



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0613137-9 A2**

(22) Data de Depósito: 23/06/2006
(43) Data da Publicação: 21/12/2010
(RPI 2085)



* B R P I 0 6 1 3 1 3 7 A 2 *

(51) *Int.Cl.:*
A61K 38/48
A61P 11/00

(54) Título: **ADMINISTRAÇÃO EM VIAS AÉREAS DE PROTEÍNA C ATIVADA EM CONDIÇÕES INFLAMATÓRIAS AFETANDO O TRATO RESPIRATÓRIO**

(30) Prioridade Unionista: 24/06/2005 US 60/693.968

(73) Titular(es): DRUGRECURE APS

(72) Inventor(es): Lars Otto Uttenthal

(74) Procurador(es): Ricardo Pinho

(86) Pedido Internacional: PCT IB2006002773 de 23/06/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/012976 de 01/02/2007

(57) Resumo: ADMINISTRAÇÃO EM VIAS AÉREAS DE PROTEÍNA C ATIVADA EM CONDIÇÕES INFLAMATÓRIAS AFETANDO O TRATO RESPIRATÓRIO. A presente invenção provê processos para o tratamento local de deposição de fibrina pulmonar extra-vascular crônica e aguda e/ou redução de indesejados efeitos associados com administração sistêmica de anticoagulantes a um sujeito via administração em vias aéreas para o sujeito via rotas intratraqueal, intrabronquial ou intraalveolar de anticoagulantes ou seus derivados biologicamente ativos.

"ADMINISTRAÇÃO EM VIAS AÉREAS DE PROTEÍNA C
ATIVADA EM CONDIÇÕES INFLAMATÓRIAS AFETANDO O TRATO RESPIRA-
TÓRIO"

Todas as patentes e referências não-patente cita-
5 das no pedido de patente, ou no presente pedido de patente,
são aqui também incorporadas por referência em sua totalida-
de.

Campo da Invenção

A presente invenção provê processos para impedir
10 deposição de fibrina crônica e recorrente, aguda nos espaços
aéreos do trato respiratório, em particular os alvéolos e
bronquíolos, em qualquer doença associada com tal deposição
em crianças e adultos. Estas doenças incluem doenças infla-
matórias de pulmões como dano agudo de pulmão (ALI), que po-
15 dem estar relacionadas direta ou indiretamente a trauma pul-
monar, por exemplo, seguindo terapia ventiladora (dano de
pulmão induzido por ventilação (VILI)), condições inflamató-
rias como doenças autoimunes, pancreatite, penumonite de as-
piração, inalação de fumaça tóxica, síndrome de doença res-
20 piratória aguda (ARDS), que é uma manifestação mais severa
de ALI, infecções tais como sepsia, sepsia severa e choque
séptico; pneumonia de qualquer causa; doenças broncoalveola-
res aguda e crônica, alveolite de fibrose, bronquiolite, fi-
brose cística, e também doenças com severa hiper-reatividade
25 de vias aéreas, por exemplo, asma bronquial e insuficiência
de pulmão induzida por droga, por exemplo, seguindo quimio-
terapia como bleomicina. Nos processos da presente invenção,
anticoagulantes como proteína C ativada, se estes agentes

são derivados de plasma ou preparados por tecnologia de ADN recombinante, são administrados intratraquealmente, intra-bronquialmente, ou para o espaço alveolar via administração para vias aéreas. Estes processos são úteis em medicina clínica, especialmente medicina de cuidados críticos ou intensivos e medicina respiratória.

Antecedentes da Invenção

A deposição de fibrina nos espaços aéreos do trato respiratório, particularmente os espaços aéreos alveolares e bronquiolares, é uma freqüente complicação de condições inflamatórias sistêmicas tais como aquelas resultantes de trauma, sepsia, sepsia severa e choque séptico, ALI induzida por droga, ARDS ou pneumonite (por exemplo, devido a metotrexato, bleomicina ou sirolimus) (Amigues L, Klouche K, Massanet P, Gaillard N, Garrigue V, Beraud JJ, Mourad G. Sirolimus-associated acute respiratory distress syndrome in a renal transplant recipient. Transplant proc. 2005; 37; 2830-1) e dano de pulmão induzido por ventilador (VILI) (MacIntyre NR. Current Issues in mechanical ventilation for respiratory failure. Chest. 2005; 128:561S) e dano de pulmão secundário para ventilação mecânica (VILI) (The Acute Respiratory Distress Syndrome Network: Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med. 2000; 342:1301-1308.

Estas condições conduzem a uma ativação sistêmica de coagulação, por último resultando na deposição de fibrina nos espaços intravascular e extravascular, isto é, nos com-

partimentos alveolares e bronquiais. Ao mesmo tempo, a ativação inflamatória causa a liberação de citocinas pró-inflamatórias tais como fator alfa de necrose de tumor (TNF- α), interleucina 1-beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 8 (IL-8) a partir de células inflamatórias ativadas. Deposição de fibrina intravascular e a liberação de citocinas pró-inflamatórias nos espaços aéreos dos pulmões causam um dano de tecido caracterizado por uma aumentada permeabilidade da membrana alveolar-capilar com difuso dano alveolar e a acumulação nos alvéolos de fluido de edema rico em proteínas de plasma, incluindo os componentes do sistema de coagulação de sangue, e uma redução em produção de tensoativo. Como um resultado, uma membrana hialina rica em fibrina é formada nos dutos alveolares e espaços aéreos. Em uma fase posterior, uma massiva infiltração de neutrófilos e outras células inflamatórias ocorre, seguida por organização dos exsudados e fibrose. Esta seqüência patológica foi descrita e revista por Bellington GJ, 2002: "The pathogenesis of ALVARDS", Thorax 57:540-546. As condições clínicas correspondendo a esta patologia são chamadas ALI ou ARDS, diferenciando somente em que ARDS é mais severa e caracterizada por maior hipoxemia de modo que a razão de P_{O_2} arterial para fração de oxigênio inspirada ($P_{aO_2}/F_{I_{O_2}}$) ≤ 200 mmHg. ALI e ARDS ocorrem como parte da síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS), que pode ser devida a causas infecciosas ou não-infecciosas como pancreatite ou trauma pulmonar direto ou indireto; quando a causa de SIRS é infecciosa, ela é chamada sepsia, que, quando associada com disfunção de ór-

ção, é devida como sepsia severa, e quando associada com
significante hipotensão, como choque séptico.

Uma sequência similar de eventos patológicos ocorre em pneumonias devido a uma variedade de causas, incluindo
5 agentes virais, bacterianos e fungos, por exemplo, pneumonia
Pneumocystis carinii (PCP), bronquiolite (por exemplo, secundária para pneumonite viral e/ou doença de hospedeiro-versus-enxerto pulmonar (GVHD)), conduzindo também a exsuda-
dos alveolares e deposição de fibrina naquelas regiões do
10 pulmão afetadas pelo processo inflamatório. Foi destacado
(por exemplo, por Levi M et al., 2003: "Bronchoalveolar coagulation and fibrinolysis in endotoxemia and pneumonia",
Crit Care Med 31:S238-S242) que o pulmão é particularmente
suscetível a deposição de fibrina em sepsia, mostrando este
15 fenômeno em um maior grau que outros órgãos. A extensiva deposição local de fibrina sugere que ativação local de coagulação ou perturbação de sistemas reguladores fisiológicos locais podem estar envolvidas. No compartimento broncoalveolar, fator de tecido (TF), expresso localmente sobre células
20 macrófagos alveolares e sobre o epitélio, parece ter um papel central na iniciação de coagulação, enquanto anticoagulação fisiológica devido a antitrombina e o sistema de proteína C está disfuncional. Foi documentado que o sistema de proteína C é acentuadamente interrompido em pacientes com
25 ALI/ARDS de ambas as causas, séptica e não-séptica e há evidência de ambos, desarranjos circulatórios e intra-alveolares no caminho de proteína C em ALI/ARDS (Ware LB et al., 2003: "Protein C and thrombomodulin in human acute lung

injury", Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 285:L514-L521).

Ao mesmo tempo, há uma acentuada depressão de fibrinólise local, isto é, coagulação é regulada ascendentemente localmente no pulmão danificado, enquanto atividade
5 fibrinolítica é acentuadamente diminuída.

Resumo da Invenção

O objeto da presente invenção é aperfeiçoar o tratamento de ALI, ARDS, pneumonia e doenças pulmonares inflamatórias através de endereçamento de ativação pulmonar local
10 do sistema de coagulação e a deficiência local de mecanismos anticoaguladores, através de aplicação de anticoagulantes relevantes, ou agentes capazes de bloquearem a iniciação local de coagulação, através de administração local nas vias aéreas. Desta maneira uma alta concentração local destes a-
15 gentes pode ser obtida nas vias aéreas afetadas, de modo que deposição de fibrina extra-vascular pode ser mais efetivamente inibida do que através de administração sistêmica (intravenosa) dos mesmos agentes, mas evitando ou reduzindo efeitos adversos sistêmicos. A administração em vias aéreas
20 destes agentes pode ser dada sozinha ou como um suplemento para administração intravenosa do mesmo ou outros agentes. Devido à "conversa-cruzada" ("cross-talk") entre coagulação e inflamação, a administração a vias aéreas destes agentes é também esperada modular inflamação pulmonar local, através
25 de redução de ativação local de trombina e em certos casos também através de ação antiinflamatória direta.

Um aspecto da presente invenção refere-se a um processo para redução de deposição de fibrina extra - vascu-

lar nas vias aéreas, especialmente nos espaços alveolares ou broncoalveolares, em sujeitos humanos com condições pulmonares inflamatórias e/ou infecciosas que conduzem a tal deposição de fibrina, o processo compreendendo a administração
5 via as vias aéreas de anticoagulantes, se purificados de plasma ou obtidos por tecnologia de ADN recombinante.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção refere-se à administração nas vias aéreas, através de qualquer processo apropriado incluindo, mas não limitado a, administração intratraqueal, intrabronqueal ou intraalveolar, para um sujeito humano inclusive de ambos, adultos e crianças, de proteína C ativada humana purificada ou concentrada (APC), ou seus derivados, como quer que preparados, para prevenir ou reduzir deposição
10 de fibrina extra - vascular nas vias aéreas, especialmente os espaços aéreos alveolares ou broncoalveolares. Tal deposição de fibrina pode resultar de uma condição aguda, uma condição recorrente ou uma condição crônica e pode ser devida a uma variedade de causas, incluindo mas não limitado a
15 trauma, direto ou indireto, inflamação ou infecção, devido a deposição de fibrina induzida por droga em vias aéreas e interstício de pulmão, doenças congênitas como fibrose cística, ou devido a uma combinação de tais possíveis causas. Por exemplo, é acreditado que os processos da presente invenção
20 serão úteis em tratamento de deposição de fibrina alveolar característica de ALI ou ARDS surgindo em uma grande proporção de pacientes com sepsia de graus variáveis, em pacientes com pneumonias severas, bronquiolite obliterans e em alveo-

lite de fibrose.

Definições

Afinidade: a resistência de ligação entre receptores e seus ligantes, por exemplo, entre um anticorpo e seu
5 antígeno.

Resíduo de aminoácido: Aquela parte do aminoácido que está presente na cadeia de polipeptídeo na qual o aminoácido é ligado a outros aminoácidos por ligações peptídicas (amida). Os resíduos de aminoácidos aqui descritos estão
10 preferivelmente na forma isomérica "L". Entretanto, o aminoácido abrange todo aminoácido tal como L-aminoácido, D-aminoácido, alfa aminoácido, beta aminoácido, gama aminoácido, aminoácido natural e aminoácido sintético ou semelhantes, tanto quanto a desejada propriedade funcional seja re-
15 tida pelo polipeptídeo. Ainda incluídos são aminoácidos naturais ou sintéticos que foram modificados. NH_2 refere-se ao grupo amino livre presente no terminus amino de um polipeptídeo. COOH refere-se ao grupo carboxi livre presente no terminus carboxi de um polipeptídeo. Abreviaturas padrões de
20 polipeptídeos para resíduos de aminoácidos são aqui usadas.

Deve ser notado que todas as seqüências de resíduo de aminoácido aqui representadas por fórmulas têm uma orientação da esquerda para a direita na direção convencional de terminus amino para terminus carboxi. Além disso, deve ser
25 notado que um traço no início ou fim de uma seqüência de resíduo de aminoácido indica uma ligação peptídica a ainda uma seqüência de um ou mais resíduos de aminoácidos ou uma ligação covalente a um grupo terminal amino tal como NH_2 ou ace-

tila ou a um grupo terminal carboxi tal como COOH.

Aminoácido modificado: um aminoácido onde um seu grupo arbitrário é quimicamente modificado. Em particular, um aminoácido modificado quimicamente modificado no átomo de carbono alfa em um alfa aminoácido é preferível.

Polipeptídeo: A frase polipeptídeo refere-se a uma molécula compreendendo resíduos de aminoácidos que não contêm ligações outras que não ligações amida entre resíduos de aminoácidos adjacentes.

10 Molécula APC

A presente invenção refere-se ao uso de molécula(s) APC na fabricação de um medicamento para o tratamento local de deposição de fibrina pulmonar aguda e extravascular. O termo "molécula APC" é aqui usado para referir-se a qualquer molécula capaz de ligação a e destruição proteolítica de fatores de coagulação Va e VIIla e capaz de ligação a e de neutralização de PAI-1 e/ou de ligação especificamente ao receptor de proteína C (receptor de proteína C endotelial EPCR)). Processos para avaliação de atividade funcional das moléculas APC para uso na presente invenção incluem aqueles descritos por Gruber A, Griffin JH. Direct detection of actived protein C in blood from human subjects. Blood. 1992 May 1; 79(9);2340-8, e Strandberg K, Kjellberg M, Knebel R, Lilja H, Stenflo J. A sensitive immunochemical assay for measuring the concentration of the actived protein C - protein C inhibitor complex in plasma: use of a catcher antibody specific for the complexed / cleaved form of the inhibitor. Thromb Haemost. 2001; 86(2):604-10.

É para ser entendido que a atividade das moléculas APC para uso na presente invenção pode ser menos potente ou mais potente que APC nativa.

APC é uma serina proteinase dependente de vitamina K e é a forma ativada da proteína C. APC tem ambas propriedades, anticoagulante e pró-fibrinolítica. Proteína C humana é um polipeptídeo de 461 aminoácidos, que sofre um número de modificações pós-traducionais para criação de proteína C ativada. Estas modificações incluem 1) clivagem de uma sequência sinal de 42 aminoácidos; 2) clivagem de resíduos lisina e arginina (posições 156 e 157) para obtenção de um zimogênio inativo de 2 cadeias (uma cadeia leve de resíduo de 155 aminoácidos ligada via uma ponte dissulfeto a uma cadeia pesada de resíduo de 262 aminoácidos); 3) carboxilação dependente de vitamina K de nove resíduos de ácido glutâmico localizados dentro de 45 resíduos de terminal amino (domínio-gla); e 4) ligação de carboidrato em quatro sítios (um na cadeia leve e três na cadeia pesada). Finalmente, o zimogênio de 2 cadeias pode ser ativado através de remoção de um dodecapeptídeo no terminus-N da cadeia pesada.

A presente invenção ainda inclui o uso de polipeptídeos APC humanos produzidos transgenicamente ou sinteticamente ou recombinantes. Assim, em uma realização, a molécula APC é um homólogo de APC.

A proteína C humana ativada que é pretendida ser administrada de acordo com a presente invenção compreende proteína C humana ativada ocorrendo naturalmente, ou análogos biologicamente ativos da mesma, se preparados de plasma

ou produzidos recombinantemente ou transgenicamente ou sinteticamente. Proteína C ativada recombinante pode incorporar modificações (por exemplo, substituições e/ou supressões e/ou adições de aminoácidos de seqüências de aminoácidos heterólogas), que pode resultar em análogos com aperfeiçoada atividade biológica. Por exemplo, a APC pode ser produzida usando sistemas de cultura de célula eucariótica (por exemplo, células AV12 ou CHO, LLC-MK2, HEPG-2, 293 de rim humano), animais transgênicos, plantas transgênicas, ou sistemas in vitro. Nestes sistemas, a proteína pode ser produzida como um precursor inativo, que, após purificação, é ativado por clivagem de trombina e formulado para administração. Alternativamente, a APC pode ser produzida por secreção direta da forma ativada de proteína C.

Detalhes de produção, purificação, ativação, e formulação de APC são conhecidos na técnica e são descritos, por exemplo, na patente US 6 156 734, que é aqui incorporada por referência em sua totalidade. Também, genes APC e plasmídeos que podem ser usados nestes processos são descritos nas patentes US 4 981 952; 4 775 624; e 4 992 373, que são aqui incorporadas por referência. Proteína C ativada também pode ser obtida a partir de fontes comerciais. Por exemplo, um específico exemplo de uma APC que pode ser usada na invenção é produzida por Eli Lilly and Company, sob o nome de XIGRIS™ (proteína C humana recombinante ativada).

Em uma realização preferida da presente invenção, a molécula de APC é um análogo de APC. Um "análogo de APC" é definido como uma molécula tendo uma ou mais (tal como 20 ou

menos, por exemplo, 17 ou menos, tal como 15 ou menos, por exemplo, 13 ou menos, tal como 11 ou menos, por exemplo, 9 ou menos, tal como 7 ou menos, por exemplo, 5 ou menos, tal como 3 ou menos, por exemplo, 2 ou menos, tal como 1 ou menos) substituições, supressões, inversões ou adições de aminoácidos em relação a APC e pode incluir formas de D-aminoácidos.

Análogos de APC também foram descritos em WO 01/57193 e incluem análogos de APC que são criados de análogos de proteína C contendo pelo menos duas das seguintes substituições de aminoácidos em SEQ ID NO: 1: His na posição 10 é substituída com Gln; Ser na posição 11 é substituída com Gly; Ser na posição 12 é substituída com Lys; Gln na posição 32 é substituída com Glu; Asn na posição 33 é substituída com Asp ou Phe; e, o aminoácido na posição 194, 195, 228, 249, 254, 302 ou 316 é substituído com um aminoácido selecionado de Ser, Ala, Thr, His, Lys, Leu, Arg, Asn, Asp, Glu, Gly, e Gln, ou a sua forma amida, e seus sais farmacologicamente aceitáveis.

Moléculas APC preferidas usadas na presente invenção também podem incluir análogos de APC nos quais um ou mais aminoácidos que não estavam presentes na sequência original são adicionados ou suprimidos, e seus derivados. Tais análogos são, por exemplo, descritos em EP 0 946 715, onde o domínio Gla de proteína C foi substituído por domínios Gla de outros polipeptídeos dependentes de vitamina K, tal como fator VII, fator X e protrombina.

Em uma realização da presente invenção o análogo

de APC exibe uma aperfeiçoada atividade anticoagulante comparado com a proteína tipo selvagem. Em uma realização preferida o análogo tem uma maior afinidade de ligação para seus substratos, tais como, por exemplo, Fva e FVIIIa, que a
5 proteína tipo selvagem. Ainda em uma outra realização o análogo de APC tem uma menor afinidade de ligação para seus inibidores, tais como, por exemplo, inibidor de proteína C, alfa-tripsina ou plasminogênio ativador de inibidor-1, que a proteína tipo selvagem. Em uma outra realização da presente
10 invenção o análogo de APC exibe uma aperfeiçoada atividade pró-fibrinolítica comparado com a proteína tipo selvagem. Em uma realização preferida o análogo tem uma afinidade de ligação a PAI-1 maior que a proteína tipo selvagem. Em uma outra realização o análogo de APC é capaz de inibir PAI-1. A-
15 inda em uma realização as modificações resultam em uma estabilização do análogo de APC. Tais análogos são, por exemplo, descritos em pedidos de patente WO 99/20767 e WO 03/073980, que são aqui incorporados por referência em suas totalidades. Análogos de APC podem ser usados de acordo com a pre-
20 sente invenção sozinhos ou em combinação com outros análogos de APC e/ou homólogos e/ou derivados e/ou conjugados. Por exemplo, um análogo de APC com uma maior afinidade de ligação para FVa e/ou FVIIIa pode ser usado em combinação com um homólogo de APC capaz de ligação seletiva a, e inibição de
25 PAI-1.

Em uma outra realização preferida da presente invenção, a molécula de APC é um derivado de APC. Um "derivado de APC" é definido como uma molécula tendo a sequência de

aminoácidos de APC ou de um análogo de APC, mas adicionalmente compreende modificação química de um ou mais de seus grupos laterais amino, átomos de carbono alfa, grupo amino terminal, ou grupo ácido carboxílico terminal. Uma modificação química inclui, mas não é limitada a, adição de metades químicas, criação de novas ligações, e remoção de metades químicas. Modificações em grupos laterais de aminoácidos incluem, sem limitação, acilação de grupos amino - epsilon de lisina, N-alquilação de arginina, histidina, ou lisina, alquilação de grupos ácido carboxílico aspártico ou glutâmico, e desamidação de glutamina ou asparagina. Modificações do terminal amino incluem, sem limitação, desamino, alquila N-inferior, alquila N-di-inferior, e modificações N-acila. Modificações do grupo carboxi terminal incluem, sem limitação, a amida, alquil amida inferior, dialquil amida, e modificações alquil éster inferior. Alquila inferior é C₁₋₄ alquila. Além disso, um ou mais grupos laterais, ou grupos terminais, podem ser protegidos por grupos protetores conhecidos por aqueles versados na técnica. O carbono alfa de um aminoácido pode ser mono- ou dimetilado.

Homólogos de moléculas APC

Um homólogo de uma ou mais das seqüências aqui especificadas pode variar em um ou mais aminoácidos como comparado às seqüências definidas, mas é capaz de desempenhar a mesma função, isto é, um homólogo pode ser pretendido como um equivalente funcional de uma seqüência pré-determinada.

Assim, em uma realização preferida da presente invenção, a molécula APC é um homólogo de qualquer uma das mo-

lécúlas aqui mostradas, tal como um homólogo de qualquer uma das moléculas selecionadas do grupo consistindo em:

- APC

- XIGRIS

5 •Drotrecogin alfa ativado

Assim, em uma realização preferida da presente invenção, a molécula APC é um peptídeo contendo uma ou mais substituições, inversões, adições e/ou supressões de aminoácidos, comparado com qualquer uma das moléculas aqui mostradas, tal como uma molécula selecionada do grupo consistindo em:

- APC

- XIGRIS

- Drotrecogin alfa

15 Em uma realização, o número de substituições, supressões ou adições é de 20 aminoácidos ou menos, tal como 15 aminoácidos ou menos, por exemplo, 10 aminoácidos ou menos, tal como 9 aminoácidos ou menos, por exemplo, 8 aminoácidos ou menos, tal como 7 aminoácidos ou menos, por exemplo, 6 aminoácidos ou menos, tal como 5 aminoácidos ou menos, por exemplo, 4 aminoácidos ou menos, tal como 3 aminoácidos ou menos, por exemplo, 2 aminoácidos ou menos (tal como 1), ou qualquer inteiro entre estas quantidades. Em um aspecto da invenção, as substituições incluem uma ou mais substituições conservativas, tal como 20 ou menos substituições conservativas, por exemplo, 18 ou menos, tal como 16 ou menos, por exemplo, 14 ou menos, tal como 12 ou menos, por exemplo 10 ou menos, tal como 8 ou menos, por exemplo, 6 ou

menos, tal como 4 ou menos, por exemplo, 3 ou menos, tal como 2 ou menos substituições conservativas. Uma substituição "conservativa" representa a substituição de um resíduo aminoácido por outro, resíduo aminoácido relacionado pertencendo ao mesmo grupo de aminoácidos, tais como aqueles com uma cadeia lateral hidrofóbica, aqueles com uma cadeia lateral aromática, aqueles com uma cadeia lateral básica, aqueles com uma cadeia lateral ácida, aqueles com uma cadeia lateral hidroxila e aqueles com uma cadeia lateral polar não-ionizada. Exemplos de substituição conservativa incluem a substituição de um resíduo hidrofóbico, como isoleucina, valina, leucina ou metionina por um outro, ou a substituição de um resíduo básico por outro, tal como a substituição de arginina por lisina, ou a substituição de um resíduo ácido por outro, tal como ácido glutâmico por ácido aspártico, ou a substituição de um resíduo polar não-ionizado por outro, tal como a substituição de glutamina por asparagina, e semelhantes. A tabela que se segue lista substituições de aminoácidos conservativas, ilustrativas, mas não limitantes.

Resíduo Original	Substituições Exemplares
Ala	Ser, Thr, Val, Gly
Arg	Lys
Asn	His, Ser
Asp	Glu, Asn
Cys	Ser
Gln	Asn, His
Glu	Asp, Glu

Gly	Ala, Ser
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val, Thr
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu, Thr
Met	Leu, Ile, Val
Phe	Leu, Tyr
Ser	Thr, Ala, Asn
Thr	Ser, Ala
Trp	Arg, Ser
Tyr	Phe
Val	Ile, Leu, Ala
Pro	Ala

Outros homólogos APC apropriados para os usos e processos da presente invenção são seqüências de peptídeos tendo mais que 50 por cento de identidade, e preferivelmente mais que 90 por cento de identidade de seqüência (tal como mais que 91% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 92% de identidade de seqüência, tal como mais que 93% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 94% de identidade de seqüência, tal como mais que 95% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 96% de identidade de seqüência, tal como mais que 97% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 98% de identidade de seqüência, tal como mais que 99% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 99,5% de identidade de seqüência), para qualquer das moléculas aqui mostradas, tal como uma molécula selecio-

nada do grupo consistindo em:

.APC

.XIGRIS

.Drotrecogin alfa

5 Como aqui usada, identidade de seqüência refere-se a uma comparação feita entre duas moléculas usando algoritmos padrões bem conhecidos na técnica. O algoritmo preferido para cálculo de identidade de seqüência para a presente invenção é o algoritmo Smith-Waterman, onde a seqüência refe-
10 rência é usada para definir a porcentagem de identidade de homólogos polipeptídeos sobre seu comprimento. A escolha de valores parâmetros para emparelhamentos, desemparelhamentos, e inserções ou supressões é arbitrária, embora alguns valores parâmetros tenham sido verificados renderem resultados
15 mais biologicamente realísticos que outros. Um conjunto preferido de valores parâmetros para o algoritmo de Smith-Waterman é mostrado na abordagem "segmentos de máxima similaridade", que usa valores de 1 para um resíduo emparelhado e $-1/3$ para um resíduo desemparelhado (um resíduo sendo
20 tanto um nucleotídeo simples como um aminoácido simples) (Waterman, Bull. Math. Biol. 46, 473-500 (1984)). Inserções e supressões ((indels), x, são pesadas como

$$X_k = 1 + k/3,$$

onde k é o número de resíduos em uma dada inserção
25 ou supressão (Id.).

Por exemplo, uma seqüência que é idêntica a uma seqüência de resíduo de 42 aminoácidos, exceto para 18 substituições de aminoácidos e uma inserção de 3 aminoácidos,

pode ter uma porcentagem de identidade dada por:

$$[(1 \times 42 \text{ emparelhamentos}) - (1/3 \times 18 \text{ desemparelhamentos}) - (1 + 3/3 \text{ indels})] / 42 = 81\% \text{ de identidade}$$

Em uma realização preferida da presente invenção, 5 trunicações na extremidade da molécula não são levadas em conta quando calculando identidade de seqüência (isto é, se uma molécula é mais longa que a outra, somente os comprimentos se sobrepondo das moléculas são usados nas análises de identidade de seqüência); em uma outra realização preferida 10 da presente invenção, trunicações são contadas como supressões.

Um homólogo de APC pode incluir formas de D-aminoácidos e pode ser uma molécula tendo uma ou mais substituições, supressões, inversões ou adições de aminoácidos 15 em relação a qualquer uma das moléculas aqui mostradas, tal como uma molécula selecionada do grupo consistindo em:

- . APC
- . XIGRIS
- . Drotrecogin alfa

20 Em uma realização preferida da presente invenção, a molécula de APC é um peptídeo contendo uma ou mais substituições, inversões, adições ou supressões de aminoácidos, comparado com APC. Em uma realização, o número de substituições, supressões, ou adições é de 20 aminoácidos ou menos, 25 tal como 15 aminoácidos ou menos, por exemplo, 10 aminoácidos ou menos, tal como 9 aminoácidos ou menos, por exemplo 8 aminoácidos ou menos, tal como 7 aminoácidos ou menos, por exemplo, 6 aminoácidos ou menos, tal como 5 aminoácidos ou

menos, por exemplo, 4 aminoácidos ou menos, tal como 3 aminoácidos ou menos, por exemplo, 2 aminoácidos ou menos (tal como 1), ou qualquer inteiro entre estas quantidades. Em um aspecto da invenção, as substituições incluem uma ou mais substituições conservativas. Exemplos de apropriadas substituições conservativas são dados acima.

Outros homólogos de APC apropriados para os usos e processos da presente invenção são seqüências de peptídeos derivadas de seqüências de proteína C tendo mais que 50 por cento de identidade de seqüência, e preferivelmente mais que 90 por cento de identidade de seqüência (tal como mais que 91% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 92% de identidade de seqüência, tal como mais que 93% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 94% de identidade de seqüência, tal como mais que 95% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 96% de identidade de seqüência, tal como mais que 97% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 98% de identidade de seqüência, tal como mais que 99% de identidade de seqüência, por exemplo, mais que 99,5% de identidade de seqüência), para (1) SEQ ID NO: 1 e/ou (2) a suas seqüências truncadas. Como aqui usado, identidade de seqüência refere-se a uma comparação feita entre duas moléculas usando algoritmos padrões bem conhecidos na técnica. O algoritmo preferido para cálculo de identidade de seqüência para a presente invenção é o algoritmo de Smith-Waterman, como descrito acima.

Um homólogo de APC também pode ser uma molécula tendo uma ou mais substituições, supressões, inversões ou

adições de aminoácidos em relação a APC humana e pode incluir formas de D-aminoácido.

Em uma outra realização preferida da presente invenção, o dito homólogo de qualquer uma das seqüências aqui
5 pré-determinadas, tal como SEQ ID NO: 1 pode ser definido como:

i)homólogos compreendendo uma seqüência de aminoácidos capaz de ligação seletiva aos fatores de coagulação Va e VIIa, e/ou

10 ii)homólogos tendo uma afinidade de ligação aos fatores de coagulação Va e VIIa substancialmente similar ou maior que APC humana, e/ou

iii)homólogos compreendendo uma seqüência de aminoácidos capaz de ligação seletiva a e inibição de PAI-1
15 e/ou

iv)homólogos tendo uma afinidade de ligação a PAI-1 substancialmente similar ou maior e/ou

v)homólogos tendo uma afinidade de ligação a receptor de proteína C endotelial (ECPCR) substancialmente si-
20 milar ou maior e/ou

vi)homólogos tendo meia-vida substancialmente similar, maior ou menor após deposição nas vias aéreas

Moléculas de APC derivadas quimicamente

É ainda entendido que moléculas de APC apropriadas
25 para uso na presente invenção podem ser quimicamente derivadas ou alteradas, por exemplo, peptídeos com resíduos de aminoácidos não-naturais (por exemplo, resíduo taurina, resíduos de beta- e gama-aminoácidos, e resíduos de D-

aminoácidos), modificações de grupo funcional terminal-C, como amidas, ésteres, e modificações cetona terminal-C e modificações de grupo funcional terminal-N, tais como aminas aciladas, bases Schiff, ou ciclização, tal como encontrado, por exemplo, no aminoácido piroglutâmico.

Conjugados de molécula APC

As moléculas de APC da presente invenção também podem ser modificadas com metades não-polipeptídeo, tais como metades PEG ou açúcar, para render compostos APC que têm uma aumentada resistência a inativação através de, por exemplo, plasma humano e alfa-1-antitripsina, por isso mostrando uma aumentada meia-vida in vivo. Exemplos preferidos incluem conjugados de proteína C, onde pelo menos um sítio de N-glicosilação in vivo adicional foi introduzido.

Apropriados exemplos são descritos na patente US 6 933 367 ("Proteína C ou moléculas semelhantes a proteína C ativadas"), o conteúdo da qual é aqui incorporado por referência.

Assim, em uma realização da presente invenção, a molécula APC usada é um polipeptídeo APC N-glicosilado ou um seu análogo.

Em uma outra realização da presente invenção, a molécula APC é um polipeptídeo APC O-glicosilado ou um seu análogo.

Ainda em uma realização, a molécula APC, onde pelo menos um sítio de N-glicosilação adicional foi introduzido.

Em uma outra realização da presente invenção, a molécula APC usada é um polipeptídeo APC ou um seu análogo

ainda contendo um ácido graxo O-ligado ou N-ligado.

Fragmentos de APC

Em uma realização a molécula de APC pode ser um fragmento de APC. Um fragmento é uma porção de APC, homólogo de APC ou derivado de APC. Exemplos de fragmentos incluem domínios 1 ou 2 semelhantes a EGF, ou o domínio serina protease ou supressões do terminus-N ou o terminus-C do peptídeo APC natural ou ambas. Fragmentos de APC compreendem pelo menos 20 aminoácidos consecutivos de SEQ ID NO: 1. Por exemplo, um fragmento pode ser de 20 aminoácidos ou mais, tal como 25 aminoácidos ou mais, por exemplo, 30 aminoácidos ou mais, tal como 50 aminoácidos ou mais, por exemplo, 100 aminoácidos ou mais, tal como 150 aminoácidos ou mais, por exemplo, 200 aminoácidos ou mais, tal como 250 aminoácidos ou mais, por exemplo, 300 aminoácidos ou mais, tal como 350 aminoácidos ou mais, por exemplo, 400 aminoácidos ou mais, tal como 450 aminoácidos ou mais, por exemplo, 460 aminoácidos em comprimento ou qualquer inteiro entre estas quantidades.

Administração intratraqueal, intrabronquial ou intraalveolar

Processos de administração incluem, mas não são limitados a, espargimento, lavagem, inalação, ou instilação, usando como fluido uma composição fisiologicamente aceitável na qual o fator ou fatores de coagulação de sangue foram dissolvidos. Quando usados aqui, os termos "administração intratraqueal, intrabronquial ou intraalveolar" inclui todas as formas de tal administração pelo que o fator de coagula-

ção é aplicado na traquéia, os brônquios, ou os alvéolos, respectivamente, se através de instilação de uma solução do fator, através de aplicação de fator em uma forma pulverizada, ou através de permissão de fator atingir a parte relevante das vias aéreas através de inalação do fator como uma solução aerossol ou nebulizada ou pulverizada ou gel, com ou sem estabilizadores ou outros excipientes adicionados.

Em uma outra realização, administração intratraqueal, intrabronquial ou intraalveolar não inclui inalação do produto mas a instilação ou aplicação de uma solução do fator ou um pulverizado ou um gel contendo o fator na traquéia ou vias aéreas inferiores.

Processos de administração intrabronquial / alveolar incluem, mas não são limitados a, administração de lavagem broncoalveolar (BAL) de acordo com processos bem conhecidos por aqueles versados na técnica, usando como um fluido de lavagem uma composição fisiologicamente aceitável na qual a AP e/ou um homólogo de APC e/ou um derivado e/ou conjugado foi dissolvido, ou realmente através de qualquer outra forma efetiva de administração intrabronquial incluindo o uso de pulverizados nebulizados contendo o anticoagulante em forma seca, com ou sem excipientes, ou a aplicação direta do anticoagulante em solução ou forma pulverizada ou gel durante broncoscopia. Processos de administração intratraqueal incluem, mas não são limitados a, lavagem traqueal cega com uma solução similar de proteína C ativada dissolvida, ou a inalação de gotículas de fluido feitas aerossol nebulizadas contendo a proteína C ativada dissolvida obtida através do

uso de qualquer aparelhagem nebulizadora adequada para este propósito.

A presente invenção provê uma nova adição útil para os processos de tratamento de ALI, ARDS, pneumonia e outras condições associadas com deposição de fibrina broncoalveolar. Além disso, a administração dos anticoagulantes através de vias aéreas é esperada evitar os indesejados efeitos adversos hemorrágicos de administração sistêmica de anticoagulantes como APC, cujo uso intravenoso está associado com uma significativa incidência de hemorragia interna incluindo hemorragia cerebral. Ao mesmo tempo, a aplicação dos anticoagulantes através das vias aéreas é esperada potencializar seu efeito sobre deposição de fibrina extra - vascular nos pulmões quando comparada com sua administração sistêmica. É esperado que a dosagem total de um agente anticoagulante e antiinflamatório tal como APC pode ser usada sozinha localmente dentro dos espaços de ar ou pode ser dividida entre a rota intravenosa convencional e a rota de vias aéreas da presente invenção para obtenção de ótimo balanço entre os efeitos pulmonares locais e sistêmicos do tratamento, e uma reduzida incidência de efeito adverso de droga, por exemplo, em pacientes com severa sepsia, choque séptico e ARDS. Além disso, o intervalo de tempo ("janela de oportunidade") durante o qual o uso intravenoso de APC é provável de ser benéfico é limitado. Um intervalo de tempo mais longo de resposta de droga pode ser esperado quando o agente é usado na fase pós-séptica ou mesmo na fase ARDS posterior dominada por deposição de fibrina alveolar, por exemplo, como visto

em ALI e ARDS.

Uma realização preferida da presente invenção compreende administração local intrabronquial a pacientes humanos com ARDS de APC por meio de lavagem broncoalveolar com fluido de lavagem (por exemplo, 25 mL a 200 mL de solução salina isotônica) no qual uma apropriada dose (por exemplo, 2 mg a 5 mg ou mais) de APC foi dissolvida. Esta administração é repetida em intervalos durante um ou mais dias dependendo da duração de fases inicial ou posterior de ALI ou ARDS. Como tratamento suplementar ou combinatorial em pacientes satisfazendo as indicações para administração intravenosa de APC, APC pode ser também dada através de infusão intravenosa.

Outros processos preferidos de administração podem incluir o uso dos seguintes dispositivos:

1. Nebulizadores pressurizados usando mistura comprimida de ar / oxigênio
2. Nebulizadores ultrassônicos
3. Nebulizadores de microbomba eletrônica (por exemplo, Aeroneb Professional Nebulizer)
4. Inalador de dose medida (MDI)
5. Sistemas de inalador de pulverizado seco (DPI)

O aerossol pode ser liberado através de a) máscaras de face ou b) via tubos endotraqueais em pacientes entubados durante ventilação mecânica (dispositivo 1, 2 e 3). Os dispositivos 4 e 5 também podem ser usados pelo paciente sem assistência contanto que o paciente seja capaz de auto-ativar o dispositivo aerossol.

Concentrações preferidas para uma solução compreendendo APC e/ou homólogos e/ou derivados de APC estão na faixa de 0,1 µg a 10000 µg de ingrediente ativo por mL de solução. Usando formas monoméricas dos compostos, as concentrações apropriadas estão freqüentemente na faixa de 0,1 µg a 5000 µg por mL de solução, tal como na faixa de cerca de 0,1 µg a 3000 µg por mL de solução, e especialmente na faixa de cerca de 0,1 µg a 1000 µg por mL de solução, tal como na faixa de cerca de 0,1 µg a 250 µg por mL de solução. Uma concentração preferida pode ser de cerca de 0,1 a cerca de 5,0 mg, preferivelmente de cerca de 0,3 mg a cerca de 3,0 mg, tal como de cerca de 0,5 a cerca de 1,5 mg e especialmente na faixa de 0,8 a 1,0 mg por mL de solução. Usando formas multiméricas dos compostos, as concentrações apropriadas estão freqüentemente na faixa de 0,1 µg a 1000 µg por mL de solução, tal como na faixa de cerca de 0,1 µg a 750 µg por mL de solução, e especialmente na faixa de cerca de 0,1 µg a 500 µg por mL de solução, tal como na faixa de cerca de 0,1 µg a 250 µg por mL de solução. Uma concentração preferida pode ser de cerca de 0,1 a cerca de 5,0 mg, preferivelmente de cerca de 0,3 mg a cerca de 3,0 mg, tal como de cerca de 0,5 a cerca de 1,5 mg e especialmente na faixa de 0,8 a 1,0 mg por mL de solução.

Indicações

Um aspecto da presente invenção refere-se a um processo de tratamento ou prevenção de deposição de fibrina extra - vascular nas vias aéreas. Assim, a presente invenção refere-se ao tratamento de indivíduos sofrendo de, ou em

risco de sofrerem de, deposições de fibrina extra - vascular causadas por uma doença inflamatória de pulmão.

Em um aspecto preferido a doença inflamatória de pulmão é selecionada do grupo consistindo em:

- 5 .ALI
- .ARDS
- .pneumonia
- .doença broncoalveolar aguda
- .doença broncoalveolar crônica
- 10 .alveolite de fibrose ou
- .asma bronquial
- .alveolite
- .bronquiolite
- .pneumonia organizando bronquiolite obliterans
- 15 (BOPA)
- .doença de enxerto-versus-hospedeiro (GVHD)
- .pneumonia de pneumocystis carinii (PCP)
- .pneumonite, por exemplo, pneumonite de aspiração
- .pneumonite induzida por droga (por exemplo, devi-
- 20 do a metotrexato, bleomicina ou sirolimus)
- .alveolite de fibrose, aguda ou crônica
- .fibrose cística
- .fibrose pulmonar idiopática

Em uma outra realização, a doença inflamatória de pulmão é relacionada a uma condição selecionada do grupo consistindo em:

- .trauma pulmonar direto ou indireto
- .pancreatite

.pneumonite de aspiração

.sepsia

.sepsia severa e/ou

.choque séptico

- 5 .pneumonia de pneumociste Carinii (PCP) como um adjuvante profilático ou terapia preventiva ou como um tratamento de ARDS manifestando PCP induzida por PCP, isto é, antes ou inicialmente na fase PCP ou em ARDS manifesta simultâneo com a terapia de antibiótico anti-Pneumociste com, 10 por exemplo, Sulfamethoxazol com Trimethoprim.

Composições Farmacêuticas

Composições ou formulações farmacêuticas para uso na presente invenção incluem uma preparação APC em combinação com, preferivelmente dissolvida em, um carreador farmacêuticamente aceitável, preferivelmente um carreador ou diluente aquoso. A composição farmacêutica pode ser um sólido, um líquido, um gel ou um aerossol. Uma variedade de carreadores aquoso podem ser usados, tais como solução salina 0,9%, solução salina tamponada, tampões fisiologicamente 15 compatíveis e semelhantes. As composições podem ser esterilizadas através de técnicas convencionais bem conhecidas por aqueles versados na técnica. As resultantes soluções aquosas podem ser embaladas para uso ou filtradas sob condições assépticas e congeladas - secadas, a preparação congelada - 20 secada sendo dissolvida em uma solução aquosa estéril antes de administração.

As composições podem conter substâncias ou adjuvantes auxiliares farmacêuticamente aceitáveis, incluindo,

sem limitação, agentes de ajuste de pH e tamponantes, e/ou agentes de ajuste de tonicidade, tais como, por exemplo, acetato de sódio, lactato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, etc. As formulações podem

5 conter carreadores e excipientes farmacologicamente aceitáveis incluindo microesferas, lipossomas, microcápsulas, nanopartículas ou semelhantes. Lipossomas convencionais são tipicamente compostos por fosfolípidos (carregados negativamente ou neutros) e/ou colesterol. As lipossomas são es-

10 truturas vesiculares baseadas em bicamadas de lipídeo circundando compartimentos aquosos. Elas podem variar em suas propriedades físico-químicas como tamanho, composição de lipídeo, carga de superfície e número e fluidez das bicamadas de fosfolípidos. Os lipídeos mais frequentemente usados para

15 formação de lipossoma são: 1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfocolina (DLPC), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfo colina (DMPC), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo colina (DPPC), 1,2-diesteatoil-sn-glicero-3-fosfo colina (DSPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo colina (DOPC), 1,2-dimiristoil-

20 sn-glicero-3-fosfo etanolamina (DMPE), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo etanolamina (DPPE), 1,2-dioleil-sn-glicero-3-fosfo etanolamina (DOPE), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato (sal mono sódio) (DMPA), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato (sal mono sódio) (DPPA), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-

25 fosfato (sal mono sódio) (DOPA), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (sal de sódio) (DMPG), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (sal de sódio) (DPPG), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-

glicerol)] (sal de sódio) (DOPG), 1,2-dimiristoil-sn-glícero-3-[fosfo-L-serina] (sal de sódio) (DMPS), 1,2-dipalmitoil-sn-glícero-3-[fosfo-L-serina] (sal de sódio) (DPPS), 1,2-dioleoil-sn-glícero-3-[fosfo-L-serina] (sal de sódio) (DOPS), 1,2-dioleoil-sn-glícero-3-fosfo etanol amina-N-(glutarila) (sal de sódio) e 1,1',2,2'-tetra miristoil Cardioliopina (sal de amônio). Formulações compostas por DPPC em combinação com outros lipídeos ou modificadores de lipossomas são preferidos, por exemplo, em combinação com
 10 colesterol e/ou fosfatidil colina.

Lipossomas de circulação longa são caracterizadas por sua habilidade para extravasar em sítios de corpo onde a permeabilidade da parede vascular é aumentada. O meio mais popular de produção de lipossomas de circulação longa é li-
 15 gar polímero hidrofílico de polietileno glicol (PEG) covalentemente à superfície exterior da lipossoma. Alguns dos lipídeos preferidos são: 1,2-dipalmitoil-sn-glícero-3-fosfo etanolamina-N-[metoxi (polietileno glicol)-2000] (sal de amônio), 1,2-dipalmitoil-sn-glícero-3-fosfo etanol amina-N-
 20 [metoxi(polietileno glicol)-5000] (sal de amônio), 1,2-dioleoil-3-trimetil amônio propano (sal cloreto) (DOTAP).

Lipídeos possíveis aplicáveis para lipossomas são fornecidos por Avanti, Polar Lipids, Inc., Alabaster, Al. Adicionalmente, a suspensão de lipossomas pode incluir agen-
 25 tes protetores de lipídeo que protegem os lipídeos contra dano de radical livre e lipídeo peroxidante em estocagem. Eliminadores de radical livre lipofílico, como alfa tocoferol e quelantes específicos de íons solúveis em água, como

ferrioxianina, são preferidos.

Uma variedade de processos são disponíveis para preparação de lipossomas, como descrito em, por exemplo, Szoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467 (1980), patentes US 4 235 871, 4 501 728 e 4 837 028, todas as quais são aqui incorporadas por referência. Um outro processo produz vesículas multilamelares de tamanhos heterogêneos. Neste processo, os lipídeos de formação de vesícula são dissolvidos em um apropriado solvente orgânico ou sistema solvente e secados sob vácuo ou um gás inerte para formar um filme de lipídeo fino. Se desejado, o filme pode ser re-dissolvido em um apropriado solvente, tal como butanol terciário, e então liofilizado para formar uma mistura homogênea de lipídeos que está em uma forma semelhante a pulverizado mais facilmente hidratada. Este filme é coberto com uma solução aquosa da droga alvo e o componente alvejante e deixado hidratar, tipicamente em um período de 15-60 minutos com agitação. A distribuição de tamanho das resultantes vesículas multilamelares pode ser desviada para menores tamanhos através de hidratação de lipídeos sob condições de agitação mais vigorosas ou através de adição de detergentes solubilizantes como desoxicolato.

Micelas são formadas por tensoativos (moléculas que contêm uma porção hidrofóbica e um ou mais grupos iônicos ou de outro modo fortemente hidrofílicos) em solução aquosa.

Tensoativos comuns bem conhecidos por aqueles versados na técnica podem ser usados nas micelas da presente

invenção. Tensoativos apropriados incluem laureato de sódio, oleato de sódio, lauril sulfato de sódio, octa oxietileno glicol monododecil éter, octoxinol 9 e PLURONIC F-127 (Wyandotte Chemicals Corp.). Tensoativos preferidos são detergentes polioxipropileno e polioxietileno compatíveis com injeção IV tais como, TWEEN-80, Pluronic F-68, n-octil-beta-D-glucopiranosídeo, e semelhantes. Em adição, fosfolipídeos, tais como aqueles descritos para uso na produção de lipossomas, também podem ser usados para formação de micela.

10 Em alguns casos, será vantajoso incluir um composto, que promove liberação da substância ativa para seu alvo.

Regimes de Dosagem

As preparações são administradas em uma maneira compatível com a formulação de dosagem, e em tal quantidade que será terapeuticamente efetiva. A quantidade a ser administrada depende do sujeito a ser tratado, incluindo, por exemplo, o peso e idade do sujeito, a doença a ser tratada e o estágio de doença. Faixas de dosagem apropriadas são por quilo de peso de corpo normalmente da ordem de várias centenas de μg de ingrediente ativo por administração com uma faixa preferida de cerca de 0,1 μg a 10000 μg por quilo de peso de corpo. Usando formas monoméricas dos compostos, as apropriadas dosagens estão freqüentemente na faixa de 0,1 μg a 5000 μg por quilo de peso de corpo, tal como na faixa de cerca de 0,1 μg a 3000 μg por quilo de peso de corpo, e especialmente na faixa de cerca de 0,1 μg a 1000 μg por quilo de peso de corpo. Usando formas multiméricas dos compostos, as dosagens apropriadas estão freqüentemente na faixa de 0,1

µg a 1000 µg por quilo de peso de corpo, tal como na faixa de cerca de 0,1 µg a 750 µg por quilo de peso de corpo, e especialmente na faixa de cerca de 0,1 µg a 500 µg por quilo de peso de corpo tal como na faixa de cerca de 0,1 µg a 250 µg por quilo de peso de corpo. Uma dosagem preferida pode ser cerca de 0,1 a cerca de 5,0 mg, preferivelmente de cerca de 0,3 mg a cerca de 3,0 mg, tal como de cerca de 0,5 a cerca de 1,5 mg e especialmente na faixa de 0,8 a 1,0 mg por administração. Administração pode ser realizada uma vez ou pode ser seguida por administrações subseqüentes. A dosagem também dependerá da rota de administração e variará com a idade, sexo e peso do sujeito a ser tratado. Uma dosagem preferida de formas multiméricas pode estar no intervalo de 1 mg a 70 mg por 70 quilos de peso de corpo.

Faixas de dosagens diárias apropriadas são por quilo de peso de corpo por dia normalmente da ordem de várias centenas de µg de ingrediente ativo por dia com uma faixa preferida de cerca de 0,1 µg a 10000 µg por quilo de peso de corpo por dia. Usando formas monoméricas dos compostos, as dosagens apropriadas estão freqüentemente na faixa de 0,1 µg a 5000 µg por quilo de peso de corpo por dia, tal como na faixa de cerca de 0,1 µg a 3000 µg por quilo de peso de corpo por dia, e especialmente na faixa de cerca de 0,1 µg a 1000 µg por quilo de peso de corpo por dia. Usando formas multiméricas dos compostos, as dosagens apropriadas estão freqüentemente na faixa de 0,1 µg a 1000 µg por quilo de peso de corpo por dia, tal como na faixa de cerca de 0,1 µg a 750 µg por quilo de peso de corpo por dia, e especialmente

na faixa de cerca de 0,1 μ g a 500 μ g por quilo de peso de corpo por dia, tal como na faixa de cerca de 0,1 μ g a 250 μ g por quilo de peso de corpo por dia. Uma dosagem preferida pode ser de cerca de 0,1 a cerca de 100 μ g, preferivelmente de cerca de 0,1 a cerca de 50 μ g, tal como de cerca de 0,3 a cerca de 30 μ g e especialmente na faixa de 1,0 a 10 μ g por quilo de peso de corpo por dia. Administração pode ser realizada de uma vez ou pode ser seguida por administrações subseqüentes. A dosagem também dependerá da rota de administração e variará com a idade, sexo e peso do sujeito a ser tratado. A dosagem preferida de formas multiméricas pode estar no intervalo de 1 mg a 70 mg por 70 quilos de peso de corpo por dia.

Embalagem Médica

Os compostos usados na invenção podem ser administrados sozinhos ou em combinação com carreadores ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis, em doses simples ou múltiplas. As formulações podem ser convenientemente apresentadas em forma de dosagem unitária através de processos conhecidos por aqueles versados na técnica.

É preferido que os compostos de acordo com a invenção sejam providos em um kit. Um tal kit tipicamente contém um composto ativo em formas de dosagem para administração. Uma forma de dosagem contém uma quantidade suficiente de composto ativo de modo que um desejável efeito pode ser obtido quando administrado a um sujeito.

Assim, é preferido que a embalagem médica compreenda uma quantidade de unidades de dosagens correspondendo

ao regime de dosagem relevante. Da mesma maneira, em uma realização, a embalagem médica compreende uma composição farmacêutica compreendendo um composto como definido acima ou um seu sal farmacêuticamente aceitável e carreadores, veículos e/ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis, a dita embalagem compreendendo de 1 a 7 unidades de dosagem, pelo que tendo unidades de dosagem para um ou mais dias, ou de 7 a 21 unidades de dosagem, ou seus múltiplos, pelo que tendo unidades de dosagem para uma semana de administração ou várias semanas de administração.

As unidades de dosagem podem ser como definidas acima. A embalagem médica pode estar em qualquer forma apropriada para administração intratraqueal, intrabronquial ou intraalveolar. Em uma realização preferida a embalagem está na forma de um frasco, ampola, tubo, embalagem de bolha, cartucho ou cápsula.

Quando a embalagem médica compreende mais de uma unidade de dosagem, é preferido que a embalagem médica seja provida com um mecanismo para ajustar cada administração para somente uma dosagem unitária.

Preferivelmente, um kit contém instruções indicando o uso da forma de dosagem para obter um desejado efeito e a quantidade de forma de dosagem a ser tomada em um especificado período de tempo. Da mesma maneira, em uma realização a embalagem médica compreende instruções para administração de composição farmacêutica.

Exemplos

Exemplo 1

Um paciente de 60 anos desenvolveu ARDS severa com opacidades localizadas principalmente no pulmão direito como julgado por radiografia de tórax. Lavagem broncoalveolar (BAL) foi realizada nos brônquios de lóbulo inferior direito
5 via um broncoscópio com uma dose simples de 5 mg de drotrecogin-alfa ativado (Xigris) dissolvidos em 20 mL de solução salina normal. Não existiram efeitos adversos aparentes e nenhum sangramento a partir das vias aéreas foi observado. No dia seguinte houve algum clareamento das opacidades no
10 lóbulo inferior direito que foi tratado com BAL. Por outro lado, a dose simples de APC não aperfeiçoa troca de gás como monitorado pela razão PaO_2/FiO_2 .

Exemplo 2

Um menino de 11 anos de idade com Mb. Hodgkin 2003
15 inicialmente tratado com quimioterapia. Uma recorrência foi documentada em 2005, onde ele foi tratado com terapia de radiação e transplante de medula óssea autólogo (BMT). Biopsia de pulmão realizada antes de entrada em ICU mostrou: nenhum sinal de doença pulmonar de enxerto versus hospedeiro (G-
20 vHD). Nenhum sinal de infiltração de linfoma. Admitido para ICU 9 dias após o BMT para insuficiência aguda de pulmão (ALI) e febre alta contínua com sepsia. Tratado inicialmente com antibióticos empíricos de amplo espectro. No dia 4 capacidade de oxigenação foi ainda reduzida com uma razão
25 $PaO_2/FiO_2 < 200$ à despeito de alto PEEP. Filme de tórax mostrou infiltrações difusas bilaterais localizadas para todos os 4 quadrantes do campo de pulmão. Ecocardiografia mostrou nenhuma derivação cardíaca ou insuficiência de válvula com

função miocárdial normal. Nenhuma outra disfunção de órgão foi detectada. Paciente tem disfunção mono órgão com ARDS severa. Lavagem broncoalveolar (BAL) foi sem *Candida Spp.*, *Aspergillus*, vírus ou bactérias. Baseado em uma decisão de

5 Institutional Review Board (IRB) terapia de inalação com proteína C ativada (Drotrecogin alfa ativado) em uma dose de 5 mg x 3 via nebulizador (Aeroneb) foi iniciada. Já após 3 doses 12 horas depois, os infiltrados no filme de tórax foram claramente reduzidos; simultaneamente a saturação de o-

10 xigênio arterial aumentou de 85% para 95% enquanto sobre $FiO_2 = 1,0$. Não existiram em qualquer momento efeitos adversos, por exemplo, sangramento das vias aéreas durante ou após a inalação de APC. 24 horas após o início da terapia de inalação com APC o paciente morreu de insuficiência circula-

15 tória devido a falha de ventrículo direito do coração, isto é, cor pulmonale aguda.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> Drugrecure ApS

<120> "ADMINISTRAÇÃO EM VIAS AÉREAS DE PROTEÍNA C ATIVADA EM CONDIÇÕES INFLAMATÓRIAS AFETANDO O TRATO RESPIRATÓRIO"

<130> P1168PC01

<150> 60/693,968

<151> 2005-06-24

<160> 1

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 419

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 1

Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Leu Arg His Ser Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15

Cys Ile Glu Glu Ile Cys Asp Phe Glu Glu Ala Lys Glu Ile Phe Gln
20 25 30

Asn Val Asp Asp Thr Leu Ala Phe Trp Ser Lys His Val Asp Gly Asp
35 40 45

Gln Cys Leu Val Leu Pro Leu Glu His Pro Cys Ala Ser Leu Cys Cys
50 55 60

Gly His Gly Thr Cys Ile Asp Gly Ile Gly Ser Phe Ser Cys Asp Cys
65 70 75 80

Arg Ser Gly Trp Glu Gly Arg Phe Cys Gln Arg Glu Val Ser Phe Leu
85 90 95

Asn Cys Ser Leu Asp Asn Gly Gly Cys Thr His Tyr Cys Leu Glu Glu
100 105 110

Val Gly Trp Arg Arg Cys Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Lys Leu Gly Asp
115 120 125

Asp Leu Leu Gln Cys His Pro Ala Val Lys Phe Pro Cys Gly Arg Pro
130 135 140

Trp Lys Arg Met Glu Lys Lys Arg Ser His Leu Lys Arg Asp Thr Glu
145 150 155 160

Asp Gln Glu Asp Gln Val Asp Pro Arg Leu Ile Asp Gly Lys Met Thr
165 170 175

Arg Arg Gly Asp Ser Pro Trp Gln Val Val Leu Leu Asp Ser Lys Lys
180 185 190

Lys Leu Ala Cys Gly Ala Val Leu Ile His Pro Ser Trp Val Leu Thr
 195 200 205
 Ala Ala His Cys Met Asp Glu Ser Lys Lys Leu Leu Val Arg Leu Gly
 210 215 220
 Glu Tyr Asp Leu Arg Arg Trp Glu Lys Trp Glu Leu Asp Leu Asp Ile
 225 230 235 240
 Lys Glu Val Phe Val His Pro Asn Tyr Ser Lys Ser Thr Thr Asp Asn
 245 250 255
 Asp Ile Ala Leu Leu His Leu Ala Gln Pro Ala Thr Leu Ser Gln Thr
 260 265 270
 Ile Val Pro Ile Cys Leu Pro Asp Ser Gly Leu Ala Glu Arg Glu Leu
 275 280 285
 Asn Gln Ala Gly Gln Glu Thr Leu Val Thr Gly Trp Gly Tyr His Ser
 290 295 300
 Ser Arg Glu Lys Glu Ala Lys Arg Asn Arg Thr Phe Val Leu Asn Phe
 305 310 315 320
 Ile Lys Ile Pro Val Val Pro His Asn Glu Cys Ser Glu Val Met Ser
 325 330 335
 Asn Met Val Ser Glu Asn Met Leu Cys Ala Gly Ile Leu Gly Asp Arg
 340 345 350
 Gln Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Met Val Ala Ser Phe
 355 360 365
 His Gly Thr Trp Phe Leu Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys
 370 375 380
 Gly Leu Leu His Asn Tyr Gly Val Tyr Thr Lys Val Ser Arg Tyr Leu
 385 390 395 400
 Asp Trp Ile His Gly His Ile Arg Asp Lys Glu Ala Pro Gln Lys Ser
 405 410 415
 Trp Ala Pro

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para tratamento ou prevenção de deposição de fibrina extra-vascular nas vias aéreas, em particular os espaços alveolares ou broncoalveolares, em um sujeito humano, **CARACTERIZADO** pelo fato de compreender administração ao sujeito de proteína C ativada humana ou um seu derivado biologicamente ativo, através das vias aéreas por meio de administração intratraqueal, intrabronquial ou intraalveolar.

10 2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a deposição de fibrina é causada por uma doença inflamatória de pulmão.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a doença inflamatória de pulmão é selecionada do grupo consistindo em: ALI, ARDS, pneumonia, doenças broncoalveolares agudas, doenças broncoalveolares crônicas, alveolite de fibrose, ou asma bronquial.

4. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a doença inflamatória de pulmão é relacionada a uma condição selecionada do grupo consistindo em: trauma pulmonar direto ou indireto, pancreatite, pneumonite de aspiração, sepsia, sepsia severa, e/ou choque séptico e/ou insuficiência de pulmão aguda induzida por droga.

25 5. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C ativada é administrada através de lavagem alveolar com uma solução da proteína C ativada.

6. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C ativada é administrada através de lavagem traqueal cega com uma solução da proteína C ativada.

5 7. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C ativada é administrada através de inalação de uma solução nebulizada da proteína C ativada.

10 8. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C ativada é administrada através de inalação da proteína C ativada em forma pulverizada nebulizada.

15 9. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C ativada é administrada através de aplicação direta da proteína C ativada durante broncoscopia.

 10. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o humano é um adulto.

20 11. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o humano é uma criança.

25 12. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que APC é administrada em uma quantidade de 0,1 µg/kg a cerca de 10 mg/kg de peso de corpo por dia.

 13. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de ainda compre-

ender administração ao sujeito humano de um anticoagulante sistemicamente como uma terapia adjuvante.

14. Processo, de acordo com a reivindicação 13, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o humano é um adulto.

5 15. Processo, de acordo com a reivindicação 13, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o humano é uma criança.

P10613137-9

RESUMO

"ADMINISTRAÇÃO EM VIAS AÉREAS DE PROTEÍNA C ATIVADA EM CONDIÇÕES INFLAMATÓRIAS AFETANDO O TRATO RESPIRATÓRIO"

A presente invenção provê processos para o tratamento local de deposição de fibrina pulmonar extra-vascular crônica e aguda e/ou redução de indesejados efeitos associados com administração sistêmica de anticoagulantes a um sujeito via administração em vias aéreas para o sujeito via rotas intratraqueal, intrabronquial ou intraalveolar de anticoagulantes ou seus derivados biologicamente ativos.

PÁGINAS MODIFICADAS
(DE ACORDO COM O RELATÓRIO
DO EXAME PRELIMINAR INTERNACIONAL)

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de proteína C ativada humana ou um seu derivado biologicamente ativo, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para uso como o único medicamento no tratamento ou prevenção de deposição de fibrina extra-vascular nos espaços alveolares ou broncoalveolares, em um sujeito humano através de administração através de vias aéreas por meio de administração intratraqueal, intrabronquial, ou intraalveolar.

2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a deposição de fibrina é causada por uma doença inflamatória dos pulmões.

3. Uso, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a doença inflamatória dos pulmões é selecionada do grupo consistindo em : ALI, ARDS, pneumonia, doenças broncoalveolares agudas, doenças broncoalveolares crônicas, alveolite de fibrose, ou asma bronquial.

4. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a doença inflamatória de pulmão é relacionada a uma condição selecionada do grupo consistindo em: trauma pulmonar direto ou indireto, pancreatite, pneumonite de aspiração, sepsia, sepsia severa, e/ou choque séptico.

5. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C ativada é administrada através de lavagem broncoalveolar com uma solução da proteína C ativada.

6. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações

ções anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C ativada é administrada através de lavagem traqueal cega com uma solução da proteína C ativada.

7. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C
5 ativada é administrada através de inalação de uma solução nebulizada da proteína C ativada.

8. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C
10 ativada é administrada através de inalação da proteína C ativada em forma pulverizada nebulizada.

9. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína C
15 ativada é administrada através de aplicação direta da proteína C ativada durante broncoscopia.

10. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o humano é um adulto.

11. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o humano é uma
20 criança.

12. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que APC é administrada em uma quantidade de 0,1 µg/kg a cerca de 10
25 mg/kg de peso de corpo por dia.

13. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a doença inflamatória de pulmão é selecionada de ALI e ARDS.