropoyetina, activador tisular del plasminógeno, hemoglobina sintética e insulina.
- 45 El péptido, solución peptídica o hidrogel puede comprender fármacos moleculares pequeños para tratar el sujeto o para prevenir la hemólisis, la inflamación y la infección. Los fármacos moleculares pequeños pueden seleccionarse del grupo que consiste en glucosa, sacarosa, sacarosa purificada, lactosa, maltosa, trehalosa, dextrano, iodo, cloruro de lisozima, dimetil isopropil azuleno, tocoferol tretionina, iodo povidona, alprostadil alfadex, alcohol anisado, salicilato de isoamilo, alcohol  $\alpha,\alpha$ -dimetil feniletílico, bacdanol, helional, sulfazina de plata, bucladesina de sodio, alprostadil alfadex, sulfato de gentamicina, hidrocloreuro de tetraciclina, fusidato de sodio, hidrato de mupirocina de calcio y benzoato de isoamilo. Pueden contemplarse otros fármacos moleculares pequeños. Los fármacos basados en proteínas pueden incluirse como un componente a administrarse, y pueden incluir eritropoyetina, activador tisular del plasminógeno, hemoglobina sintética e insulina.
- 50 Puede incluirse un componente para proteger el péptido de autoensamblaje, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, o la composición contra la formación rápida o inmediata en un hidrogel. Esto puede incluir un sistema de administración encapsulado que puede degradarse con el tiempo para permitir una liberación controlada en el tiempo de la solución peptídica hacia el área objetivo para formar el hidrogel durante un periodo de tiempo deseado y predeterminado. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilen vinilo, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico.
- 55 Puede incluirse un componente para proteger el péptido de autoensamblaje, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, o la composición contra la formación rápida o inmediata en un hidrogel. Esto puede incluir un sistema de administración encapsulado que puede degradarse con el tiempo para permitir una liberación controlada en el tiempo de la solución peptídica hacia el área objetivo para formar el hidrogel durante un periodo de tiempo deseado y predeterminado. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilen vinilo, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico.
- 60 Puede incluirse un componente para proteger el péptido de autoensamblaje, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, o la composición contra la formación rápida o inmediata en un hidrogel. Esto puede incluir un sistema de administración encapsulado que puede degradarse con el tiempo para permitir una liberación controlada en el tiempo de la solución peptídica hacia el área objetivo para formar el hidrogel durante un periodo de tiempo deseado y predeterminado. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilen vinilo, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico.
- 65 Puede incluirse un componente para proteger el péptido de autoensamblaje, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, o la composición contra la formación rápida o inmediata en un hidrogel. Esto puede incluir un sistema de administración encapsulado que puede degradarse con el tiempo para permitir una liberación controlada en el tiempo de la solución peptídica hacia el área objetivo para formar el hidrogel durante un periodo de tiempo deseado y predeterminado. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilen vinilo, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico.

Cualquiera de los componentes descritos en la presente puede incluirse en el péptido de autoensamblaje, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, la composición, o el kit o puede administrarse separado del péptido de autoensamblaje, la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, la composición, o el kit. Adicionalmente, cualquiera de los métodos y los métodos de facilitación proporcionados en la presente pueden realizarse por una o más partes.

Un péptido, solución peptídica, composición o hidrogel de la descripción puede proporcionarse en un kit para formar una obstrucción bronquial, por ejemplo, una reducción del volumen pulmonar. El kit puede ser para producir una obstrucción bronquial en un sujeto. En el kit también pueden proporcionarse las instrucciones para administrar una solución de péptido de autoensamblaje a un área objetivo de un sujeto. El péptido de autoensamblaje puede comprender entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos en una cantidad eficaz para formar una barrera de hidrogel para producir una obstrucción bronquial. En algunas modalidades, el péptido de autoensamblaje puede comprender, consistir, o consistir esencialmente en, entre aproximadamente 12 y aproximadamente 16 aminoácidos. El péptido de autoensamblaje puede comprender, consistir esencialmente, o consistir en (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2), (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3). Las concentraciones del péptido de autoensamblaje en solución puede ser cualquiera de las concentraciones descritas en la presente.

Las instrucciones para administrar la solución pueden comprender métodos para administrar el péptido, la solución peptídica o el hidrogel proporcionado en la presente, por ejemplo, mediante una vía de administración descrita en la presente, a una dosis, volumen o concentración, o programa de administración. El péptido puede ser anfifílico y al menos una parte del péptido puede alternar entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo.

El kit puede proporcionar el péptido de autoensamblaje como uno de una solución que comprende un péptido de autoensamblaje y un polvo para preparar como una solución que comprende un péptido de autoensamblaje. También pueden proporcionarse las instrucciones para preparar una solución que comprende un péptido de autoensamblaje que tiene una concentración eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para formar una obstrucción bronquial.

El kit puede comprender, además, material informativo. El material informativo puede ser descriptivo, instructivo, comercial u otro material que se relacione con los métodos descritos en la presente. En una modalidad, el material informativo puede incluir información sobre la producción del péptido, la solución peptídica o el hidrogel descritos en la presente, las propiedades físicas del péptido, la composición, la solución peptídica o el hidrogel, la concentración, el volumen, el tamaño, las dimensiones, la fecha de vencimiento y el lote o el lugar de producción.

El kit puede incluir, además, opcionalmente un dispositivo o materiales que permitan una administración del péptido o de la solución peptídica al área deseada. Por ejemplo, en el kit puede incluirse una jeringa, pipeta, catéter, u otro dispositivo basado en agujas. Adicional o alternativamente, el kit puede incluir un cable guía, endoscopio, u otro equipo acompañante para proporcionar una administración selectiva de la solución peptídica al área objetivo. En algunas modalidades, puede proporcionarse un tubo endotraqueal combinado con un catéter para prevenir el flujo retrógrado durante la inyección.

El kit puede comprender además o alternativamente, otros componentes o ingredientes, tales como componentes que pueden ayudar en la ubicación de la solución peptídica, el hidrogel o el soporte. Las instrucciones pueden proporcionarse en el kit para combinar una cantidad o volumen suficiente de la solución peptídica con una solución de sacarosa, que puede proporcionarse o no con el kit. Las instrucciones pueden proporcionarse para diluir la solución peptídica para administrar una concentración eficaz de la solución al área objetivo. La instrucción puede describir la dilución de la solución peptídica con un diluyente o disolvente. El diluyente o solvente puede ser agua. Las instrucciones pueden proporcionarse, además, para determinar al menos uno de la concentración eficaz de la solución y la cantidad eficaz de la solución al área objetivo. Esto puede basarse en diversos parámetros analizados en la presente, y puede incluir las dimensiones del área objetivo donde se desea una obstrucción bronquial.

En el kit pueden incluirse otros componentes o ingredientes, en composiciones o recipientes iguales o diferentes al del péptido, soluciones peptídicas o hidrogel. El uno o más componentes que pueden incluirse comprenden componentes que pueden proporcionar mayor efectividad del péptido de autoensamblaje o pueden proporcionar otra acción, tratamiento, terapia, o interactuar de cualquier otra manera con uno o más componentes del sujeto. Por ejemplo, pueden incluirse péptidos adicionales que comprenden una o más secuencias o restos biológica o fisiológicamente activos como uno de los componentes junto con el péptido de autoensamblaje. Otros componentes pueden incluir compuestos biológicamente activos tal como un fármaco u otro tratamiento que pueda proporcionar algún beneficio al sujeto. Por ejemplo, un fármaco para el tratamiento del cáncer o fármaco contra el cáncer puede administrarse con el péptido de autoensamblaje, o puede administrarse separadamente. El péptido, la solución peptídica o el hidrogel pueden comprender fármacos moleculares pequeños para tratar al sujeto o para prevenir la hemólisis, la inflamación, y la infección, como se describe en la presente. Con el kit puede proporcionarse una

solución de azúcar tal como una solución de sacarosa. La solución de sacarosa puede ser una solución de sacarosa al 20 %.

5 Otros componentes que se describen en la presente a lo largo de esta descripción pueden incluirse también en el kit. Por ejemplo, el kit puede comprender, además, soluciones salinas separadas, o en combinación con el péptido de autoensamblaje. El kit puede comprender, además, por ejemplo, un azúcar o solución de azúcar, por ejemplo, sacarosa, que se proporciona separadamente del péptido de autoensamblaje o junto con el péptido de autoensamblaje. Las instrucciones pueden proporcionarse para combinar una solución salina y uno de la solución que comprende el péptido de autoensamblaje, o el péptido en polvo. El kit puede comprender, además, una solución isotónica o agente de contraste para añadir a la solución o polvo del péptido de autoensamblaje, o como parte de la solución del péptido de autoensamblaje.

15 En algunas modalidades, un componente del kit se almacena en un frasco sellado, por ejemplo, con un cierre de caucho o silicona (por ejemplo, un cierre de polibutadieno o poliisopreno). En algunas modalidades, un componente del kit se almacena en condiciones inertes (por ejemplo, en nitrógeno u otro gas inerte tal como argón). En algunas modalidades, un componente del kit se almacena en condiciones anhidras (por ejemplo, con un desecante). En algunas modalidades, un componente del kit se almacena en un contenedor que bloquea la luz tal como un frasco ámbar.

20 Como parte del kit o separado de un kit, las jeringas o pipetas pueden llenarse previamente con un péptido, solución peptídica o hidrogel como se describe en la presente. Se proporcionan métodos para instruir a un usuario para el suministro de una solución del péptido de autoensamblaje a una jeringa o pipeta, con o sin el uso de otros dispositivos, y administrarlo al área objetivo a través de la jeringa o pipeta, con o sin el uso de otros dispositivos. Otros dispositivos pueden incluir, por ejemplo, un catéter con o sin un cable guía.

25 El péptido de autoensamblaje del kit puede ser cualquier péptido proporcionado en esta descripción para usar como un agente para la obstrucción bronquial, y cualquiera de los componentes descritos en esta descripción, por ejemplo, en el kit pueden proporcionarse diversas sales, controladores de pH, tampones, tampones alcalinos, con el péptido de autoensamblaje en el kit, o separadamente del péptido de autoensamblaje en el kit.

30 En modalidades, se proporcionan composiciones que comprenden un péptido de autoensamblaje que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos en una cantidad eficaz y en una concentración eficaz para usar en la formación de una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para producir una obstrucción bronquial. El péptido de autoensamblaje de la composición puede seleccionarse del grupo que consiste en (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), (IEIK)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 2), y (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3). La concentración eficaz para permitir la formación de una obstrucción bronquial comprende una concentración del péptido de autoensamblaje en un intervalo de aproximadamente un por ciento de 0,1 peso por volumen (p/v) a aproximadamente un por ciento de 3 p/v. La composición puede estar sustancialmente libre de células. La composición puede estar sustancialmente libre de fármacos. La composición puede comprender, además, cualquiera o más de los componentes descritos en la presente. Por ejemplo, la composición puede comprender cualquiera o más de los cationes, aniones, sales, tampones, agentes de contraste, soluciones isotónicas, controladores de pH, y azúcares descritos en la presente, y a las diversas concentraciones descritas en la presente. Las composiciones pueden tener propiedades como resistencia mecánica, pH, cinética de gelificación y fuerza iónica como se describe en la presente. Las composiciones pueden usarse para producir una obstrucción bronquial, tal como pero sin limitarse a una reducción del volumen pulmonar, y pueden ser tratamientos para un sujeto, tal como un mamífero o ser humano.

50 Puede proporcionarse, además, un método para facilitar la formación de una obstrucción bronquial en un sujeto. Los métodos pueden comprender proporcionar una solución que comprende un péptido de autoensamblaje que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos a aproximadamente 32 aminoácidos en una cantidad eficaz y en una concentración eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para permitir la formación de una obstrucción bronquial; y proporcionar instrucciones para administrar la solución a un área objetivo del sistema pulmonar a través de la introducción de la solución a través de un dispositivo de suministro ubicado en, por ejemplo, al menos un lóbulo pulmonar.

55 Los métodos pueden comprender, además, proporcionar instrucciones para visualizar una región que comprende al menos una parte del sistema bronquial, tal como un lóbulo de pulmón, como se describe en la presente. Las instrucciones pueden proporcionarse, además, para visualizar la región en la que se desea la obstrucción bronquial, en donde las instrucciones comprenden al menos uno de identificar el área objetivo del sistema pulmonar; introducir el dispositivo de suministro; ubicar un extremo del dispositivo de suministro en el área objetivo; administrar la solución; retirar el dispositivo de suministro del sitio objetivo; y dar seguimiento al sitio objetivo para la obstrucción después de retirar el dispositivo de suministro. Las instrucciones pueden proporcionarse para visualizar la región en un periodo de tiempo de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 5 minutos después de la etapa de administración de la solución. El método puede comprender, además, proporcionar instrucciones para preparar al

menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz, basado en parte en una dimensión del área objetivo para la obstrucción bronquial, como se analiza en la descripción.

5 El péptido de autoensamblaje se selecciona del grupo que consiste en (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), (IEIK)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 2), y (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3). El método puede comprender, además, proporcionar instrucciones para dar seguimiento al área adyacente al área objetivo. El método puede comprender, además, proporcionar la solución y las instrucciones para usar antes, durante o después de un procedimiento quirúrgico. El método que comprende proporcionar una solución que comprende un péptido de autoensamblaje puede comprender proporcionar instrucciones para preparar una solución peptídica, como se describe en la  
10 presente, que tiene una concentración eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para permitir la obstrucción bronquial.

### Ejemplos

15 Ejemplo 1: Efecto del nivel de pH sobre las propiedades reológicas de los hidrogeles de péptidos

Los efectos del medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (pH 7,4) sobre las propiedades reológicas de IEIK13, KLD12, y PuraMatrix® se evaluaron en un reómetro (AR500, TA Instruments) con placas de 40 mm. DMEM es generalmente un medio de cultivo celular que contiene NaCl a 6,4 g/L, NaHCO<sub>3</sub> a 3,4 g/L (bicarbonato de sodio),  
20 menores cantidades de otras sales, diversos aminoácidos y glucosa a 4,5 g/L. El nivel de pH de DMEM es generalmente 7,2 ± 0,2 y la osmolalidad es 335 ± 30 mOsm/Kg de H<sub>2</sub>O; ambas medidas están cerca de los fluidos fisiológicos humanos como la sangre.

Las soluciones peptídicas (1 %) se mantuvieron a 4 °C durante al menos 48 horas antes de las pruebas. Para  
25 realizar el experimento, se pipeteó suavemente 1 mL de solución peptídica y se colocó en la placa del reómetro. 2 mL de la solución de DMEM se añadieron suavemente alrededor de la solución peptídica. La solución peptídica se trató con DMEM durante dos minutos, después el medio se eliminó, y las placas se colocaron a una abertura geométrica de medición de alrededor de 450 µm. Las mediciones se realizaron a 37 °C después de 2 min de tiempo de relajación. Las pruebas de frecuencia se realizaron a partir de 1 rad/s a 100 rad/s a 1 Pa de tensión de oscilación.

Las propiedades reológicas de los péptidos (1 %) se compararon antes y después del tratamiento con DMEM  
30 durante 2 minutos, como se muestra en la figura 1A. El aumento en veces de los módulos de almacenamiento después del tratamiento con DMEM durante 2 minutos se muestra en la figura 1B. Cada uno de los péptidos mostró grandes incrementos de los módulos de almacenamiento después del tratamiento con DMEM. La diferencia en veces entre los módulos de almacenamiento después del tratamiento con DMEM entre PuraMatrix®, KLD12, y IEIK13 fue relativamente ligera en comparación con la obtenida antes del tratamiento con DMEM. Similarmente, las  
35 soluciones peptídicas más rígidas (es decir IEIK13) mostraron un aumento en menos veces del módulo de almacenamiento que las soluciones peptídicas más débiles (es decir PuraMatrix®) después del tratamiento con DMEM. Esta observación sugiere que surge una interacción intermolecular crítica después del tratamiento con DMEM, que determina la rigidez final después del tratamiento con DMEM.

Ejemplo 2: Optimización del nivel de pH de las soluciones peptídicas

45 Para ajustar el nivel de pH de las soluciones peptídicas a manera de ejemplo, NaOH 0,1 N se añadió a 2 mL de soluciones peptídicas al 2,5 % y se midieron sus pH y apariencia. Los resultados se muestran en la tabla 1. Es notable señalar que un aumento de pH hasta aproximadamente 3,5 o menos no cambió el color transparente de las solución de PuraMatrix®, IEIK13 y KLD12, a la vez que aumentó su rigidez aparente.

50

55

60

65

Tabla 1 Apariencia de las soluciones peptídicas a diversos niveles de pH

	Péptidos	NaOH 0,1 N añadido en solución al 2,5 % ( $\mu$ L/mL)	Conc. (%)	pH de la solución de péptidos	Apariencia
5	PuraMatrix®	0	2,5	2,2	Gel transparente, espeso
		50	2,38	2,3	Gel transparente, espeso
		100	2,27	2,4	Gel transparente, espeso
10		150	2,17	2,7	Gel transparente, espeso, más rígido
		200	2,08	2,9	Gel transparente, espeso, más rígido
15		250	2,0	3,2	Gel transparente, espeso, más rígido
		275	1,96	3,4	Gel transparente, espeso, más rígido
		300	1,92	3,6	Gel ligeramente turbio, frágil
20		350	1,85	4,5	Turbio, separado en fases
			7,0	Turbio, separado en fases	
25	IEIK13	0	2,5	1,8	Gel transparente, espeso
		50	2,38	2,1	Gel transparente, espeso
		100	2,27	2,2	Gel transparente, espeso
		150	2,17	2,7	Gel transparente, espeso, gel más rígido
30		200	2,08	3,0	Gel transparente, espeso, gel más rígido
		250	2,0	3,3	Gel transparente, espeso, gel más rígido
		275	1,96	3,7	Gel transparente, espeso, más rígido
35		300	1,92	4,0	Gel ligeramente turbio, frágil
		350	1,85	4,5	Gel turbio, frágil
			5,4	Turbio, separado en fases	
40			7,0	Turbio, separado en fases	
45	KLD12	0	2,5	2,1	Gel transparente, espeso
		50	2,38	2,4	Gel transparente, espeso
		100	2,27	2,6	Gel transparente, espeso
		150	2,17	2,9	Gel transparente, espeso y más rígido
		200	2,08	3,3	Gel transparente, espeso y más rígido
50		225	2,04	3,6	Gel transparente, espeso y más rígido
		250	2,0	4,0	Gel ligeramente turbio, frágil
		300	1,92	4,7	Gel turbio, frágil
55		350	1,85	5,2	Turbio, separado en fases
			7,0	Turbio, separado en fases	

Ejemplo 3: Propiedades reológicas de las soluciones peptídicas con el ajuste del pH

Basados en la observación visual del efecto del nivel de pH sobre las propiedades de las soluciones peptídicas, se evaluó el efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas después de ajustar su nivel de pH a 3,4 (PuraMatrix® y KLD12) o 3,7 (IEIK13). Si los niveles de pH de las soluciones peptídicas son mayores que 3,5 (PuraMatrix® y KLD12) o 3,7 (IEIK13), la solución peptídica comienza la separación de fases que se vuelve turbia. Las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix®, KLD12 y IEIK13 fueron mayores a pH 3,4. Los resultados se muestran en la figura 2 para KLD12 al 1 %, la figura 3 para IEIK13 al 1 % y las figuras 4-5 para

PuraMatrix® al 1 % y 2,5 %, respectivamente. Las pruebas de barrido de tensión se realizaron a 10 rad/s. Las pruebas de barrido de frecuencia se realizaron a 1 Pa.

Ejemplo 4: Otras propiedades reológicas de las soluciones peptídicas con el ajuste del pH

Basados en los resultados del efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas después de ajustar su nivel de pH a 3,4 (PuraMatrix® y KLD12) o 3,7 (IEIK13), se evaluó el efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas a diversos niveles de pH. La propiedad reológica de las soluciones de PuraMatrix® y IEIK13 aumenta con el ajuste del pH hasta 3,4. Las propiedades reológicas de los péptidos se evaluaron a diversas concentraciones mediante el uso de un reómetro (DHR-1, TA Instruments) con placas de 20 mm. Los resultados se muestran en la figura 6A para la solución de PuraMatrix® al 2,5 % y la figura 6B para la solución de IEIK13 al 1,5 %, respectivamente. Las pruebas de barrido de frecuencia se realizaron desde 1 rad/s hasta 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó el módulo de almacenamiento a 1 rad/s para los datos.

Ejemplo 5: Efecto del nivel de pH sobre las propiedades reológicas de los hidrogeles de péptidos a diversas concentraciones antes/después del tratamiento con DMEM

Basados en los resultados del efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas después de ajustar su nivel de pH, se evaluó el efecto sobre las propiedades reológicas de los hidrogeles de péptidos a diversos valores de pH después del tratamiento con DMEM y en comparación con el efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas a diversos valores de pH antes del tratamiento con DMEM. La propiedad reológica de los hidrogeles de PuraMatrix® y IEIK13 después del tratamiento con DMEM aumenta con el ajuste del pH hasta 3,4. Los resultados se muestran en las figuras 7A-7B para PuraMatrix® y las figuras 8A-8B para IEIK (sec. con núm. de ident.: 5), respectivamente. Las pruebas de barrido de frecuencia se realizaron desde 1 rad/s hasta 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó el módulo de almacenamiento a 1 rad/s para los datos.

Ejemplo 6: Efecto sobre la cinética de gelificación de hidrogeles de péptidos con ajuste del pH

Se evaluó el efecto del nivel de pH sobre las propiedades de cinética de gelificación para identificar los niveles de pH óptimos para los péptidos como se describe en la presente. Una cinética de gelificación rápida de PuraMatrix® y otros péptidos dentro del fluido corporal puede mejorar generalmente su función y tiempo de respuesta para diversas aplicaciones clínicas. El nivel de pH puede proporcionar un tiempo de respuesta para comenzar la gelificación cuando se trata con fluido corporal simulado que incluye, pero sin limitarse a, DMEM. PuraMatrix® sin ajuste del pH (pH 2,2) no mostró un aumento del módulo de almacenamiento para los 13 segundos iniciales, mientras que PuraMatrix® con el ajuste del pH mostró un aumento inmediato del módulo de almacenamiento debido a la gelificación rápida. Un tiempo de respuesta rápido de PuraMatrix® y otros péptidos dentro de un fluido corporal puede mejorar generalmente su función y tiempo de respuesta para diversas aplicaciones clínicas.

Las pruebas de barrido por tiempo se realizaron a 1 rad/s y a 1 Pa con placas de 20 mm y distancia de la abertura de 500  $\mu$ m. Durante la prueba de barrido por tiempo de la solución de PuraMatrix® al 2,5 %, el DMEM se añadió a la cámara alrededor de las placas de medición para empapar la solución de PuraMatrix® en el punto de tiempo 0. Los resultados se muestran en la figura 9 A para la solución de PuraMatrix® al 2,5 %.

IEIK (sec. con núm. de ident.: 5) sin ajuste del pH mostró un aumento inmediato del módulo de almacenamiento, mientras que PuraMatrix® sin ajuste del pH (pH 2,2) no mostró un aumento del módulo de almacenamiento para los 13 segundos iniciales. IEIK13 con el ajuste del pH mostró, además, un aumento inmediato del módulo de almacenamiento debido a una rápida gelificación. Un tiempo de respuesta rápido de IEIK13 dentro de un fluido corporal puede mejorar generalmente su función y tiempo de respuesta para diversas aplicaciones clínicas.

Las pruebas de barrido por tiempo se realizaron a 1 rad/s y a 1 Pa con placas de 20 mm y distancia de la abertura de 500  $\mu$ m. Durante la prueba de barrido por tiempo de la solución de IEIK13 al 1,5 %, el DMEM se añadió a la cámara alrededor de las placas de medición para empapar la solución de IEIK13 al 1,5 % en el punto de tiempo 0 y los datos se registraron continuamente. Los resultados se muestran en la figura 9B para la solución de IEIK13 al 1,5 %.

Ejemplo 7: Efecto del nivel de fuerza iónica de las sales sobre las soluciones peptídicas e hidrogeles

Se evaluó el efecto del nivel de fuerza iónica de las sales sobre las propiedades de las soluciones peptídicas para identificar los niveles óptimos de fuerza iónica de las sales para los péptidos como se describe en la presente. El aumento del nivel de fuerza iónica de las sales de PuraMatrix® y otros péptidos puede mejorar generalmente su función y resistencia mecánica para diversas aplicaciones clínicas. Para ajustar la fuerza iónica de las sales de las soluciones peptídicas a manera de ejemplo, diversas soluciones tampón salinas que incluyeron NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> y DPBS (10X) se añadieron a 2 mL de soluciones peptídicas al 1,5 %.

Los resultados para PuraMatrix® se muestran en la tabla 2a. Es notable señalar que un aumento de la fuerza iónica de las sales hasta aproximadamente 0,85 ~1,15 M (en dependencia de las diferentes sales) no cambió notablemente el color transparente de las soluciones de PuraMatrix®, a la vez que aumentó su rigidez aparente. Los resultados para KLD12 se muestran en la tabla 2b. Es notable señalar que un aumento de la fuerza iónica de las sales hasta aproximadamente 0,25~0,35 M (en dependencia de las diferentes sales) no cambió notablemente el color transparente de las soluciones de KLD12, a la vez que aumentó su rigidez aparente. Los resultados para IEIK13 se muestran en la tabla 2c. Es notable señalar que un aumento de la fuerza iónica de las sales hasta aproximadamente 0,025~0,035 M (en dependencia de las diferentes sales) no cambió el color transparente de las soluciones de IEIK13, a la vez que aumentó su rigidez aparente.

Tabla 2a Apariencia de la solución de PuraMatrix® con diversas sales a temperatura ambiente

Solución salina	Volumen de solución salina añadida a solución al 1,5 % de PuraMatrix® (µL/mL)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Apariencia
NaCl (3 M-como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	52,6	1,43	0,15	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,3	Gel transparente, espeso, más rígido
	176,5	1,27	0,45	0,45	Gel transparente, espeso, más rígido
	250	1,2	0,6	0,6	Gel transparente, espeso, más rígido
	333,3	1,13	0,75	0,75	Gel transparente, espeso, más rígido
	363,6	1,10	0,8	0,8	Gel transparente, espeso, más rígido
	395,3	1,08	0,85	0,85	Gel transparente, espeso, más rígido
	428,6	1,05	0,9	0,9	Gel ligeramente turbio, frágil
	463,4	1,03	0,95	0,95	Turbio, separado en fases
500	1,0	1,0	1,0	Turbio, separado en fases	
KCl (3 M-como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	52,6	1,43	0,15	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,3	Gel transparente, espeso, más rígido
	176,5	1,27	0,45	0,45	Gel transparente, espeso, más rígido
	250	1,2	0,6	0,6	Gel transparente, espeso, más rígido
	333,3	1,13	0,75	0,75	Gel transparente, espeso, más rígido
	428,6	1,05	0,9	0,9	Gel transparente, espeso, más rígido
	463,4	1,03	0,95	0,95	Gel transparente, espeso, más rígido
	500	1,0	1,0	1,0	Gel transparente, espeso, más rígido
	538,5	0,98	1,05	1,05	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
578,9	0,95	1,1	1,1	Gel ligeramente turbio, frágil	
621,6	0,93	1,15	1,15	Turbio, separado en fases	

ES 2 706 492 T3

Solución salina	Volumen de solución salina añadida a solución al 1,5 % de PuraMatrix® (µL/mL)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Apariencia
MgCl <sub>2</sub> (3 M- como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	16,9	1,48	0,05	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,3	Gel transparente, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,45	Gel transparente, espeso, más rígido
	71,4	1,4	0,2	0,6	Gel transparente, espeso, más rígido
	90,9	1,38	0,25	0,75	Gel transparente, espeso, más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,9	Gel transparente, espeso, más rígido
	132,1	1,32	0,35	1,05	Gel transparente, espeso, más rígido
	146,5	1,31	0,383	1,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	153,8	1,3	0,4	1,2	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
	161,3	1,29	0,417	1,25	Gel ligeramente turbio, frágil
	168,8	1,28	0,433	1,3	Turbio, separado en fases
CaCl <sub>2</sub> (3 M- como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	16,9	1,48	0,05	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,3	Gel transparente, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,45	Gel transparente, espeso, más rígido
	71,4	1,4	0,2	0,6	Gel transparente, espeso, más rígido
	90,9	1,38	0,25	0,75	Gel transparente, espeso, más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,9	Gel transparente, espeso, más rígido
	132,1	1,32	0,35	1,05	Gel transparente, espeso, más rígido
	146,5	1,31	0,383	1,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	153,8	1,3	0,4	1,2	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
	161,3	1,29	0,417	1,25	Gel ligeramente turbio, frágil
	168,8	1,28	0,433	1,3	Turbio, separado en fases

ES 2 706 492 T3

Solución salina	Volumen de solución salina añadida a solución al 1,5 % de PuraMatrix® (µL/mL)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Apariencia
DPBS (pH 3,2) (10X – 1,5 M- como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	111,1	1,35	0,15	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	250	1,2	0,3	0,3	Gel transparente, espeso, más rígido
	428,6	1,05	0,45	0,45	Gel transparente, espeso, más rígido
	666,7	0,9	0,6	0,6	Gel transparente, espeso, más rígido
	1000	0,75	0,75	0,75	Gel transparente, espeso, más rígido
	1500	0,6	0,9	0,9	Gel transparente, espeso, más rígido
	1725	0,55	0,95	0,95	Gel ligeramente turbio, frágil
	2000	0,5	1,0	1,0	Turbio, separado en fases

Tabla 2b Apariencia de la solución de KLD12 con diversas sales a temperatura ambiente

Solución salina	Volumen de solución salina añadida a solución al 1,5 % de KLD12 (µL/mL)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Apariencia
NaCl (3 M- como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	16,9	1,48	0,05	0,5	Gel transparente, espeso, más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,1	Gel transparente, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	71,4	1,4	0,2	0,2	Gel transparente, espeso, más rígido
	90,9	1,38	0,25	0,25	Gel transparente, espeso, más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,3	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
	132,1	1,32	0,35	0,35	Gel ligeramente turbio, frágil
	153,8	1,3	0,4	0,4	Turbio, separado en fases

ES 2 706 492 T3

Solución salina	Volumen de solución salina añadida a solución al 1,5 % de KLD12 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Apariencia
KCl (3 M-como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	16,9	1,48	0,05	0,5	Gel transparente, espeso, más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,1	Gel transparente, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	71,4	1,4	0,2	0,2	Gel transparente, espeso, más rígido
	90,9	1,38	0,25	0,25	Gel transparente, espeso, más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,3	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
	132,1	1,32	0,35	0,35	Gel ligeramente turbio, frágil
	153,8	1,3	0,4	0,4	Turbio, separado en fases
MgCl <sub>2</sub> (3 M-como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	16,9	1,48	0,05	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	22,7	1,47	0,067	0,2	Gel transparente, espeso, más rígido
	28,6	1,46	0,083	0,25	Gel transparente, espeso, más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,3	Gel transparente, espeso, más rígido
	40,2	1,44	0,117	0,35	Gel transparente, espeso, más rígido
	46,5	1,43	0,133	0,4	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,45	Gel ligeramente turbio, frágil
	58,8	1,42	0,167	0,5	Turbio, separado en fases
CaCl <sub>2</sub> (3 M-como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	16,9	1,48	0,05	0,15	Gel transparente, espeso, más rígido
	22,7	1,47	0,067	0,2	Gel transparente, espeso, más rígido
	28,6	1,46	0,083	0,25	Gel transparente, espeso, más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,3	Gel transparente, espeso, más rígido
	40,2	1,44	0,117	0,35	Gel transparente, espeso, más rígido
	46,5	1,43	0,133	0,4	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,45	Gel ligeramente turbio, frágil
	58,8	1,42	0,167	0,5	Turbio, separado en fases

Tabla 2c Apariencia de la solución de IEIK13 con diversas sales a temperatura ambiente

Solución salina	Volumen de solución salina añadida a solución al 1,5 % de IEIK13 (µL/mL)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Apariencia
NaCl (0,2 M- como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	25,6	1,46	0,005	0,005	Gel transparente, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,01	0,01	Gel transparente, espeso, más rígido
	81,1	1,39	0,015	0,015	Gel transparente, espeso, más rígido
	111,1	1,35	0,02	0,02	Gel transparente, espeso, más rígido
	142,9	1,31	0,025	0,025	Gel transparente, espeso, más rígido
	176,5	1,27	0,03	0,03	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
	212,1	1,24	0,035	0,035	Gel ligeramente turbio, frágil
	250	1,2	0,04	0,04	Turbio, separado en fases
KCl (0,2 M- como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	25,6	1,46	0,005	0,005	Gel transparente, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,01	0,01	Gel transparente, espeso, más rígido
	81,1	1,39	0,015	0,015	Gel transparente, espeso, más rígido
	111,1	1,35	0,02	0,02	Gel transparente, espeso, más rígido
	142,9	1,31	0,025	0,025	Gel transparente, espeso, más rígido
	176,5	1,27	0,03	0,03	Gel transparente, espeso, más rígido
	212,1	1,24	0,035	0,035	Gel ligeramente turbio, frágil
	250	1,2	0,04	0,04	Ligeramente turbio, frágil
290,3	1,16	0,045	0,045	Turbio, separado en fases	
MgCl <sub>2</sub> (0,2 M- como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
	25,6	1,46	0,005	0,015	Gel transparente, espeso, más rígido
	34,5	1,45	0,0067	0,02	Gel transparente, espeso, más rígido
	43,5	1,44	0,0083	0,025	Gel transparente, espeso, más rígido
	52,6	1,43	0,01	0,03	Gel transparente, espeso, más rígido
	61,9	1,41	0,0117	0,035	Gel transparente, espeso, más rígido
	71,4	1,40	0,0133	0,04	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
	81,1	1,39	0,015	0,045	Gel ligeramente turbio, más rígido
	91,1	1,37	0,0167	0,05	Gel ligeramente turbio, frágil
	100,9	1,36	0,0183	0,055	Turbio, separado en fases

	Solución salina	Volumen de solución salina añadida a solución al 1,5 % de IEIK13 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Apariencia
5	CaCl <sub>2</sub> (0,2 M- como una solución de reserva)	0	1,5	0	0	Gel transparente, espeso
		25,6	1,46	0,005	0,015	Gel transparente, espeso, más rígido
10		34,5	1,45	0,0067	0,02	Gel transparente, espeso, más rígido
		43,5	1,44	0,0083	0,025	Gel transparente, espeso, más rígido
		52,6	1,43	0,01	0,03	Gel transparente, espeso, más rígido
15		61,9	1,41	0,0117	0,035	Gel transparente, espeso, más rígido
		71,4	1,40	0,0133	0,04	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
20		81,1	1,39	0,015	0,045	Gel ligeramente turbio, espeso, más rígido
		91,1	1,37	0,0167	0,05	Gel ligeramente turbio, frágil
	100,9	1,36	0,0183	0,055	Turbio, separado en fases	

25 Los resultados de las tablas 1a-1c muestran que las fuerzas iónicas críticas de las sales a las cuales los tres péptidos se vuelven turbios se muestran de la siguiente manera: PuraMatrix® (0,9-1,2 M) > KLD13 (0,3-0,4 M) > IEIK13 (0,03-0,04 M).

30 Ejemplo 8: Efecto del nivel de fuerza iónica de las sales sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas

35 Basados en la observación visual del efecto de la fuerza iónica de las sales sobre las propiedades de las soluciones peptídicas, se evaluó el efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas después de ajustar su nivel de fuerza iónica con NaCl a 0,7 M (PuraMatrix®), 0,2 M (KLD12) o 0,02 M (IEIK13), que está por debajo y muy cerca de la fuerza iónica crítica a la cual cada péptido se vuelve turbio. Si los niveles de fuerza iónica con NaCl de las soluciones peptídicas son mayores que 0,9 M (PuraMatrix®), 0,3 M (KLD12) o 0,03 M (IEIK13), la solución peptídica comienza la separación de fases volviéndose turbia y débil. La propiedad reológica de las soluciones de PuraMatrix®, KLD12 y IEIK13 fue mayor después de ajustar su nivel de fuerza iónica con NaCl a 0,7 M (PuraMatrix®), 0,2 M (KLD12) o 0,02 M (IEIK13). Los resultados se muestran en la figura 10 para KLD12 al 1 %, la figura 11 para IEIK13 al 1 %, y la figura 12 para PuraMatrix® al 1 %, respectivamente. Las pruebas de barrido de frecuencia se realizaron desde 1 rad/s hasta 10 rad/s a 1 Pa.

45 Ejemplo 9: Efecto adicional del nivel de fuerza iónica de las sales sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas

50 Basados en los resultados del efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas después de ajustar su nivel de fuerza iónica con NaCl a 0,7 M (PuraMatrix®), 0,2 M (KLD12) o 0,02 M (IEIK13), se evaluó el efecto sobre las propiedades reológicas de la solución peptídica a diversas fuerzas iónicas por sales. La propiedad reológica de las soluciones de PuraMatrix® al 1 % aumenta con el ajuste de la fuerza iónica hasta 0,7 M, mientras que disminuye por encima de 0,7 M. La propiedad reológica de las soluciones de IEIK13 al 1 % aumenta con el ajuste de la fuerza iónica hasta 0,03 M, mientras que disminuye por encima de 0,03 M. Estos resultados coinciden bien con la inspección visual de las soluciones peptídicas a diversas fuerzas iónicas por sales. Los resultados se muestran en la figura 13 para la solución de PuraMatrix® al 1 % y en la figura 14 para la solución de IEIK13 al 1 %. Las pruebas de barrido de frecuencia se realizaron desde 1 rad/s hasta 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó el módulo de almacenamiento a 1 rad/s para los datos.

60 Ejemplo 10: Efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas después del tratamiento con DMEM

Basados en los resultados del efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas después de ajustar sus niveles de fuerza iónica, se evaluó el efecto sobre las propiedades reológicas de los hidrogeles de péptidos después del tratamiento con DMEM durante 10 min. La propiedad reológica de los hidrogeles de PuraMatrix® después del tratamiento con DMEM aumentó con el ajuste de la fuerza iónica hasta 0,7 M, mientras

que disminuyó por encima de 0,7 M. La propiedad reológica de los hidrogeles de IEIK13 después del tratamiento con DMEM no cambió significativamente con el ajuste de la fuerza iónica hasta 0,025 M, mientras que disminuyó por encima de 0,03 M. Por encima de una fuerza iónica a 0,9 M de NaCl a la cual la solución de PuraMatrix® se vuelve turbia, las propiedades reológicas de PuraMatrix® no cambiaron con el tratamiento con DMEM, lo que demuestra que no hay gelificación. Los resultados se muestran en la figura 15 para los hidrogeles de PuraMatrix® al 1 % y en la figura 16 para los hidrogeles de IEIK13 al 1 %, ambos después del tratamiento con DMEM durante 10 min. Las pruebas de barrido de frecuencia se realizaron desde 1 rad/s hasta 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó el módulo de almacenamiento a 1 rad/s para los datos.

#### 10 Ejemplo 11: Efecto de diversas sales

Basados en los resultados del efecto sobre las propiedades reológicas de las soluciones peptídicas y los hidrogeles después de ajustar sus niveles de fuerza iónica con NaCl, se evaluó además el efecto de diversas sales (KCl, MgCl<sub>2</sub>, y CaCl<sub>2</sub>). La propiedad reológica de las soluciones de PuraMatrix® aumenta con el ajuste de la fuerza iónica a 0,15 M de todas las sales. Los incrementos de la propiedad reológica de las soluciones de PuraMatrix® con diversas sales no fueron predominantemente diferentes. Sin embargo, los incrementos de la propiedad reológica de las soluciones de PuraMatrix® pueden variar en dependencia de la constante de precipitación salina, K de cada sal. La constante K es una constante en la ecuación de Cohen:  $\log S = B - KI$ , donde S es solubilidad, B es solubilidad ideal, K es la constante de precipitación salina, e I es la fuerza iónica. Con un mayor valor de la constante K y de la fuerza iónica de sales, la solubilidad del péptido puede disminuir lo que resulta en un fuerte autoensamblaje del péptido con incremento del efecto hidrófobo y mayores propiedades reológicas de la solución peptídica. La constante K de NaCl puede ser mayor que la de otras sales. Por lo tanto, la propiedad reológica de las soluciones de PuraMatrix® con NaCl fue ligeramente mayor que con KCl y CaCl<sub>2</sub>. La propiedad reológica de los hidrogeles de PuraMatrix® después del tratamiento con DMEM durante 10 min también se evaluó con el ajuste de la fuerza iónica con diversas sales y los resultados fueron comparables con el aumento de la propiedad reológica de las soluciones de PuraMatrix® con diversas sales ((NaCl, KCL, MgCl<sub>2</sub>, y CaCl<sub>2</sub>) a fuerza iónica de 0,15 M). Los resultados se muestran en la figura 17 para la solución de PuraMatrix® al 1 % antes del tratamiento con DMEM, y en la figura 18 para los hidrogeles de PuraMatrix® al 1 % después del tratamiento con DMEM durante 10 min. Las pruebas de barrido de frecuencia se realizaron desde 1 rad/s hasta 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó el módulo de almacenamiento a 1 rad/s para los datos. \* denota que los datos son significativamente mayores que los datos del control de PuraMatrix® (P < 0,05). # denota que los datos son significativamente menores que los datos de PuraMatrix® al 1 % NaCl 0,15 M (fuerza iónica) (P < 0,05).

#### 35 Ejemplo 12: Efecto de diversas sales sobre la cinética de gelificación

Se evaluó el efecto del nivel de la fuerza iónica de las sales alrededor de la solución peptídica sobre las propiedades de las soluciones peptídicas para identificar la posibilidad de gelificación del péptido cuando la solución peptídica se coloca en un ambiente donde el nivel de fuerza iónica de las sales es alto. Por ejemplo, los hidrogeles pueden colocarse en el fluido corporal isotónico, que es comparable con el tampón de solución salina (0,15 M de NaCl). Como se demostró antes, los péptidos de autoensamblaje que incluyen, pero sin limitarse a, PuraMatrix®, KLD12 y IEIK13 forman hidrogeles cuando se tratan a pH neutro. Sin el efecto del pH, se evaluó el efecto del tratamiento con solución salina sobre la gelificación de soluciones peptídicas. Cuando las soluciones peptídicas se trataron con tampón de solución salina, su pH no cambió. Después del tratamiento con tampón de solución salina, solo IEIK13 mostró una rápida gelificación, mientras que PuraMatrix® y KLD13 mostraron una gelificación insignificante o ninguna. Esto es porque IEIK13 es mucho más sensible a los niveles de fuerza iónica de las sales. La gelificación rápida de IEIK13 al nivel de fuerza iónica de las sales similar al nivel isotónico de sales del fluido corporal puede mejorar generalmente su función y velocidad de gelificación para diversas aplicaciones clínicas. Los resultados se muestran en la figura 19 para las soluciones de IEIK13, KLD12 y PuraMatrix®. Las pruebas de barrido por tiempo se realizaron a 1 rad/s y a 1 Pa con placas de 20 mm y distancia de la abertura de 500 µm. Durante la prueba de barrido por tiempo de la solución de IEIK13 al 1,5 %, KLD12 al 1,5 %, y PuraMatrix® al 2,5 %, se añadió DMEM a la cámara alrededor de las placas de medición para empapar la solución de PuraMatrix® en el punto de tiempo 0.

#### Ejemplo 13: Efecto de la fuerza iónica de las sales y el ajuste del pH sobre las propiedades reológicas

De acuerdo con una o más modalidades, IEIK13, KLD12 y PuraMatrix® pueden disolverse en tampón salino tal como NaCl y a un nivel elevado de pH ajustado con tampón salino alcalino tal como NaOH para mantener su fuerza iónica de las sales bajo sus puntos críticos de sal así como su nivel de pH a aproximadamente 2,5~4,0, de manera que puedan tener propiedades más rígidas. Con respecto a PuraMatrix®, KLD13 y IEIK13, las soluciones peptídicas todavía son transparentes con NaCl al 0,9 % (fuerza iónica: 0,15 M) a pH 3,4 ajustado con NaOH. La propiedad reológica de PuraMatrix® con NaCl al 0,9 % (fuerza iónica: 0,15 M) a pH 3,4 fue más rígida que la del control de PuraMatrix y PuraMatrix con solo NaCl al 0,9 %. El efecto de la fuerza iónica de las sales y el ajuste del pH sobre las propiedades reológicas de la solución de PuraMatrix® al 2,5 % se muestra en la figura 20. Las pruebas de barrido de frecuencia se realizaron desde 1 rad/s hasta 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó el módulo de almacenamiento a 1 rad/s para los datos.

65

## Ejemplo 14: Influencia de cationes

En una comparación reológica de RADA16 al 2,5 % y RADA16 al 2,5 % + NaCl, KCl, y CaCl<sub>2</sub>, se prepararon soluciones de RADA16 al 0,5 % mezcladas con 0,005, 0,05, 0,125, 0,25, 0,5, y 1 M de NaCl, KCl y CaCl<sub>2</sub>. Se mantuvo el mismo anión, cloruro (Cl<sup>-</sup>), para observar el efecto de los cationes, sodio (Na<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>) y calcio (Ca<sup>2+</sup>). La figura 21 proporciona una noción básica de cómo la variación de los cationes de una solución salina afecta las propiedades viscoelásticas y la rigidez de los péptidos de autoensamblaje. El Ca proporcionó el mejor incremento de rigidez en comparación con Na o K a las mismas concentraciones molares. Esto debe ser porque el Ca tiene una fuerza iónica cuatro veces mayor que Na y K a las mismas concentraciones molares. Por lo tanto, la influencia de las sales sobre la solución peptídica se relaciona más con su fuerza iónica que con su concentración molar, como se muestra en las figuras 17-18 y la tabla 2a-c. En algunas modalidades, existe una correlación entre las propiedades de las soluciones peptídicas con sales basada en la concentración de la sal.

## Ejemplo 15: Resistencia mecánica

Se evaluaron las mediciones reológicas de rigidez de RADA16 al 2,5 % y RADA16 al 2,5 % + CaCl<sub>2</sub> al 0,25 M. La figura 22 compara la rigidez de una solución altamente concentrada de RADA16 con otra solución altamente concentrada de RADA16 con adición de CaCl<sub>2</sub> a 0,125 M y proporciona una noción básica de las propiedades viscoelásticas del péptido y la mezcla peptídica. Hubo un aumento notable en la rigidez entre las dos soluciones cuando se añadió una solución catiónica. Se demostró que el Ca proporciona una mejora mecánica de RADA16 incluso a concentraciones altas mediante el uso del intervalo óptimo de concentración.

## Ejemplo 16: Reversibilidad

Se evaluaron las mediciones reológicas de reversibilidad de una solución de RADA16 al 0,5 % con + CaCl<sub>2</sub> a 0,125, 0,25 y 0,5 M. Se prepararon soluciones de RADA16 al 0,5 % mezcladas con CaCl<sub>2</sub> a 0,125, 0,25 y 0,5 M. La estructura de las soluciones peptídicas autoensambladas se perturbaron completamente mediante la aplicación de un esfuerzo mecánico a través de agitación con vórtice y sonicación. Las mezclas se colocaron a temperatura ambiente durante 48 horas para permitir que el autoensamblaje tenga lugar. Las figuras 23A-23B proporcionan las propiedades viscoelásticas básicas de las mezclas peptídicas y muestran que la reversibilidad de la solución peptídica con sales puede controlarse y mantenerse incluso después de la perturbación de la estructura, lo que se nota específicamente por la diferencia significativa entre las muestras de RADA16 al 2,5 % + CaCl<sub>2</sub> a 0,5 M control y perturbadas. Las mezclas dentro del intervalo óptimo de la concentración de sales mantuvieron la reversibilidad. El \* denota que la muestra control y la muestra perturbada, que le continúa, son significativamente diferentes. La figura 23a presenta los datos reológicos en bruto de la solución peptídica control con sales y la solución peptídica perturbada mientras que la figura 23b proporciona una comparación de la rigidez de la solución peptídica control y la solución peptídica perturbada.

## Ejemplo 17: Cinética de gelificación

Se evaluaron las mediciones reológicas de la cinética de gelificación de RADA16 al 0,5 % + NaCl, KCl y CaCl<sub>2</sub>. Se preparó una solución de RADA16 al 0,5 % y la cinética de gelificación se observó mediante tratamiento con numerosos cationes (por ejemplo Na, Cl, K) y aniones (por ejemplo Cl, CO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub>, SO<sub>4</sub>). Se determinó el tiempo necesario para que las mezclas peptídicas gelifiquen y cómo controlar ese tiempo de gelificación mediante la variación del tipo y concentración del catión/anión. El cloro mostró la gelificación más rápida y el sulfato mostró la gelificación más lenta. Experimentos cualitativos in vivo e in vitro y las observaciones resultantes apoyaron estas conclusiones.

## Ejemplo 18: Variación de los cationes

Se diseñó un hidrogel peptídico mezclado con una solución de cationes/aniones que afectó las propiedades mecánicas y otro con una concentración muy baja de un agente de contraste que no afectó las propiedades mecánicas. Los dos geles fueron: (1) una combinación del péptido de autoensamblaje con una solución de cationes/aniones bien conocida, la solución de Ringer (pH 5,3), usada en el campo médico y (2) una combinación del péptido de autoensamblaje con un agente de contraste bien conocido, el carmín índigo, que es una solución colorante que contiene iones sulfato (anión) y sodio (catión). El carmín índigo contiene índigoindisulfonato de sodio (C<sub>16</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>), agua y citrato de sodio (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) para el ajuste del pH. Con el uso de polvo de carmín índigo, se preparó una solución de 1 % para usar en la experimentación. Esto corresponde a 10 mg/1 mL de agua. La concentración de la solución de carmín índigo usada en la experimentación fue 0,00585 % en agua.

El polvo de carmín índigo se usó para preparar una solución al 1 % en agua desionizada (DI). Con el uso de IEIK13 en polvo, se preparó una solución de 2 por ciento con el uso de agua DI. Se pesó la cantidad de IEIK y se añadió la cantidad adecuada de agua DI suavemente deslizándola por las paredes del recipiente. La mezcla se llevó a cabo por agitación con vórtice durante aproximadamente 30 segundos, y después sonicación durante 30 segundos. La solución se centrifugó después durante aproximadamente 10 a aproximadamente 15 minutos a 3000 ppm. La

solución puede experimentar agitación con vórtice adicional y centrifugado hasta que la solución esté transparente y sin burbujas.

5 Para obtener una concentración final de carmín índigo al 0,00585 %, se añade la cantidad necesaria de IC al 1 % a la cantidad adecuada de agua DI para diluir IEIK al 2 % a IEIK al 1,5 %. La solución se agita con vórtice después durante aproximadamente 30 segundos y se centrifuga durante aproximadamente 10 a aproximadamente 15 minutos a 3000 rpm. La solución puede experimentar agitación con vórtice adicional y centrifugado hasta que la solución esté transparente y sin burbujas.

10 La solución se dejó en reposo durante la noche a temperatura ambiente antes del uso. El recipiente puede dejarse sin la tapa durante la preparación para permitir una eliminación de burbujas más eficiente.

15 Las comparaciones reológicas de estas mezclas y la visualización de los geles pueden observarse en la figura 24a-24c. Se obtuvo un gel más rígido con una cinética de gelificación más rápida que mantiene la reversibilidad. También se obtuvo otro que mantiene la rigidez, la reversibilidad y la cinética de gelificación, pero permite la coloración de los tejidos para histología. La concentración del agente de contraste o la mezcla de cationes/aniones y el hidrogel peptídico que se mezclaron estuvieron basados en la comprensión del uso de los cationes y aniones como se describe en la presente. La datos relacionados con estos hidrogeles de péptidos adaptados de RADA16 + solución de Ringer y IEIK13 + Carmín índigo muestran que estos hidrogeles de autoensamblaje controlados pueden adaptarse para satisfacer las necesidades de un gel inyectable isotónico y un gel mejorado no mecánicamente para la visualización. La figura 24A presenta datos reológicos en bruto de IEIK (sec. con núm. de ident.: 5) y IEIK (sec. con núm. de ident.: 5) mezclado con carmín índigo. La figura 24B muestra una comparación de la rigidez de IEIK (sec. con núm. de ident.: 5) y IEIK (sec. con núm. de ident.: 5) mezclado con carmín índigo. La figura 24C presenta una comparación de la rigidez de RADA16 y RADA16 mezclado con solución de Ringer.

25 Ejemplo 19: Reducción del volumen pulmonar

Se aplicaron sistemas de hidrogeles de péptidos de autoensamblaje, inyectables, para reducir el volumen pulmonar disponible para el intercambio de oxígeno en los sujetos. Se demostró que es posible llenar al menos una parte de un pulmón con hidrogel peptídico para reducir el volumen pulmonar.

#### Materiales y métodos

35 Diseño experimental

Se obtuvieron pulmones de cerdos a partir de cerdos recién sacrificados por eutanasia. Un tubo endotraqueal, conectado a una jeringa llena con un hidrogel peptídico, se insertó a través de la tráquea y bronquio primario hacia el lóbulo de interés. El tubo fue dirigido a través de los bronquios al extremo del lóbulo adecuado y se registró la distancia.

40 Preparación de hidrogeles de péptidos de autoensamblaje

45 Los hidrogeles de péptidos de autoensamblaje estuvieron compuestos de Ac-RADARADARADARADA-NH<sub>2</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) (es decir RADA16) o Ac-IEIKIEIKIEIKI-NH<sub>2</sub> (sec. con núm. de ident.: 2) (es decir IEIK13). RADA16 o IEIK13 se mezclaron con carmín índigo al 0,00585 % para observar la dispersión de los hidrogeles a lo largo de los lóbulos. Cuando se mezcló, los péptidos se reconstituyeron con una solución salina. Los péptidos se reconstituyeron primero en agua desionizada, y posteriormente con carmín índigo al 1 % para proporcionar una concentración final de 0,00585 % del reactivo de contraste.

50 Aplicación de hidrogeles de péptidos de autoensamblaje

Una vez identificado el lóbulo de interés, el tubo endotraqueal se dirigió al extremo donde se inyectaron los hidrogeles. Después de cada inyección de 1 mL de hidrogel el tubo se retiró 2 cm y la inyección se repitió de nuevo. Este procedimiento se repitió hasta que se observó un flujo retrógrado de hidrogel a partir de los bronquios y se registró el volumen total de hidrogel inyectado. La inyección final estuvo en el intervalo de 0,5 - 1,5 mL. Después de observar el flujo retrógrado de hidrogel, los lóbulos se cortaron a 90 grados respecto de la línea media para el análisis histológico. La figura 25 ilustra el flujo de trabajo para inyectar el hidrogel peptídico en los bronquios de un único lóbulo del pulmón y la observación de penetración de la solución. La penetración en el lumen de la solución de carmín índigo al 1 % (izquierda) se comparó con IEIK al 1,5 % (sec. con núm. de ident.: 5) + carmín índigo al 0,00585 % (derecha).

#### Resultados

65 IEIK13 al 1,5 % y RADA16 al 1,0 % con carmín índigo al 0,00585 % se usaron para identificar el potencial para cirugías de reducción del volumen pulmonar. La solución de carmín índigo al 1 % así como un producto alternativo,

Aeroseal, se usaron como comparaciones con RADA16 y IEIK13. Los hidrogeles se aplicaron a los pulmones como se señala anteriormente. IEIK13 al 1,5 % se aplicó varias veces, sin embargo, se determinó que era ligeramente demasiado difícil de inyectar. RADA16 al 1,0 % se seleccionó como un sustituto para IEIK13 ya que sus propiedades mecánicas son mucho menores lo que permite una mayor dispersión y penetración dentro del lóbulo. La figura 26 ilustra la capacidad de penetración de IEIK13 al 1,5 % comparado con RADA16 al 1,0 % con carmín índigo al 0,00585 %. RADA16 al 1,0 % fue indiscutiblemente mejor en relación a la reducción del volumen pulmonar, particularmente en términos de penetración al tejido pulmonar.

La visualización de la dispersión del hidrogel a lo largo del lumen de los pulmones fue necesaria para la determinación de la factibilidad. Se escogió el carmín índigo como un reactivo de contraste común. Dado que el carmín índigo es una solución basada en sales era posible que las propiedades mecánicas de los geles se alteraran. Para analizar esto, las propiedades mecánicas de IEIK13 al 1,5 % se comparó con IEIK13 al 1,5 % con carmín índigo al 0,00585 % 24 horas después de la reconstitución. IEIK13 fue óptimo ya que tiene una mayor sensibilidad a los cationes/aniones que RADA16. La comparación es evidente a partir de la figura 27 que muestra que no existe diferencia significativa cuando el carmín índigo se mezcló con IEIK13. Se concluyó que el carmín índigo al 0,00585 % no afectó significativamente las propiedades mecánicas de IEIK13 o RADA16. Las figuras 27A y 27B proporcionan una representación reológica de las propiedades mecánicas de IEIK13 y IEIK13 + carmín índigo al 0,00585 %.

Las muestras tisulares se fijaron en paraformaldehído y se enjuagaron con etanol. La histología se realizó en el centro médico Beth Israel Deaconess Medical Center. IEIK13 y RADA16 llenaron el lumen principal y menor de los pulmones. Como se observa en las figuras 28A-28B, IEIK13 llenó tanto el lumen principal como menor de los bronquios. La figura 28A muestra el gel de IEIK13 observado dentro del lumen principal. La figura 28B muestra el gel de IEIK13 observado dentro del lumen menor. Debido al procesamiento para H y E, los geles peptídicos se rompen/fragmentan. Las imágenes ópticas han mostrado que estos geles permanecen como estructuras volumétricas.

#### Conclusión

El uso de sistemas de hidrogeles de péptidos de autoensamblaje, inyectables, para la reducción del volumen pulmonar es un tratamiento posible para los pacientes con enfermedades pulmonares obstructivas crónicas graves (COPD). Como se determina a partir de los experimentos mencionados anteriormente, los hidrogeles de IEIK13 al 1,5 % y RADA16 al 1,0 %, preferentemente, pueden usarse para reducir el volumen pulmonar utilizado para el intercambio de oxígeno.

La inspección visual completa reveló que el lumen principal se llenó 80-100 %, y el lumen pequeño puede mostrar el mismo grado de penetración.

La figura 29 muestra un esquema de una combinación con tubo endotraqueal que puede usarse para prevenir el flujo retrógrado del hidrogel hacia afuera del lumen durante la inyección de acuerdo con los protocolos anteriores. Un catéter con balón unido a un tubo endotraqueal puede prevenir el flujo retrógrado de hidrogel hacia afuera del lumen y permitir una mayor penetración del hidrogel hacia el lumen menor adicional.

#### Listado de secuencias

<110> 3-D MATRIX, LTD.

<120> AGENTES PARA LA OBSTRUCCIÓN BRONQUIAL

<130> T2071-7011WO

<140>

<141>

<150> 61/953,146

<151> 2014-03-14

<150> 61/950,529

<151> 2014-03-10

<160> 6

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia Artificial  
  
 <220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"  
 10  
 <400> 1  
  
           Arg Ala Asp Ala Arg Ala Asp Ala Arg Ala Asp Ala Arg Ala Asp Ala  
           1                  5                  10                  15  
  
 15 <210> 2  
       <211> 13  
       <212> PRT  
       <213> Secuencia Artificial  
  
 20 <220>  
       <221> fuente  
       <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"  
  
 25 <400> 2  
  
                   Ile Glu Ile Lys Ile Glu Ile Lys Ile Glu Ile Lys Ile  
                   1                  5                  10  
  
       <210> 3  
       <211> 12  
 30 <212> PRT  
       <213> Secuencia Artificial  
  
       <220>  
       <221> fuente  
 35 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"  
  
       <400> 3  
  
                   Lys Leu Asp Leu Lys Leu Asp Leu Lys Leu Asp Leu  
 40  
                   1                  5                  10  
  
 45 <210> 4  
       <211> 4  
       <212> PRT  
       <213> Secuencia Artificial  
  
 50 <220>  
       <221> fuente  
       <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"  
  
       <400> 4  
 55  
  
                                   Arg Ala Asp Ala  
                                   1  
  
       <210> 5  
       <211> 4  
 60 <212> PRT  
       <213> Secuencia Artificial

<220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"

5 <400> 5

**Ile Glu Ile Lys**  
1

10 <210> 6  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

15 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 6

20 **Lys Leu Asp Leu**  
1

Reivindicaciones

- 5 1. Una solución que comprende un péptido de autoensamblaje que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos  
 en donde al menos una parte del péptido es anfifílica, de manera que el péptido puede mostrar una estructura de lámina beta en solución acuosa en presencia de condiciones fisiológicas en un sitio para la obstrucción bronquial;  
 la solución es para usar en una cantidad eficaz y en una concentración eficaz para administrar a un área objetivo para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas del área objetivo para reducir el volumen pulmonar y llenar al menos una parte del pulmón del sujeto con la solución;  
 10 en donde la solución se introduce a través de un dispositivo de suministro después de la etapa de introducir un dispositivo de suministro a un área objetivo del pulmón del sujeto y ubicar un extremo del dispositivo de suministro en el área objetivo en donde se desea la obstrucción bronquial;  
 15 y en donde el dispositivo de suministro se retira del área objetivo.
2. La solución de conformidad con la reivindicación 1, en donde aplica uno o más de lo siguiente,  
 a) identificar un lóbulo o una parte de un lóbulo como el área objetivo;  
 20 b) en donde ubicar un extremo del dispositivo de suministro en el área objetivo comprende ubicar un tubo endotraqueal en el área objetivo,  
 opcionalmente en donde ubicar un extremo del dispositivo de suministro en el área objetivo comprende insertar el dispositivo de suministro a través de una tráquea y bronquio primario hacia un extremo distal del área objetivo;  
 25 c) retirar el dispositivo de suministro a una distancia predeterminada después de la administración de un primer volumen de solución,  
 opcionalmente, repetir la administración y retirar hasta que se llene un volumen del objetivo;  
 d) prevenir un flujo retrógrado de la solución mediante el uso de un tubo endotraqueal y un catéter.
3. La solución de conformidad con la reivindicación 1, en donde la barrera de hidrogel penetra un lumen principal y un lumen menor de los bronquios y/o la barrera de hidrogel se forma en menos de  
 30 aproximadamente cinco minutos.
4. La solución de conformidad con la reivindicación 1, en donde aplica uno o más de lo siguiente,  
 35 a) preparar la solución que comprende el péptido de autoensamblaje.  
 b) que comprende, además, ajustar el pH de la solución;  
 c) en donde la cantidad eficaz es aproximadamente 1 mL por 1 cm<sup>2</sup> de área objetivo, o  
 la cantidad eficaz que permite el tratamiento de la obstrucción bronquial comprende un volumen en un intervalo de aproximadamente 0,1 mL a aproximadamente 10 mL.
- 40 5. La solución de conformidad con la reivindicación 1, en donde el péptido de autoensamblaje se selecciona del grupo que consiste en (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2) y (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3).
- 45 6. La solución de conformidad con la reivindicación 5, en donde la concentración eficaz que permite el tratamiento de la fuga pulmonar comprende una concentración del péptido de autoensamblaje en un intervalo de aproximadamente un por ciento de 0,1 peso por volumen (p/v) a aproximadamente un por ciento de 3 p/v.
7. La solución de conformidad con la reivindicación 4, en donde aplica uno o más de lo siguiente,  
 50 a) preparar la solución que comprende el péptido de autoensamblaje comprende añadir el péptido de autoensamblaje a una solución salina, o  
 b) preparar la solución que comprende el péptido de autoensamblaje comprende:  
 añadir agua a un polvo del péptido de autoensamblaje para proporcionar una solución acuosa del péptido;  
 añadir una solución salina a la solución acuosa del péptido;  
 55 y mezclar la solución salina y la solución acuosa del péptido;  
 en donde opcionalmente la solución salina comprende al menos un catión seleccionado del grupo que consiste en amonio, hierro, magnesio, potasio, piridinio, amonio cuaternario, sodio, potasio y calcio y/o  
 al menos un anión seleccionado del grupo que consiste en cloruro, sulfato, acetato, carbonato, cloruro, citrato, cianuro, fluoruro, sulfato, nitrato, nitrito y fosfato.
- 60 8. La solución de conformidad con la reivindicación 4, en donde aplica uno o más de lo siguiente,  
 a) la solución que comprende el péptido de autoensamblaje comprende (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) a una concentración de aproximadamente un por ciento de 0,5 peso por volumen (p/v),  
 en donde opcionalmente la solución que comprende el péptido de autoensamblaje comprende una concentración de cloruro de calcio de aproximadamente 0,125 M,

- en donde opcionalmente la solución que comprende el péptido de autoensamblaje tiene un módulo de almacenamiento de aproximadamente 25 Pa;
- 5 b) la solución que comprende el péptido de autoensamblaje tiene una concentración de sal de entre aproximadamente 0,005 M y aproximadamente 1 M;
- c) que comprende, además, una solución que comprende cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio y bicarbonato de sodio; y
- d) la solución tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 4,0,
- 10 en donde opcionalmente la solución tiene un pH de aproximadamente 3,5, y el péptido de autoensamblaje es uno de (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1) y (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3), o la solución tiene un pH de aproximadamente 3,7, y el péptido de autoensamblaje es (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2).
9. La solución de conformidad con la reivindicación 7, en donde preparar la solución que comprende el péptido de autoensamblaje comprende uno de añadir el péptido de autoensamblaje a un tampón y añadir un tampón a la solución, en donde aplica uno o más de lo siguiente,
- 15 a) el tampón comprende al menos dos sales, en donde el tampón está a un pH de 7,2 o 7,4;
- b) el tampón es un tampón alcalino;
- 20 c) la solución se tampona con aproximadamente 0,15 M de al menos uno de cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio y cloruro de calcio, en donde el tampón comprende entre aproximadamente 0,6 M y aproximadamente 1,2 M de una sal, y el péptido de autoensamblaje es (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), o
- 25 el tampón comprende entre aproximadamente 0,02 M y aproximadamente 0,04 M de una sal, y el péptido de autoensamblaje es (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2), o el tampón comprende entre aproximadamente 0,1 M y aproximadamente 0,4 M de una sal y el péptido de autoensamblaje es (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3).
10. La solución de conformidad con la reivindicación 1, en donde aplica uno o más de lo siguiente,
- 30 a) la solución comprende además al menos un agente biológicamente activo;
- b) la solución está sustancialmente libre de células y/o fármacos; y
- c) comprende, además, una solución que comprende un agente contrastante, en donde opcionalmente el agente de contraste comprende iones sulfato e iones de sodio.
- 35 11. Un kit para producir una obstrucción bronquial en un sujeto, que comprende: un péptido de autoensamblaje que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos, en donde al menos una parte del péptido es anfifílica, de manera que el péptido puede mostrar una estructura de lámina beta en solución acuosa en presencia de condiciones fisiológicas en un sitio para la obstrucción bronquial,
- 40 en una cantidad eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para reducir el volumen pulmonar y llenar al menos una parte del pulmón del sujeto con la solución; e instrucciones para administrar el péptido de autoensamblaje a un área objetivo del pulmón del sujeto.
- 45 12. El kit de conformidad con la reivindicación 11, en donde el péptido de autoensamblaje se proporciona como uno de una solución que comprende un péptido de autoensamblaje y un polvo para preparar como una solución que comprende un péptido de autoensamblaje.
- 50 13. El kit de conformidad con la reivindicación 12, en donde aplica uno o más de lo siguiente,
- a) la concentración eficaz para reducir el volumen pulmonar y llenar al menos una parte del pulmón del sujeto con la solución comprende una concentración de péptido de autoensamblaje en un intervalo de aproximadamente un por ciento de 0,1 peso por volumen (p/v) a aproximadamente un por ciento de 3 p/v;
- b) el kit comprende, además, un dispositivo de suministro para introducir el péptido de autoensamblaje a un área objetivo del pulmón, en donde opcionalmente el dispositivo de suministro comprende un tubo endotraqueal que comprende un catéter con balón unido al tubo endotraqueal;
- 55 c) en donde el péptido de autoensamblaje se selecciona del grupo que consiste en (RADA)<sub>4</sub> (sec. con núm. de ident.: 1), (IEIK)<sub>3</sub>I (sec. con núm. de ident.: 2) y (KLDL)<sub>3</sub> (sec. con núm. de ident.: 3);
- d) el kit comprende, además, una solución salina en donde opcionalmente, la solución salina comprende al menos un catión seleccionado del grupo que consiste en amonio, hierro, magnesio, potasio, piridinio, amonio cuaternario, sodio, potasio y calcio; y/o
- 60 al menos un anión seleccionado del grupo que consiste en cloruro, sulfato, acetato, carbonato, cloruro, citrato, cianuro, fluoruro, sulfato, nitrato, nitrito y fosfato en donde opcionalmente la solución que comprende el péptido de autoensamblaje comprende una concentración de sales de entre aproximadamente 0,005 M y aproximadamente 0,500 M,

- en donde opcionalmente la solución que comprende el péptido de autoensamblaje tiene un módulo de almacenamiento de entre aproximadamente 25 Pa y aproximadamente 600 Pa, y/o la solución que comprende el péptido de autoensamblaje tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 4,0,
- 5 en donde opcionalmente la solución que comprende el péptido de autoensamblaje tiene un pH de aproximadamente 3,5, y el péptido de autoensamblaje es uno de (RADA)<sup>4</sup> (sec. con núm. de ident.: 1) y (KLDL)<sup>3</sup> (sec. con núm. de ident.: 3), o
- la solución que comprende el péptido de autoensamblaje tiene un pH de aproximadamente 3,7, y el péptido de autoensamblaje es (IEIK)<sup>3</sup> (sec. con núm. de ident.: 2).
- 10 14. El kit de conformidad con la reivindicación 12, en donde uno del kit o la solución que comprende un péptido de autoensamblaje comprende un tampón, en donde opcionalmente aplica uno o más de lo siguiente,
- 15 a) el tampón comprende al menos dos sales;
- b) el tampón está a un pH de 7,2 o 7,4;
- c) el tampón es un tampón alcalino;
- d) la solución se tampona con aproximadamente 0,15 M de al menos uno de cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio y cloruro de calcio;
- 20 e) el tampón comprende entre aproximadamente 0,6 M y aproximadamente 1,2 M de una sal, y el péptido de autoensamblaje es (RADA)<sup>4</sup> (sec. con núm. de ident.: 1);
- f) el tampón comprende entre aproximadamente 0,02 M y aproximadamente 0,04 M de una sal, y el péptido de autoensamblaje es (IEIK)<sup>3</sup> (sec. con núm. de ident.: 2);
- g) el tampón comprende entre aproximadamente 0,1 M y aproximadamente 0,4 M de una sal y el péptido de autoensamblaje es (KLDL)<sup>3</sup> (sec. con núm. de ident.: 3).
- 25 15. El kit de conformidad con la reivindicación 12, en donde aplica uno o más de lo siguiente,
- a) el kit que comprende, además, al menos un agente biológicamente activo;
- b) la solución está sustancialmente libre de células y fármacos;
- c) el kit que comprende, además, una solución de sacarosa; y
- 30 d) el kit que comprende, además, una solución que comprende un agente de contraste, en donde opcionalmente el agente de contraste comprende iones sulfato e iones de sodio.

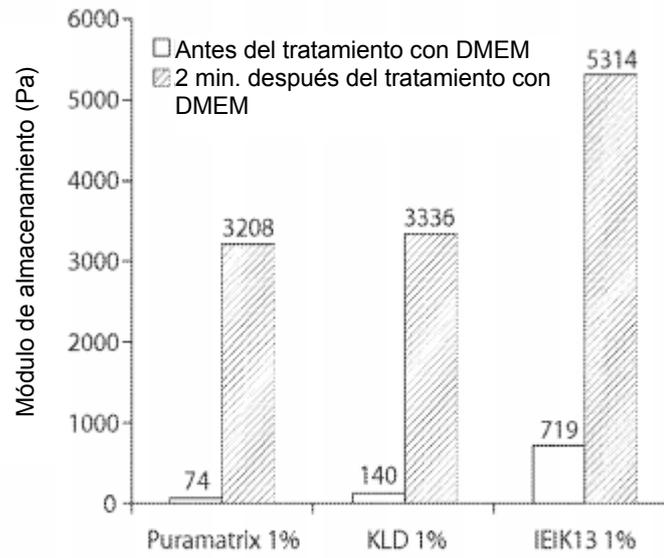


Figura 1A

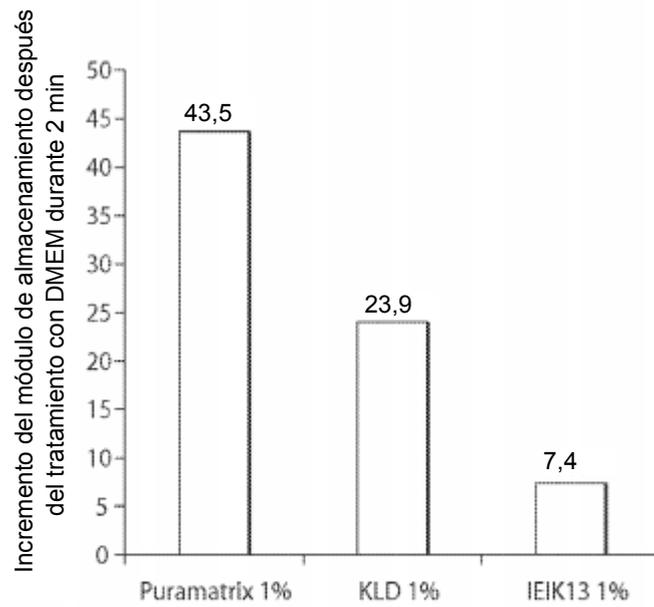


Figura 1B

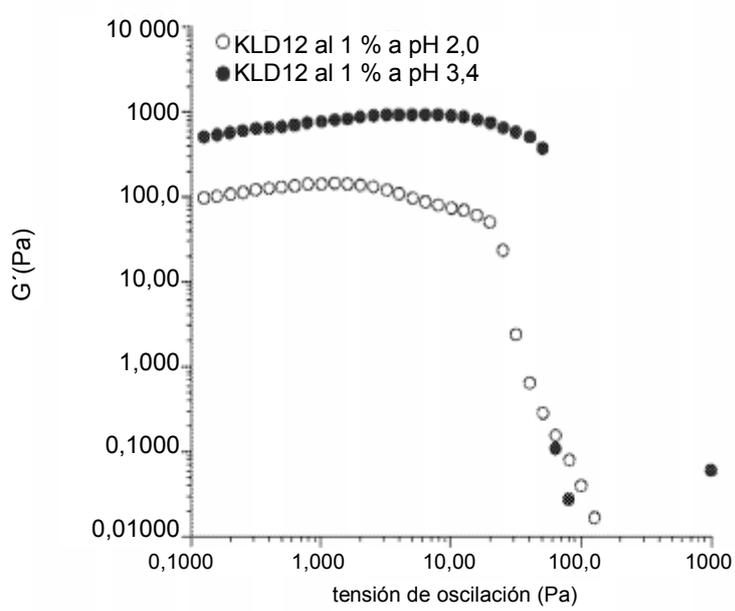


Figura 2

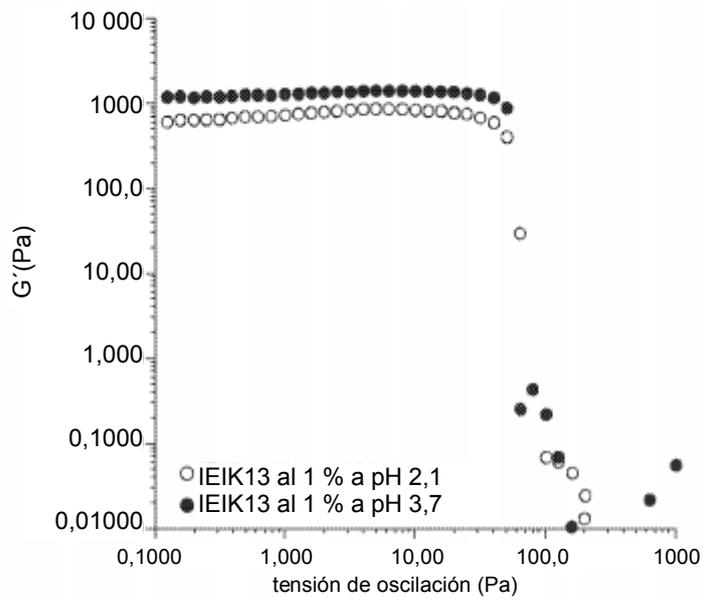


Figura 3

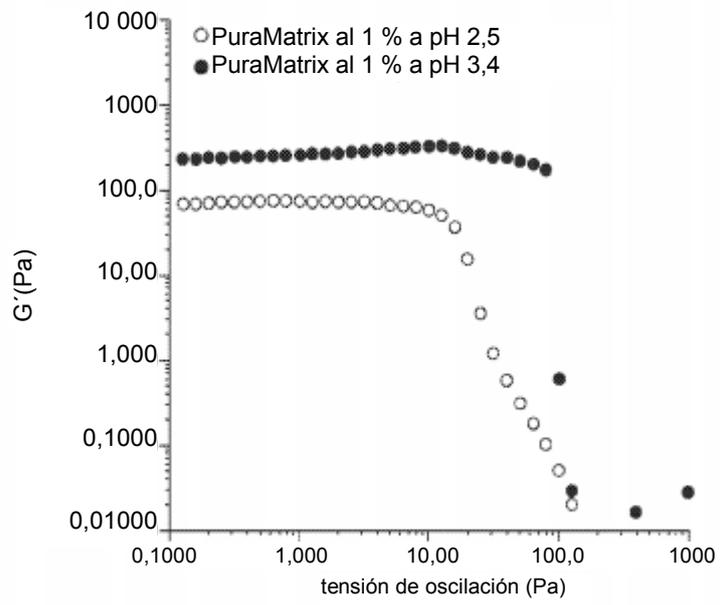


Figura 4

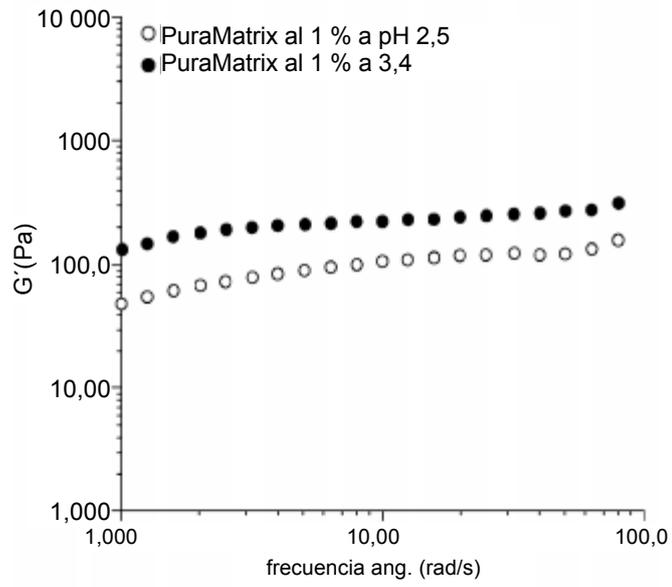


Figura 5A

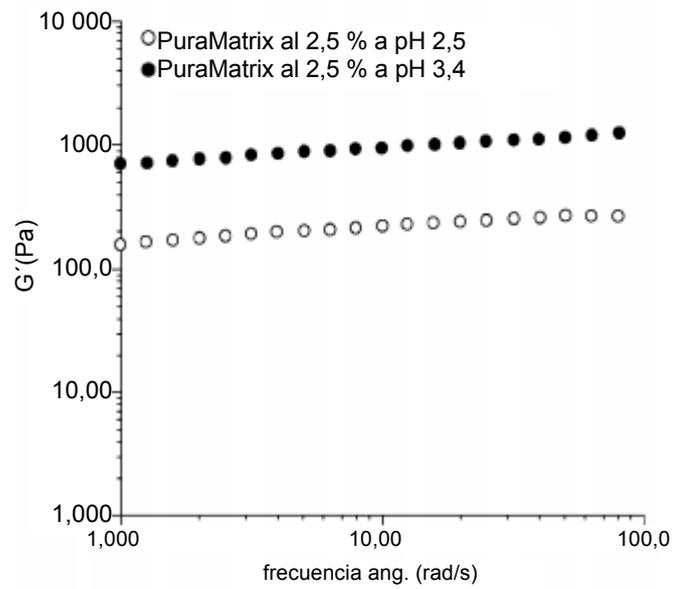


Figura 5B

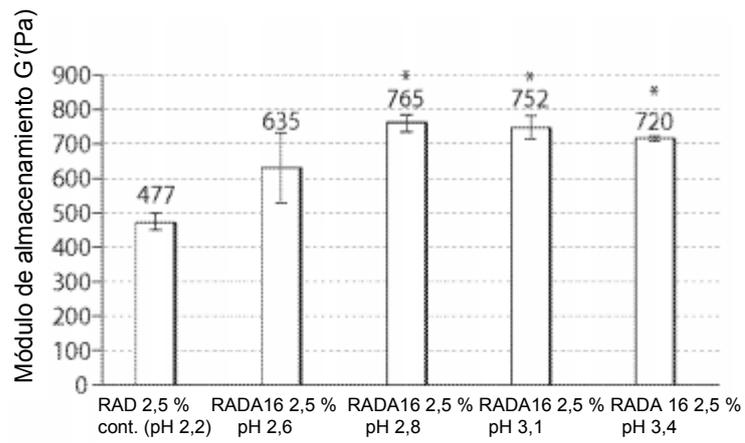


Figura 6A

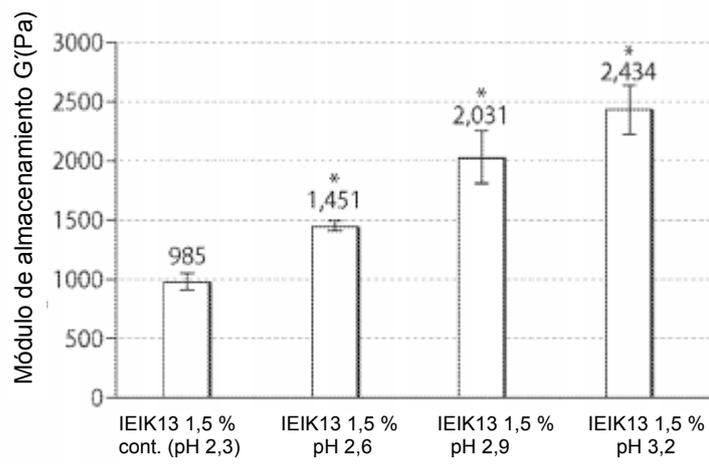


Figura 6B

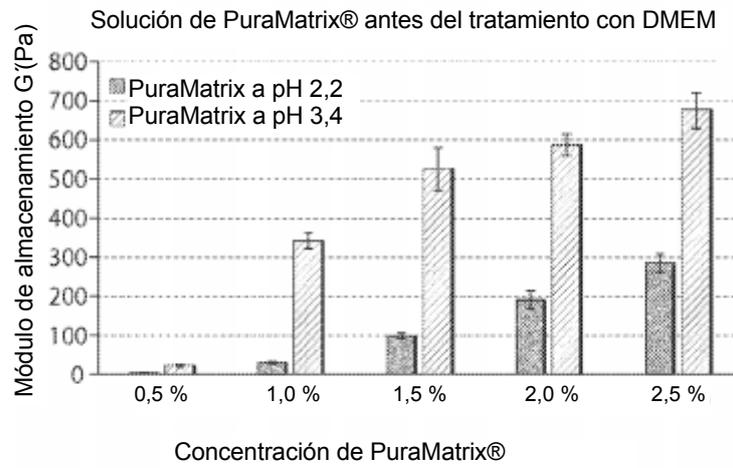


Figura 7A

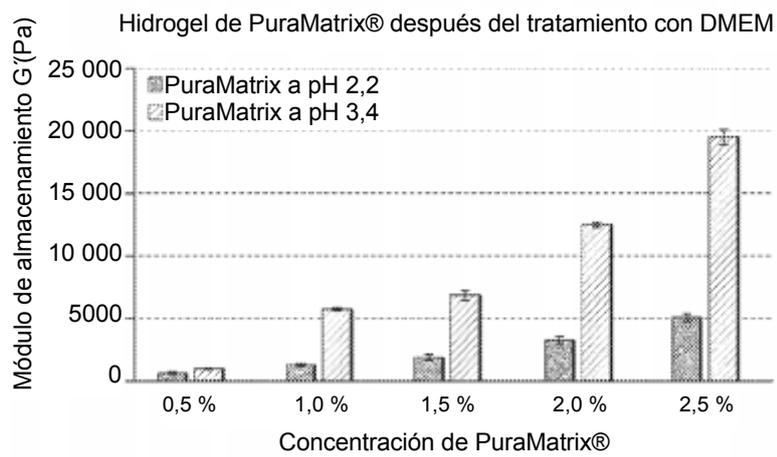


Figura 7B

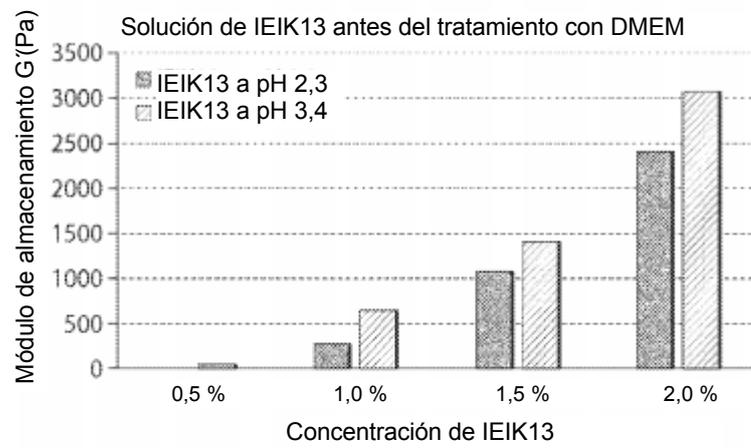


Figura 8A

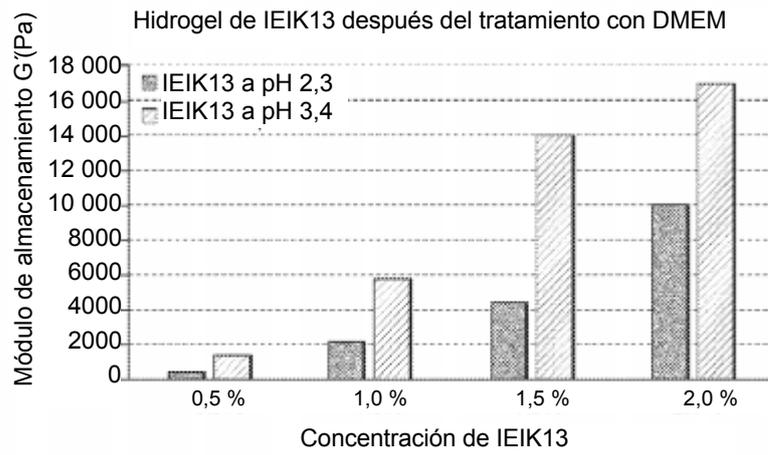


Figura 8B

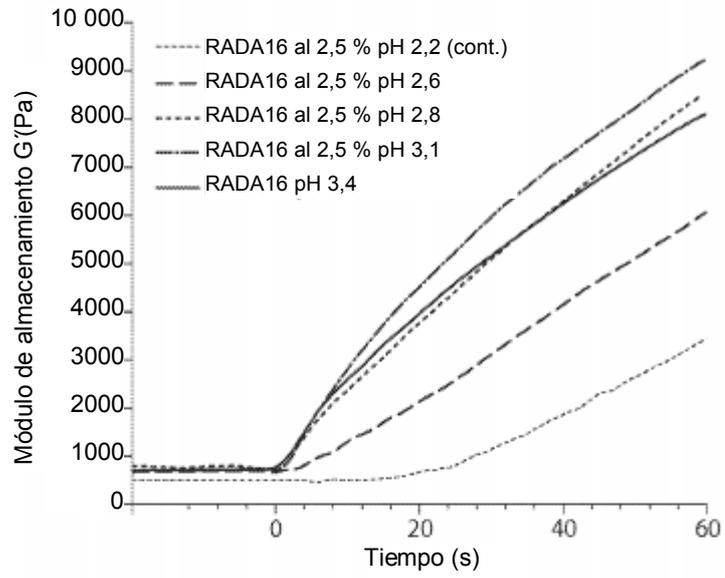


Figura 9A

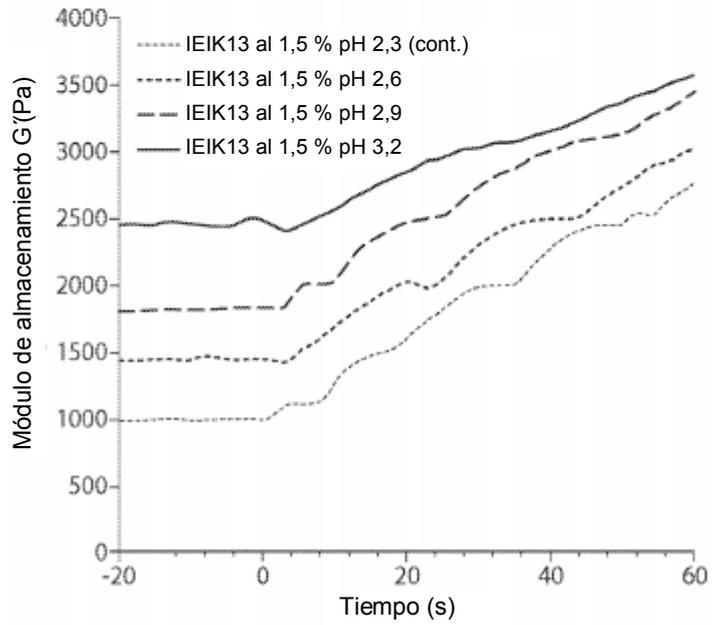


Figura 9B

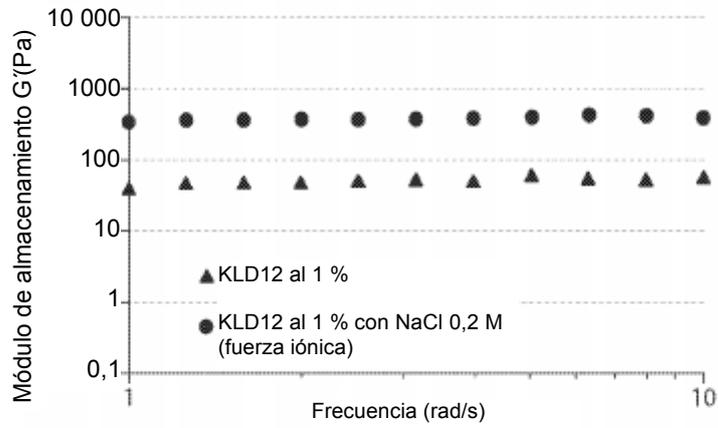


Figura 10

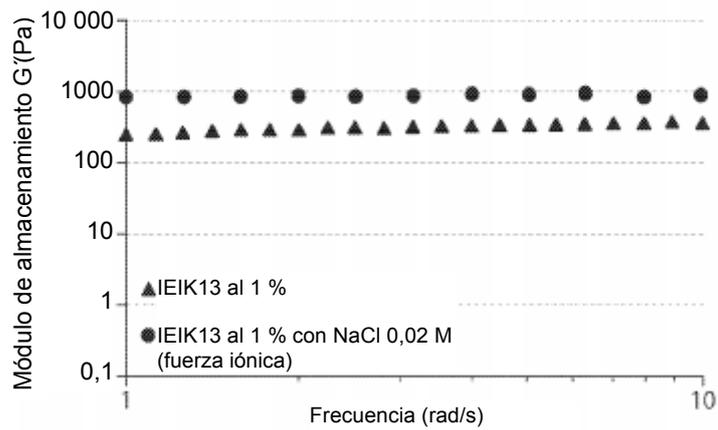


Figura 11

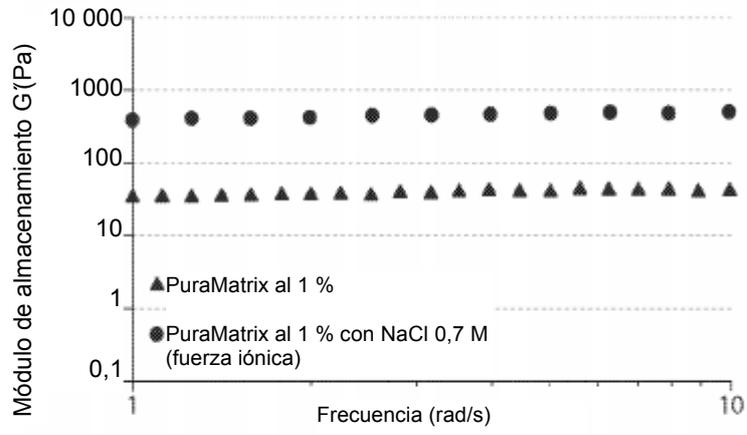


Figura 12

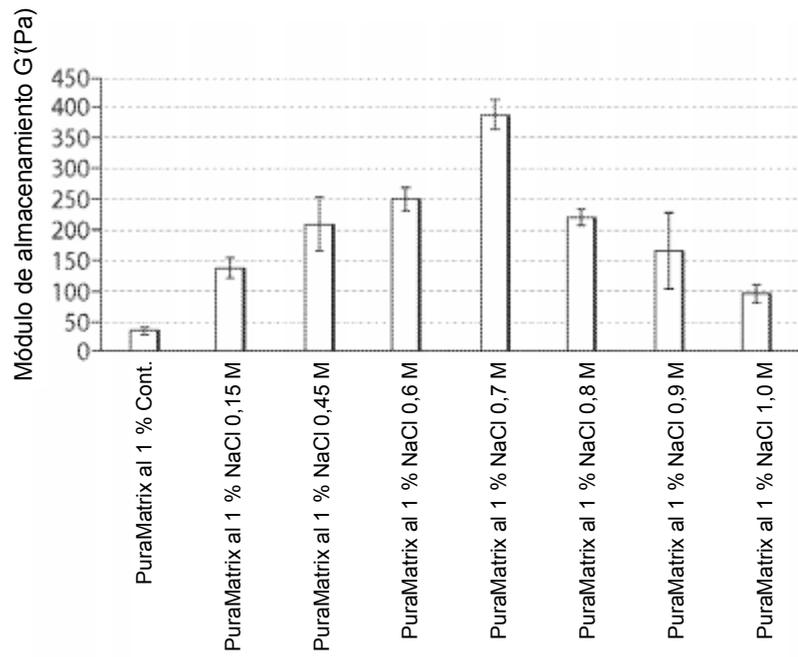


Figura 13

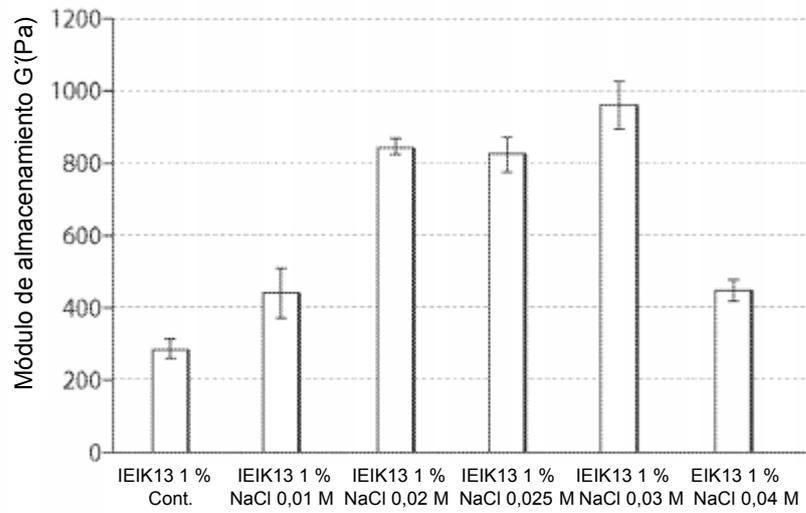


Figura 14

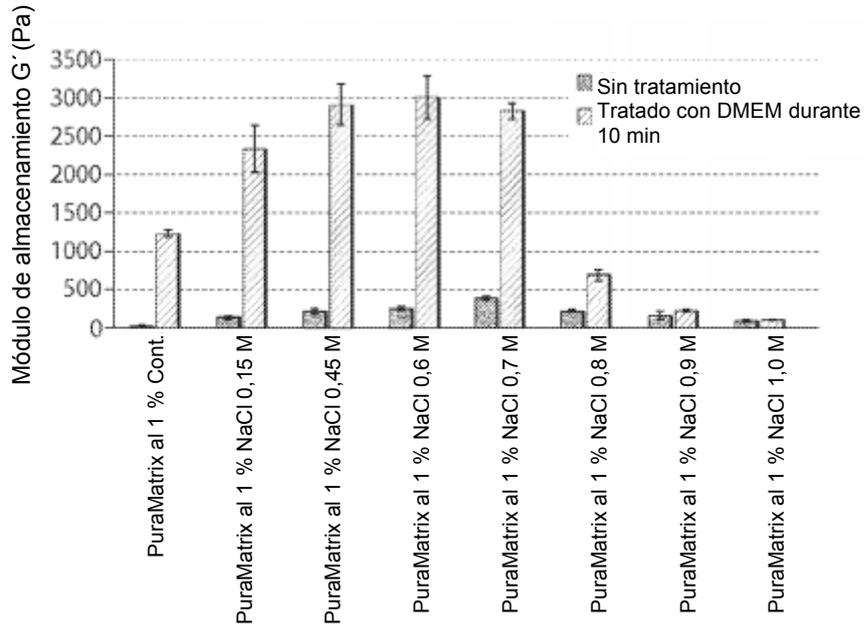


Figura 15

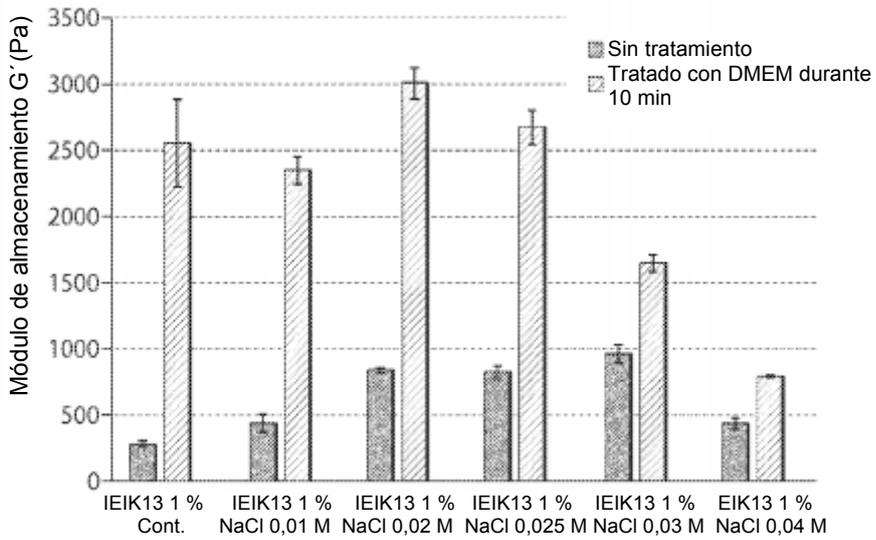


Figura 16

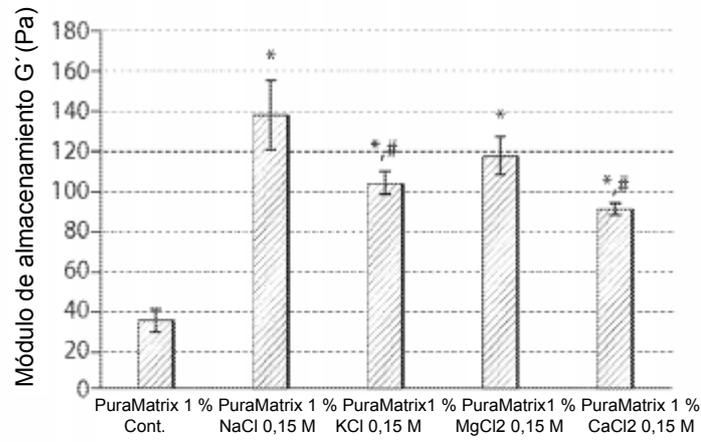


Figura 17

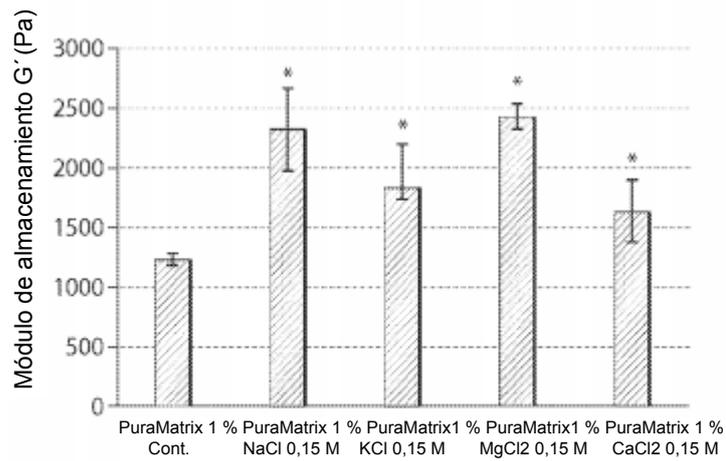


Figura 18

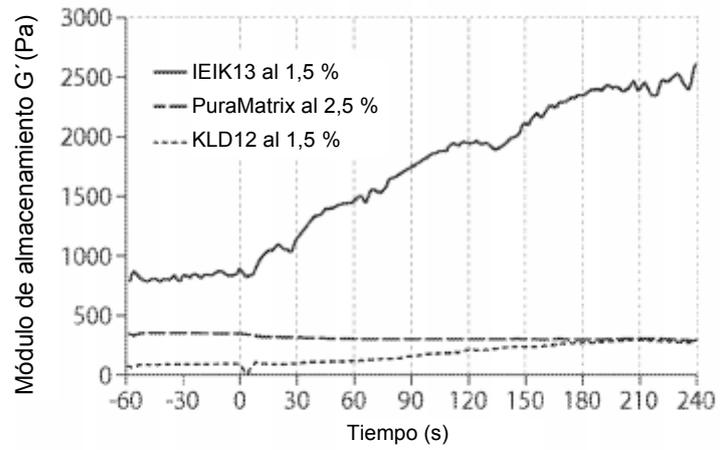


Figura 19

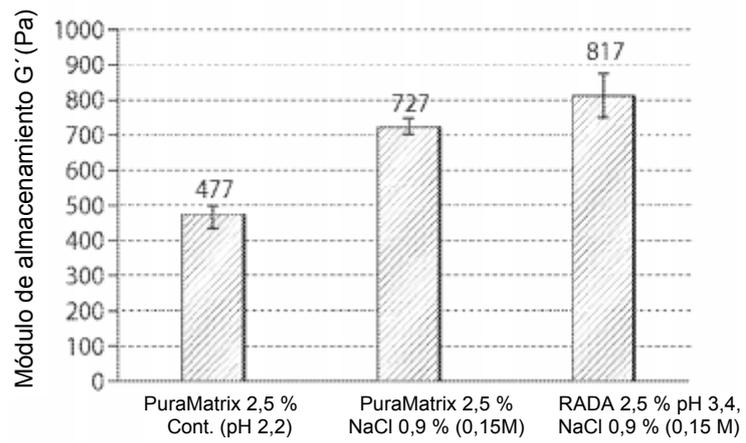


Figura 20

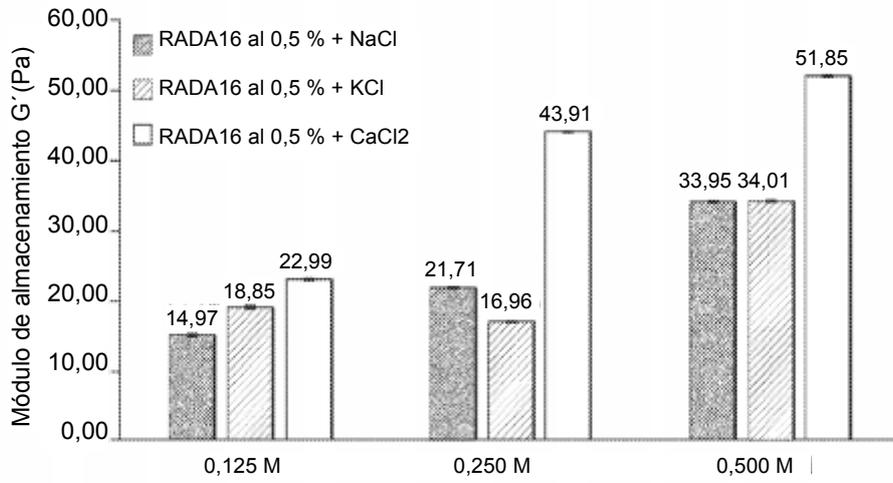


Figura 21

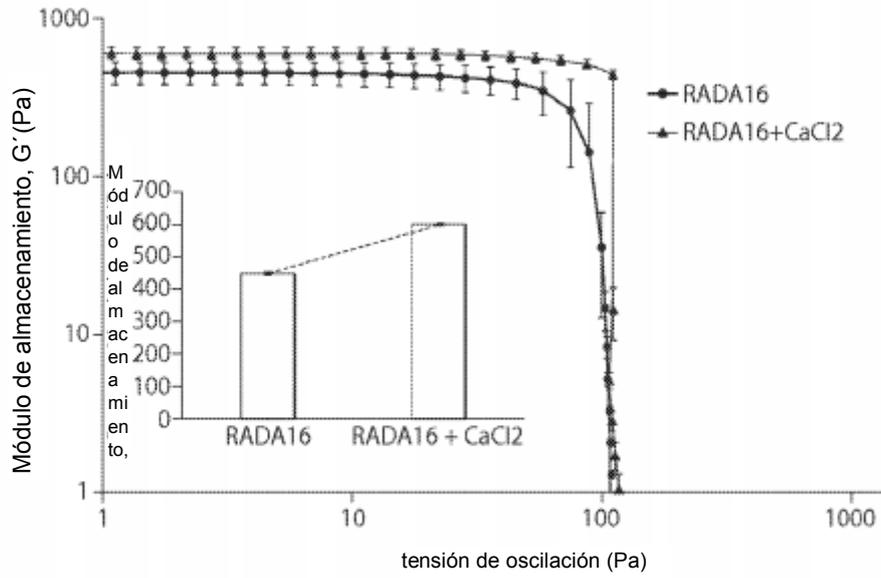


Figura 22

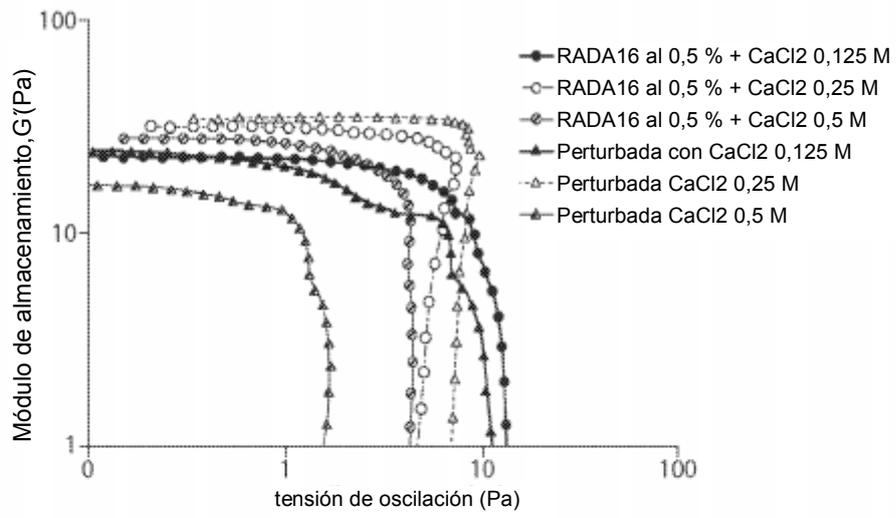


Figura 23A

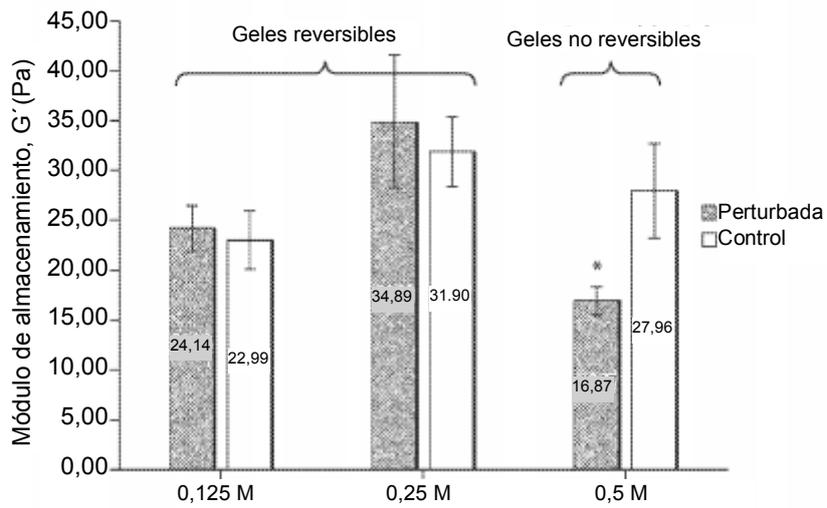


Figura 23B

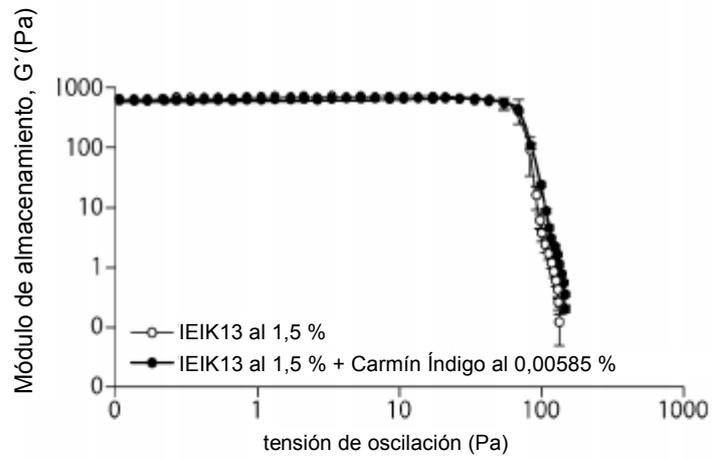


Figura 24A

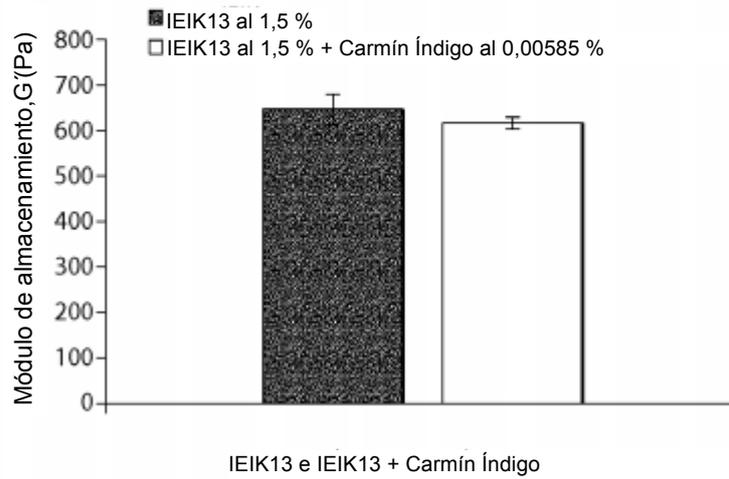


Figura 24B

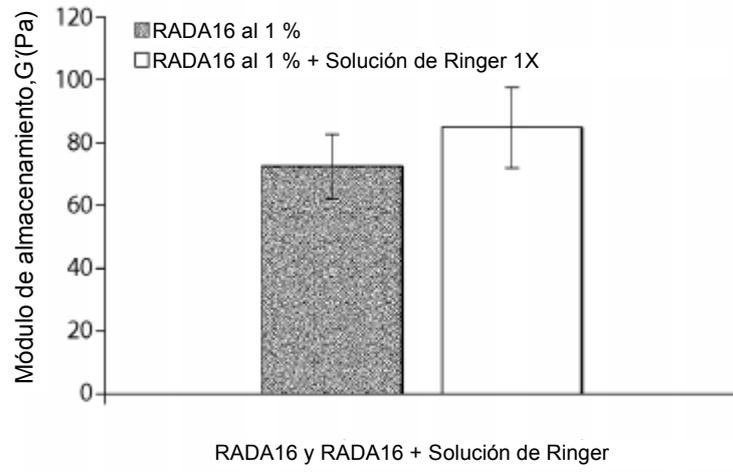


Figura 24C

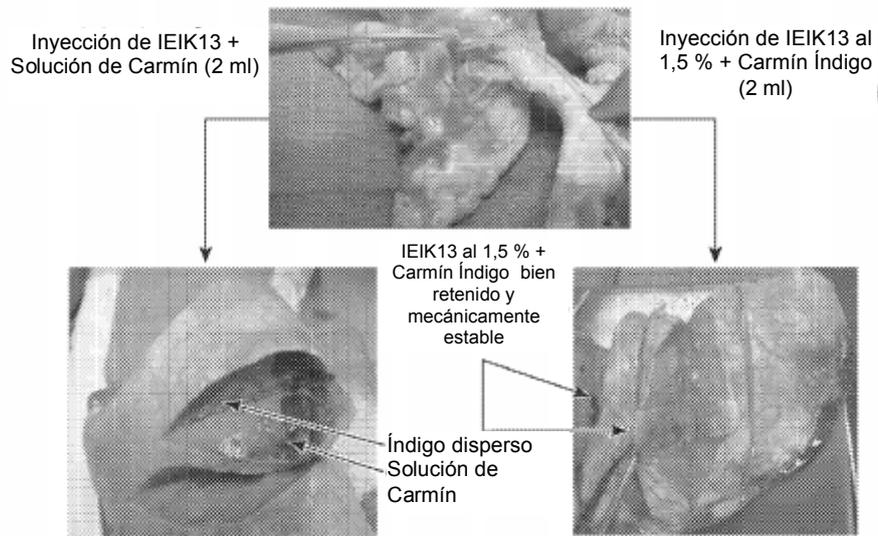


Figura 25

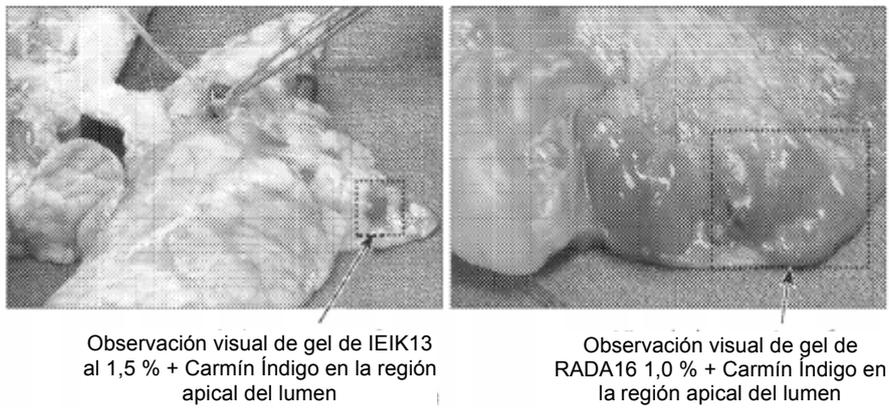


Figura 26

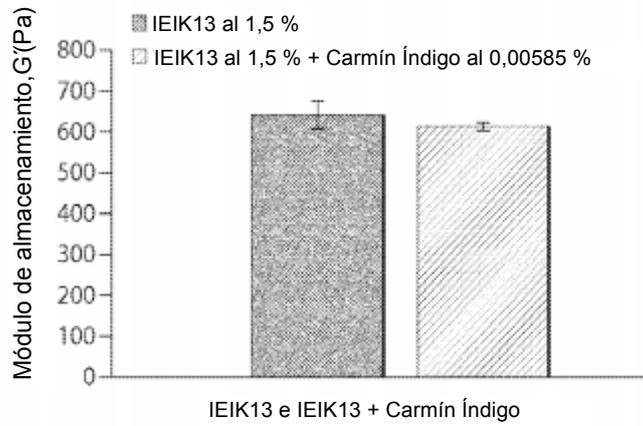


Figura 27A

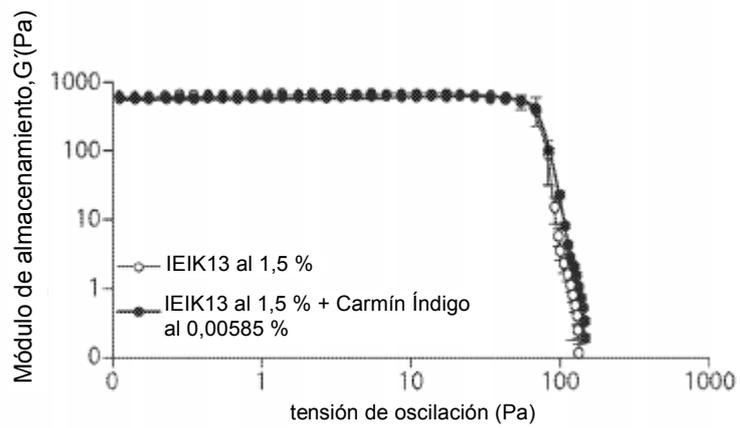


Figura 27B

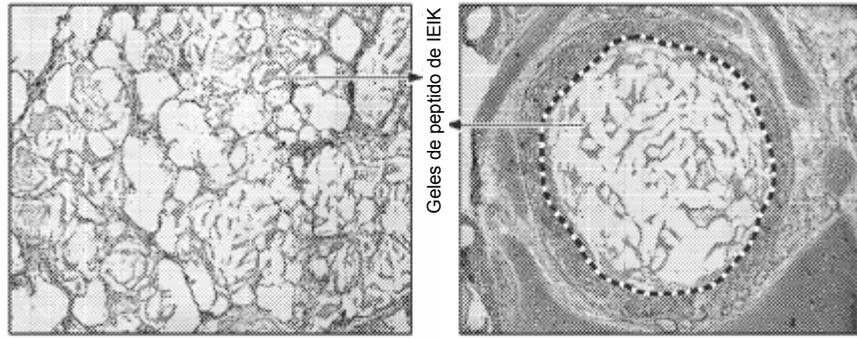
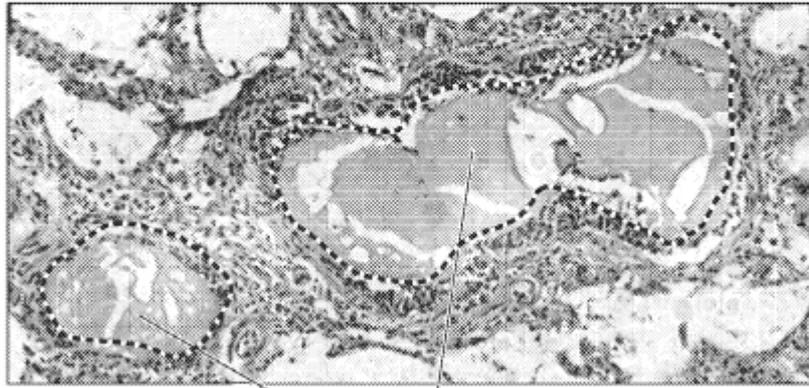


Figura 28A



Gel de péptido de IEIK al 1,5 %

Figura 28B

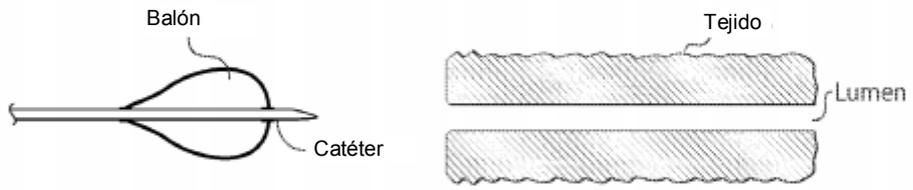


Figura 29