

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 608**

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/US2015/019743**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.09.2015 WO15138478**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2015 E 15712233 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018 EP 3116524**

54 Título: **Péptidos autoensamblantes para el tratamiento de las bullas pulmonares**

30 Prioridad:

10.03.2014 US 201461950529 P
14.03.2014 US 201461953049 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.05.2019

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 2 712 608 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 autoensamblantes para el tratamiento de las bullas pulmonares

5 **Campo de la divulgación**

La presente divulgación se refiere, en general, a materiales que pueden usarse en aplicaciones médicas, de investigación e industriales. Más particularmente, la divulgación se refiere a materiales que pueden usarse para el tratamiento de las bullas pulmonares.

10

Sumario

Se proporciona un kit para su uso en un método de tratamiento de una bulla pulmonar en un sujeto. El kit comprende un péptido autoensamblante que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos, en donde al menos una parte del péptido es anfífila, de tal forma que el péptido puede mostrar una estructura de beta lámina en solución acuosa en presencia de condiciones aplicables en o próximas la sitio de una bulla pulmonar, proporcionándose el péptido autoensamblante en una cantidad eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para tratar las bullas pulmonares; e instrucciones para administrar el péptido autoensamblante a un área diana de la bulla pulmonar del sujeto.

15

20

Se proporciona una solución para su uso en un método para tratar una bulla pulmonar, comprendiendo la solución un péptido autoensamblante que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos, en donde al menos una parte del péptido es anfífila, de tal forma que el péptido puede mostrar una estructura de beta lámina en solución acuosa en presencia de condiciones fisiológicas en o próximas la sitio de una bulla pulmonar, siendo la solución para su uso en una cantidad eficaz y a una concentración eficaz para un área diana para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas del área diana para tratar una bulla pulmonar; en donde la solución se introduce mediante un dispositivo de suministro después de la etapa de introducir un dispositivo de suministro en un área diana de la bulla pulmonar del sujeto y de posicionar un extremo del dispositivo de suministro en el área diana en la que se desea el tratamiento de la bulla pulmonar; y en donde el dispositivo de suministro se retira del área diana. El documento WO-A2-2013030673 enseña los mismos péptidos para limitar la filtración de aire en la cirugía pulmonar. El documento EP-A1-234543 3 divulga los mismos péptidos para su uso como tapón biológico *in vivo*. Chemical Abstracts 161, resumen n.º 239385 (2013) divulga el uso de ligustrazina (una molécula pequeña no peptídica) para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y los fenómenos asociados con esta, incluyendo las bullas pulmonares. El documento CN103251690 enseña el uso de extracto de *Nigella glandulifera* con el mismo fin.

25

30

35

Descripción de los dibujos

Las FIG. 1a-1b presentan datos analizados en el ejemplo 1;

40

Las FIG. 2-4 presentan datos analizados en el ejemplo 3;

Las FIG. 5A-5B presentan datos analizados en el ejemplo 3;

45

Las FIG. 6A-6B presentan datos analizados en el ejemplo 4;

Las FIG. 7A-7B presentan datos analizados en el ejemplo 5;

Las FIG. 8A-8B presentan datos analizados en el ejemplo 5;

50

Las FIG. 9A-9B presentan datos analizados en el ejemplo 6;

Las FIG. 10-12 presentan datos analizados en el ejemplo 8;

Las FIG. 13-14 presentan datos analizados en el ejemplo 9;

55

Las FIG. 15-16 presentan datos analizados en el ejemplo 10;

Las FIG. 17-18 presentan datos analizados en el ejemplo 11;

60

La FIG. 19 presenta datos analizados en el ejemplo 12;

La FIG. 20 presenta datos analizados en el ejemplo 13;

La FIG. 21 presenta datos analizados en el ejemplo 14;

65

La FIG. 22 presenta datos analizados en el ejemplo 15;

Las FIG. 23A-23B presentan datos analizados en el ejemplo 16;

Las FIG. 24A-24C presentan datos analizados en el ejemplo 18;

5 La FIG. 25 presenta materiales analizados en el ejemplo 19;

La FIG. 26 presenta materiales analizados en el ejemplo 19;

La FIG. 27 presenta materiales analizados en el ejemplo 19;

10 La FIG. 28 presenta materiales analizados en el ejemplo 19; y

La FIG. 29 presenta materiales analizados en el ejemplo 20.

15 **Descripción detallada**

Los sistemas y métodos de la presente divulgación pueden facilitar el tratamiento de las bullas pulmonares.

20 El pulmón comprende tejido pulmonar, que comprende los alvéolos, bronquios y bronquiolos y una fina cubierta membranosa denominada pleura. Esta cubierta puede impedir que el aire inhalado viaje desde el pulmón hasta el área en el interior de la cavidad torácica. Las "vesículas pulmonares" son bolsillos de aire similares a ampollas que se forman en la superficie del pulmón. La bulla (bullas en plural) se refiere a cavidades rellenas de aire dentro del tejido pulmonar. Las vesículas pulmonares y las bullas pueden estar relacionadas con una enfermedad subyacente, tal como enfisema o enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Las vesículas pulmonares y las bullas también pueden encontrarse en sujetos sanos sin otros problemas o afecciones médicas.

30 En caso de que las vesículas pulmonares o las bullas se rompan, el aire puede viajar desde las vías respiratorias hasta la cavidad torácica, lo que provoca un neumotórax, que puede denominarse colapso pulmonar. Los tratamientos actuales para las bullas o vesículas pulmonares pueden implicar la resección o extracción, según sea necesario, en forma de bullectomía. También puede usarse grapado. Las bullas y vesículas pulmonares normalmente reaparecen, por lo que el sujeto puede necesitar múltiples procedimientos de manera frecuente. Estos procedimientos pueden resultar costosos para el sujeto. Además, existen complicaciones postoperatorias, incluyendo el riesgo de filtración de aire desde el sitio de recepción.

35 También puede ser posible introducir pegamento de fibrina en la bulla o vesícula rota, que puede ser un tratamiento eficaz para una afección por neumotórax. Sin embargo, en ciertos casos, puede haber problemas relativos a reacciones alérgicas contra materiales biológicos, tales como el pegamento de fibrina.

40 Puede ser posible utilizar una solución de péptido autoensamblante como relleno para colapsar una bulla pulmonar o para su aplicación después de colapsar la bulla. Puede usarse este tratamiento en lugar de una bullectomía. El péptido puede aplicarse una o más veces, de manera segura a un sitio diana de un sujeto.

45 La presente divulgación posibilita métodos de tratamiento que incluyen la identificación de una bulla, el colapso de una bulla y la aplicación de las soluciones o geles de péptido autoensamblante en la bulla para proporcionar un sellador que proporcione una presión de rotura de más de 35 cm H₂O.

50 Las bullas que pueden tratarse mediante los métodos y los materiales de la presente divulgación pueden ser de una gran variedad de tamaños. En general, las bullas que pueden identificarse para el tratamiento pueden considerarse peligrosas para la salud de un sujeto, basándose en una evaluación u obtención de imágenes del área de la bulla. En algunas realizaciones, la bulla puede ser detectable usando obtención de imágenes no invasiva. En algunas realizaciones, puede tener un volumen de aproximadamente 0,1 ml a aproximadamente 5 ml. La bulla que puede tratarse puede encontrarse en el intervalo de aproximadamente 0,2 ml a aproximadamente 1 ml.

55 Un objetivo principal puede ser evitar la filtración de aire (neumotórax). Un objetivo secundario puede ser la regeneración del parénquima y la prevención de la reaparición de las bullas.

El colapso de las bullas puede lograrse con una aguja. Esto creará una bulla con una filtración de aire. La solución de péptido o el gel puede inyectarse en la cavidad de la bulla y/o la pleura para sellar la filtración de aire.

60 En determinadas realizaciones, el tratamiento puede proporcionar una presión de rotura de al menos 20 cm H₂O, al menos 25 cm H₂O, al menos 30 cm H₂O y en ciertos casos, al menos 35 cm H₂O.

De acuerdo con una o más realizaciones, un péptido autoensamblante puede tratar una bulla pulmonar.

65 La filtración puede crearse de manera postoperatoria. Los materiales, sistemas y métodos divulgados en el presente documento pueden facilitar la formación de epitelio mucoso en algunas realizaciones no limitantes.

Los péptidos autoensamblantes de la presente divulgación pueden incluir la aplicación, por ejemplo, administración de los péptidos autoensamblantes a un área predeterminada o diana deseada. El péptido autoensamblante puede administrarse a un área diana en forma de una solución de péptido, hidrogel, membrana u otra forma. Un área diana puede ser un área predeterminada de un sujeto que requiere un tratamiento específico. En algunas realizaciones, el área diana puede referirse a un sitio quirúrgico.

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

Los métodos y materiales de la presente divulgación pueden usarse después de un procedimiento quirúrgico. Por ejemplo, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede administrarse después de un procedimiento quirúrgico.

Los métodos de la presente divulgación pueden comprender introducir un dispositivo de suministro en un área diana de la bulla pulmonar de un sujeto. El método puede implicar colocar un extremo del dispositivo de suministro en el área diana en la que se desea el tratamiento de la bulla pulmonar. El posicionamiento de un extremo del dispositivo de suministro en el área diana puede comprender posicionar un tubo endotraqueal en el área diana.

El método divulgado puede comprender además identificar a bulla pulmonar o una parte de la bulla pulmonar como el sitio diana.

El método de la presente divulgación también puede comprender administrar los péptidos autoensamblantes a una diana predeterminada o deseada. El péptido autoensamblante puede administrarse a un área diana en forma de una solución de péptido, hidrogel, membrana u otra forma. Un área diana puede ser un área predeterminada de un sujeto que requiere un tratamiento específico. El área diana puede referirse a un sitio quirúrgico o al sitio de una bulla pulmonar. Por ejemplo, un sitio quirúrgico puede ser un sitio donde se ha llegado a cabo una cirugía, tal como una cirugía relacionada con el pulmón.

Los sistemas y métodos de la presente divulgación pueden no implicar la resección y/o grapado de las bullas pulmonares.

Se divulga un método que puede comprender colapsar la bulla pulmonar. La bulla puede colapsarse antes de la administración de la solución que comprende el péptido autoensamblante. La bulla pulmonar puede colapsarse después de la administración de la solución que comprende el péptido autoensamblante. Puede rellenarse una cavidad de la bulla pulmonar con la solución que contiene el péptido autoensamblante mediante bronquiólos conectados. Puede usarse un tubo endotraqueal mediante inserción a través del bronquio primario y dentro del pulmón. La administración puede producirse a través del dispositivo de suministro al área diana para formar una barrera de hidrogel. Esto puede producirse en condiciones fisiológicas del área diana para tratar la bulla pulmonar.

Los materiales y métodos pueden comprender el tratamiento, la prevención o la oclusión de una bulla pulmonar.

Como se usa en el presente documento, se pretende que el término "tratamiento" incluya el tratamiento parcial o completo de una bulla mediante colapso y/o proporcionando una oclusión o bloqueo de un área en la que se está produciendo la filtración, por ejemplo, filtración de aire. En general, la bulla y/o filtración es no deseada y, por lo tanto, el tratamiento remedia la bulla y/o filtración y posibilita la curación del área diana de tratamiento. El tratamiento de un sujeto puede incluir uno o más de curar, aliviar, remediar o mejorar a un sujeto con un trastorno, por ejemplo, una bulla y/o filtración, más allá de lo que esperaría en ausencia de dicho tratamiento. El tratamiento puede ser un tratamiento mínimamente invasivo, incluyendo la aplicación o administración mínimamente invasiva de la solución que comprende el péptido autoensamblante.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" pretende incluir seres humanos y animales no humanos, por ejemplo, vertebrados, animales grandes y primates. En determinadas realizaciones, el sujeto es un sujeto mamífero y en realizaciones particulares, el sujeto es un sujeto humano. Aunque se prevén claramente aplicaciones con seres humanos, también se prevén en el presente documento aplicaciones veterinarias, por ejemplo, con animales no humanos. La expresión "animales no humanos" 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 de utilidad agrícola, por ejemplo, oveja, perro, gato, vaca, cerdo, rata, entre otros.

El tratamiento, la prevención o la oclusión puede ser parcial o completa. Los materiales y los métodos pueden incluir abordar una bulla pulmonar. Los materiales y los métodos pueden incluir la administración, aplicación o inyección de un péptido autoensamblante o una solución que comprende un péptido autoensamblante o una composición que comprende un péptido autoensamblante, a un área predeterminada o diana deseada.

El método para tratar una bulla pulmonar puede comprender además retirar el dispositivo de suministro del área diana.

El método puede comprender además visualizar una región que comprende el área diana antes de introducir el dispositivo de suministro. La visualización de la región que comprende el área diana puede producirse después de retirar el dispositivo de suministro del área diana. La monitorización del área diana también puede producirse durante el procedimiento y después del procedimiento, por ejemplo, después de retirar el dispositivo de suministro.

5 El método de tratamiento puede comprender además preparar la solución que comprende el péptido autoensamblante. El método de tratamiento divulgado puede comprender además evaluar al sujeto para determinar la necesidad de tratar una bulla pulmonar y preparar la solución basándose en la etapa de evaluación.

10 El método de tratamiento puede comprender administrar soluciones de péptido autoensamblante a la bulla hasta que la bulla se rellena para prevenir la filtración de aire.

15 La expresión "péptido autoensamblante" puede referirse a un péptido que puede mostrar una estructura de lámina beta en solución acuosa en presencia de condiciones específicas para inducir la estructura de lámina beta. Estas condiciones específicas pueden incluir ajustar el pH de una solución de péptido autoensamblante. El ajuste puede ser un aumento o una reducción en el pH de la solución de péptido autoensamblante. El aumento en el pH puede ser un aumento en el pH hasta un pH fisiológico. Las condiciones específicas también pueden incluir añadir un catión, tal como un catión monovalente o un catión divalente, a una solución de péptido autoensamblante. Las condiciones específicas también pueden incluir añadir un anión, tal como un anión monovalente o un anión divalente, a una solución de péptido autoensamblante. Las condiciones específicas pueden incluir condiciones relacionadas con el sitio de una cirugía o un sitio diana de la bulla pulmonar. Los péptidos autoensamblantes pueden citarse como o ser una parte de una composición, solución de péptido, polvo de péptido, hidrogel o armazón.

25 La expresión "péptido autoensamblante" puede referirse a un péptido que comprende un péptido autoensamblante. Los péptidos autoensamblantes son péptidos que son capaces de autoensamblarse formando estructuras que incluyen, pero sin limitación, membranas macroscópicas o nanoestructuras.

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

35 El péptido autoensamblante es un péptido autoensamblante en donde al menos una parte del péptido es anfífila. El péptido puede ser un péptido autoensamblante anfífilo. Por "anfífilo" se entiende que el péptido comprende porciones hidrófobas y porciones hidrófilas. En algunas realizaciones, un péptido anfífilo puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en aminoácidos hidrófobos alternos y aminoácidos hidrófilos. Por alternos, se entiende que incluye una serie de tres o más aminoácidos que se alternan entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo y no es necesario que todos y cada uno de los aminoácidos en la secuencia de péptidos incluyan alternar entre un aminoácido hidrófobo y uno hidrófilo. El péptido autoensamblante, también citado en el presente documento como "péptido", puede administrarse al área diana predeterminada o deseada en forma de una solución, composición, hidrogel, membrana, armazón u otra forma de péptido autoensamblante. El hidrogel también puede denominarse como membrana o armazón a lo largo de la presente divulgación. El área diana predeterminada o deseada puede encontrarse en o próxima a la ubicación de una bulla pulmonar.

45 El área diana predeterminada o deseada puede establecerse basándose en el sitio u otro área que puede haberse sometido a un procedimiento quirúrgico o a un traumatismo intencionado o no intencionado.

50 La solución que comprende un péptido autoensamblante, también citada como una solución de péptido autoensamblante, puede ser una solución de péptido autoensamblante. El péptido autoensamblante puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está sustancialmente libre de células o que está libre de células. En determinadas realizaciones, el péptido autoensamblante puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está sustancialmente libre de células.

55 El péptido autoensamblante también puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está sustancialmente libre de fármacos o que está libre de fármacos. En determinadas realizaciones, el péptido autoensamblante puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está libre de fármacos. En determinadas otras realizaciones, el péptido autoensamblante puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está sustancialmente libre de células y sustancialmente libre de fármacos. En otras realizaciones determinadas adicionales, el péptido autoensamblante puede administrarse, aplicarse o inyectarse en una solución que está libre de fármacos y libre de células.

60 La solución de péptido autoensamblante puede comprender, consistir o consistir esencialmente en el péptido autoensamblante que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos, en donde al menos una parte del péptido es anfífila, de tal forma que el péptido puede mostrar una estructura de beta lámina en solución acuosa en presencia de condiciones fisiológicas en o próximas al sitio de una bulla pulmonar. El péptido autoensamblante puede encontrarse en una forma modificada o no modificada. Por modificado, se entiende que el péptido autoensamblante puede tener uno o más dominios que comprenden uno o más aminoácidos que, cuando se proporcionan solos en solución, no se autoensamblarían. Por no modificado, se entiende que el péptido

autoensamblante puede no tener cualquier otro dominio distinto de los proporcionados para el autoensamblaje del péptido. Es decir, un péptido no modificado consiste en aminoácidos hidrófobos e hidrófilos alternos que pueden autoensamblarse en una lámina beta y una estructura macroscópica, tal como un hidrogel.

5 Mediante la administración de la solución que comprende el péptido autoensamblante, se forma una barrera de hidrogel. La barrera de hidrogel se forma en el área diana para tratar la bulla pulmonar. El tratamiento puede proporcionarse colapsando, ocluyendo y/o sellando la bulla pulmonar, al menos parcialmente. Esto se logra mediante la formación de la barrera de hidrogel. A lo largo de esta descripción, la referencia a un hidrogel, también puede referirse o ser aplicable a la barrera de hidrogel.

10 En determinadas realizaciones, se desea tener una barrera de hidrogel que pueda proporcionar un bloqueo o sellado adecuado o deseado en el área diana. La barrera de hidrogel puede tener propiedades específicas para lograr el bloqueo o sellado adecuado o deseado. Por ejemplo, la barrera de hidrogel puede tener una o más propiedades predeterminadas, por ejemplo, fuerza mecánica (módulo de almacenamiento), rigidez, viscosidad, cinética de gelificación, fuerza iónica, pH o presión de rotura (tolerancia a la presión de rotura). Las propiedades pueden ajustarse o diseñarse basándose en la adición, al péptido autoensamblante o la solución que comprende el péptido autoensamblante, de componentes divulgados en el presente documento en cantidades y/o concentraciones específicas.

15 Por ejemplo, en relación con el tratamiento de una bulla pulmonar, puede desearse proporcionar una barrera de hidrogel que tenga una elevada fuerza mecánica, rigidez y alta presión de rotura. También puede desearse proporcionar una barrera de hidrogel que gelifique rápidamente, es decir, la cinética de gelificación es tal que, tras la administración, se forma la barrera de hidrogel en un corto espacio de tiempo para tratar la bulla pulmonar y/o la filtración. El corto espacio de tiempo puede ser instantáneo o, por ejemplo, menor de 5 minutos, menor de 3 minutos, menor de 2 minutos, menor de 1 minuto o menor de 30 segundos u otros tiempos divulgados en el presente documento.

20 La administración de una solución comprende, consiste en o consiste esencialmente en la administración de una solución que comprende, consiste en o consiste esencialmente en n péptido autoensamblante que comprende, consiste o consiste esencialmente en entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos. El péptido autoensamblante puede comprender, consistir en o consistir esencialmente en entre aproximadamente 7 a aproximadamente 32 aminoácidos, en donde al menos una parte del péptido es anfífila, de tal forma que el péptido puede mostrar una estructura de beta lámina en solución acuosa en presencia de condiciones fisiológicas en o próximas al sitio de una bulla pulmonar. En algunas realizaciones, el péptido autoensamblante puede comprender, consistir en o consistir esencialmente en entre aproximadamente 12 y aproximadamente 16 aminoácidos.

25 Por alternos, se entiende que incluye una serie de tres o más aminoácidos que se alternan entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo y no es necesario que todos y cada uno de los aminoácidos en la secuencia de péptidos incluyan alternar entre un aminoácido hidrófobo y uno hidrófilo.

30 Los métodos de tratamiento de una bulla pulmonar pueden comprender administrar un péptido autoensamblante a un área diana. El péptido puede administrarse en forma de un hidrogel o formar un hidrogel tras su administración. Los métodos de tratamiento de una bulla pulmonar pueden comprender administrar una solución que comprende un péptido autoensamblante a un área diana.

35 El término "administrar", pretende incluir, pero sin limitación, aplicar, introducir o inyectar el péptido autoensamblante, en una o más de diversas formas que incluyen, pero sin limitación, por sí mismo, mediante una solución, tal como una solución acuosa o mediante una composición, hidrogel o armazón, con o sin componentes adicionales.

40 El método puede comprender introducir un dispositivo de suministro en un área diana de la bulla pulmonar del sujeto. El método puede comprender introducir un dispositivo de suministro que comprende al menos una jeringa, tubo, pipeta, catéter, jeringa de catéter u otro dispositivo con aguja en el área diana de un sujeto. El péptido autoensamblante puede administrarse mediante una jeringa, tubo, pipeta, catéter, jeringa de catéter u otro dispositivo con aguja en el área diana 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 una forma líquida a través de la jeringa al área diana. El calibre de la aguja de la jeringa u otro dispositivo de suministro también puede estar basado en el uso del dispositivo de suministro para posibilitar el colapso de la bulla. La provisión de un flujo adecuado de una composición, una solución, un hidrogel o una forma líquida a través de la jeringa al área diana puede estar basada, en algunas realizaciones, en al menos uno de la cantidad de péptido autoensamblante en una composición, solución de péptido o un hidrogel que se esté administrando, la concentración de la solución de péptido, en la composición o el hidrogel, la viscosidad de la solución de péptido, composición o hidrogel y otros componentes incluidos con el péptido autoensamblante. El dispositivo de suministro puede ser un dispositivo convencional o diseñarse para lograr al menos uno de alcanzar un área diana específica, lograr una pauta posológica específica, suministrar un volumen, cantidad o concentración diana específica o suministrar con precisión en un área diana.

65 El método para tratar una filtración pulmonar puede comprender posicionar un extremo del dispositivo de suministro en el área diana en la que se desea el tratamiento de una bulla pulmonar. El área diana puede ser un área como se

describe en el presente documento, tal como una porción de un sitio quirúrgico o un sitio de una bulla pulmonar. El péptido autoensamblante puede administrarse mediante un dispositivo de suministro al área diana en la que se desea el tratamiento de una bulla. El péptido autoensamblante puede administrarse en una solución mediante el dispositivo de suministro al área diana. En algunas realizaciones, la administración puede producirse de manera tópica, en la que el dispositivo de suministro se coloca en estrecha proximidad al área diana, la bulla y/o la filtración para proporcionar la solución que comprende el péptido autoensamblante a una superficie del área diana o la ubicación de la bulla y/o la filtración. La administración puede producirse directamente en la bulla y/o la filtración, en la que el dispositivo de suministro se posiciona en el área diana, la bulla y/o la filtración para proporcionar la solución que comprende el péptido autoensamblante en, por ejemplo, directamente en, el área diana o la ubicación de la bulla y/o la filtración. En otras realizaciones, la administración puede producirse dentro o a través de la bulla y/o filtración, al área diana, la bulla o la filtración, para rellenar un volumen predeterminado del área diana con la solución que comprende el péptido autoensamblante. La administración de la solución puede comprender aplicar la solución por vía tópica al área diana. La administración de la solución puede comprender inyectar la solución en el área diana, con un exceso de líquido para, por ejemplo, cubrir tópicamente el área diana.

El uso de un dispositivo de suministro puede proporcionar una administración más selectiva del péptido para posibilitar un suministro más preciso al área diana. La administración selectiva del péptido puede permitir un suministro mejorado y más dirigido de la solución de péptido, la composición o el hidrogel, de tal forma que es exitoso y se posiciona en la ubicación deseada de un modo preciso. La administración selectiva puede proporcionar un suministro dirigido mejorado que mejora notablemente la colocación y la eficacia del tratamiento frente al uso de otro dispositivo de suministro. Los dispositivos de suministro que pueden usarse en los sistemas, métodos y kits de la divulgación pueden incluir una jeringuilla, tubo, aguja, pipeta, catéter de jeringa, otro dispositivo con aguja o un catéter.

El uso de un dispositivo de suministro, tal como un catéter, puede incluir el uso de dispositivos adjuntos, tales como un alambre guía usado para guiar el catéter a su posición o un endoscopio que puede permitir la colocación adecuada de un catéter u otro dispositivo y la visualización del área diana y/o la ruta hasta el área diana. El endoscopio puede ser un tubo que puede comprender al menos de una luz y una cámara u otro dispositivo de visualización para permitir ver imágenes del cuerpo del sujeto. El alambre guía o el endoscopio pueden introducirse en el sujeto, por ejemplo, mediante una incisión en la piel. El endoscopio puede introducirse en el área diana antes de introducir el dispositivo de suministro en el área diana.

El uso del dispositivo de suministro, tal como una jeringuilla, tubo, aguja, pipeta, catéter de jeringa, otro dispositivo con aguja, catéter o endoscopio puede requerir determinar el diámetro o el tamaño de la abertura en la que hay un área diana, de tal forma que al menos una parte de la jeringa, tubo, aguja, pipeta, catéter de jeringa, otro dispositivo con aguja, catéter o endoscopio puede entrar en la abertura para administrar el péptido, solución de péptido, composición o hidrogel al área diana.

En determinadas realizaciones, el hidrogel puede formarse *in vitro* y administrarse a la ubicación deseada *in vivo*. En algunos ejemplos, esta ubicación puede ser el área diana. En otros ejemplos, esta ubicación puede encontrarse aguas arriba, aguas abajo del área o sustancialmente próxima al área. Puede desearse permitir una migración del hidrogel al área en la que se desea. Como alternativa, otro procedimiento puede posicionar el hidrogel en el área en la que se desea. La ubicación o el área diana deseada puede ser al menos una parte de un área en la que se desea tratar una bulla pulmonar en un sujeto.

En determinados aspectos de la divulgación, el hidrogel puede formarse *in vivo*. Una solución que comprende el péptido autoensamblante, tal como una solución acuosa, puede insertarse en una ubicación o área *in vivo* de un sujeto para tratar la bulla pulmonar en un sujeto. En algunos ejemplos, el hidrogel puede formarse *in vivo* en una ubicación y dejar que migre al área en la que se desea promover o proporcionar un tratamiento para la bulla pulmonar, por ejemplo, un bloqueo o una oclusión en o próxima a la bulla pulmonar, en un sujeto. El procedimiento coloca el hidrogel en el área en la que se desea promover o proporcionar tratamiento de la bulla pulmonar. Los péptidos de la presente divulgación pueden encontrarse en forma de un polvo, una solución, un gel o similares. Debido a que el péptido autoensamblante gelifica en respuesta a cambios en el pH y la concentración de sal de la solución, puede distribuirse en forma de un líquido que gelifica tras entrar en contacto con un sujeto durante la aplicación o administración.

En ciertas realizaciones, la solución de péptido puede ser un hidrogel débil y, como resultado, puede administrarse mediante un dispositivo de suministro como se describe en el presente documento.

Al menos una parte del péptido es anfifila. Los péptidos autoensamblantes pueden ser anfifilos, alternando entre aminoácidos hidrófobos y aminoácidos hidrófilos.

De acuerdo con una o más realizaciones, puede evaluarse a un sujeto para determinar la necesidad de tratar una bulla pulmonar en un sujeto. Una vez que se ha completado la evaluación, puede prepararse una solución de péptido para su administración al sujeto basándose en la etapa de evaluación. En otras realizaciones, puede prepararse una solución de péptido sin la etapa de evaluación.

En algunas realizaciones, puede usarse un agente biológicamente activo con los materiales y los métodos de la

- presente divulgación. Un agente biológicamente activo puede comprender un compuesto, incluyendo un péptido, secuencia de ADN, compuesto químico o compuesto orgánico o inorgánico que pueda conferir alguna actividad, regulación, modulación o ajuste de una condición u otra actividad en un sujeto o en una situación de laboratorio. El agente biológicamente activo puede interactuar con otro componente para proporcionar dicha actividad. El agente biológicamente activo puede citarse como un fármaco de acuerdo con algunas realizaciones del presente documento.
- 5 En determinadas realizaciones, pueden liberarse uno o más agentes biológicamente activos de manera gradual fuera del sistema de péptido. Por ejemplo, los uno o más agentes biológicamente activos pueden liberarse gradualmente del hidrogel. Se ha demostrado esta liberación gradual de un agente biológicamente activo mediante pruebas tanto *in vitro* como *in vivo*. Puede añadirse el agente biológicamente activo a la solución o composición de péptido
- 10 autoensamblante antes de su administración a un sujeto o puede administrarse junto con el péptido autoensamblante o de manera independiente del péptido autoensamblante al sujeto. Los uno o más agentes biológicamente activos pueden encapsularse dentro del sistema, por ejemplo, pueden encapsularse en el hidrogel, solución, composición o nanofibras.
- 15 La divulgación se refiere a soluciones acuosas, hidrogeles, armazones, composiciones y membranas que comprenden péptidos autoensamblantes, en ocasiones citados como oligopéptidos autoensamblantes. Los péptidos autoensamblantes pueden mostrar una estructura de lámina beta en solución acuosa en presencia de un pH fisiológico y/o catión y/o aniones, tal como un catión monovalente y/o anión monovalente u otras condiciones aplicables a un sitio quirúrgico o en o próximo al sitio de una bulla pulmonar. El péptido es anfifilo y puede alternar entre un aminoácido
- 20 hidrófobo y un aminoácido hidrófilo. En determinadas realizaciones, el péptido puede comprender una primera parte que puede ser anfifila, que alterna entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo y otra porción o región que no es anfifila.
- 25 Los péptidos pueden ser generalmente estables en soluciones acuosas y autoensamblarse en grandes estructuras macroscópicas, armazones o matrices cuando se exponen a condiciones seleccionadas.
- Las condiciones pueden ser condiciones fisiológicas, pH neutro, concentraciones de sales seleccionadas, soluciones tamponadoras o niveles fisiológicos de sal. Una vez que se forma el hidrogel puede no descomponerse o puede descomponerse o biodegradarse tras un periodo de tiempo. La velocidad de descomposición puede estar basada, al
- 30 menos en parte, en al menos una secuencia de aminoácido y las condiciones de sus alrededores. La velocidad de descomposición puede estar relacionada con la velocidad de curación o crecimiento en el sitio diana, a fin de proporcionar un tratamiento adecuado de la bulla pulmonar.
- 35 Por "macroscópico" se entiende que tiene dimensiones lo suficientemente grandes para que sea visible bajo un aumento de 10 o menor. En realizaciones preferidas, una estructura macroscópica es visible a simple vista. Una estructura macroscópica puede ser transparente y puede ser bidimensional o tridimensional. Normalmente, cada dimensión tiene al menos 10 μm de tamaño. En determinadas realizaciones, al menos dos dimensiones son de al menos 100 μm o de al menos 1000 μm de tamaño. Con frecuencia, al menos dos dimensiones son de al menos 1-
- 40 10 mm de tamaño, 10-100 mm de tamaño o más.
- En determinadas realizaciones, el tamaño de los filamentos puede ser de aproximadamente 10 nanómetros (nm) a aproximadamente 20 nm. La distancia entre filamentos puede ser de aproximadamente 50 nm a aproximadamente 80 nm.
- 45 La estructura macroscópica puede ser un armazón macroscópico. El armazón macroscópico puede consistir esencialmente en una pluralidad de péptidos autoensamblantes. Cada uno de los péptidos autoensamblantes comprende, consiste esencialmente en o consiste en entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos en una cantidad eficaz que puede colocarse en un área diana de un sistema pulmonar para prevenir una bulla pulmonar. Los péptidos autoensamblantes del armazón pueden comprender entre aproximadamente 12 a
- 50 aproximadamente 16 aminoácidos. Los péptidos autoensamblantes del armazón pueden comprender entre aproximadamente 12 a aproximadamente 16 aminoácidos que se alternan entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo. El péptido autoensamblante puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), (IEIK)₃ (SEQ ID NO: 2), (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3).
- 55 Las "condiciones fisiológicas" pueden producirse de manera natural para un organismo particular, sistema celular o sujeto que pueden ser distintas a las condiciones de laboratorio artificiales. Las condiciones pueden comprender una o más propiedades, tales como una o más propiedades particulares o uno o más intervalos de propiedades. Por ejemplo, las condiciones fisiológicas pueden incluir una temperatura o un intervalo de temperaturas, un pH o un intervalo de pH, una presión o intervalo de presiones y una o más concentraciones de compuestos particulares, sales
- 60 y otros componentes. Las sales pueden comprender uno o más aniones monovalentes, cationes monovalentes, aniones divalentes o cationes monovalentes.
- 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 de
- 65 aproximadamente 1 atm. El pH puede encontrarse en el intervalo de un pH neutro. Por ejemplo, el pH puede encontrarse en un intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 8. Las condiciones fisiológicas pueden incluir

cationes y/o aniones, tales como cationes metálicos monovalentes y/o aniones monovalentes que pueden inducir la formación de la membrana o del hidrogel. Estos pueden incluir cloruro de sodio (NaCl). Las condiciones fisiológicas también pueden incluir una concentración de glucosa, concentración de sacarosa u otra concentración de azúcar, de entre aproximadamente 1 mM y aproximadamente 20 mM. La solución de péptido autoensamblante puede comprender glucosa, sacarosa u otro azúcar o puede añadirse un azúcar o una solución de azúcar a la solución de péptido autoensamblante.

Los péptidos autoensamblantes son péptidos que comprenden entre aproximadamente 7 aminoácidos a aproximadamente 32 aminoácidos. En ciertas realizaciones adicionales, los péptidos autoensamblantes pueden ser péptidos de entre aproximadamente 7 a aproximadamente 17 aminoácidos. En otros ejemplos concretos, los péptidos autoensamblantes puede ser péptidos de al menos 8 aminoácidos, al menos aproximadamente 12 aminoácidos o al menos aproximadamente 16 aminoácidos.

Las mezclas de péptidos tanto homogéneas como heterogéneas caracterizadas por las propiedades anteriormente mencionadas 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, incluyendo aquellos 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.

Las membranas, filamentos e hidrogeles pueden ser no citotóxicos. Los hidrogeles de la presente divulgación pueden digerirse y metabolizarse en un sujeto. Los hidrogeles pueden biodegradarse en 30 días o menos. Tienen una composición sencilla, son permeables y son fácil y relativamente baratos de producir en grandes cantidades. Las membranas y filamentos, hidrogeles o armazones también pueden producirse y almacenarse en condiciones estériles. Las longitudes óptimas para la formación de membrana pueden variar con al menos uno de la composición de aminoácidos, las condiciones de solución y las condiciones en el área diana.

Los aminoácidos de los péptidos autoensamblantes o anfífilos pueden seleccionarse entre d-aminoácidos, L-aminoácidos o combinaciones de los mismos. Los aminoácidos hidrófobos pueden incluir Ala, Val, Ile, 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, Gln. Pueden acumularse aminoácidos ácidos y básicos en un péptido. Los grupos carboxilo y amino de los restos terminales pueden estar protegidos o no protegidos. Las membranas o los hidrogeles pueden formarse en una mezcla homogénea de péptidos autocomplementarios y autocompatibles o en una mezcla heterogénea de péptidos que son complementarios y estructuralmente complementarios entre sí. Los péptidos que cumplen los criterios anteriores pueden autoensamblarse en membranas macroscópicas en condiciones adecuadas, descritas en el presente documento.

En determinadas realizaciones, pueden usarse de aproximadamente 8 a aproximadamente 32 restos en los péptidos autoensamblantes, mientras que en otras realizaciones, los péptidos autoensamblantes pueden tener de aproximadamente 7 a aproximadamente 17 restos. Los péptidos pueden tener una longitud de aproximadamente 5 nm.

Los péptidos de la presente divulgación pueden comprender, consistir esencialmente o consistir en péptidos que tienen la secuencia repetitiva de arginina, alanina, ácido aspártico y alanina (Arg-Ala-Asp-Ala (SEQ ID NO: 4) (RADA (SEQ ID NO: 4))).

Otras secuencias de péptido pueden estar representadas por péptidos autoensamblantes que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en la secuencia repetitiva de isoleucina, ácido glutámico, isoleucina y lisina (Ile-Glu-Ile-Lys (SEQ ID NO: 5) (IEIK (SEQ ID NO: 5))). Otras secuencias de péptido pueden estar representadas por péptidos autoensamblantes que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en la secuencia repetitiva de lisina, leucina, ácido aspártico y leucina (Lys-Leu-Asp-Leu (SEQ ID NO: 6) (KLDL (SEQ ID NO: 6))). Como ejemplos específicos de péptidos autoensamblantes puede haber un péptido autoensamblante denominado "RADA16" que tiene la secuencia Arg-Ala-Asp-Ala-Arg-Ala-Asp-Ala-Arg-Ala-Asp-Ala-Arg-Ala-Asp-Ala (SEQ ID NO: 1) ((RADA)₄ (SEQ ID NO: 1)) (también citado como "Puramatrix" a lo largo de la divulgación), un péptido autoensamblante citado como "IEIK13" que tiene la secuencia Ile-Glu-Ile-Lys-Ile-Glu-Ile-Lys-Ile-Glu-Ile-Lys-Ile (SEQ ID NO: 2) ((IEIK)₃ (SEQ ID NO: 2)) o un péptido autoensamblante citado como "KLDL12" (que también puede citarse como "KLD12" a lo largo de la presente divulgación) que tiene la secuencia Lys-Leu-Asp-Leu-Lys-Leu-Asp-Leu-Lys-Leu-Asp-Leu (SEQ ID NO: 3) ((KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3)).

Cada una de las secuencias de péptido divulgadas en el presente documento pueden proporcionar péptidos que comprenden, consisten esencialmente en y que consisten en las secuencias de aminoácidos citadas.

La presente divulgación proporciona materiales, métodos y kits para soluciones, hidrogeles, composiciones y armazones que comprenden, consisten esencialmente o consisten en los péptidos citados en el presente documento.

Se encuentra disponible comercialmente una solución acuosa (con agua) al 1 por ciento de peso por volumen (p/v) y

un 2,5 por ciento p/v de (RADA)4 (SEQ ID NO: 1) como el producto de hidrogel de péptido PuraMatrix™ de 3-D Matrix Co., Ltd.

5 El autoensamblaje de los péptidos puede atribuirse a la unión del hidrogel y la unión hidrófoba entre las moléculas de péptido mediante los aminoácidos que componen los péptidos.

10 Los péptidos autoensamblantes de la presente divulgación pueden tener un diámetro de nanofibras en el intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 20 nm y un tamaño medio de poro en el intervalo de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 200 nm. En determinadas realizaciones, el diámetro de la nanofibra, el tamaño del poro y la densidad de las nanofibras puede controlarse mediante al menos uno de la concentración de péptido usada y la cantidad de solución de péptido usada, tal como el volumen de la solución de péptido.

15 Como tal, puede proporcionarse al menos uno de una concentración específica de péptido en solución y una cantidad específica de solución de péptido para proporcionar al menos uno de un diámetro de nanofibras deseado, tamaño de poro y densidad para proporcionar de manera adecuada el tratamiento de una bulla pulmonar, por ejemplo, proporcionando una oclusión o un colapso. La concentración específica y la cantidad específica de la solución de péptido puede citarse como una "concentración eficaz" y una "cantidad eficaz".

20 Como se usa en el presente documento, una cantidad de un péptido, solución de péptido o hidrogel eficaz para tratar una bulla pulmonar en un sujeto, una "cantidad eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad del péptido, solución de péptido, composición o hidrogel, que es eficaz, tras una sola o múltiples administraciones (aplicación o inyección) a un sujeto, en el tratamiento o en la curación, alivio, mitigación o mejora de un sujeto con un trastorno más allá de los que se esperaría en ausencia de dicho tratamiento. Esto puede incluir una concentración o intervalo de concentraciones particular de péptido en la solución de péptido, composición o hidrogel y además o como alternativa, un volumen o intervalo de volúmenes particular de la solución de péptido, composición o hidrogel. El método para facilitar puede comprender proporcionar instrucciones para preparar al menos uno de la cantidad eficaz y la concentración eficaz.

30 La dosis, por ejemplo, volumen o concentración, administrada (por ejemplo, aplicada o inyectada) puede variar dependiendo de la forma del péptido (por ejemplo, en una solución de péptido, hidrogel o en una forma seca, tal como una forma liofilizada) y la ruta de administración utilizada. La formulación exacta, la ruta de administración, el volumen y la concentración pueden seleccionarse en vista del estado del sujeto y en vista del área diana particular o la ubicación en la que se administrará la solución de péptido, el hidrogel u otra forma del péptido. Pueden usarse o necesitarse dosis menores o mayores que las citadas en el presente documento. La dosificación y los regímenes de tratamiento específicos para cualquier paciente concreto pueden depender de una variedad de factores, que pueden incluir el péptido o los péptidos específicos empleados, las dimensiones del área que se esté tratando, el espesor deseado del hidrogel resultante que puede posicionarse en el área diana deseada y la duración del tratamiento. Otros factores que pueden afectar a la dosis y las pautas de tratamiento específicas incluyen la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, el tiempo de administración, la velocidad de degradación, la gravedad y la evolución de la enfermedad, la afección o los síntomas y el criterio del médico tratante. En determinadas realizaciones, la solución de péptido puede administrarse en una sola dosis. En otras realizaciones, la solución de péptido puede administrarse en más de una dosis o en múltiples dosis. La solución de péptido puede administrarse en al menos dos dosis. La administración de la solución puede repetirse hasta que se rellena un volumen del área diana.

45 Puede seleccionarse una cantidad eficaz y una concentración eficaz de la solución de péptido para tratar al menos parcialmente una bulla pulmonar, por ejemplo, para promover o proporcionar una oclusión o colapso de la bulla en o cerca de una bulla en un sujeto. En algunas realizaciones, al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz puede estar basada, en parte, en las dimensiones o el diámetro del área diana. En otras realizaciones, al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz está basada, en parte, en el caudal de uno o más fluidos en o cerca del área diana. En otras realizaciones más, al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz puede estar basada, en parte, en las dimensiones o el diámetro del área diana de la bulla pulmonar o el sitio de una cirugía.

50 En otras realizaciones más, al menos una de la cantidad eficaz y la concentración eficaz puede estar basada, en parte, en al menos una de las dimensiones o el diámetro del área diana y el caudal de uno o más fluidos en o cerca del área diana y una dimensión o diámetro de un área diana de la bulla pulmonar o el sitio de una cirugía.

60 La cantidad eficaz puede incluir volúmenes de aproximadamente 0,1 mililitros (ml) a aproximadamente 100 ml de una solución de péptido. La cantidad eficaz puede incluir volúmenes de aproximadamente 0,1 ml a aproximadamente 10 ml de una solución de péptido. La cantidad eficaz puede incluir volúmenes de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 ml. En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 0,4 ml. En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 0,5 ml. En otras realizaciones, la cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 1,0 ml. En otras realizaciones más, la cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 1,5 ml. En otras realizaciones más, la cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 2,0 ml. En algunas realizaciones diferentes, la cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 3,0 ml.

65 En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 0,1 ml por 1 cm² a aproximadamente

5 ml por 1 cm² de área diana. La cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 0,1 ml por 1 cm² a aproximadamente 3 ml por 1 cm². En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 1 ml por 1 cm² de área diana. Esta cantidad eficaz puede usarse en relación con una concentración, tal como un 1,5 por ciento de peso por volumen o un 2,5 por ciento de peso por volumen de una solución de péptido de la presente divulgación.

5 La concentración eficaz puede ser, como se describe en el presente documento, una cantidad que puede tratar la bulla pulmonar. Varias propiedades en o cerca del sitio diana pueden contribuir a la selección o la determinación de la concentración eficaz, incluyendo al menos una de una dimensión o diámetro del área diana y el caudal de uno o más fluidos en o próximos al área diana.

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

20 En determinadas realizaciones, una solución de péptido que tenga una mayor concentración de péptido puede proporcionar un hidrogel más eficaz que tiene la capacidad de permanecer en su sitio y proporcionar un tratamiento eficaz. A fin de suministrar la solución de péptido, las mayores concentraciones de soluciones de péptido pueden volverse demasiado viscosas como para permitir una administración eficaz y selectiva de la solución. Es posible que de no seleccionarse una concentración lo suficientemente alta del péptido, el hidrogel puede no ser eficaz en el área diana durante el periodo de tiempo deseado.

La concentración eficaz puede seleccionarse para proporcionar una solución que puede administrarse mediante inyección u otros medios usando un catéter o una aguja con un diámetro o calibre particular.

30 Los métodos de la divulgación contemplan administraciones tanto individuales como múltiples de una cantidad terapéuticamente eficaz de los péptidos, composiciones, soluciones de péptido, membranas, filamentos e hidrogeles como se describen en el presente documento. Los péptidos como se describen en el presente documento pueden administrarse a intervalos regulares, dependiendo de la naturaleza, gravedad y alcance de la afección del sujeto. En algunas realizaciones, puede administrarse un péptido, composición, solución de péptido, membrana, filamento o hidrogel en una sola administración. En algunas realizaciones, se administra un péptido, composición, solución de péptido o hidrogel descrito en el presente documento en múltiples administraciones. En algunas realizaciones, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido, composición, solución de péptido, membrana, filamento o hidrogel de manera periódica a intervalos regulares. Los intervalos regulares seleccionados pueden estar basados en uno cualquiera o más de la concentración inicial de péptido de la solución administrada, la cantidad administrada y la velocidad de degradación del hidrogel formado. Por ejemplo, tras una administración inicial, puede producirse una administración seguida tras, 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 seguida 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 administración seguida adecuada de solución de péptido puede estar basada en la obtención de imágenes del área diana y del área que rodea al área diana y la determinación de las necesidades basándose en el estado del sujeto. Los intervalos predeterminados pueden ser los mismos para cada administración seguida o pueden ser diferentes. En algunas realizaciones, puede administrarse un péptido, solución de péptido o hidrogel de manera crónica a intervalos predeterminados para mantener al menos un tratamiento parcial de una bulla o bullas pulmonares en un sujeto durante la vida del sujeto. Los intervalos predeterminados pueden ser los mismos para cada administración seguida o pueden ser diferentes. Esto puede depender de si el hidrogel formado a partir de la administración anterior está parcial o totalmente alterado o degradado. La administración seguida 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 administración seguida adecuada de solución de péptido puede estar basada en la obtención de imágenes o la visualización del área diana y del área que rodea al área diana y la determinación de las necesidades basándose en el estado del sujeto.

60 La administración del péptido autoensamblante puede comprender aplicar una solución que comprende el péptido autoensamblante a la superficie del área diana. En otras realizaciones, la solución puede aplicarse a través o dentro del área diana. Puede posicionarse un dispositivo de suministro dentro del área de la bulla para administrar, por ejemplo, inyectar, la solución en el área de la bulla, en lugar de aplicar la solución a la superficie del área diana.

65 Estos procedimientos de administración pueden lograrse mediante el posicionamiento adecuado del dispositivo de suministro. Como se ha analizado anteriormente, el dispositivo de suministro puede ser una jeringa. La jeringa puede tener un calibre particular para permitir un flujo adecuado de la solución sobre o dentro del área diana para lograr el

tratamiento de la bulla pulmonar.

Los procedimientos adicionales relativos al tratamiento pueden comprender administrar una solución salina al área diana después de aplicar la solución que comprende el péptido autoensamblante.

5 Esto puede proporcionar un tratamiento superior de la bulla pulmonar debido al aumento en la fuerza mecánica de la barrera de hidrogel resultante, por ejemplo, aumento en el módulo de almacenamiento de la barrera de hidrogel resultante en comparación con una barrera de hidrogel que no incluye tratamiento adicional con una solución salina.

10 Los péptidos autoensamblantes de la presente divulgación, tales como RADA16, pueden ser secuencias de péptido que carecen de un motivo o secuencia fisiológica o biológicamente activa y por lo tanto, pueden no impedir la función celular intrínseca. Los motivos fisiológicamente activos pueden controlar numerosos fenómenos intracelulares, tales como la transcripción y la presencia de motivos fisiológicamente activos puede provocar la fosforilación de proteínas citoplasmáticas o de la superficie celular mediante enzimas que reconocen los motivos. Cuando está presente un motivo fisiológicamente activo en un péptido, puede activarse o suprimirse la transcripción de proteínas con diversas funciones. Los péptidos autoensamblantes, de la presente divulgación, pueden carecer de dichos motivos fisiológicamente activos y por lo tanto, no portan este riesgo.

20 Puede añadirse un azúcar a la solución de péptido autoensamblante para mejorar la presión osmótica de la solución de hipotónica a isotónica sin reducir el tratamiento de la bulla pulmonar, permitiendo de este modo aumentar la seguridad biológica. En algunos ejemplos, el azúcar puede ser sacarosa o glucosa.

25 Las longitudes óptimas para la formación de membrana pueden variar con la composición de aminoácidos. Un factor de estabilización contemplado por los péptidos de la presente divulgación es que los péptidos complementarios mantienen una distancia constante entre los armazones peptídicos. Los péptidos que pueden mantener una distancia constante tras el emparejamiento se denominan en el presente documento como estructuralmente compatibles. La distancia entre péptidos puede calcularse para cada par ionizado o formador de enlaces de hidrógeno tomando la suma del número 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 de fuentes naturales y recombinantes. El uso de péptidos sintetizados químicamente puede permitir que las soluciones de péptido carezcan de componentes no identificados, tales como componentes no identificados procedentes de la matriz extracelular de otro animal o microorganismo. Por lo tanto, esta propiedad puede eliminar los problemas de infección, incluyendo el riesgo de infección vírica, en comparación con los biomateriales convencionales derivados de tejido. Esto puede eliminar las preocupaciones de infección, incluyendo infecciones, tales como encefalopatía espongiiforme bovina (EEB), haciendo que el péptido sea altamente seguro para el tratamiento de bullas pulmonares.

40 La concentración inicial del péptido puede ser un factor en el tamaño y el espesor de la membrana, hidrogel o armazón formado. En general, cuanto mayor sea la concentración de péptido, mayor será el alcance de la formación de membrana o hidrogel. Los hidrogeles o armazones formados a mayores concentraciones iniciales de péptido (aproximadamente 10 mg/ml) (aproximadamente un 1,0 por ciento p/v) pueden ser más espesor y por lo tanto, es más probable que sean más fuertes.

45 La formación de las membranas, hidrogeles, composiciones o armazones 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 realizaciones, la formación puede ser reversible. El hidrogel puede formarse instantáneamente tras la administración a un área diana. La formación del hidrogel puede producirse de aproximadamente uno a dos minutos después de la administración. En otros ejemplos, La formación del hidrogel puede producirse de aproximadamente tres a cuatro minutos después de la administración. En ciertas realizaciones, el tiempo que se tarda en formar el hidrogel puede estar basado, al menos en parte, en uno o más de la concentración de la solución de péptido, el volumen de la solución de péptido aplicada y las condiciones en el área de aplicación o inyección (por ejemplo, la concentración de cationes y/o aniones metálicos monovalentes en el área de aplicación, el pH del área y la presencia de uno o más fluidos en o próximos al área, los componentes adicionales añadidos a la solución antes o después de la administración al área diana). El proceso puede no verse afectado por el pH menor o igual a 12 y por la temperatura.

50 Las membranas o los hidrogeles pueden formarse a temperaturas en el intervalo de 1 a 99 grados Celsius.

60 Los hidrogeles pueden mantenerse en posición en el área diana durante un periodo de tiempo suficiente para proporcionar un efecto deseado usando los métodos y los kits de la presente divulgación. El efecto deseado usando los materiales, composiciones, métodos y kits de la presente divulgación puede ser tratar áreas o ayudar a curar áreas en las que se ha producido un procedimiento quirúrgico o próximas al sitio de la cirugía o en el sitio de la bulla pulmonar. Por ejemplo, el efecto deseado usando los materiales, composiciones, métodos y kits de la presente divulgación puede ser tratar áreas o ayudar a curar áreas en las que se ha practicado una cirugía pulmonar.

65 Los materiales y métodos de la presente divulgación, incluyendo el uso de una solución, hidrogel, composición o membrana que comprende un péptido autoensamblante como se describe en el presente documento para tratar una bulla pulmonar, se proporcionan a fin de producir una barrera de hidrogel en un área diana de la bulla pulmonar. Una

propiedad de la barrera de hidrogel que puede determinar la idoneidad del éxito del tratamiento es la presión de rotura o la tolerancia a la presión de rotura. La presión de rotura puede referirse a la presión a la que fallará la barrera de hidrogel. Por ejemplo, puede ser la presión a la que deja de funcionar del modo deseado la barrera de hidrogel para proporcionar un tratamiento adecuado al área diana. La presión de rotura puede ser la presión a la que el bloqueo o la oclusión proporcionada por la barrera de hidrogel permite que pase el aire a su través.

En algunas realizaciones, puede ser deseable proporcionar, mediante el uso de los materiales y métodos de la divulgación, una presión de rotura que sea similar o mayor que la que se logra con tejido normal (por ejemplo, tejido no dañado o tejido sin presencia de filtración). Puede ser deseable proporcionar, mediante el uso de los materiales y métodos de la divulgación, una presión de rotura que sea similar a las presiones mostradas por la función pulmonar normal o media. Para un tejido sano normal, puede observarse generalmente una presión de rotura de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 cm H₂O.

En determinadas realizaciones, una presión de rotura de 35 cm H₂O o mayor es una presión de rotura deseable o aceptable para la barrera de hidrogel para tratar una bulla pulmonar. En determinadas realizaciones, la presión de rotura puede aumentar tras la administración de la solución que comprende el péptido autoensamblante. Por ejemplo, puede haber un aumento en la presión de rotura en de un minuto a dos minutos, hasta 10 minutos. En algunas realizaciones, puede desearse tener una presión de rotura de al menos 35 cm H₂O en de aproximadamente 0 y 1 minuto, de 1 minuto a 2 minutos o de 2 minutos a cinco minutos. En determinadas realizaciones, puede lograrse la presión de rotura de al menos 35 cm H₂O en un periodo de tiempo adecuado para permitir el tratamiento de la bulla pulmonar.

El periodo de tiempo también puede ser adecuado para el tratamiento adecuado por el médico. Puede lograrse una presión de rotura de al menos 35 cm H₂O en menos de aproximadamente 5 minutos, menos de aproximadamente 3 minutos, menos de aproximadamente 2 minutos, menos de aproximadamente 1 minuto o menos de aproximadamente 30 segundos.

Hay un efecto de tiempo de gelación, después de la aplicación. La presión de rotura aumenta con el tiempo, entre 1 minuto, 2 minutos y 10 minutos. Puede ser preferible dos minutos para proporcionar sellado. La barrera de hidrogel puede ser adecuada para proporcionar una presión de rotura eficaz de al menos 35 cm H₂O, independientemente del tamaño del área diana. Por ejemplo, los defectos creados al perforar una superficie con una aguja de calibre 14 g, 16 g, 18 g o 22 g no afectan drásticamente a la presión de rotura de 35 cm H₂O.

El periodo de tiempo en que las membranas o hidrogeles pueden permanecer en el área deseada puede ser durante aproximadamente 10 minutos. En algunos ejemplos, puede permanecer en el área deseada durante aproximadamente 35 minutos. En algunos ejemplos adicionales, puede permanecer en el área deseada durante uno o más días, hasta una o más semanas. En otros ejemplos, puede permanecer en el área deseada durante aproximadamente 30 días o más. Puede permanecer en el área deseada de manera indefinida. En otros ejemplos, puede permanecer en el área deseada durante un periodo de tiempo más prolongado, hasta que se degrada de manera natural o se retira intencionadamente. En caso de que el hidrogel se degrade de manera natural a lo largo de un periodo de tiempo, puede llevarse a cabo la aplicación o inyección posterior del hidrogel en la misma ubicación o una distinta.

En determinadas realizaciones, el péptido autoensamblante puede prepararse con uno o más componentes que pueden proporcionar una eficacia aumentada del péptido autoensamblante o puede proporcionar otra acción, tratamiento, terapia o de otro modo, interactuar con uno o más componentes del sujeto. Los uno o más componentes pueden proporcionar una mayor fuerza mecánica, medida por el módulo de almacenamiento, G' y una cinética de gelificación mejorada, por ejemplo, gelificación en un hidrogel o barrera de hidrogel más rápida.

Por ejemplo, el pH del péptido autoensamblante, por ejemplo, en forma de una solución o composición de péptido autoensamblante, puede ajustarse. El pH del péptido autoensamblante, en forma de una solución o composición de péptido autoensamblante, puede aumentarse o reducirse. Esto puede efectuarse ajustando el pH de la solución de péptido autoensamblante, mediante la adición de un ajustador de pH. El ajustador de pH puede ser, por ejemplo, sales, una solución salina o solución tamponadora. El ajustador de pH puede seleccionarse basándose en la secuencia de aminoácidos del péptido autoensamblante, el tipo de sal o sales, la concentración de las una o más sales y el pH del ajustador de pH. En determinadas realizaciones, el pH de la solución que comprende el péptido autoensamblante es de entre aproximadamente 2,5 a aproximadamente 4,0.

Las soluciones y composiciones que comprenden un péptido autoensamblante que se proporcionan por la presente divulgación pueden prepararse con componentes adicionales, por ejemplo, una o más sales. La preparación de la solución puede comprender añadir el péptido autoensamblante, por ejemplo, en forma de un polvo de péptido o una solución de péptido, a una solución salina. En otras realizaciones, la preparación de la solución puede comprender añadir una sal o una solución salina a un péptido autoensamblante, en forma de un polvo de péptido o una solución de péptido. En otras realizaciones, la preparación de la solución que comprende el péptido autoensamblante comprende añadir agua a un polvo de péptido del péptido autoensamblante para proporcionar una solución acuosa de péptido. El agua puede ser agua desionizada o cualquier agua purificada adecuada para la preparación de la solución de péptido. El agua puede ser de un grado aceptable para dispositivos médicos o de un grado

farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, pueden mezclarse el polvo de péptido y el agua. Después, puede añadirse una sal o solución salina a la solución acuosa de péptido. Después, pueden mezclarse la sal o la solución salina y la solución acuosa de péptido.

- 5 Las soluciones salinas pueden proporcionarse para su uso en la solución que comprende el péptido autoensamblante, para su adición a la solución que comprende el péptido autoensamblante o para su adición al hidrogel o la composición que comprende el péptido autoensamblante. Las soluciones salinas pueden proporcionarse con aniones y cationes específicos y a concentraciones específicas para conferir una propiedad deseada a la solución que comprende el péptido autoensamblante o el hidrogel resultante o la barrera de hidrogel. Por ejemplo, puede proporcionarse la
10 solución salina para que tenga una fuerza mecánica (módulo de almacenamiento), rigidez, viscosidad, cinética de gelificación, fuerza iónica, pH o presión de rotura (tolerancia a la presión de rotura).

Las soluciones salinas pueden comprender cationes y/o aniones monovalentes y/o divalentes. La solución salina puede comprender al menos un catión seleccionado entre el grupo que consiste en amonio, hierro, magnesio, potasio, pirimidinio, amonio cuaternario, sodio, potasio y calcio. La solución salina puede comprender al menos un anión seleccionado entre el grupo que consiste en cloruro, sulfato, acetato, carbonato, cloruro, citrato, cianuro, fluoruro, sulfato, nitrato, nitrito y fosfato.
15

En algunas realizaciones, la solución salina comprende al menos uno de cloruro de calcio, cloruro de sodio y cloruro de potasio.
20

En determinadas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede comprender (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1) a una concentración de al menos un 0,5 por ciento 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.
25

En determinadas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede comprender (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1) a una concentración de al menos un 0,5 por ciento 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.
30

En determinadas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede comprender (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1) a una concentración de al menos un 0,5 por ciento 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.
35

En determinadas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede comprender (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1) a una concentración de al menos un 2,5 por ciento 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.
40

En algunas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede tener una concentración de sal de entre aproximadamente 0,005 M y aproximadamente 1 M. En ciertas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede tener una concentración de sal de entre aproximadamente 0,125 M y aproximadamente 0,500 M. En ciertas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede tener una concentración de sal de aproximadamente 0,25 M.
45

En algunas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede comprender o puede tener añadida a la misma una solución isotónica. La solución isotónica puede ser en relación con un sujeto, por ejemplo, los fluidos corporales del sujeto o las condiciones fisiológicas locales en el área diana. 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 y 0,33 g de CaCl₂ en un litro de agua destilada. El pH de esta solución puede ser de aproximadamente 5,4. El pH de la solución puede ajustarse con un ácido o una base o un ajustador de pH. El ajustador de pH puede ser bicarbonato de sodio. La solución puede denominarse solución de Ringer.
50
55

En algunas realizaciones, la solución que comprende el péptido autoensamblante puede comprender o puede tener añadida a la misma un agente de contraste. El agente de contraste puede utilizarse para la visualización de la solución que comprende el péptido autoensamblante o el hidrogel o la barrera de hidrogel. El agente de contraste puede proporcionar o asegurar al médico la localización de la solución que comprende el péptido autoensamblante o el hidrogel o la barrera de hidrogel. El agente de contraste puede comprender al menos uno de iones sulfato e iones de sodio.
60

En algunas realizaciones, las propiedades de varios péptidos autoensamblantes, incluyendo, pero sin limitación, (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), (IEIK)₃ (SEQ ID NO: 2), (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3) pueden mejorarse manteniendo su concentración de sal por debajo de su nivel crítico de fuerza iónica antes de que comiencen a precipitarse. El nivel
65

crítico de fuerza iónica de las sales varía dependiendo 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 de sal por debajo de su nivel crítico de fuerza iónica antes de que comiencen a precipitarse.

- 5 Esto puede proporcionar de manera beneficiosa propiedades de mayor rigidez o mayor fuerza mecánica a la solución de péptido autoensamblante y los hidrogeles a diversas concentraciones de sal, haciendo que sean adecuadas para una mayor variedad de aplicaciones, en comparación con hidrogeles de péptido mantenidos a un nivel de concentración salina de cero. Esto también puede conferir de manera beneficiosa una cinética de gelificación rápida desde la solución de péptido a hidrogeles de péptido tras el cambio de la fuerza iónica de la sal ambiental a por encima de la fuerza iónica crítica antes de la precipitación, tal como a una fuerza iónica fisiológica, que puede producirse cuando la solución de péptido se administra en condiciones fisiológicas, por ejemplo, un área diana del sujeto.

- 15 De acuerdo con uno o más aspectos, las propiedades de diversos hidrogeles de péptido, incluyendo, pero sin limitación, (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2), (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3) pueden mejorarse manteniendo su nivel de pH a un valor elevado de aproximadamente 3,5 o menor al mismo tiempo que su concentración de sal a menos de su nivel crítico de fuerza iónica antes de que precipiten.

- 20 En algunas realizaciones, la solución que comprende (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1) tiene un pH de aproximadamente 3,5. En algunas realizaciones, la solución que comprende (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3) tiene un pH de aproximadamente 3,5. En algunas realizaciones, la solución que comprende (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2) tiene un pH de aproximadamente 3,7.

En algunas realizaciones, un tampón, tal como una solución de tampón, puede añadirse a la solución de péptido autoensamblante o al péptido autoensamblante.

- 25 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 añade una cantidad pequeña o moderada de un ácido o una base fuerte y por lo tanto, se usa para impedir los cambios en el pH de una solución. Las soluciones tampón se usan como medio para mantener el pH en un valor prácticamente constante en una gran variedad de aplicaciones químicas y es aplicable a los péptidos autoensamblantes y las soluciones y composiciones de péptido autoensamblante divulgadas en el presente documento.

- 35 Un tampón puede comprender al menos dos sales. Un tampón puede tener un pH de aproximadamente 7,4, tal como tampón PBS (suero salino tamponado con fosfato). Un tampón puede tener un pH de aproximadamente 7,2, tal como tampón DMEM. En algunas realizaciones, el tampón puede ser un tampón alcalino.

- 40 En algunas realizaciones, puede tamponarse una solución o composición del péptido autoensamblante con aproximadamente 0,15 M de al menos uno de cloruro de sodio, cloruro de potasio y cloruro de calcio. Cuando el péptido autoensamblante es (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), el tampón puede comprender entre aproximadamente 0,6 y aproximadamente 1,2 M de una sal. Cuando el péptido autoensamblante es (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2), el tampón puede comprender entre aproximadamente 0,6 y aproximadamente 1,2 M de una sal. Cuando el péptido autoensamblante es (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), el tampón puede comprender entre aproximadamente 0,02 y aproximadamente 0,04 M de una sal. Cuando el péptido autoensamblante es (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3), el tampón puede comprender entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 0,4 M de una sal.

- 45 Se divulgan métodos de tratamiento que comprenden además seleccionar una sal para proporcionar una fuerza mecánica predeterminada a la solución. El método divulgado puede comprender además seleccionar la concentración de la sal para proporcionar la fuerza mecánica predeterminada a la solución. El método divulgado puede comprender seleccionar una sal para proporcionar una fuerza iónica predeterminada a la solución. El método divulgado puede comprender además seleccionar la concentración de la sal para proporcionar la fuerza iónica predeterminada a la solución. El método divulgado puede comprender seleccionar una sal para proporcionar un pH predeterminado a la solución. El método divulgado puede comprender además seleccionar la concentración de la sal para proporcionar el pH predeterminado a la solución.

- 55 Pueden incluirse péptidos adicionales que comprenden una o más secuencias de motivos de aminoácidos fisiológicamente activos como uno de los componentes junto con el péptido autoensamblante. Otros componentes pueden incluir compuestos biológicamente activos, tales como un fármaco u otro tratamiento que pueda proporcionar algún beneficio al sujeto. Por ejemplo, puede administrarse un fármaco para el tratamiento del cáncer o un fármaco anticáncer con el péptido autoensamblante o puede administrarse por separado.

- 60 El péptido, la solución de péptido o el hidrogel puede comprender fármacos de molécula pequeña para tratar o prevenir la hemólisis, la inflamación e infecciones. Los fármacos de molécula pequeña pueden seleccionarse de entre el grupo que consiste en glucosa, sacarosa, sacarosa purificada, lactosa, maltosa, trehalosa, dextrano, yodo, cloruro de lisozima, dimetilisopropilazuleno, tretinoína, tocoferol, povidona yodada, alprostadil alfadex, un isoalcohol, salicilato de isoamilo, a,a-dimetilfeniletil alcohol, bacdanol, helional, sulfazina de plata, bucladesina sódica, alprostadil alfadex, sulfato de gentamicina, clorhidrato de tetraciclina, fusidato de sodio, hidrato cálcico de mupirocina y benzoato de isoamilo. Pueden contemplarse otros fármacos de molécula pequeña. Pueden incluirse fármacos a base de proteína

como componente para su administración y pueden incluir eritropoyetina, activador del plasminógeno de tipo tisular, hemoglobina sintética e insulina.

5 Puede incluirse un componente para proteger al péptido autoensamblante, comprendiendo la solución el péptido autoensamblante o la composición contra la formación rápida o inmediata de un hidrogel. Esto puede incluir un sistema de suministro encapsulado que puede degradarse con el paso del tiempo para permitir una liberación de tiempo controlado de la solución de péptido en el área diana para formar el hidrogel a lo largo de un periodo de tiempo predeterminado deseado. Pueden usarse polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de etilvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico.

10 Puede incluirse cualquiera de los componentes descritos en el presente documento el péptido autoensamblante, comprendiendo la solución el péptido autoensamblante, la solución o el kit pueden administrarse por separado del péptido autoensamblante, comprendiendo la solución el péptido autoensamblante, la composición o el kit. Además, puede llevarse a cabo cualquiera de los métodos y los métodos para facilitar divulgados en el presente documento por una o más partes.

15 Puede proporcionarse un péptido, solución de péptido, composición o hidrogel de la divulgación en un kit para tratar una bulla pulmonar. El kit es para tratar una bulla pulmonar en un sujeto. También se proporcionan en el kit instrucciones para administrar péptido autoensamblante en solución a un área diana de una bulla pulmonar de un sujeto. El péptido autoensamblante comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos, en donde al menos una parte del péptido es anfífila, de tal forma que el péptido puede mostrar una estructura de beta lámina en solución acuosa en presencia de condiciones aplicables en o próximas la sitio de una bulla pulmonar y el péptido autoensamblante se proporciona en una cantidad eficaz para formar un hidrogel en condiciones fisiológicas para tratar la bulla pulmonar. En algunas realizaciones, el péptido autoensamblante puede comprender, consistir en o consistir esencialmente en entre aproximadamente 12 y aproximadamente 16 aminoácidos. El péptido autoensamblante puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), (IEIK)₃ (SEQ ID NO: 2), (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3). Las concentraciones del péptido autoensamblante en solución pueden ser cualquiera de las concentraciones divulgadas en el presente documento.

20 Las instrucciones para administrar la solución pueden comprender métodos para administrar el péptido, la solución de péptido o el hidrogel proporcionado en el presente documento, por ejemplo, mediante una ruta de administración descrita en el presente documento, a una dosis, volumen o concentración o pauta de administración. Al menos una parte del péptido es anfífila y al menos una parte del péptido puede alternar entre un aminoácido hidrófobo y un aminoácido hidrófilo.

25 El kit puede proporcionar el péptido autoensamblante en forma de una solución que comprende un péptido autoensamblante y un polvo para su preparación en forma de una solución que comprende un péptido autoensamblante. También pueden proporcionarse instrucciones para preparar una composición que comprende un péptido autoensamblante que tiene una concentración eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para permitir el tratamiento de la bulla pulmonar.

30 El kit también puede comprender material informativo. El material informativo puede ser descriptivo, instructivo, comercial u otro material relacionado con los métodos descritos en el presente documento. En una realización, el material informativo puede incluir información acerca de la producción del péptido, la solución de péptido o el hidrogel divulgado en el presente documento, las propiedades físicas del péptido, la composición, la solución de péptido o el hidrogel, concentración, volumen, tamaño, dimensiones, fecha de caducidad y lote o sitio de producción.

35 El kit también puede incluir opcionalmente un dispositivo o materiales para permitir la administración del péptido o la solución de péptido al área deseada. Por ejemplo, puede incluirse en el kit una jeringa, catéter u otro dispositivo con aguja. Además o como alternativa, el kit puede incluir un alambre guía, endoscopio u otro equipo adjunto para proporcionar la administración selectiva de la solución de péptido al área diana.

40 El kit puede comprender además o como alternativa, otros componentes o ingredientes, tales como componentes que puedan ayudar a posicionar la solución de péptido, el hidrogel o el armazón. Pueden proporcionarse instrucciones en el kit para combinar una cantidad o volumen suficiente de la solución de péptido con una solución de sacarosa, que puede proporcionarse o no con el kit. Pueden proporcionarse instrucciones para diluir la solución de péptido a fin de administrar una concentración eficaz de la solución al área diana. Las instrucciones pueden describir la dilución de la solución de péptido con un diluyente o disolvente. El diluyente o disolvente puede ser agua. Pueden proporcionarse además instrucciones para determinar al menos una de la concentración eficaz de la solución y la cantidad eficaz de la solución al área diana. Esto puede basarse en diversos parámetros analizados en el presente documento y puede incluir el diámetro de la lesión o el sitio de una bulla pulmonar o herida en el área diana.

45 Pueden incluirse otros componentes o ingredientes en el kit, en la misma composición o en composiciones o recipientes diferentes a los del péptido, las soluciones de péptido o el hidrogel. Los uno o más componentes pueden incluir componentes que pueden proporcionar un eficacia mejorada del péptido autoensamblante o pueden proporcionar otra acción, tratamiento, terapia o de otro modo, interactuar con uno o más componentes del sujeto. Por

- ejemplo, pueden incluirse péptidos adicionales que comprenden una o más secuencias de motivos fisiológicamente activos como uno de los componentes junto con el péptido autoensamblante. Otros componentes pueden incluir compuestos biológicamente activos, tales como un fármaco u otro tratamiento que pueda proporcionar algún beneficio al sujeto. Por ejemplo, puede administrarse un fármaco para el tratamiento del cáncer o un fármaco anticáncer con el péptido autoensamblante o puede administrarse por separado. El péptido, la solución de péptido o el hidrogel puede comprender fármacos de molécula pequeña para tratar o prevenir la hemólisis, la inflamación e infecciones, como se divulga en el presente documento. Puede proporcionarse con el kit una solución de azúcar, tal como una solución de sacarosa. La solución de sacarosa puede ser una solución de sacarosa al 20 %.
- 5
- 10 También pueden incluirse en el kit otros componentes que se divulgan en el presente documento a lo largo de la presente divulgación. Por ejemplo, el kit puede comprender además soluciones salinas por separado o en combinación con el péptido autoensamblante. El kit puede comprender además, por ejemplo, un azúcar o solución de azúcar, por ejemplo, sacarosa, que se proporciona por separado del péptido autoensamblante o junto con el péptido autoensamblante. Pueden proporcionarse instrucciones para combinar una solución de sal y uno de la solución que comprende el péptido autoensamblante o el polvo de péptido. El kit puede comprender además una solución isotónica o un agente de contraste para su adición a la solución o polvo de péptido autoensamblante o como parte de la solución de péptido autoensamblante.
- 15
- 20 En algunas realizaciones, se almacena en un vial sellado un componente del kit, por ejemplo, con un cierre de goma o de silicona (por ejemplo, un cierre de polibutadieno o poliisopreno). En algunas realizaciones, se almacena un componente del kit en condiciones inertes (por ejemplo, en atmósfera de nitrógeno u otro gas inerte, tal como argón). En algunas realizaciones, se almacena un componente del kit en condiciones anhidras (por ejemplo, con un desecante). En algunas realizaciones, un componente del kit se almacena en un recipiente que bloquee la luz, tal como un vial de ámbar.
- 25
- 30 Como parte del kit o de manera separada del kit, pueden precargarse jeringuillas o pipetas con un péptido, solución de péptido o hidrogel como se divulga en el presente documento. Se proporcionan métodos para instruir a un usuario acerca del suministro de una solución de péptido autoensamblante a una jeringa o pipeta con o sin el uso de otros dispositivos y administrarlo al área diana mediante la jeringa o pipeta, con o sin el uso de otros dispositivos. Otros dispositivos pueden incluir, por ejemplo, un catéter con o sin un alambre guía.
- 35
- El péptido autoensamblante del kit puede ser cualquier péptido proporcionado en la presente divulgación y cualquier componente descrito en la presente divulgación, por ejemplo, varias sales, ajustadores del pH, tampones, o tampones alcalinos pueden proporcionarse en el kit, con el péptido autoensamblante en el kit o por separado del péptido autoensamblante en el kit.
- 40
- 45 Se divulgan composiciones que comprenden un péptido autoensamblante que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos en una cantidad eficaz y en una concentración eficaz para su uso en la formación de una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para tratar una bulla pulmonar. La barrera de hidrogel de la composición puede proporcionar una tolerancia a la presión de rotura de al menos 35 H₂O. El péptido autoensamblante de la composición puede seleccionarse entre el grupo que consiste en (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2) y (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3). La concentración eficaz para permitir el tratamiento de la bulla pulmonar comprende una concentración de péptido autoensamblante en un intervalo de aproximadamente un 0,1 por ciento de peso por volumen (p/v) a aproximadamente un 3 por ciento p/v. La composición divulgada puede estar sustancialmente libre de células.
- 50
- 55 La composición puede estar sustancialmente libre de fármacos. La composición puede comprender además uno o más de los componentes divulgados en el presente documento. Por ejemplo, la composición puede comprender uno cualquiera o más de los cationes, aniones, sales, tampones, agentes de contraste, soluciones isotónicas, ajustadores del pH y azúcares divulgados en el presente documento y a las diversas concentraciones divulgadas en el presente documento. Las composiciones pueden tener propiedades, tales como fuerza mecánica, pH, cinética de gelación y fuerza iónica como las que se divulgan en el presente documento. Las composiciones pueden usarse en el tratamiento de las bullas pulmonares y pueden ser tratamientos para un sujeto, tal como un mamífero o un ser humano.
- 60
- 65 También se divulga un método para facilitar el tratamiento de una bulla pulmonar en un sujeto. Los métodos divulgados pueden comprender proporcionar una solución que comprende un péptido autoensamblante 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 el tratamiento de la bulla pulmonar; y proporcionar instrucciones para administrar la solución a un área diana del sistema pulmonar mediante la introducción de la solución a través de un dispositivo de suministro colocado en la bulla pulmonar.
- Los métodos divulgados pueden comprender además proporcionar instrucciones para visualizar una región que comprende al menos una parte de la bulla pulmonar, como se divulga en el presente documento. También pueden proporcionarse instrucciones para visualizar la región que comprende al menos una parte de la bulla pulmonar, en donde las instrucciones comprenden al menos uno de identificar el área diana del sistema pulmonar; introducción del dispositivo de suministro; posicionamiento de un extremo del dispositivo de suministro en el área diana; administrar la solución; retirar el dispositivo de suministro de la bulla pulmonar; y monitorizar la bulla pulmonar tras retirar el dispositivo de suministro. Pueden proporcionarse instrucciones 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 divulgado puede comprender además proporcionar instrucciones para preparar al menos uno de la cantidad eficaz y la concentración eficaz basándose en parte en una dimensión del área diana de la bulla pulmonar, como se analiza en la divulgación.

5 El péptido autoensamblante se selecciona entre el grupo que consiste en (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2) y (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3). El método divulgado puede comprender además proporcionar instrucciones para monitorizar el área que rodea al área diana. El método divulgado puede comprender además proporcionar la solución e instrucciones de uso tras un procedimiento quirúrgico. El método divulgado que comprende proporcionar una solución que comprende un péptido autoensamblante puede comprender proporcionar instrucciones para preparar una solución de péptido, como se describe en el presente documento, que tiene una concentración eficaz para formar una barrera de hidrogel en composiciones fisiológicas para permitir la prevención de la bulla pulmonar.

15 Ejemplos

15 Ejemplo 1: Impacto del nivel de pH en las propiedades reológicas de los hidrogeles de péptido

20 Se evaluaron los efectos del medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) (pH 7,4) en las propiedades reológicas de IEIK13, KLD12 y PuraMatrix® en un reómetro (AR500, TA Instruments) con placas de 40 mm. DMEM es generalmente un medio de cultivo que contiene 6,4 g/l de NaCl, 3,4 g/l de NaHCO₃ (bicarbonato de sodio), cantidades menores de otras sales, diversos aminoácidos y 4,5 g/l de glucosa. El nivel de pH del DMEM es generalmente de 7,2±0,2 y la osmolalidad es de 335±30 mOsm/Kg de H₂O; ambas mediciones se encuentran próximas a las de fluidos fisiológicos humanos, tales como sangre.

25 Las soluciones de péptido (al 1 %) se mantuvieron a 4 °C durante al menos 48 horas antes de las pruebas. Para llevar a cabo el experimento, se pipeteó cuidadosamente 1 ml de la solución de péptido y se colocó sobre la placa del reómetro. Se añadieron cuidadosamente 2 ml de solución de DMEM alrededor de la solución de péptido.

30 La solución de péptido se trató con DMEM durante dos minutos, después se retiró el medio y se colocaron las placas con un hueco de medición de geometría de aproximadamente 450 pm. Las mediciones se llevaron a cabo a 37 °C tras 2 min de tiempo de relajación. Las pruebas de frecuencia se llevaron a cabo desde 1 rad/s hasta 100 rad/s con un estrés de oscilación de 1 Pa.

35 Se compararon las propiedades reológicas de los péptidos (al 1 %) antes y después del tratamiento con DMEM durante 2 minutos, como se muestra en la FIG. 1 A. El múltiplo de aumento de los módulos de almacenamiento tras el tratamiento con DMEM durante 2 minutos se muestra en la FIG. 1B. Cada uno de los péptidos mostró grandes aumentos de los módulos de almacenamiento tras el tratamiento con DMEM. El múltiplo de diferencia entre los módulos de almacenamiento tras el tratamiento con DMEM entre PuraMatrix®, KLD12 e IEIK13 fue relativamente leve, en comparación con aquel antes del tratamiento con DMEM. De forma análoga, las soluciones de péptido más rígidas (es decir, IEIK13) mostraron un menor múltiplo de aumento del módulo de almacenamiento que las soluciones de péptido más débiles (es decir, PuraMatrix®) tras el tratamiento con DMEM. Esta observación sugiere que surge una reacción intermolecular crítica tras el tratamiento con DMEM, que determina la rigidez final tras el tratamiento con DMEM.

45 Ejemplo 2: Optimización del nivel de pH de las soluciones de péptido

Para ajustar el nivel de pH de las soluciones de péptido a modo de ejemplo, se añadió NaOH 0,1 N a 2 ml de soluciones de péptido al 2,5 % y se midieron su pH y apariencia.

50 Los resultados se muestran en la tabla 1. De forma destacable, un aumento de pH de hasta aproximadamente 3,5 o menor no cambió el color transparente de las soluciones de PuraMatrix®, IEIK13 y KLD12, mientras que aumentó su rigidez aparente.

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

Péptidos	NaOH 0,1 N añadido en solución al 2,5 % (ul/ml)	Conc. (%)	pH de la solución de péptido	Aspecto
PuraMatrix®	0	2,5	2,2	Gel espeso transparente
	50	2,38	2,3	Gel espeso transparente
	100	2,27	2,4	Gel espeso transparente
	150	2,17	2,7	Gel espeso transparente más rígido
	200	2,08	2,9	Gel espeso transparente más rígido
	250	2,0	3,2	Gel espeso transparente más rígido
	275	1,96	3,4	Gel espeso transparente más rígido
	300	1,92	3,6	Gel ligeramente turbio y frágil
	350	1,85	4,5	Turbio, fases separadas
			7,0	Turbio, fases separadas

Péptidos	NaOH 0,1 N añadido en solución al 2,5 % (ul/ml)	Conc. (%)	pH de la solución de péptido	Aspecto
IEIK13	0	2,5	1,8	Gel espeso transparente
	50	2,38	2,1	Gel espeso transparente
	100	2,27	2,2	Gel espeso transparente
	150	2,17	2,7	Gel espeso transparente más rígido
	200	2,08	3,0	Gel espeso transparente más rígido
	250	2,0	3,3	Gel espeso transparente más rígido
	275	1,96	3,7	Gel espeso transparente más rígido
	300	1,92	4,0	Gel ligeramente turbio y frágil
	350	1,85	4,5	Gel turbio y frágil
	400	1,79	5,4	Turbio, fases separadas
KFD12	0	2,5	2,1	Gel espeso transparente
	50	2,38	2,4	Gel espeso transparente
	100	2,27	2,6	Gel espeso transparente
	150	2,17	2,9	Gel espeso transparente y más rígido
	200	2,08	3,3	Gel espeso transparente y más rígido
	225	2,04	3,6	Gel espeso transparente y más rígido
	250	2,0	4,0	Gel ligeramente turbio y frágil
	300	1,92	4,7	Gel turbio y frágil
	350	1,85	5,2	Turbio, fases separadas
				7,0

Ejemplo 3: Propiedades reológicas de las soluciones de péptido con pH ajustado

Basándose en la observación visual del efecto del nivel de pH en las propiedades de las soluciones de péptido, se evaluó el efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido tras ajustar su nivel de pH a 3,4 (PuraMatrix® y KLD12) o 3,7 (IEIK13). En caso de que los niveles de pH de las soluciones de péptido sean mayores de 3,5 (PuraMatrix® y KLD12) o 3,7 (IEIK13), la solución de péptido comenzó a separarse en fases volviéndose turbia. Las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix®, KLD12 e IEIK13 fueron mayores a pH 3,4. Los resultados se muestran en la FIG. 2 para KLD12 al 1 %, la FIG. 3 para IEIK13 al 1 % y las FIG. 4-5 para PuraMatrix® al 1 % y al 2,5 %, respectivamente. Se llevaron a cabo pruebas de barrido de estrés a 10 rad/s. Se llevaron a cabo pruebas de barrido de frecuencia a 1 Pa.

Ejemplo 4: Propiedades reológicas adicionales de las soluciones de péptido con pH ajustado

Basándose en los resultados del efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido tras ajustar su nivel de pH a 3,4 (PuraMatrix® y KFD12) o a 3,7 (IEIK13), se evaluó el efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido a varios niveles de pH. Las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix® e IEIK13 aumentan con el ajuste de pH hasta 3,4. Se evaluaron las propiedades reológicas de los péptidos a diversas concentraciones usando un reómetro (DHR-1, TA Instruments) con placas de 20 mm. Los resultados se muestran en la FIG. 6A para la solución de PuraMatrix® al 2.5 % y la FIG. 6B para la solución de IEIK13 al 1,5 %, respectivamente. Se llevaron a cabo pruebas de barrido de frecuencia desde 1 rad/s a 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó para los datos el módulo de almacenamiento a 1 rad/s.

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

Basándose en los resultados del efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido tras ajustar su nivel de pH, se evaluó el efecto en las propiedades reológicas de los hidrogeles de péptido a diversos pH tras el tratamiento con DMEM y se comparó con el efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido a diversos pH antes del tratamiento con DMEM. Las propiedades reológicas de los hidrogeles de PuraMatrix® e IEIK13 después del tratamiento con DMEM aumentan con el ajuste de pH hasta 3,4. Los resultados se muestran en las FIG. 7A-7B para PuraMatrix® y en las FIG. 8A-8B para IEIK (SEQ ID NO: 5), respectivamente. Se llevaron a cabo pruebas de barrido de frecuencia desde 1 rad/s a 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó para los datos el módulo de almacenamiento a 1 rad/s.

Ejemplo 6: Efecto en la cinética de gelificación de los hidrogeles de péptido con pH ajustado

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

PuraMatrix® con ajuste de pH mostró un aumento inmediato del módulo de almacenamiento debido a su rápida gelificación. Un rápido tiempo de respuesta de PuraMatrix® y otros péptidos dentro de fluidos corporales generalmente puede mejorar su función y tiempo de respuesta para diversas aplicaciones clínicas.

5 Se llevaron a cabo pruebas de tiempo de barrido a 1 rad/s y a 1 Pa con placas de 20 mm y una distancia de hueco de 500 µm. Durante la prueba de barrido de la solución de PuraMatrix® al 2,5 %, se añadió DMEM dentro de la cámara que rodeaba las placas de medición para empapar la solución de PuraMatrix® en el punto de tiempo 0. Los resultados se muestran en la FIG. 9A. para la solución de PuraMatrix® al 2,5 %.

10 IEIK (SEQ ID NO: 5) sin ajuste de pH mostró un aumento inmediato del módulo de almacenamiento, mientras que PuraMatrix® sin ajuste de pH (pH 2,2) no mostró un aumento del módulo de almacenamiento durante los 13 segundos iniciales. IEIK13 con ajuste de pH también mostró un aumento inmediato del módulo de almacenamiento debido a la rápida gelificación. Un rápido tiempo de respuesta de IEIK13 dentro de fluidos corporales generalmente puede mejorar su función y tiempo de respuesta para diversas aplicaciones clínicas.

15 Se llevaron a cabo pruebas de tiempo de barrido a 1 rad/s y a 1 Pa con placas de 20 mm y una distancia de hueco de 500 µm. Durante la prueba de barrido de la solución de IEIK13 al 1,5 %, se añadió DMEM dentro de la cámara que rodeaba las placas de medición para empapar la solución de IEIK13 al 1,5 % en el punto de tiempo 0 y se registraron datos de manera continua. Los resultados se muestran en la FIG. 9B. para la solución de IEIK13 al 1,5 %.

20 **Ejemplo 7: Efecto del nivel de fuerza iónica de sal en las soluciones e hidrogeles de péptido**

Se evaluó el efecto del nivel de fuerza iónica de sal en las propiedades de las soluciones de péptido para identificar niveles de fuerza iónica de sal optimizados para los péptidos, como se describen en el presente documento. El aumento del nivel de fuerza iónica de sal de PuraMatrix® y otros péptidos puede mejorar generalmente su función y fuerza mecánica para diversas aplicaciones clínicas. Para ajustar la fuerza iónica de sal de las soluciones de péptido a modo de ejemplo, se añadieron diversas soluciones tampón que incluían NaCl, KCl, MgCl₂, CaCl₂ y DPBS (10X) a 2 ml de soluciones de péptido al 1,5 %.

30 Los resultados se muestran para PuraMatrix® en la tabla 2a. De forma destacable, un aumento de la fuerza iónica de la sal de hasta aproximadamente 0,85-1,15 M (dependiendo de las diferentes sales) no cambió notablemente el color transparente de las soluciones de PuraMatrix®, mientras que aumentó su rigidez aparente. Los resultados se muestran para KLD12 en la tabla 2b. De forma destacable, un aumento de la fuerza iónica de la sal de hasta aproximadamente 0,25-0,35 M (dependiendo de las diferentes sales) no cambió notablemente el color transparente de las soluciones de KLD12, mientras que aumentó su rigidez aparente. Los resultados se muestran para IEIK13 en la tabla 2c. De forma destacable, un aumento de la fuerza iónica de la sal de hasta aproximadamente 0,025-0,035 M (dependiendo de las diferentes sales) no cambió el color transparente de las soluciones de IEIK13, mientras que aumentó su rigidez aparente.

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

Solución salina	Volumen de solución salina añadido en solución de PuraMatrix® al 1,5 % (ul/ml)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Aspecto
NaCl (3 M-en forma de)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	52,6	1,43	0,15	0,15	Gel espeso transparente más rígido
Solución madre)	111,1	1,35	0,3	0,3	Gel espeso transparente más rígido
	176,5	1,27	0,45	0,45	Gel espeso transparente más rígido
	250	1,2	0,6	0,6	Gel espeso transparente más rígido
	333,3	1,13	0,75	0,75	Gel espeso transparente más rígido
	363,6	1,10	0,8	0,8	Gel espeso transparente más rígido
	395,3	1,08	0,85	0,85	Gel espeso transparente más rígido
	428,6	1,05	0,9	0,9	Gel ligeramente turbio y frágil
	463,4	1,03	0,95	0,95	Turbio, fases separadas
	500	1,0	1,0	1,0	Turbio, fases separadas

ES 2 712 608 T3

Solución salina	Volumen de solución salina añadido en solución de PuraMatrix® al 1,5 % (ul/ml)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Aspecto
KCl (3 M-en forma de solución madre)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	52,6	1,43	0,15	0,15	Gel espeso transparente más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,3	Gel espeso transparente más rígido
	176,5	1,27	0,45	0,45	Gel espeso transparente más rígido
	250	1,2	0,6	0,6	Gel espeso transparente más rígido
	333,3	1,13	0,75	0,75	Gel espeso transparente más rígido
	428,6	1,05	0,9	0,9	Gel espeso transparente más rígido
	463,4	1,03	0,95	0,95	Gel espeso transparente más rígido
	500	1,0	1,0	1,0	Gel espeso transparente más rígido
	538,5	0,98	1,05	1,05	Gel espeso ligeramente turbio más rígido
	578,9	0,95	1,1	1,1	Gel ligeramente turbio y frágil
	621,6	0,93	1,15	1,15	Turbio, fases separadas
MgCl ₂ (3 M-en forma de solución madre)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	16,9	1,48	0,05	0,15	Gel espeso transparente más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,3	Gel espeso transparente más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,45	Gel espeso transparente más rígido
	71,4	1,4	0,2	0,6	Gel espeso transparente más rígido
	90,9	1,38	0,25	0,75	Gel espeso transparente más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,9	Gel espeso transparente más rígido
	132,1	1,32	0,35	1,05	Gel espeso transparente más rígido
	146,5	1,31	0,383	1,15	Gel espeso transparente más rígido
	153,8	1,3	0,4	1,2	Gel espeso ligeramente turbio más rígido
	161,3	1,29	0,417	1,25	Gel ligeramente turbio y frágil
	168,8	1,28	0,433	1,3	Turbio, fases separadas
CaCl ₂ (3 M-en forma de solución madre)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	16,9	1,48	0,05	0,15	Gel espeso transparente más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,3	Gel espeso transparente más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,45	Gel espeso transparente más rígido
	71,4	1,4	0,2	0,6	Gel espeso transparente más rígido
	90,9	1,38	0,25	0,75	Gel espeso transparente más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,9	Gel espeso transparente más rígido

Solución salina	Volumen de solución salina añadido en solución de PuraMatrix® al 1,5 % (ul/ml)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Aspecto
	132,1	1,32	0,35	1,05	Gel espeso transparente más rígido
	146,5	1,31	0,383	1,15	Gel espeso transparente más rígido
	153,8	1,3	0,4	1,2	Gel espeso ligeramente turbio más rígido
	161,3	1,29	0,417	1,25	Gel ligeramente turbio y frágil
	168,8	1,28	0,433	1,3	Turbio, fases separadas
DPBS (pH 3,2) (10X-1,5 M - en forma de una solución madre)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	111,1	1,35	0,15	0,15	Gel espeso transparente más rígido
	250	1,2	0,3	0,3	Gel espeso transparente más rígido
	428,6	1,05	0,45	0,45	Gel espeso transparente más rígido
	666,7	0,9	0,6	0,6	Gel espeso transparente más rígido
	1000	0,75	0,75	0,75	Gel espeso transparente más rígido
	1500	0,6	0,9	0,9	Gel espeso transparente más rígido
	1725	0,55	0,95	0,95	Gel ligeramente turbio y frágil
	2000	0,5	1,0	1,0	Turbio, fases separadas

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

Solución salina	Volumen de solución salina añadido en solución de KLD12 al 1,5 % (ul/ml)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Aspecto
NaCl (3M - en forma de una solución madre)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	16,9	1,48	0,05	0,5	Gel espeso transparente más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,1	Gel espeso transparente más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,15	Gel espeso transparente más rígido
	71,4	1,4	0,2	0,2	Gel espeso transparente más rígido
	90,9	1,38	0,25	0,25	Gel espeso transparente más rígido
	111,1	1,35	0,3	0,3	Gel espeso ligeramente turbio más rígido
	132,1	1,32	0,35	0,35	Gel ligeramente turbio y frágil
	153,8	1,3	0,4	0,4	Turbio, fases separadas
KCl (3M - en forma de una solución madre)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	16,9	1,48	0,05	0,5	Gel espeso transparente más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,1	Gel espeso transparente más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,15	Gel espeso transparente más rígido
	71,4	1,4	0,2	0,2	Gel espeso transparente más rígido
	90,9	1,38	0,25	0,25	Gel espeso transparente más rígido

Solución salina	Volumen de solución salina añadido en solución de KLD12 al 1,5 % (ul/ml)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Aspecto
	111,1	1,35	0,3	0,3	Gel espeso ligeramente turbio más rígido
	132,1	1,32	0,35	0,35	Gel ligeramente turbio y frágil
	153,8	1,3	0,4	0,4	Turbio, fases separadas
MgCl ₂ (3M - en forma de una solución madre)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	16,9	1,48	0,05	0,15	Gel espeso transparente más rígido
	22,7	1,47	0,067	0,2	Gel espeso transparente más rígido
	28,6	1,46	0,083	0,25	Gel espeso transparente más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,3	Gel espeso transparente más rígido
	40,2	1,44	0,117	0,35	Gel espeso transparente más rígido
	46,5	1,43	0,133	0,4	Gel espeso ligeramente turbio más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,45	Gel ligeramente turbio y frágil
	58,8	1,42	0,167	0,5	Turbio, fases separadas
CaCl ₂ (3M - en forma de una solución madre)	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
	16,9	1,48	0,05	0,15	Gel espeso transparente más rígido
	22,7	1,47	0,067	0,2	Gel espeso transparente más rígido
	28,6	1,46	0,083	0,25	Gel espeso transparente más rígido
	34,5	1,45	0,1	0,3	Gel espeso transparente más rígido
	40,2	1,44	0,117	0,35	Gel espeso transparente más rígido
	46,5	1,43	0,133	0,4	Gel espeso ligeramente turbio más rígido
	52,6	1,43	0,15	0,45	Gel ligeramente turbio y frágil
	58,8	1,42	0,167	0,5	Turbio, fases separadas

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

Solución salina	Volumen de solución salina añadido en solución de IEIK13 al 1,5 % (ul/ml)	Conc. de PuraMatrix® (%)	Conc. de sal (M)	Fuerza iónica (M)	Aspecto
	0	1,5	0	0	Gel espeso transparente
NaCl (0,2 M - en forma de una solución madre)	25,6	1,46	0,005	0,005	Gel espeso transparente más rígido
	52,6	1,43	0,01	0,01	Gel espeso transparente más rígido
	81,1	1,39	0,015	0,015	Gel espeso transparente más rígido
	111,1	1,35	0,02	0,02	Gel espeso transparente más rígido
	142,9	1,31	0,025	0,025	Gel espeso transparente más rígido
	176,5	1,27	0,03	0,03	Gel espeso ligeramente turbio más rígido
	212,1	1,24	0,035	0,035	Gel ligeramente turbio y frágil
	250	1,2	0,04	0,04	Turbio, fases separadas

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

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

5 Ejemplo 8: Efecto del nivel de fuerza iónica de sal en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido

Basándose en la observación visual del efecto de la fuerza iónica de sal en las propiedades de las soluciones de péptido, se evaluó el efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido tras ajustar su nivel de fuerza iónica con NaCl a 0,7 M (PuraMatrix®), 0,2 M (KLD12) o 0,02 M (IEIK13), que se encuentra ligeramente por debajo

de la fuerza iónica crítica a la que cada péptido se vuelve turbio. En caso de que los niveles de fuerza iónica con NaCl de las soluciones de péptido sean mayores de 0,9 M (PuraMatrix®), 0,3 M (KLD12) o 0,03 (IEIK13), la solución de péptido comienza a separarse en fases, volviéndose turbia y débil. Las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix®, KLD12 e IEIK13 eran mayores tras 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 FIG. 10 para KLD12 al 1 %, la FIG. 11 para IEIK13 al 1 % y la FIG. 12 para PuraMatrix® al 1 %, respectivamente. Las pruebas de barrido de frecuencia se llevaron a cabo desde 1 rad/s hasta 10 rad/s a 1 Pa.

Ejemplo 9: Efecto adicional del nivel de fuerza iónica de sal en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido

Basándose en los resultados del efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido tras ajustar su nivel de fuerza iónica con NaCl a 0,7 M (PuraMatrix®), 0,2 M (KFD12) o 0,02 M (IEIK13), se evaluó el nivel en las propiedades reológicas de la solución de péptido a diversas fuerzas iónicas de sal. Las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix® al 1 % aumentan con el ajuste de la fuerza iónica hasta 0,7 M, mientras que se reducen por encima de 0,7 M. Las propiedades reológicas de las soluciones de IEIK13 al 1 % aumentan con el ajuste de la fuerza iónica hasta 0,03 M, mientras que se reducen por encima de 0,03 M. Estos resultados concuerdan bien con la inspección visual de las soluciones de péptido a diversas fuerzas iónicas de sal. Los resultados se muestran en la FIG. 13 para la solución de PuraMatrix® al 1 % y en la FIG. 14 para la solución de IEIK13 al 1 %. Se llevaron a cabo pruebas de barrido de frecuencia desde 1 rad/s a 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó para los datos el módulo de almacenamiento a 1 rad/s.

Ejemplo 10: Efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido tras el tratamiento con DMEM

Basándose en los resultados del efecto en las propiedades reológicas de las soluciones de péptido tras ajustar sus niveles de fuerza iónica, se evaluó el efecto en las propiedades reológicas de los hidrogeles de péptido tras el tratamiento con DMEM durante 10 min. Las propiedades reológicas de los hidrogeles de PuraMatrix® tras el tratamiento con DMEM aumentaron con el ajuste de la fuerza iónica hasta 0,7 M, mientras que se reduce por encima de 0,7 M. Las propiedades reológicas de los hidrogeles de IEIK13 tras el tratamiento con DMEM no cambiaron significativamente con el ajuste de la fuerza iónica hasta 0,025 M, mientras que se reducen por encima de 0,03 M. Por encima de 0,9 M de fuerza iónica de NaCl a la que la solución de PuraMatrix® se vuelve turbia, las propiedades reológicas de PuraMatrix® no cambiaron con el tratamiento con DMEM, demostrando que no hay gelificación. Los resultados se muestran en la FIG. 15 para los hidrogeles de PuraMatrix® al 1 % y en la FIG. 16 para los hidrogeles de IEIK13 al 1 %, en ambos casos tras el tratamiento con DMEM durante 10 min. Se llevaron a cabo pruebas de barrido de frecuencia desde 1 rad/s a 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó para los datos el módulo de almacenamiento a 1 rad/s.

Ejemplo 11: Efecto de diversas sales

Basándose en los resultados del efecto en las propiedades reológicas de las soluciones e hidrogeles de péptido tras ajustar sus niveles de fuerza iónica con NaCl, también se evaluaron los efectos de diversas sales (KCl, MgCl₂ y CaCl₂). Las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix® aumentan con el ajuste de la fuerza iónica a 0,15 M de todas las sales. Los aumentos de las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix® con diversas sales no fueron predominantemente diferentes. Sin embargo, los aumentos en las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix® pueden variar dependiendo 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 la solubilidad, B es la solubilidad idealizada, K es la constante de precipitación salina e I es la fuerza iónica. Con un mayor valor de la constante K y la fuerza iónica de las sales, puede reducirse la solubilidad del péptido, dando como resultado un fuerte autoensamblaje del péptido con un efecto hidrófobo aumentado y mayores propiedades reológicas de la solución de péptido. La constante K de NaCl puede ser mayor que las otras sales. Por tanto, las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix® con NaCl fueron ligeramente mayores que aquellas con KCl y CaCl₂. También se evaluaron las propiedades reológicas de los hidrogeles de PuraMatrix® tras el tratamiento con DMEM durante 10 min con ajuste de la fuerza iónica con diversas sales y los resultados fueron comparables a los aumentos de las propiedades reológicas de las soluciones de PuraMatrix® con diversas sales ((NaCl, KCl, MgCl₂ y CaCl₂) a una fuerza iónica de 0,15 M). Los resultados se muestran en la FIG. 17 para solución de PuraMatrix® al 1 % antes del tratamiento con DMEM y en la FIG. 18 para los hidrogeles de PuraMatrix® al 1 % tras el tratamiento con DMEM durante 10 min. Se llevaron a cabo pruebas de barrido de frecuencia desde 1 rad/s a 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó para los datos el módulo de almacenamiento a 1 rad/s. * indica que el dato es significativamente mayor que los datos de control de PuraMatrix® (P < 0,05). # indica que el dato es significativamente menor que los datos de PuraMatrix® al 1 %, NaCl 0.15M (fuerza iónica) (P < 0,05).

Ejemplo 12: Efecto de diversas sales en la cinética de gelificación

Se evaluó el efecto del nivel de fuerza iónica de sal de la solución que rodea el péptido para identificar la posibilidad de gelificación del péptido cuando se coloca la solución de péptido en el ambiente donde el nivel de fuerza iónica de sal es elevado. Por ejemplo, los hidrogeles pueden colocarse en el fluido biológico isotónico, que es comparable al tampón salino (NaCl 0,15 M). Como se ha demostrado anteriormente, los péptidos autoensamblantes que incluyen, pero sin limitación, PuraMatrix®, KLD12 e IEIK13 forman hidrogeles cuando se tratan a pH neutro. Sin el efecto del

pH, se evaluó el efecto del tratamiento salino en la gelificación de las soluciones de péptido. Cuando se trataron las soluciones de péptido con tampón salino, su pH no cambió. Tras el tratamiento con tampón salino, solo IEIK13 mostró una rápida gelificación, mientras que PuraMatrix® y KLD13 mostraron una gelificación nula o despreciable. Esto se debe a que IEIK13 es mucho más sensible a los niveles de fuerza iónica de sal. La rápida gelificación de IEIK13 al nivel de fuerza iónica de sal similar al nivel de sal isotónico de los fluidos corporales puede mejorar de manera general su función y velocidad de gelificación para diversas aplicaciones clínicas. Los resultados se muestran en la FIG. 19 para las soluciones de IEIK13, KLD12 y PuraMatrix®. Se llevaron a cabo pruebas de tiempo de barrido a 1 rad/s y a 1 Pa con placas de 20 mm y una distancia de hueco de 500 µm. Durante la prueba de barrido de las soluciones de IEIK13 al 1,5 %, KLD12 al 1,5 % y PuraMatrix® al 2,5 %, se añadió DMEM dentro de la cámara que rodeaba las placas de medición para empapar la solución de PuraMatrix® en el punto de tiempo 0.

Ejemplo 13: Efecto de la fuerza iónica de sal y el ajuste del pH en las propiedades reológicas

De acuerdo con una o más realizaciones, IEIK13, KLD12 y PuraMatrix® pueden disolverse tanto en tampón salino, tal como NaCl y a un elevado nivel de pH ajustado con tampón salino alcalino, tal como NaOH para mantener su fuerza iónica de sal por debajo de sus puntos críticos de sal, así como su nivel de pH en aproximadamente 2,5-4,0, de tal forma que puedan tener propiedades más rígidas. Con respecto a PuraMatrix®, KLD13 e IEIK13, las soluciones de péptido se mantienen transparentes con NaCl al 0,9 % (fuerza iónica: 0,15 M) a pH 3,4 ajustado con NaOH. Las propiedades reológicas de PuraMatrix® con NaCl al 0,9 % (fuerza iónica: 0,15 M) a pH 3,4 fueron más rígidas que las de control de PuraMatrix y de PuraMatrix solo con NaCl al 0,9 %. El efecto de la fuerza iónica de sal y el ajuste del pH en las propiedades reológicas de la solución de PuraMatrix® al 2,5 % se muestran en la FIG. 20. Se llevaron a cabo pruebas de barrido de frecuencia desde 1 rad/s a 10 rad/s a 1 Pa y se seleccionó para los datos el módulo de almacenamiento a 1 rad/s.

Ejemplo 14: Influencia de cationes

En una comparación reológica de RADA16 al 2,5 % y RADA16 al 2,5 % + NaCl, KCl y CaCl₂, se prepararon soluciones de RADA16 al 0,5 % mezcladas con NaCl, KCl y CaCl₂ 0,005, 0,05, 0,125, 0,25, 0,5 y 1 M. El anión, cloruro (Cl⁻), se mantuvo igual para observar el efecto de los cationes, sodio (Na⁺), potasio (K⁺) y calcio (Ca²⁺). La FIG. 21 proporciona una comprensión básica de cómo la variación de los cationes de una solución salina afecta a las propiedades viscoelásticas y la rigidez de los péptidos autoensamblantes. Ca proporcionó la mayor mejora de la rigidez en comparación con Na o K a las mismas concentraciones molares. Esto puede deberse a que el Ca tiene una fuerza iónica cuatro veces mayor que el Na y el K a las mismas concentraciones molares. Por lo tanto, la influencia de las sales en la solución de péptido está más relacionada con su fuerza iónica que con su concentración molar, como se muestra en las FIG. 17-18 y las tablas 2a-c. En algunas realizaciones, hay una correlación entre las propiedades de las soluciones de péptido con sales basándose en la concentración de las sales.

Ejemplo 15: Resistencia mecánica

Se evaluaron las mediciones reológicas de la rigidez de RADA16 al 2,5 % y RADA16 al 2,5 % + CaCl₂ 0,25 M. La FIG. 22 compara la rigidez de una solución altamente concentrada de RADA16 con otra solución altamente concentrada de RADA16 con adición de CaCl₂ 0,125 M y proporciona una comprensión básica de las propiedades viscoelásticas del péptido y la mezcla de péptido. No hubo un aumento perceptible en la rigidez entre las dos soluciones cuando se añadió una solución de catión. Se demostró que Ca proporciona una mejora mecánica de RADA16 incluso a altas concentraciones usando el intervalo de concentración óptimo.

Ejemplo 16: Reversibilidad

Se evaluaron las mediciones reológicas de reversibilidad de la solución de RADA16 al 0,5 % + CaCl₂ 0,125, 0,25 y 0,5 M. Se prepararon soluciones de RADA16 al 0,5 % mezcladas con CaCl₂ 0,125, 0,25 y 0,5 M. Se alteró significativamente la estructura de la solución de péptido autoensamblante mediante la aplicación de estrés mecánico mediante agitación vorticial y ultrasonidos. Las mezclas se dejaron a temperatura ambiente durante 48 horas para permitir que se produjese el autoensamblaje. Las FIG. 23A-23B proporcionan las propiedades viscoelásticas básicas de las mezclas de péptido y muestran que puede controlarse la reversibilidad de la solución de péptidos con sales y mantenerse incluso tras la perturbación de la estructura, observándose específicamente por la diferencia significativa entre el control de RADA16 al 2,5 % + CaCl₂ 0,5 M y las muestras perturbadas. Las mezclas dentro del intervalo de concentración óptimo permanecieron reversibles. El * indica que la muestra de control y la muestra perturbada, inmediatamente a continuación, son significativamente diferentes. La FIG. 23a presenta los datos reológicos en bruto de la solución de péptido con sales y la solución de péptido perturbada, mientras que la FIG. 23b proporciona una comparación de la rigidez de la solución de péptido de control y la solución de péptido perturbada.

Ejemplo 17: Cinética de gelificación

Se evaluaron las mediciones reológicas de la cinética de gelificación de RADA16 al 0,5 % + NaCl, KCl y CaCl₂. Se preparó una solución de RADA16 al 0,5 % y se observaron las cinéticas de gelificación mediante tratamiento con diversos cationes (por ejemplo, Na, Cl, K) y aniones (por ejemplo, Cl, CO₃, PO₄, SO₄). Se determinó cuánto tardarían

en gelificar las mezclas de gel y cómo controlar el tiempo de gelificación variando el tipo y la concentración de catión/anión. El cloro mostró la más rápida gelificación y el sulfato mostró la más lenta gelificación. Los experimentos cualitativos *in vivo* e *in vitro* y las observaciones resultantes respaldaron estas conclusiones.

5 Ejemplo 18: Variación de cationes

Se diseñó un hidrogel de péptido mezclado con una solución de catión/anión que afectaba a las propiedades mecánicas y otro con una concentración muy baja de un agente de contraste que no afectó a las propiedades mecánicas. Los dos geles fueron: (1) una combinación del péptido autoensamblante con una solución de catión/anión bien conocida, solución de Ringer (pH 5,3) usada en el campo médico y (2) una combinación del péptido autoensamblante con un agente de contraste bien conocido, carmín de índigo, que es una solución colorante que contiene iones sulfato (anión) y sodio (catión). El carmín de índigo contiene indigoinsulfonato de sodio ($C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$), agua y citrato de sodio ($C_6H_8O_7$) para el ajuste del pH. Usando polvo de carmín de índigo, se preparó una solución al 1 % para su uso en experimentación. Esto corresponde a 10 mg/1 ml de agua. La concentración de la solución de carmín de índigo usada en experimentación fue del 0,00585 % en agua.

Se usó polvo de carmín de índigo para preparar una solución al 1 % en agua desionizada (DI). Usando IEIK13 en polvo, se preparó una solución al 2 por ciento usando agua DI. Se pesó la cantidad de IEIK y se añadió cuidadosamente la cantidad adecuada de agua DI por el lateral del recipiente. La mezcla se llevó a cabo agitando vorticialmente durante aproximadamente 30 segundos y después con ultrasonidos durante 30 segundos. Después, se centrifugó la solución durante de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 minutos a 3000 rpm. La solución puede someterse a agitación vorticial adicional y centrifugando hasta que la solución es transparente y sin burbujas.

Para obtener una concentración final de carmín de 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 % hasta IEIK al 1,5 %. Después, se agita vorticialmente la solución durante aproximadamente 30 segundos y se centrifuga durante de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 minutos a 3000 rpm. La solución puede someterse a agitación vorticial adicional y centrifugando hasta que la solución es transparente y sin burbujas.

Se dejó reposar la solución durante la noche a temperatura ambiente antes de su uso. Puede dejarse retirado el tapón del recipiente durante la preparación para permitir una retirada más eficaz de las burbujas.

Las comparaciones reológicas de estas mezclas y la visualización de los geles pueden observarse en las FIG. 24a-24c. Se obtuvo un gel más rígido con una cinética de gelificación más rápida que mantiene la reversibilidad. También se obtuvo otro que conserva la rigidez, la reversibilidad y la cinética de gelificación, pero que permite la tinción de tejidos para histología. La concentración del agente de contraste o la mezcla de catión/anión y el hidrogel de péptido que se mezclaron se basaron en la comprensión del uso de cationes y aniones como se describe en el presente documento. Los datos relativos a estos hidrogeles de péptidos diseñados de RADA16 + solución de Ringer e IEIK13 + carmín de índigo muestran que estos hidrogeles autoensamblantes controlados pueden ajustarse para satisfacer las necesidades para un gel isotónico inyectable y un gel no mejorado mecánicamente para su visualización. La FIG. 24A representa datos reológicos en bruto de IEIK (SEQ ID NO: 5) y IEIK (SEQ ID NO: 5) mezclado con carmín de índigo. La FIG. 24B muestra una comparación de la rigidez de IEIK (SEQ ID NO: 5) e IEIK (SEQ ID NO: 5) mezclado con carmín de índigo. La FIG. 24C presenta una comparación de la rigidez de RADA16 y RADA16 mezclado con solución de Ringer.

55 Ejemplo 19: Tratamiento de bullas pulmonares

Se ha demostrado que los sistemas de hidrogel de péptido autoensamblante inyectables actúan como sellador para las bullas pulmonares. Se logró una presión de rotura (es decir, la presión a la que el aire atraviesa la superficie del sellador) de 35 cm H₂O o más. A diferencia de los métodos convencionales para abordar las bullas pulmonares que se centran en la extracción, el protocolo de tratamiento usado en el presente documento no implica resección y/o grapado. Las bullas tratadas se encontraban principalmente en el intervalo de aproximadamente 0,2 ml a aproximadamente 1 ml de volumen. Se aplicaron soluciones de péptido autoensamblante hasta que se rellenó completamente la bula para intentar impedir la filtración de aire.

55 Materiales y métodos

Configuración experimental

60 Se obtuvieron pulmones de cerdo de cerdos recién sacrificados. Se insertó un tubo endotraqueal a través de la tráquea y el bronquio principal hasta el interior del pulmón de interés. Se administró presión a los pulmones con el uso de una bomba de intubación endotraqueal manual. Se aseguró la tráquea para impedir la filtración de aire alrededor del tubo. Se pinchó el otro bronquio principal del otro pulmón para dirigir todo el flujo de aire al pulmón de interés. Se usó un manómetro para medir la presión de aire dirigida al interior de los pulmones para provocar la expansión.

Preparación de hidrogeles de péptido autoensamblante

Los hidrogeles de péptido autoensamblante estaban formados por Ac-RADARADARADARADA-NH₂ (SEQ ID NO: 1) (es decir, RADA 16) y Ac-IEIKIEIKIEIKI-NH₂ (SEQ ID NO: 2) (es decir, IEIK13), con RADA16 usado solo o mezclado con cloruro de calcio. En caso de estar solo, los péptidos se reconstituyeron en agua desionizada. Si, sin embargo, los péptidos se reconstituyeron con una solución salina, los péptidos se reconstituyeron en primer lugar en agua desionizada y posteriormente, una solución 2 X de cloruro de calcio a una concentración previamente decidida que se mezcló a una relación de 1:1.

Aplicación de hidrogeles de péptido autoensamblante

Las bullas pulmonares, representadas en la FIG. 25, son áreas débiles de origen natural en la pleura. Antes de la aplicación de los hidrogeles, se identificaron las bullas y se colapsaron usando una aguja de calibre 16 G. Una vez identificado el defecto, se aplicaron los hidrogeles al área del defecto mediante dos métodos diferentes: (1) el hidrogel se aplicó por vía tópica inyectando mediante una jeringuilla sobre el área del defecto y (2) el hidrogel se inyectó en el defecto mediante una aguja de calibre 18 con un exceso de fluido para cubrir el área de defecto tópicamente. Tras un periodo de relajación de 2 minutos, se aplicó presión a través de la bomba de intubación endotraqueal hasta que se identificó una presión de rotura. El método 1 de aplicación de hidrogel a una bulla pulmonar se representa en la FIG. 26, que muestra el flujo del procedimiento experimental para identificar y evaluar una bulla pulmonar con hidrogeles de péptido autoensamblante. Para cualquier prueba adicional, se cortó el flujo de aire al defecto previamente evaluado usando una pinza quirúrgica.

Resultados

El método de inyección mostró resultados superiores en comparación con la estrategia puramente tópica. La FIG. 27 muestra varias formulaciones usadas para determinar la eficacia de estos hidrogeles para prevenir la filtración de aire. La gráfica presenta las presiones de rotura resultantes de diversas concentraciones de hidrogel y combinaciones con CaCl₂ actuando como sellante para las bullas pulmonares. La línea indica la presión de rotura sin un sellador aplicado. RADA16 al 2,5 % con CaCl₂ 0,25 M, IEIK13 al 2,5 % e IEIK13 al 1,5 % sobrepasaron las presiones de rotura de 35 cm H₂O usando el método de inyección para sellar una bulla pulmonar. RADA16 al 2,5 % mezclado con CaCl₂ 0,250 M mostró la mejor presión de rotura para los defectos de bullas pulmonares.

La FIG. 28 proporciona una representación histológica de una bulla colapsada sellada y rellena con el hidrogel de péptido RADA16 al 2,5 % con CaCl₂ 0,25 M e ilustra que los hidrogeles rellenan con éxito las bullas colapsadas para actuar como sellador. Tras la aplicación de RADA16 al 2,5 % con CaCl₂ en la cavidad de las bullas, se segmentó el tejido, se fijó y se sometió a análisis histológico para determinar cómo se difunde el hidrogel dentro de la cavidad de las bullas. RADA16 al 2,5 % con CaCl₂ relleno completamente la cavidad de las bullas pulmonares.

Conclusión

El uso de sistemas de hidrogel de péptido autoensamblante inyectables, específicamente, RADA16 al 2,5 % con CaCl₂ 0,250 M, IEIK13 al 2,5 % e IEIK13 al 1,5 %, como selladores es viable para las bullas pulmonares.

Ejemplo 20: Tratamiento alternativo para bullas pulmonares

Se probó un método para el tratamiento de bullas pulmonares usando sistemas de hidrogel distinto al método analizado en el ejemplo 19. En este caso, las bullas pulmonares se rellenan generalmente antes de colapsarlas.

La cavidad de la bulla se relleno con RADA16 al 1,0 % a través de los bronquiolos conectores usando un tubo endotraqueal insertado a través del bronquio primario y al interior del pulmón. Después, se colapsó la bulla para retirar el bolsillo de aire atrapado. RADA16 al 1,0 % mezclado con carmín de índigo al 0,00585 % se usó en este caso para la visualización de la difusión del hidrogel dentro de la cavidad de las bullas. La FIG. 29 muestra el flujo procedimental y que el hidrogel pudo inyectarse al interior y relleno completamente la cavidad de las bullas a través de los bronquiolos conectores: A) Identificación de la bulla de interés, B) Inyección de RADA16 al 1,0 % con carmín de índigo al 0,00585 % dentro de la cavidad de la bulla, C) Colapso de la bulla para liberar el aire atrapado, D) Finalización del procedimiento que muestra una bulla rellena con el hidrogel de péptido.

Conclusión

La inyección de un hidrogel dentro de las bullas a través de los bronquiolos puede demostrar ser un método alternativo factible para tratar las bullas pulmonares.

REIVINDICACIONES

1. Una solución para su uso en un método para tratar las bullas pulmonares, comprendiendo la solución un péptido autoensamblante que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y 32 aminoácidos,

5 en donde al menos una parte del péptido es anfifila, de tal forma que el péptido puede mostrar una estructura de beta lámina en solución acuosa en presencia de condiciones fisiológicas en o próximas el sitio de una bulla pulmonar,

10 siendo la solución para su uso en una cantidad eficaz y a una concentración eficaz para un área diana para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas del área diana para tratar una bulla pulmonar;

15 en donde la solución se introduce mediante un dispositivo de suministro después de la etapa de introducir un dispositivo de suministro en un área diana de la bulla pulmonar del sujeto y de posicionar un extremo del dispositivo de suministro en el área diana en la que se desea el tratamiento de la bulla pulmonar;

y en donde el dispositivo de suministro se retira del área diana.

2. La solución para el uso de la reivindicación 1 para el método de la reivindicación 1, en donde se aplica uno cualquiera o más de lo siguiente,

20 a) la administración de la solución comprende inyectar la solución en el área diana, con exceso de fluido de la solución;

b) comprende además colapsar la bulla pulmonar antes de administrar la solución;

25 c) se rellena una cavidad de la bulla pulmonar con la solución a través de los bronquiolos conectores, comprendiendo además opcionalmente insertar un tubo endotraqueal a través de un bronquio primario de un pulmón del sujeto; y

d) la administración de la solución comprende administrar la solución en una sola dosis,

comprendiendo además opcionalmente la administración de la solución hasta que se rellena un volumen del área diana.

30 3. La solución para el uso de la reivindicación 1, siendo la solución para su uso en una cantidad eficaz y a una concentración eficaz para un área diana para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas del área diana y en donde se aplica uno cualquiera o más de lo siguiente,

35 a) la barrera de hidrogel proporciona una tolerancia a la presión de rotura de al menos 35 cm H₂O;

b) la barrera de hidrogel penetra hasta el lumen de los bronquios; y

c) la barrera de hidrogel se forma en menos de aproximadamente cinco minutos.

40 4. La solución para el uso de la reivindicación 1 para su uso en el método de la reivindicación 1, en donde se aplica uno cualquiera o más de lo siguiente,

a) comprende además administrar la solución tras un procedimiento quirúrgico; y

45 b) se ha diagnosticado al sujeto al menos uno de enfisema y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) antes de la administración de la solución que comprende el péptido autoensamblante.

50 5. La solución para el uso de la reivindicación 1, en donde el péptido autoensamblante se selecciona entre el grupo que consiste en (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2) y (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3).

6. La solución para el uso de la reivindicación 5, en donde la concentración eficaz para permitir el tratamiento de la bulla pulmonar comprende una concentración de péptido autoensamblante en un intervalo de aproximadamente un 0,1 por ciento de peso por volumen (p/v) a aproximadamente un 3 por ciento p/v.

55 7. La solución para el uso de la reivindicación 5, en donde se aplica uno cualquiera o más de lo siguiente,

a) la solución que comprende el péptido autoensamblante comprende (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1) a una concentración de al menos un 0,5 por ciento de peso por volumen (p/v);

60 b) la solución que comprende el péptido autoensamblante comprende una concentración de cloruro de calcio de aproximadamente 0,125 M;

c) la solución que comprende el péptido autoensamblante tiene un módulo de almacenamiento de aproximadamente 25 Pa.

65

8. La solución para el uso de la reivindicación 1 para el método de la reivindicación 1, en donde se aplica uno cualquiera o más de lo siguiente,
- a) la solución está sustancialmente libre de células y/o fármacos;
 - b) la solución comprende además un agente de contraste, en donde, opcionalmente, el agente de contraste comprende iones sulfato e iones sodio; y
 - c) la solución comprende además al menos un agente biológicamente activo.
9. La solución para el uso de la reivindicación 1 para el método de la reivindicación 1, en donde la solución tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 4,0, en donde opcionalmente, la solución tiene un pH de aproximadamente 3,5 y el péptido autoensamblante es uno de (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1) y (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3) o la solución tiene un pH de aproximadamente 3,7 y el péptido autoensamblante es (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2).
10. La solución para el uso de la reivindicación 1 para el método de la reivindicación 1, en donde se aplica uno cualquiera o más de lo siguiente,
- a) la preparación de la solución que comprende el péptido autoensamblante comprende añadir el péptido autoensamblante a una solución salina, comprendiendo la solución salina opcionalmente al menos uno de cloruro de calcio, cloruro de sodio y cloruro de potasio; y/o
 - b) la preparación de la solución que comprende el péptido autoensamblante comprende: añadir agua a un polvo de péptido del péptido autoensamblante para proporcionar una solución de péptido acuoso; añadir una solución salina a la solución acuosa de péptido; y mezclar la solución salina y la solución acuosa de péptido; y opcionalmente en uno o más de a) o b), la solución salina comprende al menos un catión seleccionado entre el grupo que consiste en amonio, hierro, magnesio, potasio, pirimidinio, amonio cuaternario, sodio, potasio y calcio y/o al menos un anión seleccionado entre el grupo que consiste en cloruro, sulfato, acetato, carbonato, cloruro, citrato, cianuro, fluoruro, sulfato, nitrato, nitrito y fosfato.
11. La solución para el uso de la reivindicación 1 para el método de la reivindicación 1, en donde la preparación de la solución que comprende el péptido autoensamblante comprende uno de añadir el péptido autoensamblante a un tampón y añadir un tampón a la solución, en donde el tampón comprende opcionalmente al menos dos sales.
12. Un kit para su uso en un método para tratar una bulla pulmonar en un sujeto de acuerdo con el método de la reivindicación 1, que comprende: un péptido autoensamblante que comprende entre aproximadamente 7 aminoácidos y aproximadamente 32 aminoácidos, en donde al menos una parte del péptido es anfifila, de tal forma que el péptido puede mostrar una estructura de beta lámina en solución acuosa en presencia de condiciones aplicables a o cerca del sitio de una bulla pulmonar, proporcionándose el péptido autoensamblante en una cantidad eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para tratar las bullas pulmonares; y instrucciones para administrar el péptido autoensamblante a un área diana de la bulla pulmonar del sujeto.
13. El kit para el uso de la reivindicación 12 para el uso en el método de la reivindicación 1, en donde se aplica uno cualquiera o más de lo siguiente,
- a) el péptido autoensamblante se proporciona como uno de una solución que comprende un péptido autoensamblante y un polvo para su preparación como una solución que comprende un péptido autoensamblante, en donde opcionalmente el péptido autoensamblante se proporciona en forma de una solución que comprende un péptido autoensamblante o el péptido autoensamblante se proporciona en forma de un polvo para su preparación como una solución que comprende un péptido autoensamblante;
 - b) el péptido autoensamblante se selecciona entre el grupo que consiste en (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1), (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2) y (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3), en donde opcionalmente, la concentración eficaz para tratar la bulla pulmonar comprende una concentración de péptido autoensamblante en el intervalo de aproximadamente 0,1 por ciento en peso por volumen (p/v) a aproximadamente un 3 por ciento p/v;
 - c) comprendiendo el kit además al menos un agente biológicamente activo;
 - d) la solución está sustancialmente libre de células y fármacos; y
 - e) comprendiendo el kit además una solución de sacarosa.
14. El kit para el uso de la reivindicación 12 para el uso en el método de la reivindicación 1, en donde se aplica uno cualquiera o más de lo siguiente,
- a) comprendiendo el kit además instrucciones para preparar una solución que comprende un péptido autoensamblante que tiene una concentración eficaz para formar una barrera de hidrogel en condiciones fisiológicas para tratar las bullas pulmonares;

- b) comprendiendo el kit además un dispositivo de suministro para introducir el péptido autoensamblante a un área diana del pulmón;
 c) comprendiendo el kit además una solución salina, en donde se aplica opcionalmente uno cualquiera o más de lo siguiente,

- 5
 i) el kit comprende además instrucciones para combinar la solución salina y una de la solución que comprende el péptido autoensamblante y el polvo de péptido;
 ii) la solución salina comprende
 10 al menos un catión seleccionado entre el grupo que consiste en amonio, hierro, magnesio, potasio, pirimidinio, amonio cuaternario, sodio, potasio y calcio; y/o al menos un anión seleccionado entre el grupo que consiste en cloruro, sulfato, acetato, carbonato, cloruro, citrato, cianuro, fluoruro, sulfato, nitrato, nitrito y fosfato; y
 iii) la solución salina comprende al menos uno de cloruro de calcio, cloruro de sodio y cloruro de potasio; y/o

- 15 d) la solución que comprende el péptido autoensamblante comprende una concentración de sal de entre aproximadamente 0,005 M y aproximadamente 0,500 M, en donde opcionalmente, la solución que comprende el péptido autoensamblante tiene un módulo de almacenamiento de entre aproximadamente 25 Pa y aproximadamente 600 Pa;

- e) el kit comprende además una solución que comprende cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio y bicarbonato de sodio;

- 20 f) el kit comprende además una solución que comprende un agente de contraste, en donde, opcionalmente, el agente de contraste comprende iones sulfato e iones sodio.

15. El kit para el uso de la reivindicación 12 para el uso en el método de la reivindicación 1, en donde uno del kit o la solución que comprende un péptido autoensamblante comprende un tampón, en donde se aplica opcionalmente uno cualquiera o más de lo siguiente,
 25

- a) el tampón comprende al menos dos sales, en donde opcionalmente, el tampón se encuentra a un pH de 7,2 o el tampón se encuentra a un pH de 7,4;

- 30 b) el tampón es un tampón alcalino;

- 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;

- d) el tampón comprende entre aproximadamente 0,6 M y aproximadamente 1,2 M de una sal y el péptido autoensamblante es (RADA)₄ (SEQ ID NO: 1);

- 35 e) el tampón comprende entre aproximadamente 0,02 M y aproximadamente 0,04 M de una sal y el péptido autoensamblante es (IEIK)₃I (SEQ ID NO: 2); y

- f) el tampón comprende entre aproximadamente 0,1 M y aproximadamente 0,4 M de una sal y el péptido autoensamblante es (KLDL)₃ (SEQ ID NO: 3).

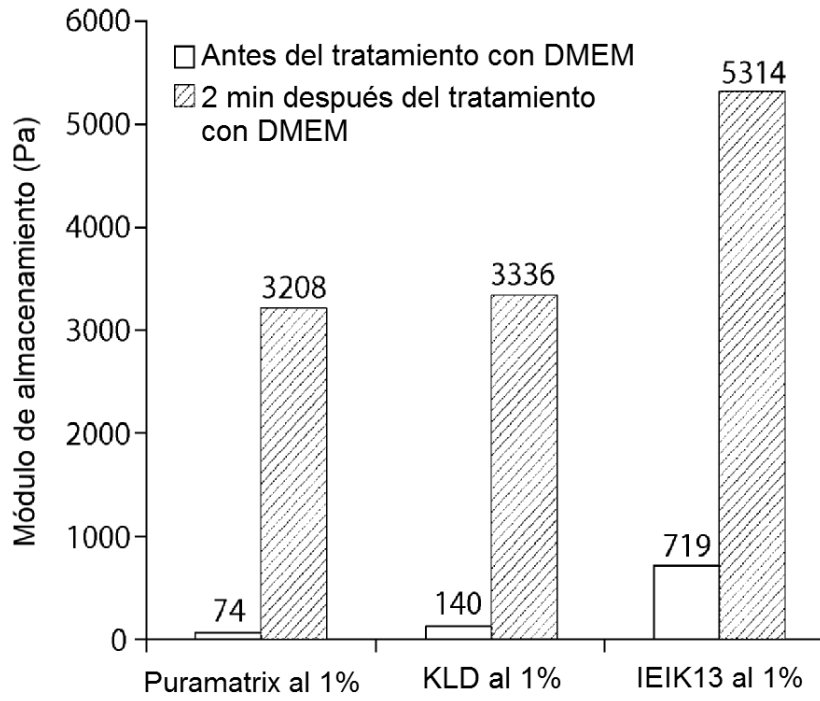


Fig. 1A

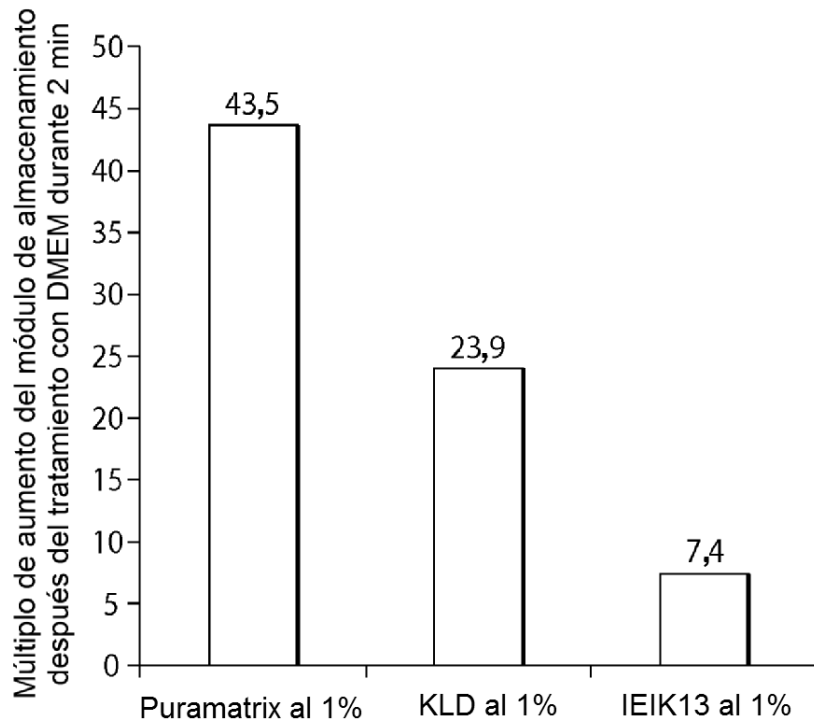


Fig. 1B

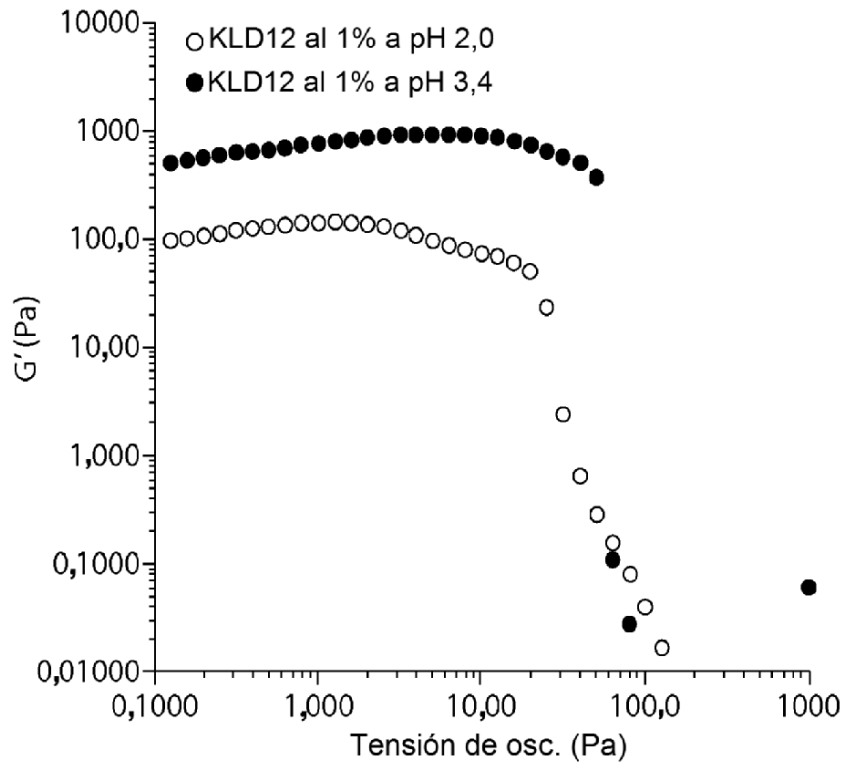


Fig. 2

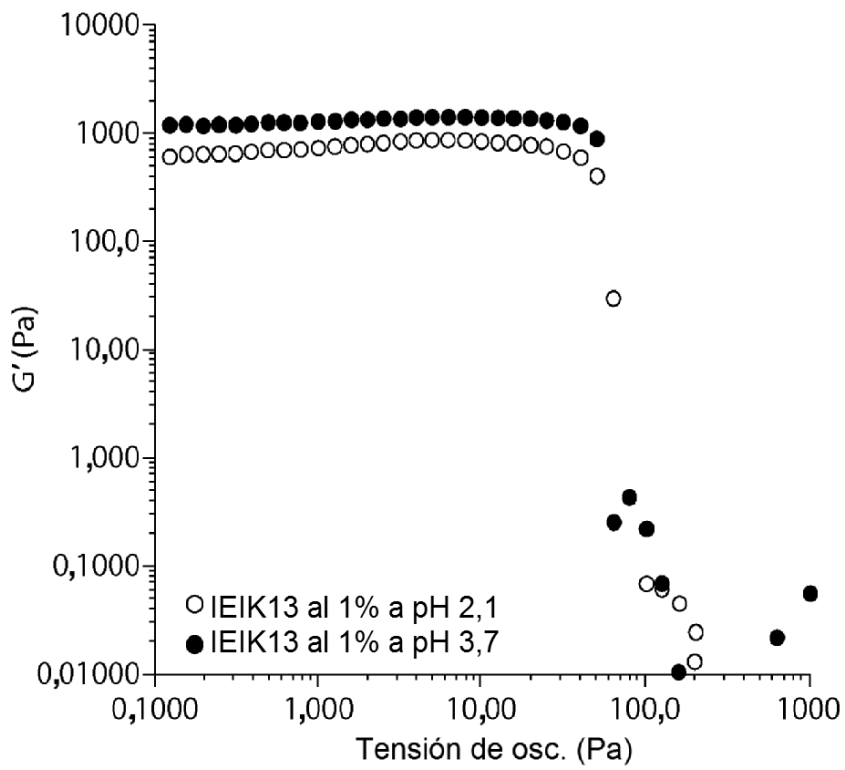


Fig. 3

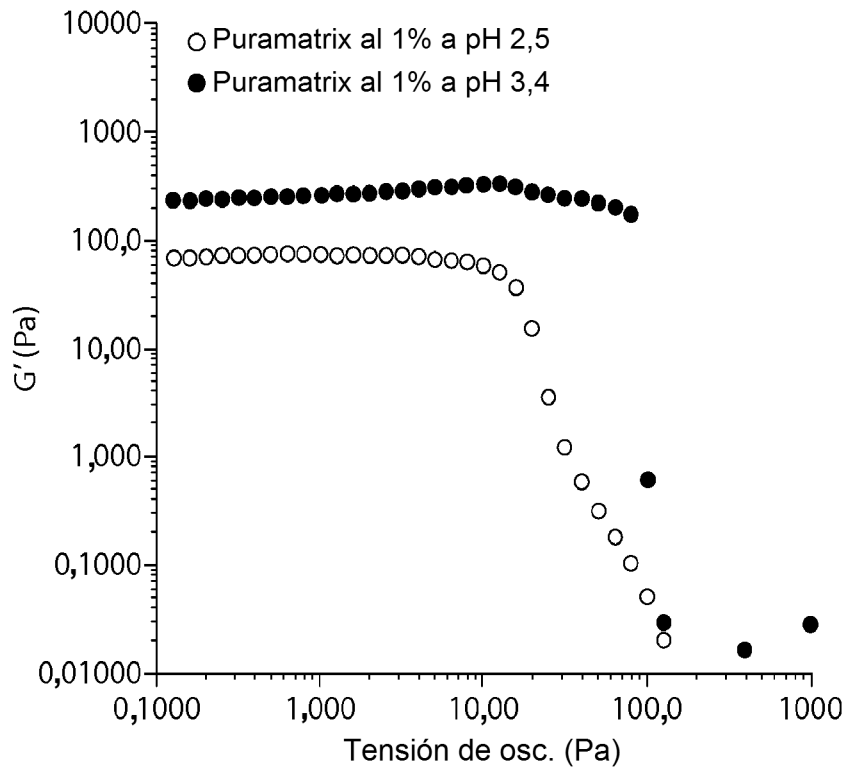


Fig. 4

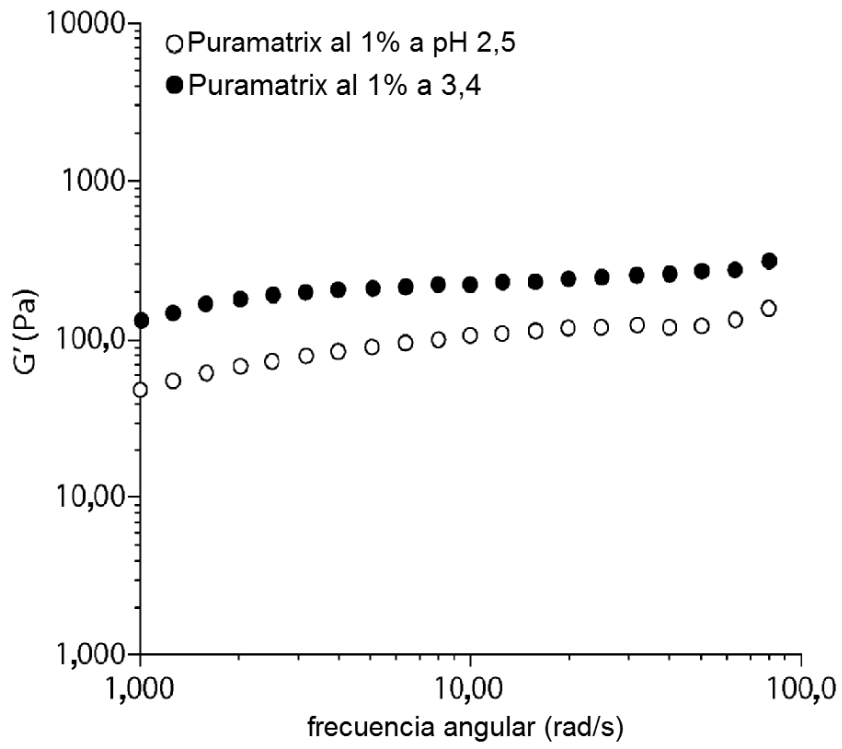


Fig. 5A

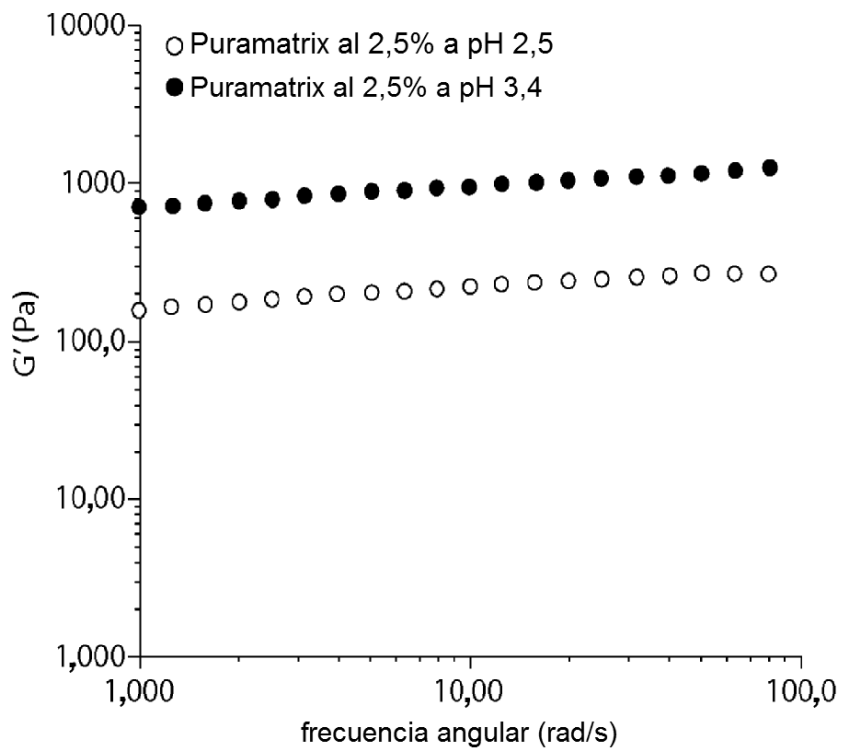


Fig. 5B

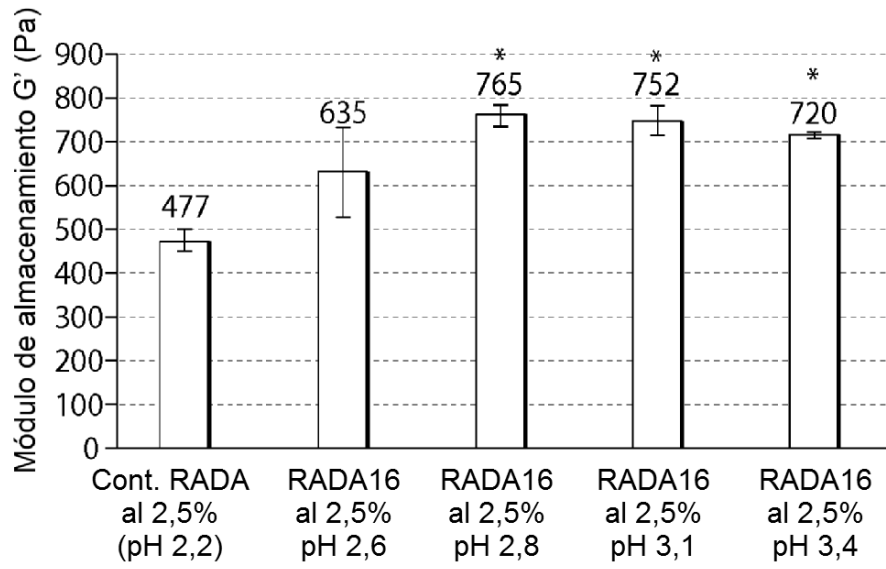


Fig. 6A

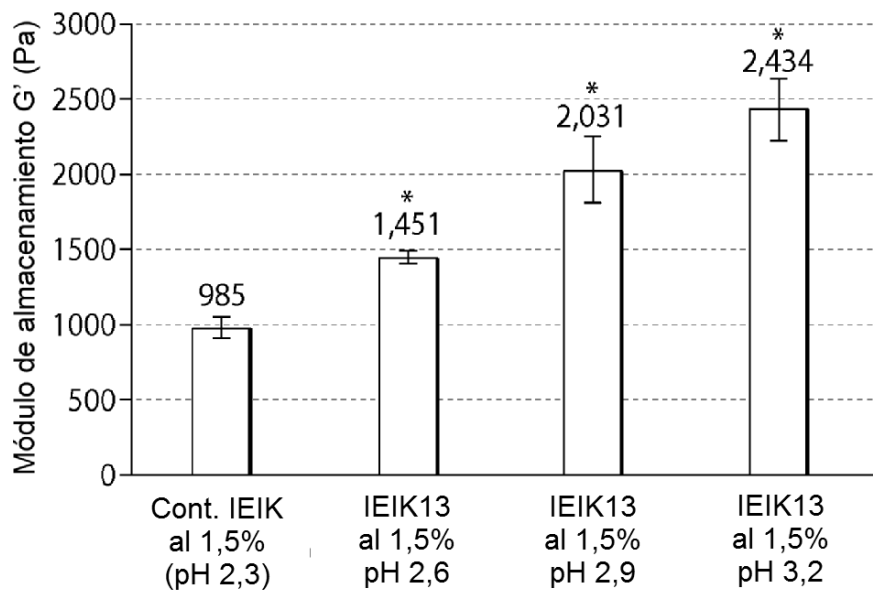


Fig. 6B

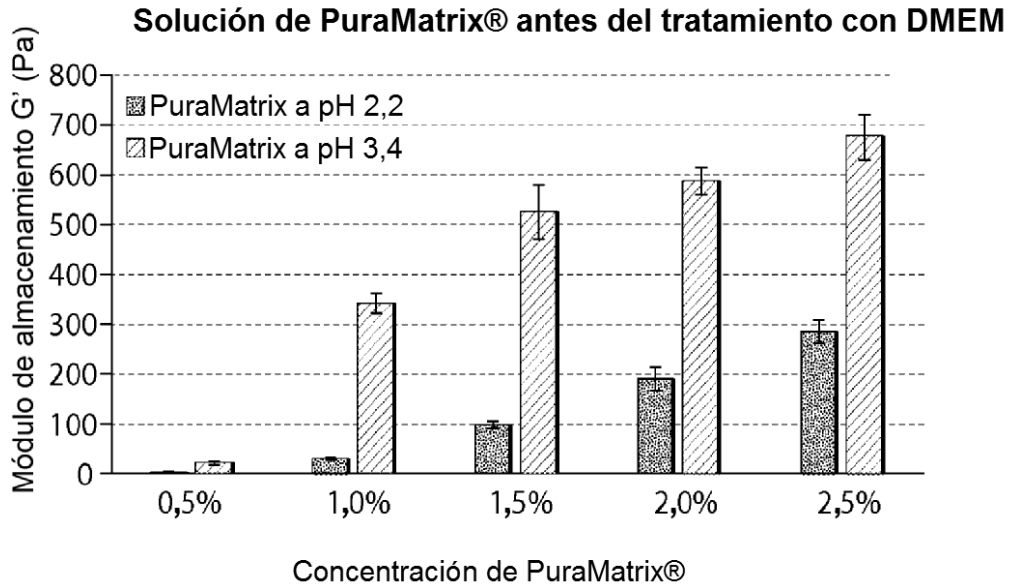


Fig. 7A

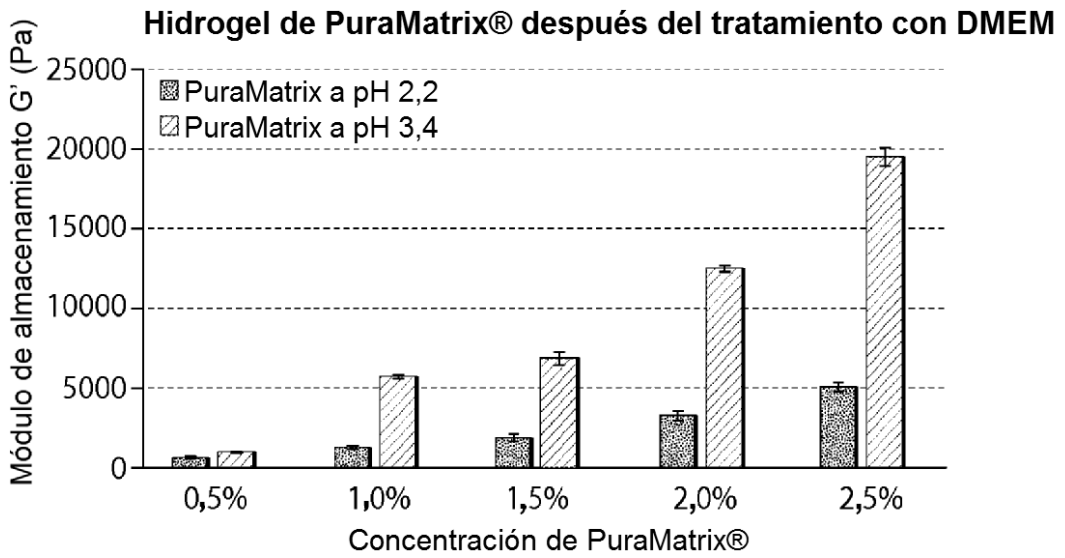


Fig. 7B

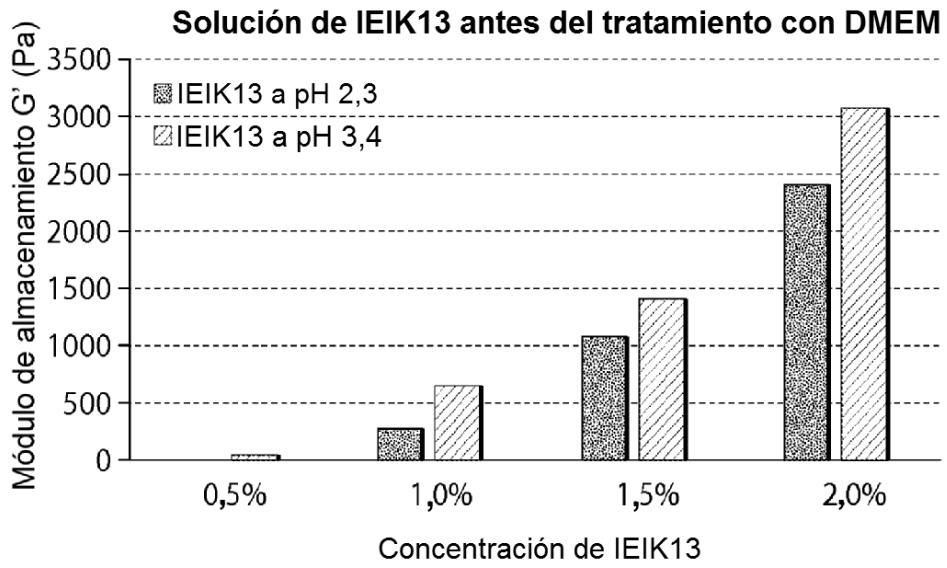


Fig. 8A

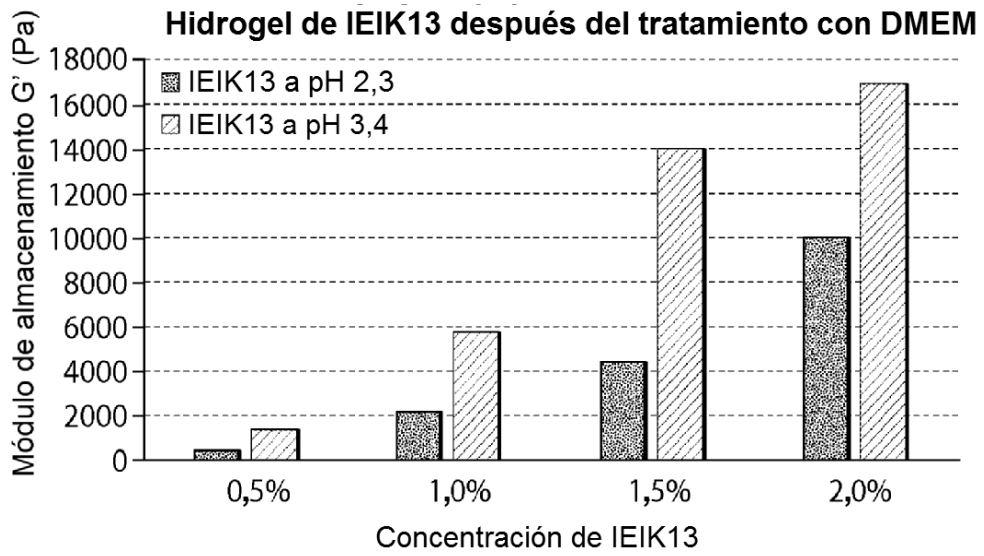


Fig. 8B

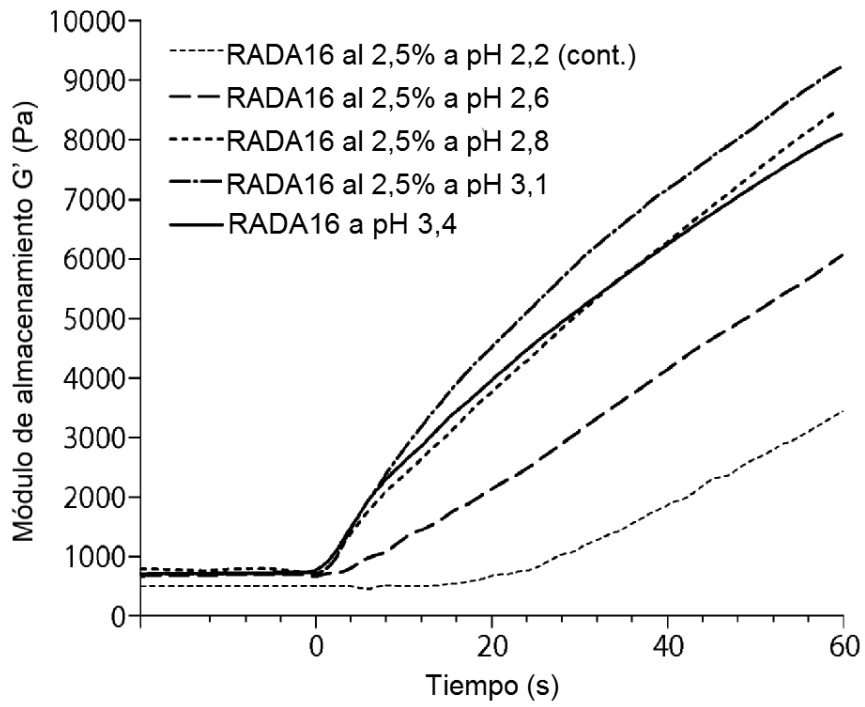


Fig. 9A

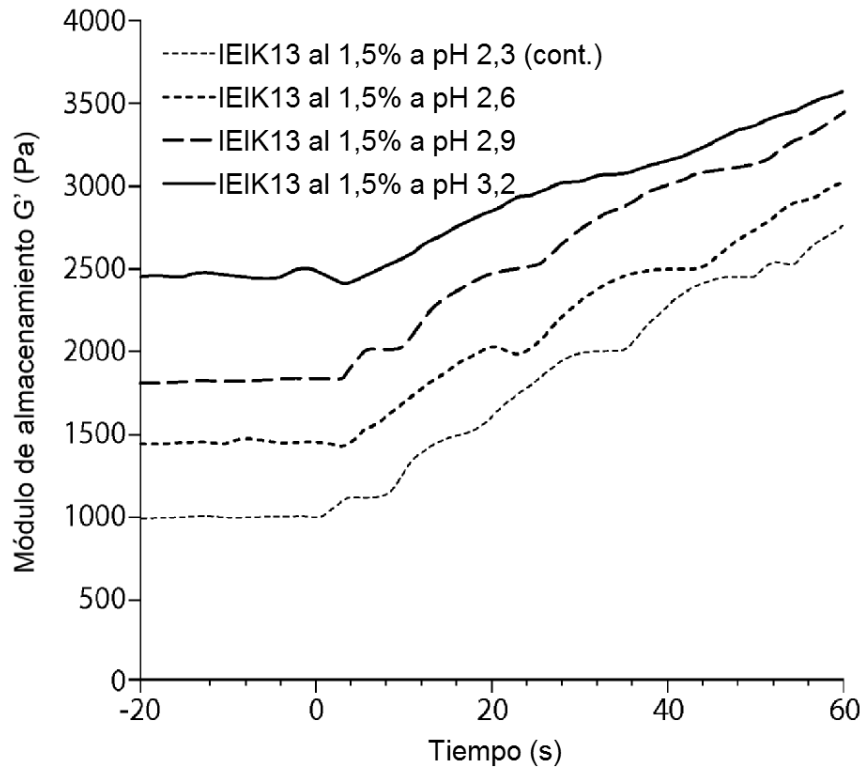


Fig. 9B

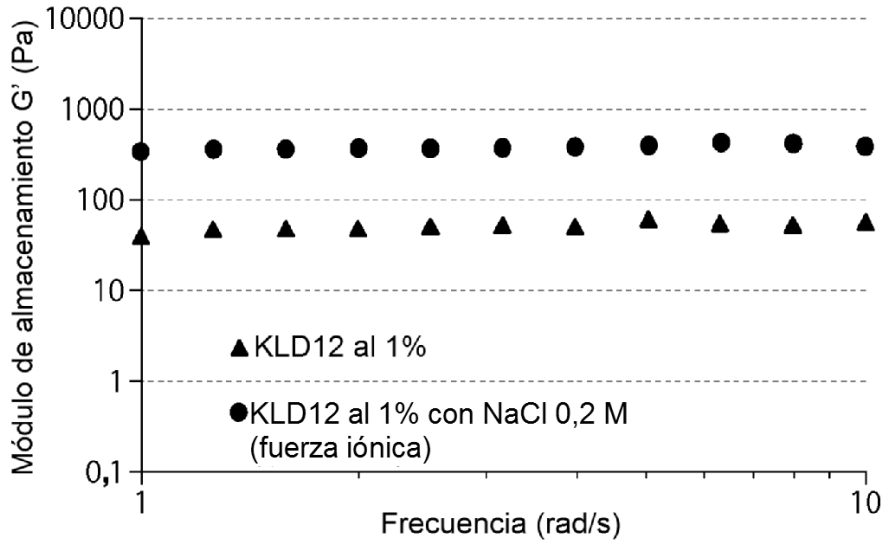


Fig. 10

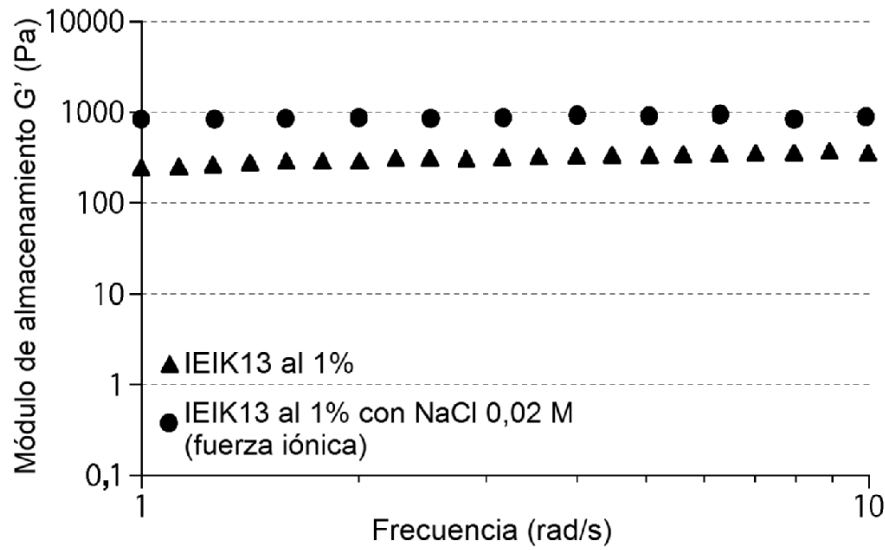


Fig. 11

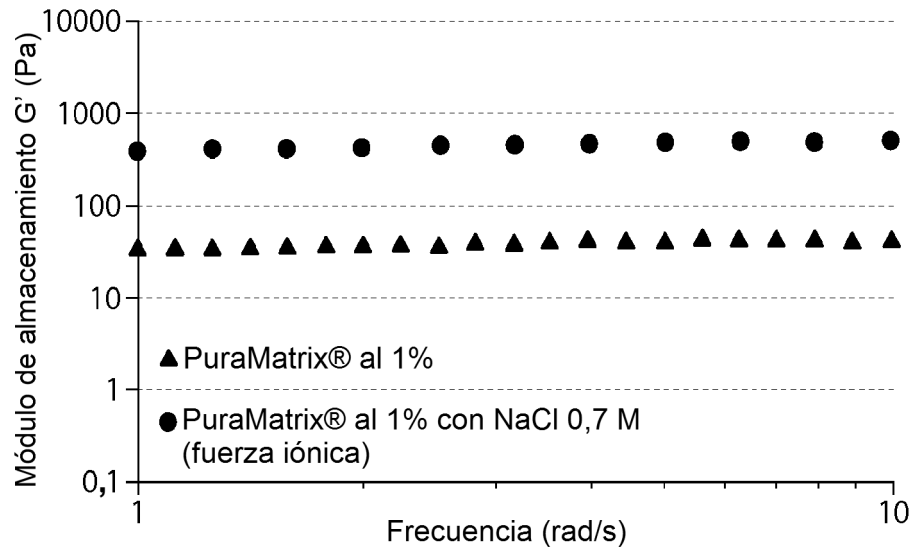


Fig. 12

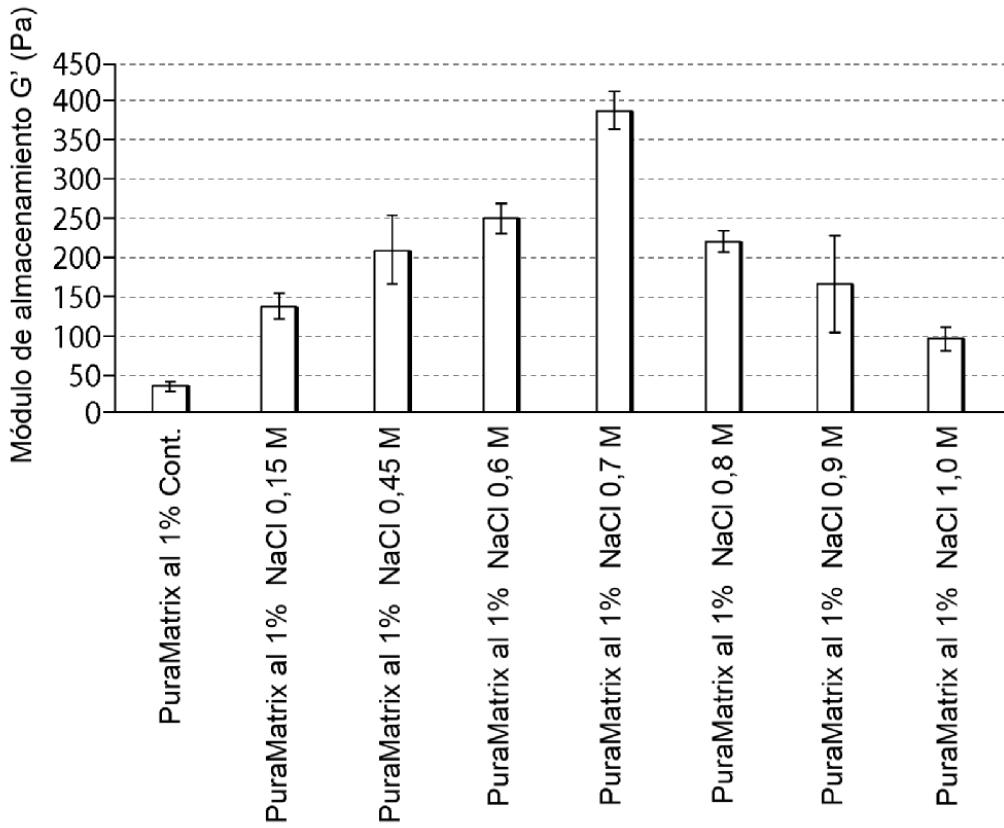


Fig. 13

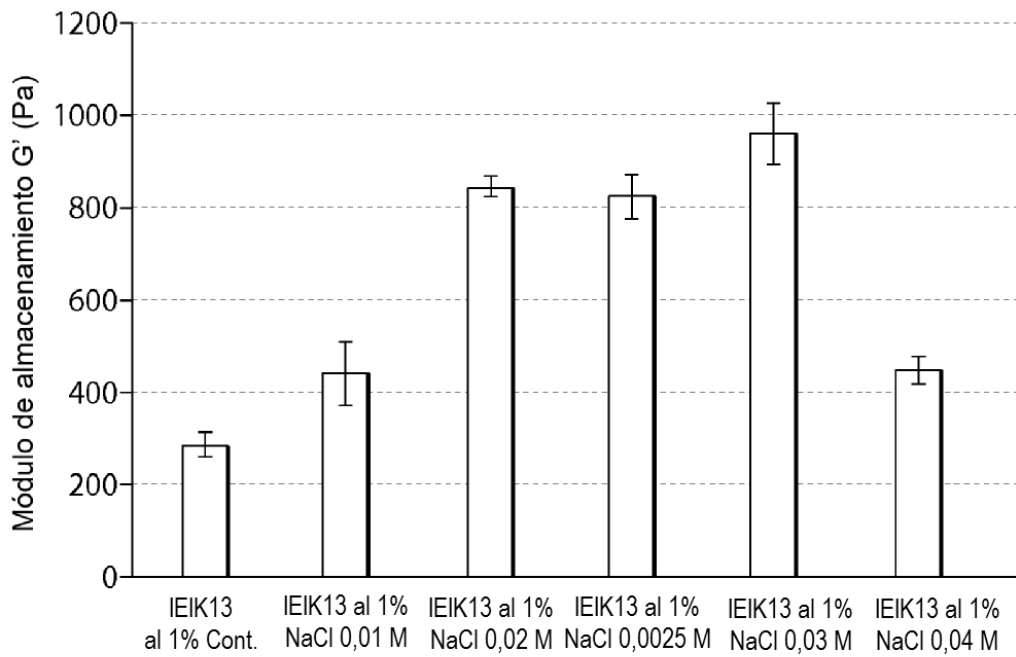


Fig. 14

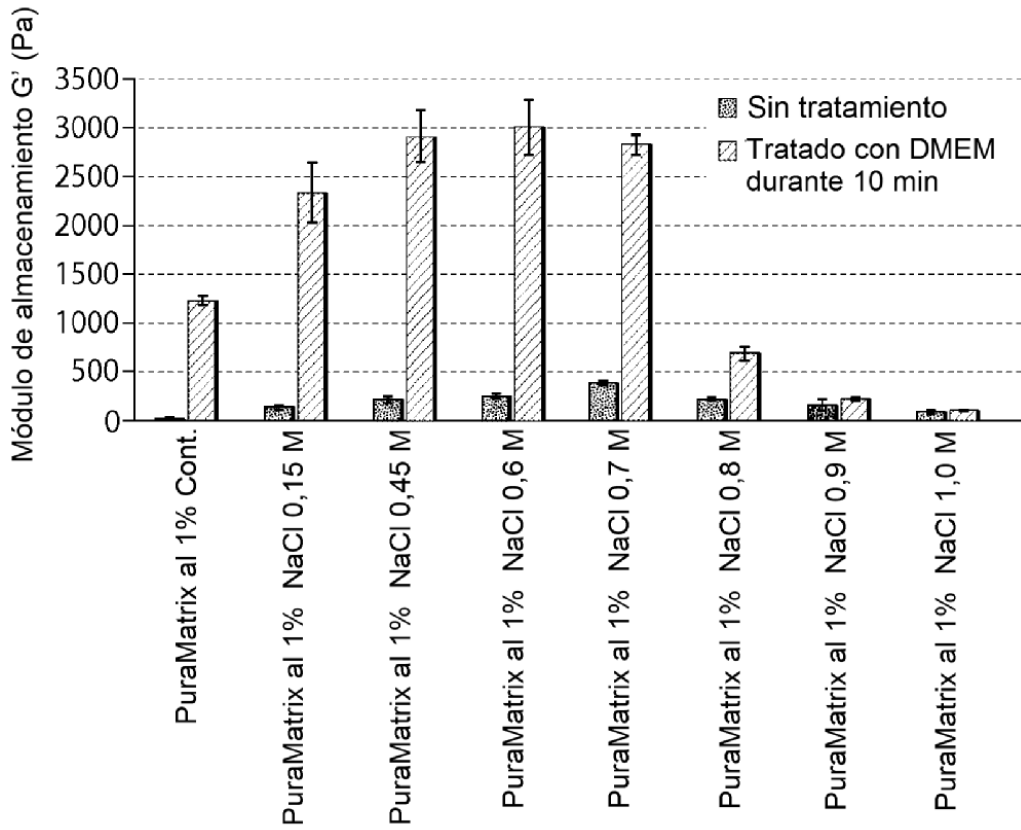


Fig. 15

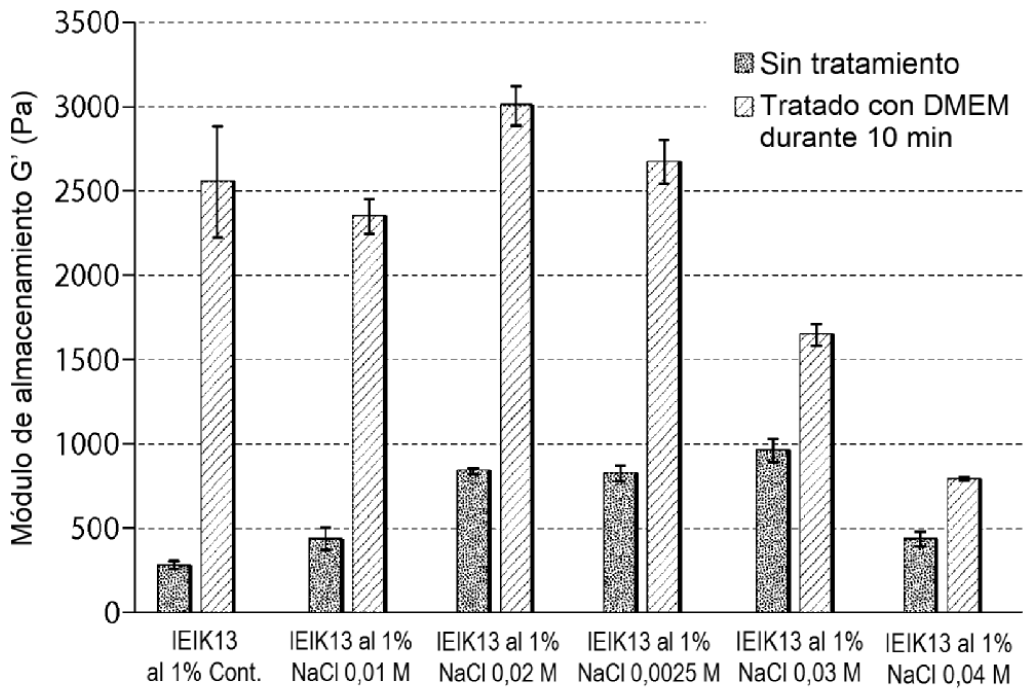


Fig. 16

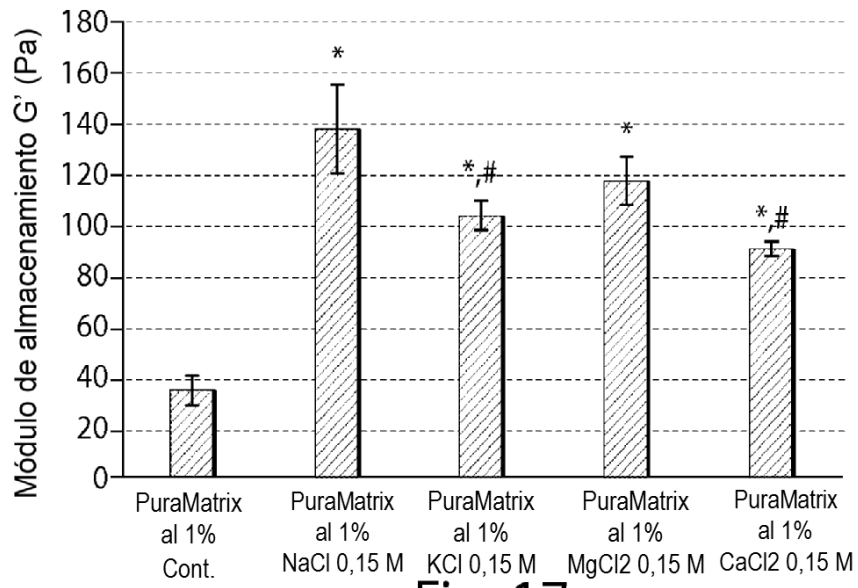


Fig. 17

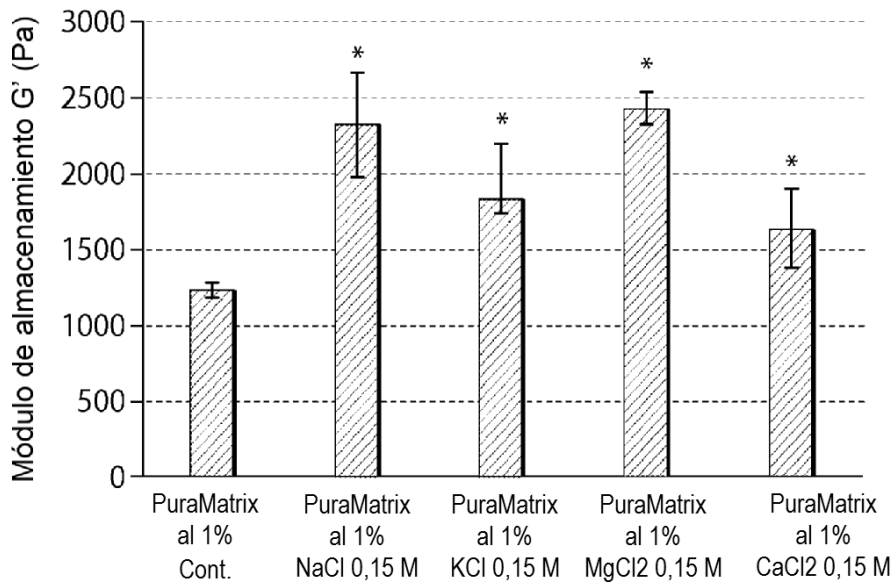


Fig. 18

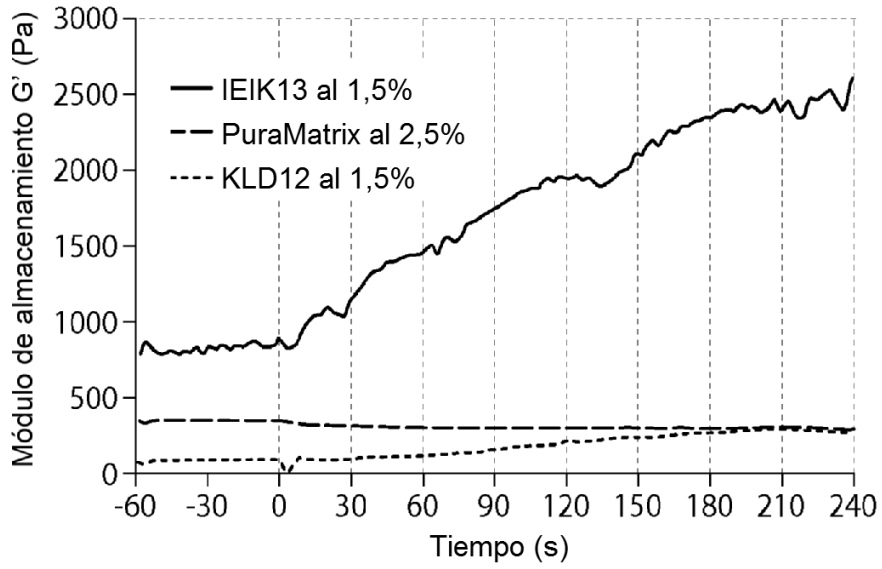


Fig. 19

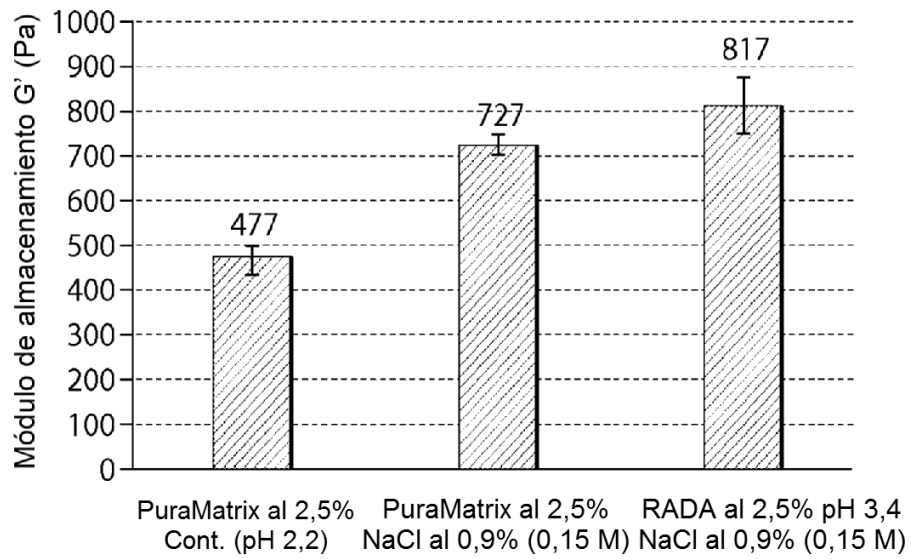


Fig. 20

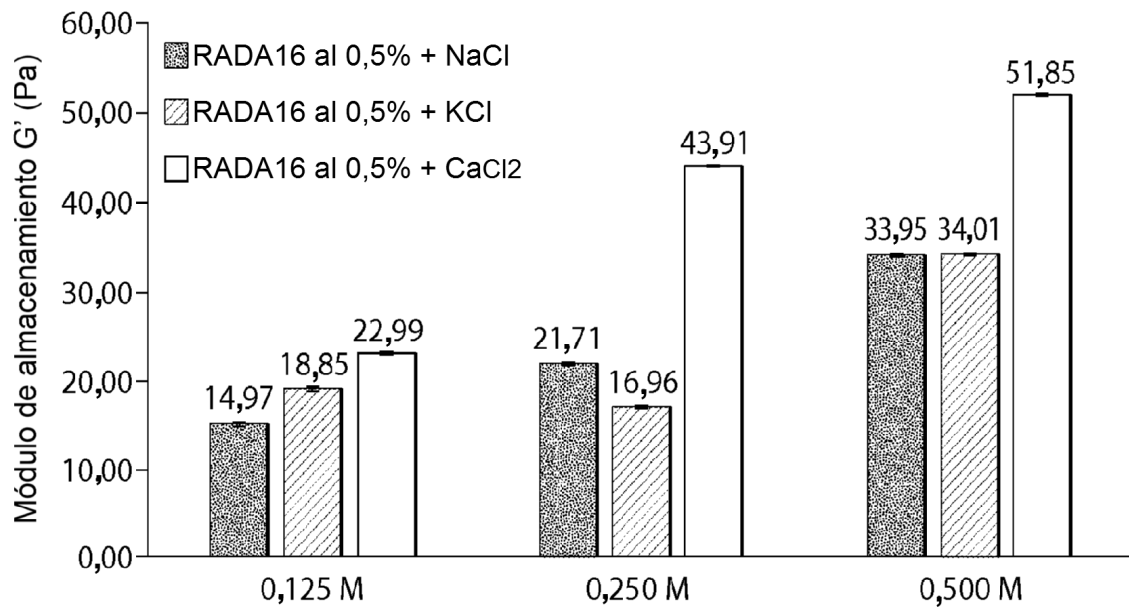


Fig. 21

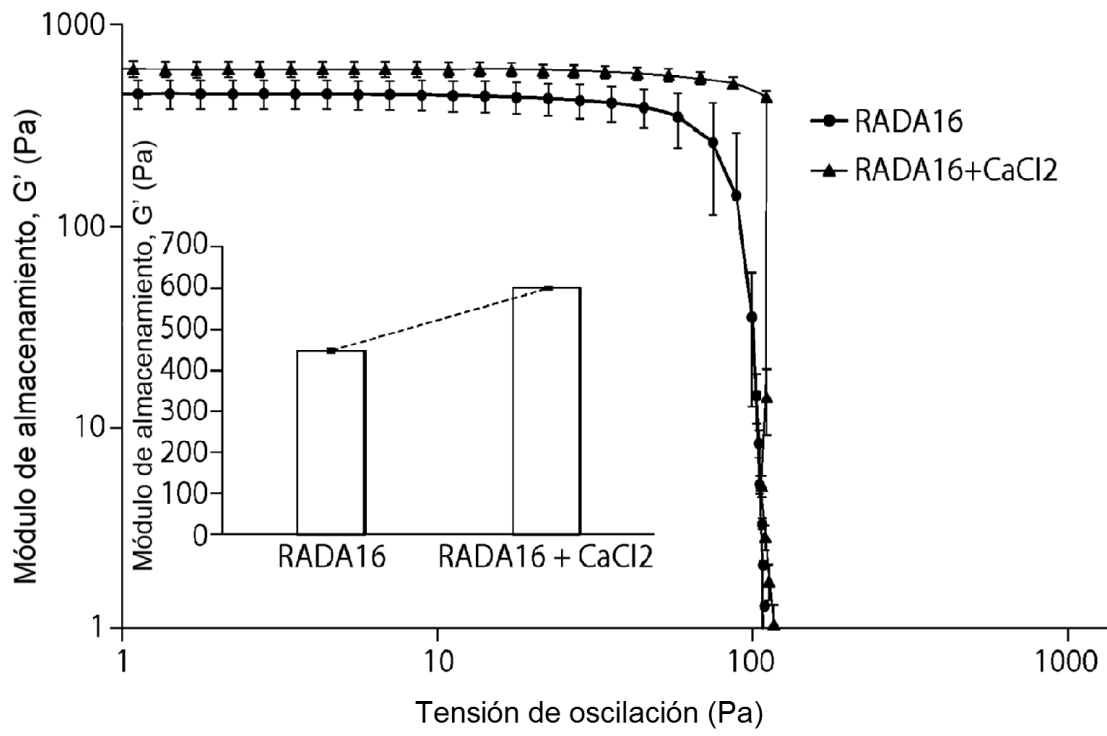


Fig. 22

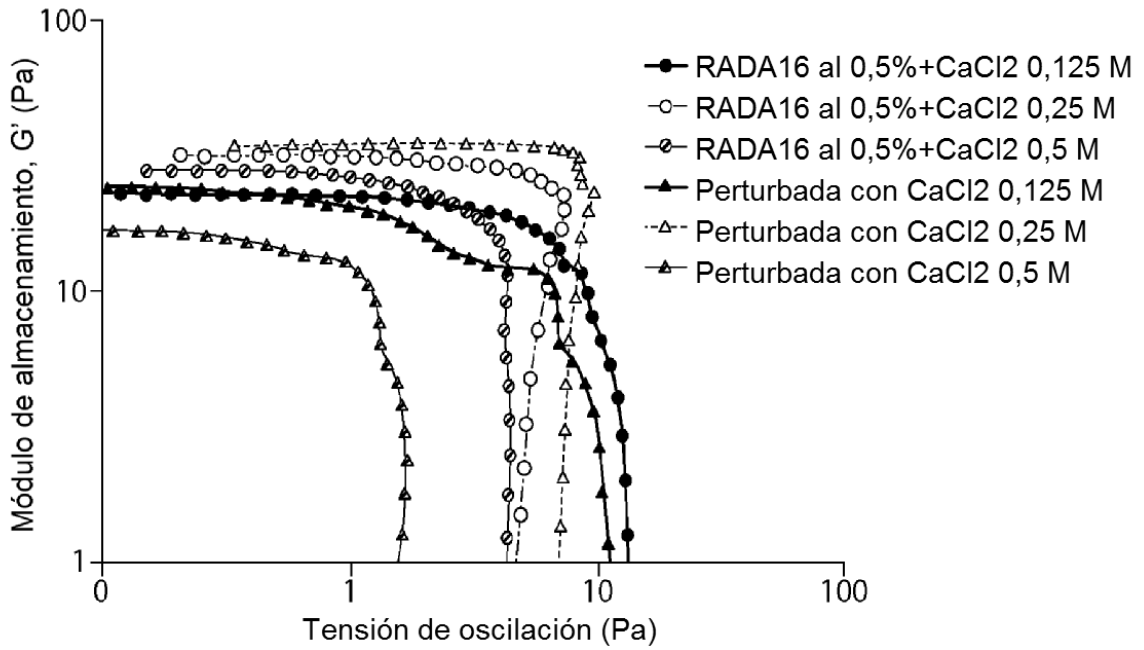


Fig. 23A

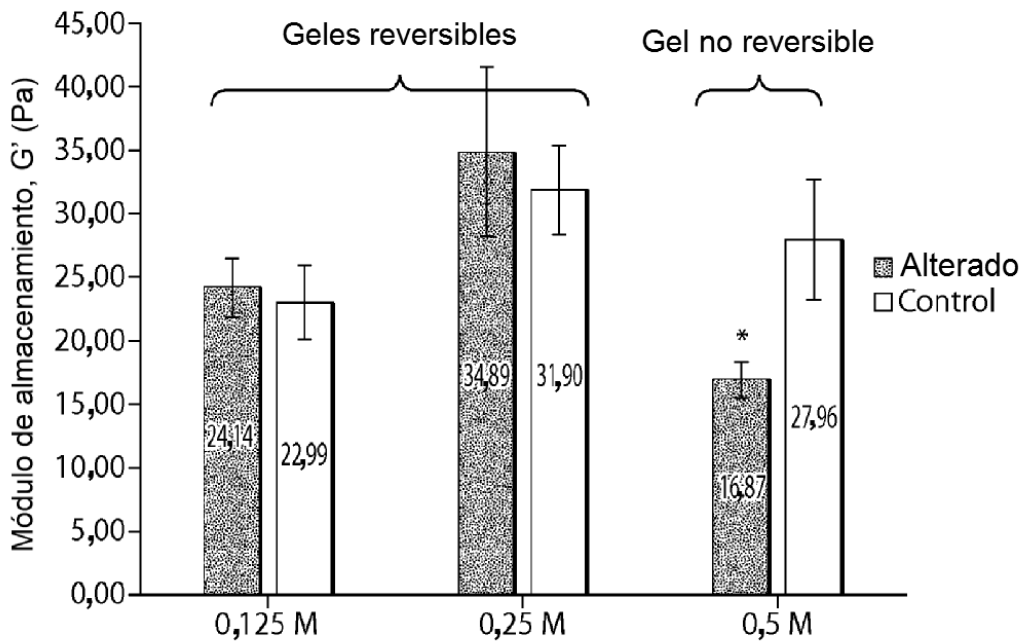


Fig. 23B

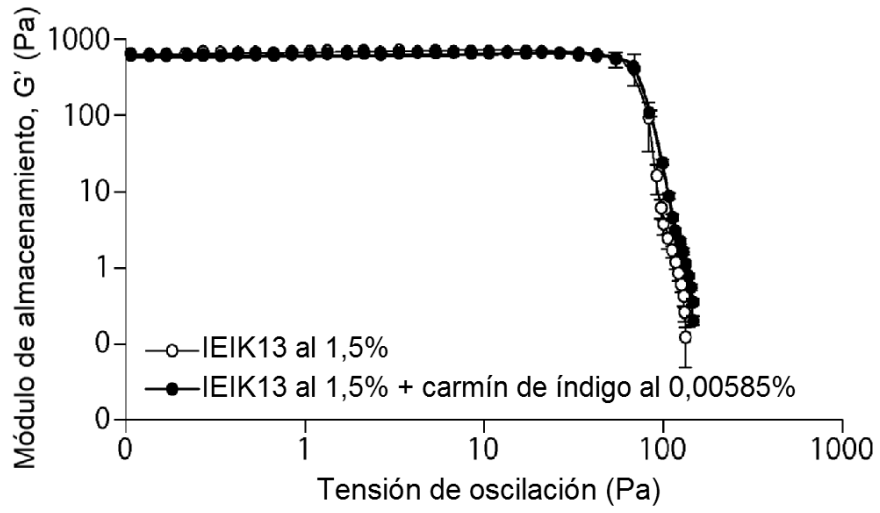


Fig. 24A

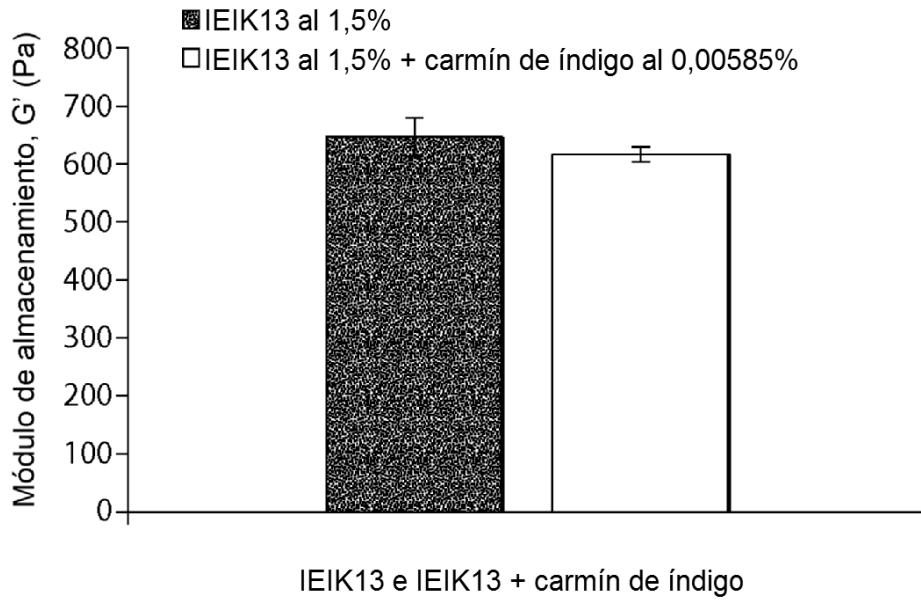
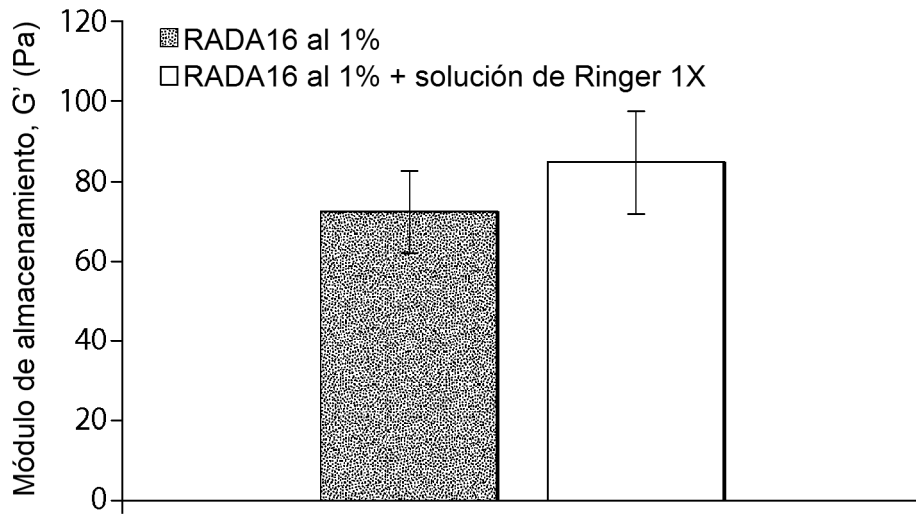


Fig. 24B



RADA16 y RADA16 + solución de Ringer

Fig. 24C

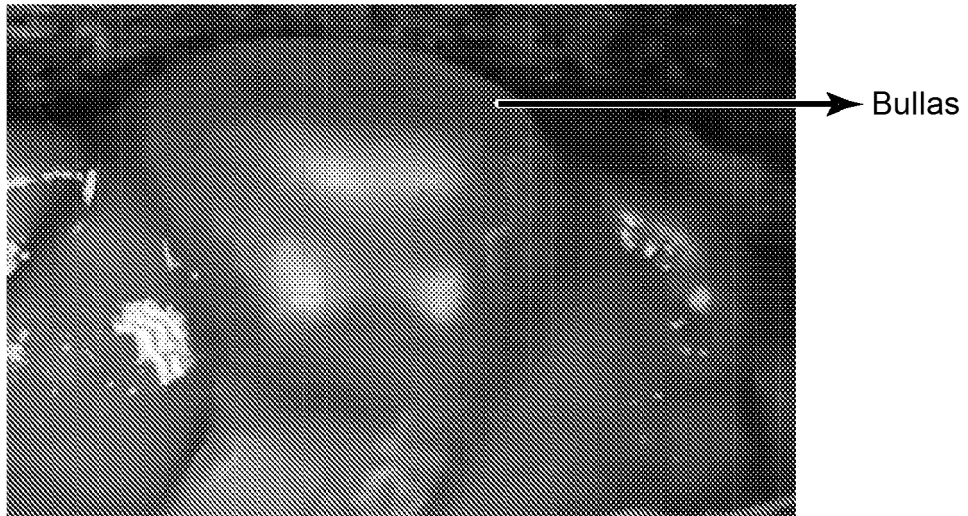


Fig. 25

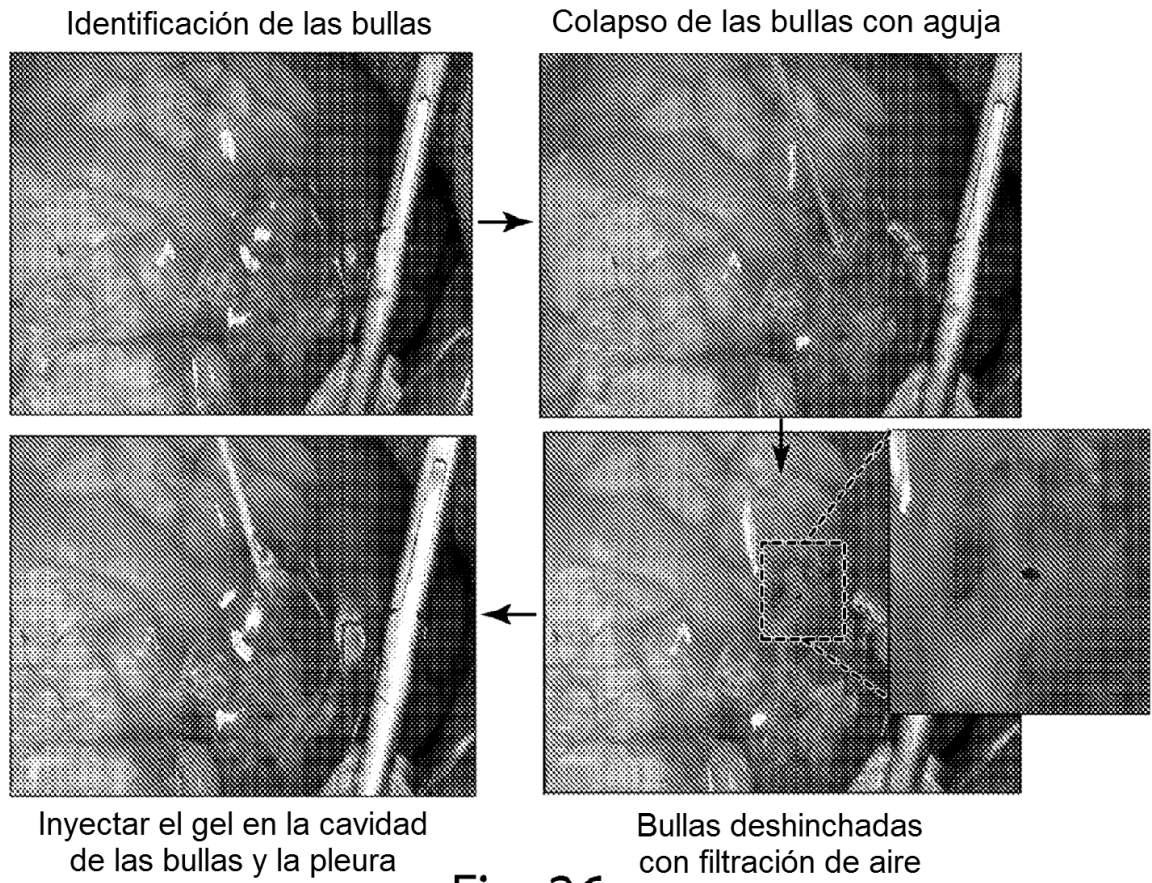


Fig. 26

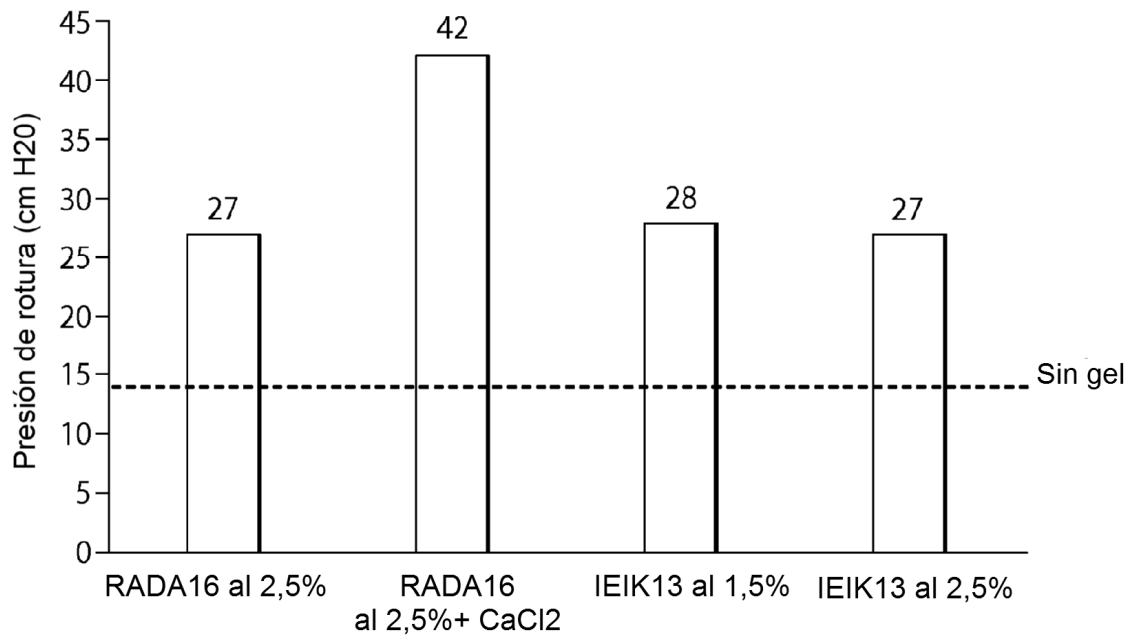


Fig. 27

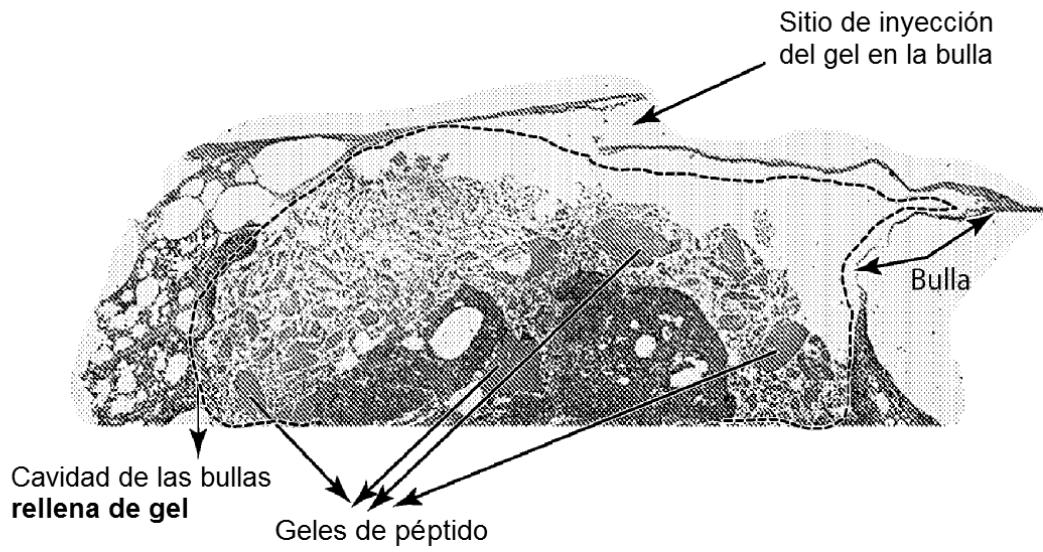


Fig. 28

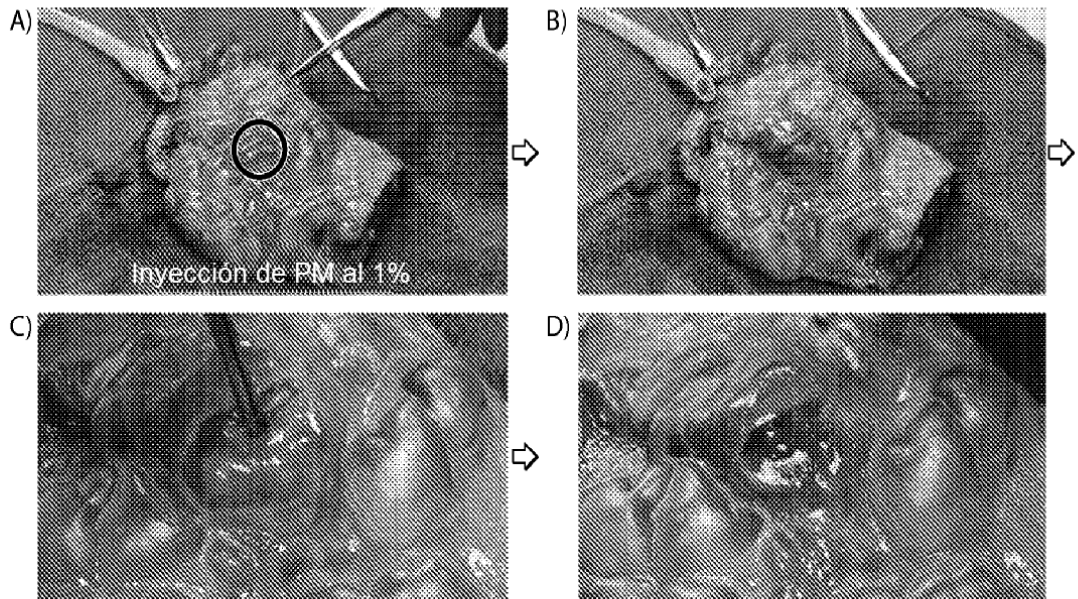


Fig. 29