



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

(21) PI 0717177-3 A2



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

(62) Data de Depósito do Pedido Original:
PI0109685 - 23/03/2001

(22) Data de Depósito: 19/09/2007

(43) Data da Publicação: 08/10/2013
(RPI 2231)

(51) Int.Cl.:

A61K 38/16

A61K 31/66

(54) Título: FORMULAÇÕES DE TENSOATIVO
PULMONAR E MÉTODOS PARA PROMOÇÃO DE
ELIMINAÇÃO DE MUÇO

(30) Prioridade Unionista: 19/09/2006 US 60/845,991

(73) Titular(es): Discovery Laboratories, INC.

(72) Inventor(es): Mark E. Johnson, Robert J. Capetola, Robert
Segal, Thomas Hofmann

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2007020260 de
19/09/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/036293de
27/03/2008

(57) Resumo: "SISTEMA E MÉTODO DE FUMO ELÉTRICO". Um sistema de fumo elétrico (21) compreendendo um cigarro (23) e um acendedor elétrico (25), no qual o cigarro (23) compreende uma superfície fosca de tabaco tubular (66) parcialmente cheia com material de tabaco (80) de modo a definir uma porção de barra de tabaco cheia (60) e uma porção de barra de tabaco vaga (90). O cigarro (23) e o acendedor (25) são mutuamente dispostos de modo que quando o cigarro (23) é recebido no acendedor (25), o elemento do aquecedor elétrico (37) do acendedor (25) pelo menos parcialmente sobrepõe pelo menos uma porção da porção da barra de tabaco cheia (60). O cigarro (23) e o acendedor (25) são também mutuamente dispostos de modo que quando o cigarro (23) é recebido no acendedor (25), a extremidade livre (15) do cigarro (23) fica fechada. O cigarro (23) inclui uma zona de perfurações (12,14) em uma localização ao longo da porção da barra de tabaco cheia (60), com o cigarro sendo isento de perfurações ao longo da porção da barra de tabaco vaga (90).

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**FORMULAÇÕES DE TENSOATIVO PULMONAR E MÉTODOS PARA PROMOÇÃO DE ELIMINAÇÃO DE MUÇO**".

O presente pedido reivindica o benefício do Pedido Provisório U.S. Nº 60/845.991, depositado em 19 de Setembro de 2006, os conteúdos todo do qual são incorporados por referência aqui.

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se à farmacologia. Tratamentos que facilitam a eliminação de muco em distúrbios pulmonares, tais como fibrose cística, discinesia ciliar primária, bronquiectasia, asma e pneumonia associada a ventilador, são proporcionados.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Várias publicações, incluindo patentes, pedidos publicados, artigos técnicos e artigos escolares, são citados por todo o relatório descritivo. Cada uma dessas publicações citadas é incorporada por referência aqui em sua totalidade.

Fibrose cística (CF) é um distúrbio genético recessivo com uma incidência em aproximadamente um a cada 3.500 nascimentos vivos. A CF resulta de uma mutação no gene regulador de transmembrana em fibrose cística e uma deficiência resultante no transporte de íons. O resultado dessas mutações é a secreção de muco viscoso, anormalmente espesso que obstrui os pulmões e as vias aéreas (Gibson RL e outros (2003) Am. J. Respir. Crit. Care Med. 168: 918-51). Anormalidades no transporte de íons nas vias aéreas de pacientes com CF leva à desidratação de líquido da superfície das vias aéreas. Muco nas vias aéreas pode, então, se tornar aderente às superfícies das vias aéreas, eventualmente obstruir as vias aéreas em CF e servir como um substrato para colonização bacteriana e infecção crônica.

Além de CF, numerosas outras doenças pulmonares crônicas ou transitórias são caracterizadas pela retenção de secreções mucosas nos pulmões e vias aéreas. Essas incluem bronquite aguda ou crônica e outras doenças pulmonares obstrutivas crônicas (COPD), bronquiectasia, bronquiolite, discinesia ciliar primária ou secundária, asma, sinusite e pneumonia.

Tensoativo pulmonar (PS) é importante para a integridade dos pulmões (Griese M e outros (2005) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 170: 1000-5). Tensoativos pulmonares são sintetizados por células epiteliais e são compostos de aproximadamente 90% de lipídios e 10% de proteínas (Devendra G e outros (2002) *Respir. Res.* 3: 19-22). PS's revestem toda a superfície alveolar dos pulmões e as vias aéreas condutivas terminais que levam aos alvéolos e facilitam a respiração através de modificação contínua da tensão de superfície do fluido normalmente presente dentro dos alvéolos. Diminuindo a tensão de superfície das vias aéreas condutivas terminais, o tensoativo mantém a acessibilidade, isto é, mantém as vias aéreas abertas (Griese M (1999) *Eur. Respir. J.* 13: 1455-76). Perda de acessibilidade leva à obstrução das vias aéreas e função pulmonar comprometida. Em seres humanos, PS's contêm primariamente fosfolipídios e quatro polipeptídeos tensoativos, referidos como SP-A, SP-B, SP-C e SP-D (Tierney DF e outros (1989) *Am. J. Physiol.* 257: L1-L12; e Griese M (1999) *Eur. Respir. J.* 13: 1455-76). SP-A, -B e -C são importantes para diminuição da tensão de superfície. Em seres humanos, a ausência de SP-B é fatal. O SP-A auxilia na resistência contra inibidor de atividade tensoativa por mediadores e produtos inflamatórios (Griese M e outros (2005) *Respir. Res.* 6: 133-42). O SP-D facilita a fagocitose de patógenos e tem propriedades imunomodulatória, anti-inflamatória e anti-oxidativa (Clark H. e outros (2003) *Arch. Dis. Child* 88: 981-4).

Tensoativos pulmonares naturais e sintéticos foram estudados com relação a seu potencial para tratar vários distúrbios pulmonares, incluindo asma, bronquiolite, bronquite crônica, fibrose cística, pneumonia e síndrome de dificuldade respiratória neonatal, dentre outros (Griese M (1999) *Eur. Respir. J.* 13: 1455-76). Na maioria dos casos, algum aperfeiçoamento mensurável nas condições dos pacientes foi observado, embora o tratamento de pacientes com CF com um extrato de tensoativo bovino não tenha resultado em melhora da função ou oxigenação pulmonar em virtude, pelo menos em parte, de depósito insuficiente do PS nos pulmões do paciente (Griese M e outros (1997) *Eur. Respir. J.* 10: 1989-97). Em contraste, foi re-

portado que tratamento com o lipídio tensoativo aerossolizado palmitoil fosfatidil colina (DPPC) melhora a função pulmonar e transportabilidade de escarro em pacientes com bronquite crônica (Anzueto A e outros (1997), J. Am. Med. Assoc. 278: 1426–1431).

5 Soluções e aerossóis hiperosmolares têm sido usados para promover a eliminação de secreções mucosas das vias aéreas, desse modo, melhorando a função pulmonar. Por exemplo, foi reportado que o pó seco hiperosmolar manitol melhora a função pulmonar em adultos com bronquiectasia não-CF e reduz a adesividade na superfície e aumenta a eliminação, 10 através de tosse, do escarro expectorado (Daviskas E. e outros (2005) *Respirology* 10: 46–56). Foi reportado que a administração de solução salina hipertônica (IM) a pacientes com CF via inalação facilita a eliminação de muco e melhora a função pulmonar nos pacientes (veja, por exemplo, Donaldson SH e outros (2006) *N. Engl. J. Med.* 354: 241-50). Contudo, a ação da 15 solução salina hipertônica tem curta duração e a solução salina hipertônica em si falhou em restaurar a acessibilidade de muitas vias aéreas obstruídas nos pacientes (Elkins MR e outros (2006) *N. Engl. J. Med.* 354: 229-40). Além disso, a inalação de solução salina hipertônica pode produzir broncoconstricção em alguns pacientes e pode potencializar a inflamação (Didier C e 20 outros (2001) *Chest* 120: 1815-21; e Suri R e outros (2002) *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 166: 352-5). Como tal, há uma necessidade por terapias para CF e outros de tais distúrbios pulmonares que intensificam a eliminação de muco e função pulmonar nos pacientes e, concomitantemente, restauram a acessibilidade das vias aéreas, com efeitos colaterais negativos limitados.

25 SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Um aspecto da invenção se caracteriza por um método para a promoção de eliminação de muco em um paciente com uma condição pulmonar caracterizada por secreção excessiva de muco, eliminação deficiente de muco ou condição pulmonar inflamatória. O método compreende administração, ao paciente, de pelo menos um tensoativo pulmonar em uma quantidade eficaz para promover a eliminação de muco no paciente. As condições 30 pulmonares tratáveis através do método incluem, mas não estão limitadas a,

fibrose cística, bronquite aguda ou crônica, bronquiectasia, bronquiolite, discinesia ciliar primária ou secundária, COPD, asma, pneumonia ou sinusite.

Em determinadas modalidades, o tensoativo pulmonar é um tensoativo pulmonar sintético compreendendo um ou mais fosfolipídios farmacologicamente aceitáveis misturados com um polipeptídeo SP-B ou fragmento do mesmo ou um polipeptídeo compreendendo pelo menos 10 resíduos de aminoácido e não mais do que cerca de 60 resíduos de aminoácido. O polipeptídeo inclui uma sequência tendo regiões de resíduo de aminoácido hidrofóbico e hidrofílico alternadas representadas pela fórmula $(Za U_b)_c Z_d$, em que Z é um resíduo de aminoácido hidrofílico independentemente selecionado do grupo consistindo em R e K; U é um resíduo de aminoácido hidrofóbico independentemente selecionado do grupo consistindo em L e C; a é 1 ou 2; b tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 8; c é 1 a 10; e d é 0 a 2. Em várias modalidades, o tensoativo pulmonar é administrado como um instilado líquido ou como um aerossol líquido ou um aerossol seco.

Tratamento do paciente de acordo com o método descrito acima resulta em aperfeiçoamentos que incluem, mas não estão limitados a, acessibilidade aperfeiçoada das vias aéreas, inflamação reduzida, obstrução reduzida das vias aéreas, função pulmonar mantida ou aumentada e Qualidade de Vida Relacionada à Saúde (HRQOL) aperfeiçoada com relação a um paciente não administrado com o tensoativo pulmonar.

Outro aspecto da invenção se caracteriza por um método conforme descrito acima que ainda compreende administração de um agente osmoticamente ativo ao paciente. O tensoativo pulmonar pode ser administrado concomitante ou sequencialmente com o agente osmoticamente ativo.

O agente osmoticamente ativo pode ser um açúcar, álcool de açúcar ou sal farmacologicamente aceitável. Em determinadas modalidades, o agente osmoticamente ativo é NaCl e é formulado como uma solução salina. Tipicamente, a solução salina compreende cloreto de sódio a cerca de 0,13 a cerca de 1,2 Osm.

Tratamento do paciente de acordo com o método descrito acima também resulta em aperfeiçoamentos que incluem, mas não estão limitados

a, acessibilidade aperfeiçoada das vias aéreas, inflamação reduzida, obstrução reduzida das vias aéreas, função pulmonar mantida ou aumentada e Qualidade de Vida Relacionada à Saúde (HRQOL) aperfeiçoada com relação a um paciente não administrado com o tensoativo pulmonar.

5 Outro aspecto da invenção se caracteriza por uma composição farmacêutica para promoção de eliminação de muco a qual compreende um tensoativo pulmonar e um agente osmoticamente ativo. Em várias modalidades, o agente osmoticamente ativo é um açúcar, álcool de açúcar ou um sal e o tensoativo pulmonar é um tensoativo pulmonar sintético compreendendo
10 um ou mais fosfolipídios farmacêuticamente aceitáveis misturados com um polipeptídeo SP-B ou fragmento do mesmo ou um polipeptídeo compreendendo pelo menos 10 resíduos de aminoácido e não mais do que cerca de 60 resíduos de aminoácido. O polipeptídeo inclui uma sequência tendo regiões de resíduo de aminoácido hidrofóbicos e hidrofílicos alternadas representada pela fórmula $(Za U_b)_c Z_d$, em que Z é um resíduo de aminoácido
15 hidrofílico independentemente selecionado do grupo consistindo em R e K; U é um resíduo de aminoácido hidrofóbico independentemente selecionado do grupo consistindo em L e C; a é 1 ou 2; b tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 8; c é 1 a 10; e d é 0 a 2.

20 Em determinadas modalidades, o agente osmoticamente ativo é um sal. A composição pode ter uma osmolalidade entre cerca de 220-1200 mOsm/kg, uma concentração de ânions livres de entre cerca de 20-200 mmol/l e um pH entre cerca de 6,8 e 8,0.

 Em modalidades particulares, a composição contém NaCl como o
25 sal e o tensoativo pulmonar compreende 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1-palmitoil-2-oleoil-*sn*-glicero-3-fosfoglicerol (POPG), ácido palmítico (PA) e um peptídeo tendo uma sequência de KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK (KL4, SEQ ID NO: 1). A composição é, de preferência, formulada para distribuição através de aerossol e pode ser especificamente formulada para distribuir
30 entre cerca de 20 e 200 mg de dose pulmonar de equivalente de fosfolipídio total por dia.

 Outras características e vantagens e vantagens da invenção

serão entendidas através de referência aos desenhos, descrição detalhada e exemplos que seguem.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

Figura 1. Taxas de produção de aerossol ($\mu\text{l}/\text{seg}$) para Lucinac-
5 tant (10, 20, 30 mg/ml) ou 30 mg/ml para formulações de tensoativo KL4 liofi-
lizadas preparadas com concentrações crescentes de NaCl. O gerador de
aerossol era Aeroneb Pro; os pontos de dados representam três amostras,
três medições cada; barras de erro são indicadas.

Figura 2. Taxas de produção de aerossol ($\mu\text{l}/\text{seg}$) para Lucinac-
10 tant (10, 20, 30 mg/ml) ou 30 mg/ml para formulações de tensoativo KL4 liofi-
lizadas preparadas com concentrações crescentes de NaCl. O gerador de
aerossol era Pari LC Star; os pontos de dados representam três amostras,
três medições cada; barras de erro são indicadas.

DESCRIÇÃO DETALHADA DE MODALIDADES ILUSTRATIVAS

15 Vários termos com relação aos métodos e outros aspectos da
presente invenção são usados por todo o relatório descritivo e reivindicação.
A tais termos deve ser fornecido seu significado comum na técnica, a menos
que de outro modo indicado. Outros termos especificamente definidos de-
vem ser construídos de uma maneira consistente com a definição fornecida
20 aqui.

Definições:

A menos que de outro modo definido, todos os termos técnicos
e científicos usados aqui têm o mesmo significado conforme comumente en-
tendido por aqueles versados na técnica à qual a invenção pertence. Embo-
25 ra quaisquer métodos e materiais similares ou equivalentes àqueles descri-
tos aqui podem ser usados na prática para testagem da presente invenção,
os materiais e métodos preferidos são descritos aqui. Na descrição e reivin-
dicação da presente invenção, a seguinte terminologia será usada.

Também deve ser entendido que a terminologia usada aqui é
30 para fins de descrição de modalidades particulares apenas e não se destina
a ser limitativa. Conforme usado na presente especificação e nas reivindica-
ções em anexo, as formas no singular "um", "uma", "o" e "a" incluem os refe-

rentes no plural, a menos que o contexto oriente claramente de outro modo. Assim, por exemplo, referência a um "tensoativo pulmonar" inclui uma combinação de dois ou mais tensoativos pulmonares e semelhantes.

5 "Cerca de", conforme usado aqui quando de referência a um valor mensurável, tal como uma quantidade, uma duração temporal e semelhantes, se destina a abranger variações de $\pm 20\%$ ou 10% , mais preferivelmente $\pm 5\%$, ainda mais preferivelmente $\pm 1\%$ e, ainda mais preferivelmente, $\pm 0,1\%$ do valor especificado, uma vez que tais variações são apropriadas para desempenhar os métodos divulgados.

10 Os termos "tratamento" ou "tratar" se referem a qualquer sucesso ou indício de sucesso na atenuação ou alívio de uma lesão, patologia ou condição, incluindo qualquer parâmetro objetivo ou subjetivo, tal como eliminação, remissão, diminuição de sintomas ou tornar a lesão, patologia ou condição mais tolerável para o paciente, diminuindo a taxa de degeneração
15 ou declínio, tornando o ponto final de degeneração menos debilitante, melhorando o bem-estar físico ou mental do indivíduo ou prolongando a extensão de sobrevivência. O tratamento ou alívio dos sintomas pode ser baseado em parâmetros objetivos ou subjetivos; incluindo os resultados de um exame físico, exame neurológico e/ou avaliações psiquiátricas.

20 "Quantidade eficaz" ou "quantidade terapeuticamente eficaz" são usados permutavelmente aqui e se referem a uma quantidade de um composto, formulação, material ou composição, conforme descrito aqui, eficaz para obter um resultado biológico particular. Tais resultados podem incluir, mas não estão limitados a, intensificação de eliminação de muco, função
25 pulmonar e/ou acessibilidade das vias aéreas e o tratamento de fibrose cística ou outra doença pulmonar em um indivíduo, conforme determinado através de qualquer meio adequado na técnica.

"Farmaceuticamente aceitável" se refere àquelas propriedades e/ou substâncias as quais são aceitáveis para o paciente de um ponto de
30 vista farmacológico/toxicológico e para o químico farmacêutico de um ponto de vista considerando a composição, formulação, estabilidade, aceitação pelo paciente e biodisponibilidade. "Veículo farmaceuticamente aceitável" se

refere a um meio que não interfere com a eficácia da atividade biológica do(s) ingrediente(s) ativo(s) e não é tóxico para o hospedeiro ao qual ele é administrado.

"Atividade tensoativa" se refere à capacidade de qualquer substância, tal como uma molécula orgânica, proteína ou polipeptídeo, quer sozinha ou em combinação com outras moléculas, de diminuir a tensão de superfície em uma interface de ar/água. A medição pode ser feita com uma Balança de Wilhelmy ou surfactômetro por bolhas pulsáteis através de um ensaio *in vitro* (por exemplo, King e outros (1972) Am. J. Physiol. 223: 715-726 e Enhorning G (1977) J. Appl. Physiol. 43: 198-203). Em resumo, o Surfactômetro Enhorning (Surfactometer International, Toronto, Ontário) mede o gradiente de pressão (ΔP) através de uma interface de líquido-ar de uma bolha que pulsa em uma taxa de 20 ciclos/min entre um raio máximo (0,55 mm) e mínimo (0,4 mm). A bolha, formada em uma câmara de amostra de 20 μ l, com água encerrada a 37 °C, é monitorada através de um microscópio óptico enquanto as mudanças de pressão são registradas sobre um aparelho de registro em gráfico calibrado para 0 e -2 cm de H₂O. Além disso, medições *in vivo* de aumentos de conformidade ou fluxo de ar em uma determinada pressão do ar que entra nos pulmões podem ser feitas prontamente (Robertson B (1980) Lung 158: 57-68). Nesse ensaio, a amostra a ser avaliada é administrada, através de uma traquéia com cânula, a coelhos fetais ou cordeiros nascidos prematuramente através de parto Cesariana. Medições de conformidade pulmonar, tensões de gás no sangue e pressão do ventilador proporcionam indícios de atividade. Ensaio *in vitro* de atividade tensoativa, a qual é avaliada como a capacidade de diminuir a tensão de superfície de uma bolha pulsátil e ensaios *in vivo* que utilizam coelhos fetais são descritos em detalhes por Revak SD e outros (1986) Am. Rev. Respir. Dis. 134: 1258-1265.

"Aerossol" refere-se a partículas líquidas ou sólidas que são suspensas em um gás. Conforme usado nos métodos da invenção, um aerossol contém a formulação terapeuticamente ativa. O aerossol pode estar na forma de um preparado em solução, suspensão, emulsão, pó, sólido ou

semi-sólido.

"Osmolaridade" se refere à concentração de partículas osmoticamente ativas em solução expressa em termos de osmoles de soluto por litro de solução. Osmolalidade se refere à concentração de partículas osmoticamente ativas em solução expressa em termos de osmoles de soluto por quilograma de solução. Osmolaridade e osmolalidade são abreviadas como "Osm" ou "mOsm" aqui e se distinguem com base se a medição é feita por litro ou por quilograma de solução. Um "osmole" é a quantidade de substância que se dissocia em solução para formar um mol de partículas osmoticamente ativas.

Agentes "osmoticamente ativos" usados na presente invenção são impermeáveis à membrana (isto é, essencialmente não absorvíveis) sobre a superfície epitelial pulmonar ou as vias aéreas. Os termos "superfície das vias aéreas", "superfície pulmonar" ou "superfície dos pulmões", conforme usado aqui, incluem superfícies das vias aéreas pulmonares, tais como os brônquios e bronquíolos, superfícies alveolares e superfícies nasais e dos sinos. Um agente osmoticamente ativo é, algumas vezes, referido aqui como um "osmolito".

Descrição:

Foi observado que solução salina hipertônica aerossolizada melhora a função pulmonar e intensifica a eliminação de muco quando administrada a pacientes com CF, embora a solução salina hipertônica não tenha sido suficiente para restaurar a acessibilidade de vias aéreas obstruídas. De acordo com a presente invenção, espera-se que um tensoativo pulmonar, via um efeito semelhante a detergente, ajude a melhorar a eliminação mucociliar através da tosse e aliviar a obstrução das vias aéreas reduzindo a adesividade de muco. A presente invenção emprega tensoativos pulmonares, sozinhos ou combinados com um agente osmoticamente ativo, para proporcionar maiores benefícios em pacientes com distúrbios pulmonares caracterizados por produção anormal de muco ou eliminação deficiente de muco.

Consequentemente, um aspecto da presente invenção se caracteriza por métodos para o tratamento de distúrbios pulmonares envolvendo

produção anormal de muco ou eliminação deficiente de muco. Os métodos compreendem administração de um tensoativo pulmonar a um paciente em uma quantidade eficaz para promover a eliminação de muco no paciente. O método pode, opcionalmente, compreender administração de um tensoativo pulmonar em conjunto com um agente osmoticamente ativo. O método pode ainda compreender terapia combinada com outros agentes micocinéticos, mucolíticos ou terapêuticos.

Outro aspecto da invenção se caracteriza por composições farmacêuticas para o tratamento de distúrbios pulmonares envolvendo produção anormal de muco ou eliminação deficiente de muco. Essas composições compreendem um tensoativo pulmonar combinado com um agente osmoticamente ativo. Em várias modalidades, a osmolaridade das composições é ajustada de acordo com o tipo de distúrbio pulmonar que está sendo tratado e pode oscilar de quase iso-osmótica (por exemplo, para o tratamento de sinusite ou formas brandas de bronquite crônica) a muito hiperosmótica (por exemplo, para o tratamento de fibrose cística), conforme descrito em maiores detalhes aqui.

Métodos para promover a eliminação de muco:

Métodos são proporcionados para promover a eliminação de muco e melhorar a função pulmonar em pacientes que sofrem de condições pulmonares nas quais a produção de muco é excessiva, espessa ou de outro modo difícil de eliminar dos pulmões e vias aéreas. Tais condições incluem, mas não estão limitadas a, fibrose cística, bronquite crônica ou aguda, pneumonia relacionada a ventilador, bronquiectasia, bronquiolite, discinesia ciliar primária ou secundária, COPD, asma, pneumonia e sinusite.

Um dos métodos compreende administração de tensoativo pulmonar exógeno (PS) ao paciente, em uma forma de dosagem e regime eficazes para melhorar a eliminação de muco dos pulmões e vias aéreas. Sem pretender estar limitado pelo mecanismo, acredita-se que a administração de PS melhore a eliminação de muco das vias aéreas através de diminuição da tensão de superfície e aumento da fluidez das placas mucosais, assim, facilitando a eliminação de muco das vias aéreas e atuando como um expecto-

rante. Muco pode drenar de áreas de outro modo inacessíveis dos pulmões e pode, desse modo, se tornar acessível a outros agentes terapêuticos. Além disso, foi mostrado que determinados tensoativos, tal como Lucinactant e outros tensoativos não derivados de animal têm propriedades anti-inflamatórias, as quais são extremamente benéficas na redução dos sinais e sintomas de CF e outras condições pulmonares listadas acima nas quais inflamação e infecção (por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa*) exercem um papel.

Outro método compreende uma terapia combinada de PS e um agente osmoticamente ativo. Foi mostrado que agentes osmoticamente ativos, tal como solução salina hiperosmótica, promovem a eliminação de secreções de muco das vias aéreas, desse modo, melhorando a função pulmonar. Contudo, tais agentes podem não restaurar com sucesso a acessibilidade das vias aéreas e seu uso pode produzir broncoconstrição em alguns pacientes e pode potencializar a inflamação. A administração de PS em conjunto com agentes osmoticamente ativos aliviará alguns desses efeitos colaterais negativos, ao mesmo tempo em que proporciona os benefícios adicionais de tensão de superfície reduzida nos pulmões e vias aéreas e fluidez aumentada de muco, conforme descrito acima.

Qualquer um dos métodos precedentes pode ser combinado com terapia adicional para a condição que está sendo tratada, incluindo tratamento com outros agentes terapêuticos, tais como esteróides, óxido nítrico, antioxidantes ou removedores de oxigênio reativo, corticosteróides, expectorantes, agentes mucolíticos, broncodilatadores, diuréticos, agentes antimicrobianos ou anti-infecciosos, agentes anti-hipertensivos ou agentes anti-inflamatórios (por exemplo, inibidores de PLA₂, inibidores de protease ou elastase, inibidores de PDE-4, para mencionar uns poucos), conforme será apreciado por aqueles versados na técnica. Tais agentes podem ser administrados concorrente ou sequencialmente com as formulações de tensoativo e agentes osmoticamente ativos, se usados. Administração sequencial de agentes terapêuticos adicionais pode ser antes ou subsequente à administração da formulação de agente hiperosmótico e tensoativo. Administração

sequencial pode ser realizada em diferentes pontos no tempo. Assim, cada componente pode ser administrado separada, mas de modo suficientemente próximo de modo a proporcionar o efeito terapêutico desejado. Está dentro da capacidade daqueles versados determinar o momento, sequência e dosagens de administração apropriados para fármacos em particular da presente invenção.

Tensoativos pulmonares:

Qualquer tensoativo pulmonar atualmente em uso ou aqui desenvolvido para uso em dificuldade respiratória ou outras condições pulmonares é adequado para uso na presente invenção. Esses incluem tensoativo pulmonar sintético e que ocorre naturalmente. PS sintético, conforme usado aqui, se refere à tensoativos pulmonares isentos de proteína e tensoativos pulmonares compreendendo peptídeos sintéticos, incluindo miméticos peptídicos de proteína tensoativa que ocorre naturalmente. Produtos de PS atuais incluem, mas não estão limitados a, Lucinactant (Surfaxin[®], Discovery Laboratories, Inc., Warrington, PA), tensoativo de lipídio bovino (BLES[®], BLES Biochemicals, Inc. Londres, Ont), calfactant (Infasurf[®], Forest Pharmaceuticals, St. Louis, MO), tensoativo bovino natural (Alveofact[®], Thomae, Alemanha), tensoativo bovino (Surfactant TA[®], Tokyo Tanabe, Japão), poractant alfa (Curosurf[®], Chiesi Farmaceutici SpA, Parma, Itália), pumactant (Alec[®], Britannia Pharmaceuticals, Reino Unido), beractant (Survanta[®], Abbott Laboratories, Inc., Abbott Park, IL) e palmitato de colfoscerila (Exosurf[®], GlaxoSmithKline, plc, Middlesex, Reino Unido). Em uma modalidade preferida, o PS compreende peptídeos sintéticos. Dentre outras vantagens, um PS sintético desse tipo é menos imunogênico do que PS que ocorre naturalmente ou PS compreendendo proteínas derivadas de animal. Portanto, ele é mais adequado para exposição repetida, conforme seria necessário para o tratamento de condições crônicas.

Em determinados aspectos, um tensoativo pulmonar da presente invenção compreende um peptídeo catiônico que pode ser derivado de fontes animais ou sinteticamente. Peptídeos exemplificativos para uso aqui incluem polipeptídeos tensoativos pulmonares que ocorrem naturalmente ou

não naturalmente tais como, por exemplo, um ou uma combinação de polipeptídeos SP-A, SP-B, SP-C ou SP-D derivados de animal; polipeptídeos SP-A, SP-B, SP-C ou SP-D recombinantes; polipeptídeos SP-A, SP-B, SP-C ou SP-D sinteticamente derivados; análogos de SP-A, SP-B, SP-C e SP-D; 5
mímicos de polipeptídeo SP-A, SP-B, SP-C e SP-D; variantes conservativamente modificadas dos mesmos que retêm atividade; e fragmentos dos mesmos que retêm atividade. Um mímico de polipeptídeo tensoativo é, em geral, um polipeptídeo que é manipulado para imitar os atributos essenciais de uma proteína tensoativa humana. Em determinadas modalidades preferi- 10
das, o polipeptídeo tensoativo pulmonar compreende um peptídeo catiônico que consiste de pelo menos cerca de 10, de preferência pelo menos 11 resíduos de aminoácido e não mais do que cerca de 80, mais usualmente menos de cerca de 35 e, de preferência, menos de cerca de 25 resíduos de aminoácido.

15 Sequências de aminoácido exemplificativas de polipeptídeos tensoativos pulmonares para uso aqui, métodos de isolamento dos mesmos e produção dos mesmos através de métodos de engenharia genética são conhecidos na técnica. Veja, por exemplo, Patentes U.S. N^{os} 5.874.406; 5.840.527; 4.918.161; 5.827.825; 6.660.833. 5.006.343; 5.455.227; 5.223.481; 20
5.753.621; 5.891.844; 4.861.756; 5.272.252; 5.024.95; 5.238.920; 5.302.481; 6.022.955; 5.874.406; 5.840.527; 5.827.825; 6.013.619; 6.660.833; e Publicações Internacionais Nos. WO8603408 e WO8904326. Um peptídeo tensoativo pulmonar preferido para uso aqui é um polipeptídeo ou mímico de polipeptídeo SP-B ou SP-C.

25 Um tensoativo pulmonar sintético preferido compreende um ou mais fosfolipídios e um polipeptídeo, no qual o polipeptídeo, quando misturado com um fosfolipídio, forma um tensoativo pulmonar sintético tendo uma atividade tensoativa maior do que a atividade tensoativa do fosfolipídio sozinho. Um polipeptídeo tensoativo pulmonar particularmente preferido para 30
uso aqui é um polipeptídeo ou mímico de polipeptídeo SP-B. SP-B é a proteína em tensoativo pulmonar natural conhecida por ser a proteína tensoativa mais importante para diminuição da tensão de superfície e promoção de

permuta de oxigênio. Mímicos de polipeptídeo SP-B são pequenos polipeptídeos hidrofóbicos, geralmente de menos de cerca de 80 aminoácidos de tamanho. Muitos mímicos de polipeptídeo SP-B possuem um motivo catiônico hidrofóbico repetido. Assim como o polipeptídeo SP-B natural, mímicos de SP-B, de preferência, diminuem a tensão de superfície das vias aéreas condutivas terminais e promovem a permuta de oxigênio. Ainda, acredita-se que formulações de tensoativo contendo tais mímicos de SP-B (por exemplo, Lucinactant) tenham propriedades antibióticas e sejam não imunogênicas.

Um mimético de SP-B preferido para uso na presente invenção é o peptídeo KL4, o qual é um peptídeo catiônico contendo resíduos de lisina e leucina repetidos. KL4 é representativo de uma família de miméticos de polipeptídeo tensoativo pulmonar a qual é descrita, por exemplo, nas Patentes U.S. Nos. 5.260.273, 5.164.369, 5.407.914 e 6.613.734. Métodos de preparo de peptídeo KL4 podem ser encontrados na Patente U.S. Nº 5.164.369.

Em determinadas modalidades, mímicos de polipeptídeo tensoativo pulmonar se refere a polipeptídeos com uma sequência de resíduo de aminoácido que tem uma hidrofobicidade composta de menos de zero, de preferência menos do que ou igual a -1, mais preferivelmente menos do que ou igual a -2. O valor de hidrofobicidade composta para um peptídeo é determinado atribuindo, a cada resíduo de aminoácido em um peptídeo, seu valor de hidrofilicidade correspondente, conforme descrito em Hopp e outros, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78: 3824-3829, 1981. Para um determinado peptídeo, os valores de hidrofobicidade são somados, a soma representando o valor de hidrofobicidade composta. Esses polipeptídeos hidrofóbicos, tipicamente, desempenham a função da região hidrofóbica de SP18. Consequentemente, em determinadas modalidades, a sequência de aminoácido do polipeptídeo tensoativo pulmonar imita o padrão de resíduos hidrofóbicos e hidrofílicos do SP18 e desempenha a função da região hidrofóbica do SP18. SP18 é uma apoproteína tensoativa pulmonar conhecida, mais completamente descrita em Glasser e outros, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84: 4007-4001, 1987. Deve ser entendido, contudo, que polipeptídeos e outras moléculas tensoativas da presente invenção não estão limitados à moléculas tendo sequências seme-

lhantes àquelas do SP18 nativo. Pelo contrário, algumas moléculas tensoativas preferidas da presente invenção têm pouca semelhança ao SP18 com relação a uma sequência de resíduo de aminoácido específica, exceto que elas têm atividade tensoativa similar e sequências de resíduos carregados/não carregados (ou hidrofóbicos/hidrofílicos) alternados.

Em determinadas modalidades, polipeptídeos exemplificativos para uso aqui têm regiões de resíduo de aminoácido hidrofóbico e hidrofílico alternadas e são caracterizados por terem pelo menos 10 resíduos de aminoácido representados pela fórmula:

$$(Z_a U_b)_c Z_d$$

Z e U são resíduos de aminoácido de modo que, em cada ocorrência, Z e U são independentemente selecionados. Z é um resíduo de aminoácido hidrofílico, de preferência selecionado do grupo consistindo em R, D, E e K, U é um resíduo de aminoácido hidrofóbico, de preferência selecionado do grupo consistindo em V, I, L, C, Y e F. As letras "a," "b," "c" e "d" são números os quais indicam o número de resíduos hidrofílicos ou hidrofóbicos. A letra "a" tem um valor médio de cerca de 1 a cerca de 5, de preferência cerca de 1 a cerca de 3. A letra "b" tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 20, de preferência cerca de 3 a cerca de 12, mais preferivelmente cerca de 3 a cerca de 10. A letra "c" é 1 a 10, de preferência 2 a 10, mais preferivelmente 3 a 6. A letra "d" tem um valor médio de cerca de 0 a 3, de preferência 1 a 2.

Em determinadas modalidades, polipeptídeos tensoativos incluem uma sequência tendo agrupamentos alternados de resíduos de aminoácido, conforme representado pela fórmula:

$$(Z_a J_b)_c Z_d$$

em que Z é um resíduo de aminoácido independentemente selecionado do grupo consistindo em R, D, E e K; J é um ácido carboxílico α -aminoalifático; a tem um valor médio de cerca de 1 a cerca de 5; b tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 20; c é 1 a 10; e d é 0 a 3.

Em determinadas modalidades, polipeptídeos da presente invenção têm agrupamentos alternados de regiões de resíduo de aminoácido

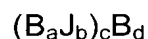
conforme representado pela fórmula:



em que B é um resíduo de aminoácido independentemente selecionado do grupo consistindo em H, 5-hidroxilisina, 4-hidroxiprolina e 3-hidroxiprolina; e

- 5 U é um resíduo de aminoácido independentemente selecionado do grupo consistindo em V, I, L, C, Y e F. Em uma variação preferida, B é um aminoácido derivado de colágeno e é, de preferência, selecionado do grupo consistindo em 5-hidroxilisina, 4-hidroxiprolina e 3-hidroxiprolina; a tem um valor médio de cerca de 1 a cerca de 5; b tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 20; c é 1 a 10; e d é 0 a 3.

Em determinadas modalidades, polipeptídeos tensoativos da presente invenção incluem uma sequência tendo agrupamentos alternados de resíduos de aminoácido, conforme representado pela fórmula:



- 15 em que B é um resíduo de aminoácido independentemente selecionado do grupo consistindo em H, 5-hidroxilisina, 4-hidroxiprolina e 3-hidroxiprolina; e J é um ácido carboxílico α -aminoalifático; a tem um valor médio de cerca de 1 a cerca de 5; b tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 20; c é 1 a 10; e d é 0 a 3.

- 20 Em várias modalidades incluindo "J" na fórmula relevante, J é um ácido carboxílico α -aminoalifático tendo quatro a seis carbonos, inclusive. Em outras variações, J é um ácido carboxílico α -aminoalifático tendo seis ou mais carbonos, inclusive. Em ainda outras variações, J é selecionado do grupo consistindo em ácido α -aminobutanóico, ácido α -aminopentanóico, 25 ácido α -amino-2-metilpropanóico e ácido α -aminohexanóico.

Em determinadas modalidades, polipeptídeos tensoativos da presente invenção compreendem uma sequência tendo agrupamentos alternados de resíduos de aminoácido, conforme representado pela fórmula:



- 30 em que Z é um resíduo de aminoácido independentemente selecionado do grupo consistindo em R, D, E e K; e U é um resíduo de aminoácido independentemente selecionado do grupo consistindo em V, I, L, C, Y e F; do grupo

consistindo em V, I, L, C e F; ou do grupo consistindo em L e C; a tem um valor médio de cerca de 1 a cerca de 5; b tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 20; c é 1 a 10; e d é 0 a 3.

Nas fórmulas precedentes, Z e U, Z e J, B e U e B e J são resí-
 5 duos de aminoácido que, em cada ocorrência, são independentemente sele-
 cionados. Além disso, em cada uma das fórmulas antes mencionadas, a
 tem, em geral, um valor médio de cerca de 1 a cerca de 5; b tem, em geral,
 um valor médio de cerca de 3 a cerca de 20; c é 1 a 10; e d é 0 a 3.

Em determinadas modalidades, Z e B são resíduos de aminoácido
 10 carregados. Em outras modalidades preferidas, Z e B são resíduos de aminoá-
 cido hidrofílicos ou positivamente carregados. Em uma variação, Z é, de prefe-
 rência, selecionado do grupo consistindo em R, D, E and K. Em uma modali-
 dade relacionada, Z é, de preferência, selecionado do grupo consistindo em
 R e K. Em ainda outra modalidade preferida, B é selecionado do grupo con-
 sistindo em 5-hidroxilisina, 4-hidroxiprolina e 3-hidroxiprolina. Em uma moda-
 15 lidade preferida, B é H. Em outra modalidade preferida, B é um resíduo de
 aminoácido constituinte de colágeno e é selecionado do grupo consistindo
 em 5-hidroxilisina, (δ -hidroxilisina), 4-hidroxiprolina e 3-hidroxiprolina.

Em determinadas modalidades, U e J são, de preferência, resí-
 20 duos de aminoácido não carregados. Em outra modalidade preferida, U e J
 são resíduos de aminoácido hidrofóbicos. Em uma modalidade, U é, de prefe-
 rência, selecionado do grupo consistindo em V, I, L, C, Y e F. Em outra
 modalidade preferida, U é selecionado do grupo consistindo em V, I, L, C e
 F. Em ainda outra modalidade preferida, U é selecionado do grupo consis-
 25 tindo em L e C. Em várias modalidades preferidas, U é L.

Similarmente, em determinadas modalidades, B é um aminoácido
 de preferência selecionado do grupo consistindo em H, 5-hidroxilisina, 4-hidro-
 xiprolina e 3-hidroxiprolina. Alternativamente, B pode ser selecionado do grupo
 consistindo em aminoácidos derivados de colágeno, o qual inclui 5-hidroxili-
 30 sina, 4-hidroxiprolina e 3-hidroxiprolina.

Em determinadas modalidades, aminoácidos carregados e não-
 carregados são selecionados de grupos de aminoácidos modificados. Por

exemplo, em uma modalidade preferida, um aminoácido carregado é selecionado do grupo consistindo em citrulina, homoarginina ou ornitina, para mencionar uns poucos exemplos. Similarmente, em várias modalidades preferidas, o aminoácido não carregado é selecionado do grupo consistindo em
 5 ácido α -aminobutanóico, ácido α -aminopentanóico, ácido α -amino-2-metilpropanóico e ácido α -aminohexanóico.

Em determinadas modalidades da presente invenção, os termos "a", "b", "c" e "d" são números os quais indicam o número de resíduos carregados ou não carregados (ou resíduos hidrofílicos ou hidrofóbicos). Em várias modalidades, "a" tem um valor médio de cerca de 1 a cerca de 5, de preferência cerca de 1 a cerca de 3, mais preferivelmente cerca de 1 a cerca de 2 e, ainda mais preferivelmente, 1.
 10

Em várias modalidades, "b" tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 20, de preferência cerca de 3 a cerca de 12, mais preferivelmente cerca de 3 a cerca de 10, ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 4-8. Em uma modalidade preferida, "b" é cerca de 4.
 15

Em várias modalidades, "c" é 1 a 10, de preferência 2 a 10, mais preferivelmente na faixa de 3-8 ou 4-8 e, ainda mais preferivelmente, 3 a 6. Em uma modalidade preferida, "c" é cerca de 4.

Em várias modalidades, "d" é 0 a 3 ou 1 a 3. Em uma modalidade preferida, "d" é 0 a 2 ou 1 a 2; em outra modalidade preferida, "d" é 1.
 20

Ao dizer que um resíduo de aminoácido é independentemente selecionado, entenda-se que, em cada ocorrência, um resíduo do grupo especificado é selecionado. Isto é, quando "a" é 2, por exemplo, cada um dos
 25 resíduos hidrofílicos representados por Z será independentemente selecionado e, assim, pode incluir RR, RD, RE, RK, DR, DD, DE, DK e semelhantes. Ao dizer que "a" e "b" têm valores médios, entenda-se que, embora o número de resíduos dentro da sequência de repetição (por exemplo, $Z_a U_b$) pode variar um pouco dentro da sequência peptídica, os valores médios de
 30 "a" e "b" seriam cerca de 1 a cerca de 5 e cerca de 3 a cerca de 20, respectivamente.

Por exemplo, usando a fórmula $(Z_a U_b)_c Z_d$ para o peptídeo desig-

nado "KL8" na Tabela 2 abaixo, a fórmula pode ser reescrita como $K_1L_8K_1L_8K_1L_2$, em que o valor médio de "b" é seis [isto é, $(8+8+2)/3=6$], c é três e d é zero.

Polipeptídeos da presente invenção também podem estar sujeitos a várias alterações, tais como inserções, deleções e substituições, quer conservativas ou não conservativas, onde tais alterações proporcionam determinadas vantagens quanto a seu uso.

Resíduos adicionais podem ser adicionados em qualquer término de um polipeptídeo da presente invenção, tal como para fins de proporcionar um "ligante" pelo qual tal polipeptídeo pode ser convenientemente afixado a um rótulo ou matriz sólida ou veículo. Rótulos, matrizes sólidas e veículos que podem ser usados com os polipeptídeos da presente invenção são conhecidos na técnica.

Ligantes de resíduo de aminoácido têm, usualmente, um resíduo e podem ter 40 ou mais resíduos, mais frequentemente 1 a 10 resíduos. Resíduos de aminoácido típicos usados para ligação são tirosina, cisteína, lisina, ácido glutâmico e ácido aspártico ou semelhante. Além disso, uma sequência polipeptídica da presente invenção pode diferir da sequência natural pela sequência ser modificada através de acilação NH_2 -terminal, por exemplo, acetilação ou amidação de ácido tioglicólico, amidação carbóxi-terminal, por exemplo, amônia, metilamina e semelhantes.

Em determinadas modalidades, mímicos de polipeptídeo SP-B exemplificativos que podem ser usados na presente invenção incluem, mas não estão limitados a, aqueles mostrados na tabela abaixo.

25 Tabela: Peptídeos miméticos de tensoativo pulmonar

Designação ¹	SEQ ID NO	Sequência de resíduo de aminoácido
KL4	1	KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK
DL4	2	DLLLLDLLLLDLLLLDLLLLD
RL4	3	RLLLLRLLLLRLLLLRLLLLR
RL8	4	RLLLLLLLLRLLLLLLLLRLL
R2L7	5	RRLLLLLLLLRLLLLLLLLRRL
	6	RLLLLCLLLRLLLLLCLLLR

Designação ¹	SEQ ID NO	Sequência de resíduo de aminoácido
	7	LLLLLCLLLRLLLLCLLLRLL
	8	RLLLCLLLRLLLLCLLLRLLLLCLLLR DLLLDLLLDLLLDLLLDLLLD
RCL1	9	RLLLCLLLRLLLLCLLLR
RCL2	10	RLLLCLLLRLLLLCLLLRLL
RCL3	11	RLLLCLLLRLLLLCLLLRLLLLCLLLR
KL8	12	KLLLLLLLLLKLKKLLLLLLKL
KL7	13	KKLLLLLLLLKKLLLLLLLLKKL

¹ A designação é uma abreviação para a sequência de resíduo de aminoácido indicada.

O tensoativo pulmonar compreende, tipicamente, um ou mais lipídios. Nessas modalidades, a composição de tensoativo pode compreender, por exemplo, tão pouco quanto cerca de 0,05 a 100% em peso de lipí-
5 dio, na medida em que a composição resultante tenha atividade tensoativa. Por percentual em peso entenda-se o percentual de um composto em peso em uma composição em peso. Assim, uma composição tendo 50 por cento em peso de lipídio contém, por exemplo, 50 gramas de lipídios por 100 gra-
10 mas de composição total. O termo "lipídio", conforme usado aqui, se refere a um composto que ocorre naturalmente, sintético ou semi-sintético (isto é, natural modificado) o qual é geralmente anfifático. Os lipídios compreendem, tipicamente, um componente hidrofílico e um componente hidrofóbico. Lipí-
15 dios exemplificativos incluem, mas não estão limitados a, fosfolipídios, ácidos graxos, álcoois graxos, gorduras neutras, fosfatídeos, óleos, glicolipí- dios, agentes superfície-ativos (tensoativos), álcoois alifáticos, ceras, terpe- nos e esteróides. A frase semi-sintético (ou natural modificado) denota um composto natural que tenha sido quimicamente modificado do mesmo modo. De preferência, os lipídios são de ácidos graxos, álcoois, ésteres e éteres
20 dos mesmos, amins graxas ou combinações dos mesmos.

Exemplos de fosfolipídios incluem fosfolipídios nativos e/ou sin-
téticos. Fosfolipídios que podem ser usados incluem, mas não estão limita-
dos a, fosfatidil colinas, fosfatidil gliceróis, fosfatidil etanolaminas, fosfatidil

serinas, ácidos fosfatídicos, fosfatidil inositóis, esfingolipídios, diacilglicerídeos, cardiolipina, ceramidas, cerebrosidas e semelhantes. Fosfolipídios exemplificativos incluem, mas não estão limitados a, dipalmitoil fosfatidil colina (DPPC), dilauril fosfatidil colina (DLPC) (C12:0), dimiristoil fosfatidil colina (DMPC) (C14:0), diestearoil fosfatidil colina (DSPC), difitanoil fosfatidil colina, nonadecanoil fosfatidil colina, araquidoil fosfatidil colina, dioleoil fosfatidil colina (DOPC) (C18:1), dipalmitoleoil fosfatidil colina (C16:1), linoleoil fosfatidil colina (C18:2), miristoil palmitoil fosfatidil colina (MPPC), esteroil miristoil fosfatidil colina (SMPC), esteroil palmitoil fosfatidil colina (SPPC), palmitoiloleoil fosfatidil colina (POPC), palmitoil palmitooleoil fosfatidil colina (PPoPC), dipalmitoil fosfatidil etanolamina (DPPE), palmitoiloleoil fosfatidil etanolamina (POPE), dioleoilfosfatidil etanolamina (DOPE), dimiristoil fosfatidil etanolamina (DMPE), diestearoil fosfatidil etanolamina (DSPE), dioleoil fosfatidil glicerol (DOPG), palmitoiloleoil fosfatidil glicerol (POPG), dipalmitoil fosfatidil glicerol (DPPG), dimiristoil fosfatidil glicerol (DMPG), diestearoil fosfatidil glicerol (DSPG), dimiristoilfosfatidil serina (DMPS), diestearoilfosfatidil serina (DSPS), palmitoiloleoil fosfatidil serina (POPS), lecitina de soja, lecitina de gema de ovo, esfingomielina, fosfatidil inositóis, difosfatidil glicerol, fosfatidil etanolamina, ácidos fosfatídicos e fosfatidil colina de ovo (EPC).

Exemplos de ácidos graxos e álcoois graxos incluem, mas não estão limitados a, esteróis, ácido palmítico, álcool cetílico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido esteárico, ácido fitânico, ácido dipalmítico e semelhantes. De preferência, o ácido graxo é ácido palmítico e, de preferência, o álcool graxo é álcool cetílico.

Exemplos de ésteres de ácido graxo incluem, mas não estão limitados a, palmitato de metila, palmitato de etila, palmitato de isopropila, palmitato de colestera, palmitato de palmitila, palmitato de sódio, palmitato de potássio, tripalmitina e semelhantes.

Um exemplo de um lipídio semi-sintético ou natural modificado é qualquer um dos lipídios descritos acima o qual tenha sido quimicamente modificado. A modificação química pode incluir uma série de modificações; contudo, uma modificação preferida é a conjugação de um ou mais grupos

polietileno glicol (PEG) à porções desejadas do lipídio. Polietileno glicol (PEG) tem sido amplamente usado em biomateriais, biotecnologia e medicina primariamente porque o PEG é um polímero biocompatível, não tóxico, não imunogênico e solúvel em água (Zhao e Harris, *ACS Symposium Series* 5 680: 458-72, 1997). Na área de distribuição de fármaco, derivados de PEG têm sido amplamente usados em fixação covalente (isto é, "PEGuilação") à proteínas para reduzir a imunogenicidade, proteólise e eliminação renal e intensificar a solubilidade (Zalipsky, *Adv. Drug Del. Rev.* 16: 157-82, 1995).

Lipídios que têm sido conjugados com PEG são referidos aqui 10 como "PEG-lipídios". De preferência, quando PEG-lipídios são usados, eles estão presentes em álcoois e/ou aldeídos.

O tensoativo pulmonar pode compreender outros excipientes incluindo, mas não limitado a, vários açúcares, tais como dextrose, frutose, lactose, maltose, manitol, sacarose, sorbitol, trealose e semelhantes, tensoa- 15 tivos tais como, por exemplo, polissorbato-80, polissorbato-20, trioleato de sorbitan, tiloxapol e semelhantes, polímeros tais como PEG, dextrana e semelhantes, sais tais como NaCl, CaCl₂ e semelhantes, álcoois, tais como álcool cetílico e tampões.

Composições de tensoativo exemplificativas podem ser prepa- 20 radas usando métodos conhecidos na técnica. Por exemplo, em determinadas modalidades, uma composição de tensoativo exemplificativa compreendendo lipídios e polipeptídeos pode ser preparada através de mistura de uma solução de um polipeptídeo tensoativo com uma suspensão de lipossomas ou através de mistura do polipeptídeo tensoativo com uma suspen- 25 são de lipossomas ou através de mistura do polipeptídeo tensoativo e fosfolipídios diretamente na presença de solvente orgânico.

De preferência, o tensoativo pulmonar compreende fosfolipídios e ácidos graxos livres ou álcoois graxos, por exemplo, DPPC (dipalmitoil fosfatidil colina), POPG (palmitoil-oleil fosfatidil glicerol) e ácido palmítico (PA) 30 (veja, por exemplo, Patente U.S. Nº 5.789.381).

Em determinadas modalidades preferidas, o tensoativo pulmonar é Lucinactant ou outra formulação de tensoativo pulmonar compreen-

dendo a proteína tensoativa sintética KLLLLKLLLLKLLLLKLLLL (KL4; SEQ ID NO: 1). O Lucinactant é uma combinação de DPPC, POPG, ácido palmítico (PA) e o peptídeo KL4 (proporção em peso de aproximadamente 7,5 : 2,5 : 1,35 : 0,267). Em determinadas modalidades, o produto de fármaco é formulado em concentrações, por exemplo, de 5, 10, 15, 20, 25 ou 30 mg/ml de teor de fosfolípido. Em determinadas outras modalidades, o produto de fármaco é formulado em concentrações maiores, por exemplo, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120 ou mais mg/ml de teor de fosfolípido, com aumentos concomitantes na concentração de KL4.

Em outras modalidades, o tensoativo pulmonar é formulado para distribuição como um aerossol. Exemplos de formulações adequadas para distribuição por aerossol são encontrados no WO 2006/071796. Adicionalmente, é vantajoso, em determinados casos, utilizar um tensoativo pulmonar liofilizado, o qual pode ser reconstituído em um meio farmacêutico adequado. Exemplos de tais formulações e seus métodos de fabricação são encontrados no WO 2006/055532.

Agentes osmoticamente ativos:

Qualquer agente osmoticamente ativo farmacêuticamente aceitável que é compatível com os tensoativos pulmonares descritos aqui é considerado adequado para uso na presente invenção. Uma ampla variedade de tais agentes são conhecidos na técnica (veja, por exemplo, Patente U.S. Nº 6,926,911), incluindo osmolitos iônicos, tais como sais ou podem ser osmolitos não-iônicos, tais como açúcares, álcoois de açúcar e osmolitos orgânicos. A osmolalidade é, tipicamente, ajustada para 300 mOsm/kg, mas até 1200 mOsm/kg podem ser úteis e é bem tolerado.

Osmolitos iônicos adequados incluem qualquer sal consistindo em um ânion farmacêuticamente aceitável e um cátion farmacêuticamente aceitável. Tais compostos incluem, mas não estão limitados a, ânions e cátions que estão contidos em sais comercialmente disponíveis aprovados pelo FDA; veja, por exemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Vol. II, página 1457 (19ª Ed. 1995) e podem ser usados em qualquer combinação, incluindo suas combinações convencionais. Exemplos de sais ade-

quados incluem, mas não estão limitados a, cloreto de potássio, cloreto de colina, iodeto de colina, cloreto de lítio, cloreto de meglumina, cloreto de L-lisina, cloreto de D-lisina, cloreto de amônio, sulfato de potássio, nitrato de potássio, gluconato de potássio, iodeto de potássio, cloreto férrico, cloreto
5 ferroso e brometo de potássio, para mencionar uns poucos.

Açúcares e álcoois de açúcar adequados para uso na presente invenção incluem, mas não estão limitados a, glicerol, dihidróxiacetona, eritrose, treose e eritrulose, ribose, arabinose, xilose, frutose, sorbose e tagatose, glicose, manose, galactose, rafinose, estaquiose, sorbitol, manitol, dulcitol, arabitól. Quando apropriado, a formas D e L de cada açúcar ou álcool de
10 açúcar são consideradas para uso na invenção.

Osmolitos orgânicos adequados para uso na presente invenção incluem, mas não estão limitados a, (1) polióis (álcoois poliídricos), tais como inositol, mio-inositol e sorbitol; (2) metilaminas, tais como colina, betaína, carnitina (formas L-, D- e DL), fosforil colina, liso-fosforil colina, glicero fosforil colina, creatina e fosfato de creatina; e (3) aminoácidos, tais como as formas D- e L- de glicina, alanina, glutamina, glutamato, aspartato, prolina e taurina.
15

Em algumas modalidades preferidas, o agente osmoticamente ativo é um sal de sódio. O ânion do sal de sódio pode ser qualquer ânion adequado incluindo, sem limitação, acetato, citrato, lactato, carbonato, bicarbonato, fosfato, iodeto, fluoreto ou brometo e é, de preferência, cloreto. O sal de sódio pode ser monobásico ou dibásico. O agente osmoticamente ativo na forma de solução pode oscilar de um pH de cerca de 5 a um pH de cerca de 9 e tem, de preferência, um pH entre cerca de 6 e um pH de cerca de 8.
20 25

Administração:

Os tensoativos pulmonares, sozinhos ou combinados com agentes osmoticamente ativos, são administrados a um paciente através de distribuição pulmonar, por exemplo, na forma de partículas sólidas ou líquidas através de inalação ao sistema respiratório. A administração pode ser através de inalação por meio de um inalador de dose medida (MDI). Inaladores de dose medida liberam uma quantidade distinta de medicamento a partir de
30

um recipiente de armazenamento. A liberação do medicamento é obtida usando um propelente químico para empurrar um medicamento para fora de uma lata de armazenamento (pMDI) ou usando a força de inalação para extrair o medicamento de uma câmara de contenção. Inaladores de dose medida podem liberar o medicamento quando o paciente comprime a lata de armazenamento ou inala diretamente o medicamento. A administração através de inalação pode ser por meio de uma forma de MDI denominado um inalador de pó seco (DPI). A liberação do medicamento é obtida usando a força de inalação para extrair o medicamento de uma câmara de contenção.

De preferência, a administração é realizada por meio de um nebulizador (gerador de aerossol). Em uma modalidade, o gerador de aerossol é um nebulizador ultra-sônico ou nebulizador com membrana vibratória ou nebulizador com tela vibratória. Nebulizadores a jato também podem ser empregados, uma vez que os presentes métodos podem ser adaptados a todos os tipos de nebulizadores e atomizadores. Em uma modalidade, o gerador de aerossol é um Nebulizador Profissional Aeroneb[®] (Aerogen Inc., Mountain View, CA, EUA). Alternativamente, o Pari eFlow (Pari, Richmond, VA) ou Akita 1 ou 2 (Activaero, Alemanha) pode ser utilizado. Em outra modalidade, o gerador de aerossol é um gerador de aerossol capilar, um exemplo do qual é o gerador de névoa leve disponível da Chrysalis Technologies, Richmond, VA (Nguyen TT e outros (2003) J. Aerosol Med. 16: 189).

É preferido que os métodos da invenção empreguem o uso de inaladores de alto rendimento para administrar o tensoativo pulmonar e agente osmoticamente ativo a um paciente. Esses incluem dispositivos manuais e para bancada que proporcionam uma taxa de produção de mais de cerca de 0,5 ml/min e um depósito nos pulmões de mais de cerca de 15% (por exemplo, os dispositivos Aeroneb, Pari eFlow, Chrysalis e Activaero conforme mencionado acima) para assegurar depósito suficiente do tensoativo e outros agentes ativos nas vias aéreas de forma a promover a eliminação de muco.

Em outras modalidades, um tensoativo pulmonar aerossolizado pode ser administrado conforme proporcionado no WO 2005/115520 e WO

2006/026237. A administração pode ser em conjunto com outra terapia respiratória pulmonar não invasiva envolvendo a administração de pressão positiva às vias aéreas. O termo "terapia respiratória pulmonar não invasiva" se refere à terapia respiratória que não requer intubação endotraqueal e pode
5 incluir pressão positiva contínua das vias aéreas (CPAP), pressão positiva bi-nível das vias aéreas (BiPAP), ventilação obrigatória intermitente sincronizada (SIMV) e semelhantes. O emprego de tais terapias envolve o uso de vários gases respiratórios, conforme será apreciado por aqueles versados. Gases respiratórios usados para terapia respiratória pulmonar não invasiva são
10 algumas vezes referidos aqui como "gás de CPAP", "ar de CPAP", "nCPAP", "gás de ventilação", "ar de ventilação" ou simplesmente "ar". Contudo, esses termos se destinam a incluir qualquer tipo de gás normalmente usado para terapia respiratória pulmonar não invasiva incluindo, mas não limitado a, gases e combinações gasosas listadas acima para uso como gás de condicionamento. Em determinadas modalidades, o gás usado para terapia respira-
15 tória pulmonar não invasiva é o mesmo que o gás de condicionamento. Em outras modalidades, os respectivos gases são diferentes um do outro.

Em determinadas modalidades, os métodos de distribuição pulmonar da presente invenção são empregados em conjunto com CPAP. Foi
20 mostrado que o uso de CPAP permite um aumento na capacidade residual funcional e oxigenação aperfeiçoada. A laringe é dilatada e a resistência das vias aéreas supraglóticas é normal. Também há um aperfeiçoamento importante na sincronia dos movimentos toraco-abdominais respiratórios e reflexo de inflação de Hering-Breuer intensificado após oclusão das vias aéreas. Foi
25 mostrado que a CPAP é útil no tratamento de várias condições, tais como apnéia do sono, ARDS, IRDS e semelhantes.

CPAP requer uma fonte de pressão e um dispositivo de distribuição ou aparelho de distribuição. Fluxo de ar que produz CPAP é, tipicamente, gerado na proximidade das vias aéreas nasais através de conversão da
30 energia cinética de um jato de gás umidificado fresco em uma pressão positiva das vias aéreas. Uma taxa de fluxo contínua de gás de respiração de cerca de 5 a cerca de 12 litros /minuto gera uma CPAP correspondente de

cerca de 2 a cerca de 10 cm de H₂O. Várias modificações podem ser aplicadas ao sistema de CPAP, as quais incluem sensores que podem individualizar a quantidade de pressão baseado nas necessidades do paciente.

Tipicamente, taxas de fluxo e pressões adequadas podem ser prontamente calculadas pelo médico que faz o atendimento. A presente invenção abrange o uso de uma variedade de taxas de fluxo para o gás de ventilação, incluindo taxas de fluxo baixa, moderada e alta. Em determinadas modalidades, o aerossol pode ser fornecido durante alterações em frequência alta ou rápida no fluxo e/ou pressão. Alta frequência é, tipicamente, caracterizada como 0,5 hertz ou acima. Alternativamente, o aerossol pode ser fornecido sem pressão positiva adicionada, isto é, sem CPAP como uma terapia respiratória simultânea. Em determinadas modalidades, o aerossol pode ser fornecido durante percussão oscilatória em frequência rápida ou alta ao tórax.

De preferência, o fluxo de ar de geração de CPAP que está sendo distribuído ao paciente tem um nível de umidade o qual impedirá níveis inaceitáveis de secagem dos pulmões e vias aéreas. Assim, o ar de geração de CPAP é, frequentemente, umidificado borbulhando um agente de hidratação ou semelhante para obter uma umidade relativa, de preferência, de mais de cerca de 70%. Mais preferivelmente, a umidade é maior do que cerca de 85% e, ainda mais preferivelmente, 98%.

Uma fonte adequada de fluxo de ar que induz à CPAP é a unidade de tubo submerso CPAP (resistência expiratória submersa). Essa é comumente referida como uma CPAP "em bolha". Outra fonte preferida de pressão é uma válvula de fluxo expiratório que usa válvulas de resistência variável sobre o elemento expiratório de circuitos de CPAP. Isso é, tipicamente, realizado via um ventilador. Outra fonte preferida é o Infant Flow Driver ou "IFD" (Electro Medical Equipment, Ltda., Brighton, Sussex, Reino Unido). O IFD gera pressão a nível nasal e emprega uma fonte de fluxo convencional e um manômetro para gerar um jato de suprimento em alta pressão capaz de produzir um efeito de CPAP. É sugerido na literatura que a direção do jato de suprimento em alta pressão responde às pressões exerci-

das na cavidade nasal pelo esforço do paciente e isso reduz variações na pressão do ar durante o ciclo de inspiração. Outros sistemas de CPAP, incluindo aqueles que contêm caracterizadas similares aos sistemas já discutidos, são também considerados pela presente invenção.

5 A corrente de aerossol gerada de acordo com a distribuição aerossolizada é, de preferência, distribuição ao paciente via um dispositivo de distribuição nasal o qual pode envolver, por exemplo, máscaras, bifurcações nasais simples, bifurcações nasofaringeais, cânulas nasais e semelhantes. O dispositivo de distribuição é escolhido de modo a minimizar o trauma,
10 manter uma vedação para evitar desperdício de aerossol e minimizar o esforço que o paciente tem de fazer para respirar.

Quando usado como um preparado em aerossol, a formulação de tensoativo, com ou sem um agente osmoticamente ativo, pode ser fornecida na forma finamente dividida, opcionalmente em combinação com um
15 propelente adequado. Propelentes úteis são, tipicamente, gases em condições ambiente e são condensados sob pressão reduzida incluindo, por exemplo, alcanos inferiores e alcanos fluorados, tal como freon. Em determinadas modalidades em que a composição de tensoativo é distribuída como um aerossol, o aerossol pode ser embalagem em um recipiente adequado
20 sob pressão.

As formulações de agentes osmoticamente ativos e tensoativo também podem ser administradas como um aerossol seco. Tais formulações são administradas ao paciente inalando uma formulação em pó aerossolizada. Por exemplo, uma formulação em pó pode ser apresentada em uma
25 forma de dosagem unitária, tal como uma cápsula ou cartucho e administrada conforme nas Pats. U.S. N^{os} 7.025.059 ou 7.025.058.

Formas em partículas sólidas ou líquidas das formulações preparadas para a prática dos métodos da presente invenção incluem partículas de tamanho respirável, isto é, partículas de um tamanho suficientemente
30 pequeno para passar através da passagem nasal, boca e traquéia quando de inalação e, por fim, aos brônquios e alvéolos dos pulmões. Em geral, partículas oscilando de cerca de 1 a 10 microns de tamanho e cerca de 3-6 mi-

crons (GSD de <2) para distribuição pulmonar estão dentro da faixa respirável. Em determinadas modalidades, o tamanho médio de partícula é de pelo menos cerca de 1 ou pelo menos cerca de 2 ou pelo menos cerca de 3 ou pelo menos cerca de 4 ou pelo menos cerca de 5 ou pelo menos cerca de 6
5 microns de diâmetro. Em outras modalidades, o tamanho de partícula é de menos de cerca de 6 ou menos de cerca de 7 ou menos de cerca de 8 ou menos de cerca de 9 ou menos de cerca de 10 microns de diâmetro. Em virtude do fato de as partículas aerossolizadas muito grandes para serem
10 respiráveis serem depositadas na garganta e engolidas, é preferível que a quantidade de partículas não respiráveis no aerossol seja tão baixa quanto possível. A distribuição de produtos terapêuticos aerossolizados, particularmente antibióticos aerossolizados, é conhecida na técnica (veja, por exemplo, Pats. U.S. Nºs 7.025.058, 7.025.059, 5.767.068 e 5.508.269.

A administração do tensoativo pulmonar como um instilado líquido ou um aerossol também pode ser realizada enquanto o paciente está
15 sendo sustentado por ventilação mecânica invasiva. O tensoativo pulmonar pode ser administrado através de uma via oral, tal como um tubo endotraqueal, através de uma via artificial, tal como um tubo de traqueotomia ou através de uma via nasal, usando uma máscara nasal, bifurcações, cânulas
20 e semelhantes. Em uma modalidade, a formulação de tensoativo é distribuída via um tubo endotraqueal ou de traqueotomia que também é utilizado para administrar a ventilação mecânica invasiva. Em outras modalidades, a formulação de tensoativo pode ser distribuída via um modo de distribuição que é utilizado para administrar ventilação mecânica não invasiva.

25 Quantidades terapeuticamente eficazes:

Para tratar um paciente afetado com um distúrbio pulmonar envolvendo produção excessiva de muco ou eliminação de muco deficiente, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um tensoativo pulmonar, sozinho ou combinado com um agente osmoticamente ativo, é administrada ao
30 indivíduo. Uma quantidade terapeuticamente eficaz proporcionará uma intensificação clinicamente significativa de eliminação de muco, melhora na função pulmonar e/ou uma melhora na acessibilidade das vias aéreas e, de

preferência, não facilitará ou sustentará uma resposta inflamatória ou broncoconstricção.

Uma quantidade terapeuticamente eficaz pode ser dependente de qualquer número de variáveis incluindo, sem limitação, o sexo, tamanho, altura, peso, idade, saúde global do indivíduo, o tipo de formulação, o modo ou maneira de administração ou a gravidade do distúrbio pulmonar. A quantidade eficaz apropriada pode ser rotineiramente determinada por aqueles versados na técnica usando técnicas de otimização de rotina e a capacidade e julgamento do profissional e outros fatores evidentes para aqueles versados na técnica. De preferência, uma dose terapeuticamente eficaz das formulações de agentes osmoticamente ativos e tensoativo descritas aqui proporcionará benefício terapêutico sem causar toxicidade substancial ao indivíduo.

A toxicidade e eficácia terapêutica de agentes ou compostos podem ser determinadas através de procedimentos farmacêuticos padrões em culturas de células ou animais experimentais, por exemplo, para determinação da LD₅₀ (a dose letal para 50% da população) e da ED₅₀ (a dose terapeuticamente eficaz em 50% da população). A proporção de dose entre efeitos tóxicos e terapêuticos é o índice terapêutico e pode ser expresso como a proporção LD₅₀/ED₅₀. Agentes ou composições que exibem maiores índices terapêuticos são preferidos. A dosagem de tais agentes ou composições repousa, de preferência, dentro de uma faixa de concentrações em circulação que incluem a ED₅₀ com pouca ou nenhuma toxicidade. A dosagem pode variar dentro dessa faixa, dependendo da forma de dosagem empregada e da via de administração utilizada.

Nos métodos da invenção, pelo menos um tensoativo pulmonar é administrado ao paciente. Faixas de uma única dose de tensoativo, por exemplo, de cerca de 20 a cerca de 300 mg de fosfolipídio no total (TPL)/kg do paciente, mais preferivelmente de cerca de 60 a cerca de 175 mg de T-PL/kg. Em determinadas modalidades, a dose única de tensoativo é de pelo menos cerca de 20 ou 30 ou 40 ou 50 ou 60 TPL/kg. Em determinadas modalidades, a dose única de tensoativo é de até cerca de 70 ou 80 ou 90 ou 100 ou 110 ou 120 ou 130 ou 140 ou 150 ou 160 ou 170 ou 180 ou 190 ou

200 ou 210 ou 220 ou 230 ou 240 ou 250 ou 260 ou 270 ou 280 ou 290 ou 300 TPL/kg. Deve ser entendido, naturalmente, que a dose exata de tensoativo dependerá de fatores tais como o sexo, tamanho, altura, peso, idade, saúde global do indivíduo, o tipo de formulação, o modo ou maneira de administração ou a gravidade do distúrbio pulmonar, idade, bem como outros fatores dentro do conhecimento ou habilidade do médico que faz o atendimento. Em determinadas modalidades em que a composição de tensoativo é distribuída como um aerossol, tal como divulgado no WO 2005/115520 e WO 2006/026237, a dose eficaz de tensoativo pulmonar pode ser, por exemplo, de cerca de 1 mg de TPL/kg de tensoativo a cerca de 2 mg de TPL/kg ou mais de tensoativo. Em determinadas modalidades, a dose eficaz é de até cerca de 175 mg de TPL/kg de tensoativo. Em outras modalidades, a dose eficaz de tensoativo pulmonar é de até cerca de 200, até cerca de 300, até cerca de 400, até cerca de 500, até cerca de 600, até cerca de 700, até cerca de 800, até cerca de 900 ou até cerca de 1.000 mg de TPL/kg. Em determinadas modalidades em que a composição de tensoativo é distribuída como uma formulação de pó seco, a dose eficaz de tensoativo pulmonar pode ser, por exemplo, de cerca de 1 mg de TPL/kg de tensoativo a cerca de 1000 mg ou mais TPL/kg de tensoativo, de preferência de cerca de 2 mg de TPL/kg de tensoativo a cerca de 175 mg de TPL/kg de tensoativo. Outros métodos de distribuição incluem lavagem, lavagem pulmonar e semelhantes. Quando assim empregado, as faixas de dose estão bem dentro da capacidade daqueles versados na técnica. Em determinadas modalidades, as doses são ajustadas para fornecer a um paciente cerca de 20 mg ou mais ou 30 mg ou mais de dose pulmonar de TPL por dia, até cerca de 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 190 mg ou 200 mg de dose pulmonar de TPL por dia, por exemplo, oscilando de cerca de 20-200 mg de dose pulmonar de TPL por dia, mais especificamente cerca de 30-150 mg de dose pulmonar de TPL por dia e, ainda mais especificamente, cerca de 60 mg de dose pulmonar de TPL por dia. De modo ótimo, o tensoativo não é derivado de animal, é não imunogênico e inclui o peptídeo KL4.

Em outras modalidades, um agente osmoticamente ativo e pelo

menos um tensoativo conforme exemplificado aqui são administrados a um paciente. A osmolalidade do tampão pode ser pelo menos cerca de 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850 ou 900 mOsm/kg. Ela pode oscilar até cerca de 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900 950, 1.000, 1.050, 1.100, 1.150, 1.200, 1.250, 1.300, 1.350, 1.400, 1.450 ou 1.500 mOsm/kg. Em determinadas modalidades, a osmolalidade do tampão pode oscilar de cerca de 100 mOsm/kg a cerca de 1500 mOsm/kg. Mais especificamente, a osmolalidade do tampão pode oscilar de cerca de 150-1000 mOsm/kg, mais especificamente de cerca de 200-800 mOsm/kg e, ainda mais especificamente, de cerca de 250-300 mOsm/kg.

O tratamento pode ser iniciado com dosagens menores que são menos do que a dose ótima do agente osmoticamente ativo e/ou formulação de tensoativo, seguido por um aumento na dosagem durante o curso de tratamento até que um efeito ótimo sob as circunstâncias seja atingido. Se necessário, a dosagem diária total pode ser dividida e administrada em porções ao longo do dia. Em terapia combinada, vários regimes podem ser vantajosos, dependendo da natureza e gravidade da condição pulmonar. Por exemplo, o tensoativo pulmonar e o agente osmoticamente ativo podem ser administrados juntos e, na verdade, podem ser incluídos na mesma composição farmacêutica, conforme descrito em maiores detalhes abaixo. Alternativamente, o tensoativo e o agente osmoticamente ativo podem ser administrados sucessivamente. Em outra modalidade, um regime pode compreender tratamentos alternados de tensoativo pulmonar e agente osmoticamente ativo.

Para tratamento eficaz de distúrbios pulmonares, aqueles versados na técnica podem recomendar um esquema de dosagem e quantidade de dosagem adequados para o indivíduo que está sendo tratado. Pode ser preferido que a dosagem ocorra uma a dez vezes por dia ou mais, durante tanto tempo quanto necessário. O esquema de dosagem pode também variar, dependendo da forma de administração (por exemplo, aerossol seco, instilado líquido ou aerossol líquido) ou das necessidades individuais da pessoa. A administração é continuada durante um período de tempo consi-

derado por um médico ou outro profissional de saúde como apropriado para obter um efeito terapêutico ou profilático. O tratamento pode ser continuado, por exemplo, durante uma ou mais semanas, um ou mais meses ou um ou mais anos, incluindo a vida toda do paciente.

5 Em uma modalidade exemplificativa, um tensoativo pulmonar sintético tendo uma formulação similar àquela do Lucinactant (contendo peptídeo KL4) é utilizado, adaptado para aerossolização conforme necessário, por exemplo, através de ajuste do teor e proporção de fosfolípido, diluição de material de iniciação e semelhantes. Tensoativo KL4, quando aerossolizado em uma dose de cerca de 5 a 30 mg/ml é, de preferência, administrado a partir de um sistema de nebulizador a seco eficiente, conforme descrito acima. Por exemplo, 5-7 ml de Lucinactant a 20 mg/ml podem ser distribuídos via um nebulizador de malha vibratória (eFlow, Aeroneb) três vezes ao dia. Alternativamente, 3 ml de Lucinactant a 20 mg/ml podem ser distribuídos usando um sistema de inalação Akita II (Activaero GmbH, Wohraer Str. 37 D-35285 Gemunden/Wohra, Alemanha) três vezes ao dia.

 Em qualquer um dos regimes de dosagem mencionados acima, o clínico versado avaliará parâmetros clínicos tais como melhoras na acessibilidade das vias aéreas, função pulmonar, por exemplo, FEV e outros testes comuns, eliminação mucociliar e Qualidade de Vida Relacionada à Saúde (HRQOL; veja, por exemplo, Revicki DA. e outros, Pharmacoeconomics. Junho de 1992; 1(6): 394-408) após um período de tratamento, por exemplo, de 7, 14, 21, 28 dias, para determinar a eficácia do tratamento.

Composições farmacêuticas:

25 Outro aspecto da invenção se caracteriza por composições compreendendo um agente osmoticamente ativo e pelo menos um tensoativo pulmonar em uma quantidade eficaz para tratar distúrbios pulmonares caracterizados por secreção excessiva de muco ou eliminação deficiente de muco. Essas composições farmacêuticas podem compreender qualquer combinação de tensoativo pulmonar e agente osmoticamente ativo, conforme descrito acima, na medida em que os respectivos componentes não sejam química, física ou biologicamente incompatíveis uns com os outros. As

composições farmacêuticas podem também compreender agentes terapêuticos adicionais ou outros componentes consistentes com aqueles apresentados acima. Também conforme descrito acima para componentes individuais, as composições farmacêuticas podem ser formuladas para distribuição como

5 instilados líquidos, aerossóis líquidos ou aerossóis secos.

Em uma modalidade preferida, o tensoativo pulmonar é Lucinactant ou uma formulação similar compreendendo uma mistura de fosfolípidios e um mimético de polipeptídeo sintético de SP-B, tal como KL4 e o agente osmoticamente ativo é um sal, tal como cloreto de sódio. Em determinadas

10 modalidades, a osmolalidade da composição pode oscilar de cerca de 220-800 mOsm/kg ou, mais especificamente, de cerca de 250-300 mOsm/kg. Em situações específicas, tal como no tratamento de fibrose cística, a osmolalidade empregada pode ser de até 900-1200 ou mais mOsm/kg. Assim, em determinadas modalidades, a osmolalidade da composição é maior do que

15 cerca de 200 ou maior do que cerca de 210 ou maior do que cerca de 220 ou maior do que cerca de 230 ou maior do que cerca de 240 ou maior do que cerca de 250 ou maior do que cerca de 260 ou maior do que cerca de 270 ou maior do que cerca de 280 ou maior do que cerca de 290 ou maior do que cerca de 300 ou maior do que cerca de 310 ou maior do que cerca

20 de 320 ou maior do que cerca de 330 ou maior do que cerca de 340 ou maior do que cerca de 350 ou maior do que cerca de 360 ou maior do que cerca de 370 ou maior do que cerca de 380 ou maior do que cerca de 390 ou maior do que cerca de 400 mOsm/kg. Em determinadas modalidades, a osmolalidade da composição pode ser de até 300 ou 310 ou 320 ou 330 ou 340 ou

25 350 ou 360 ou 370 ou 380 ou 390 ou 400 ou 410 ou 420 ou 430 ou 440 ou 450 ou 460 ou 470 ou 480 ou 490 ou 500 ou 510 ou 520 ou 530 ou 540 ou 550 ou 560 ou 570 ou 580 ou 590 ou 600 ou 610 ou 620 ou 630 ou 640 ou 650 ou 660 ou 670 ou 680 ou 690 ou 700 ou 710 ou 720 ou 730 ou 740 ou 750 ou 760 ou 770 ou 780 ou 790 ou 800 ou 850 ou 900 ou 950 ou 1.000 ou

30 1.050 ou 1.100 ou 1.150 ou 1.200 mOsm/kg. O teor de ânions livres da composição pode oscilar de cerca de 20-200 mmols/l ou, mais especificamente, de cerca de 20-50 mmols/l. Em determinadas modalidades, o teor de ânions

livres da composição é de pelo menos cerca de 20 ou 30 ou 40 ou 50 mmols/l. Em outras modalidades, o teor de ânions livres das composições é de até cerca de 40 ou 50 ou 60 ou 70 ou 80 ou 90 ou 100 ou 110 ou 120 ou 130 ou 140 ou 150 ou 160 ou 170 ou 180 ou 190 ou 200 mmols/l. O pH das composições é, tipicamente, de pelo menos cerca de 6,8. O pH pode oscilar até cerca de 7,4 ou 7,5 ou 7,6 ou 7,7 ou 7,8 ou 7,9 ou 8,0. Em modalidades particulares, o pH pode oscilar de cerca de 6,8-8,0 ou, mais especificamente, de cerca de 6,8-7,4. A concentração de tensoativo na composição é, tipicamente, de pelo menos cerca de 5 ou 10 ou 15 ou 20 ou 25 ou 30 mg/ml. A concentração de tensoativo na composição pode ser de até cerca de 10 ou 20 ou 30 ou 40 ou 50 ou 60 ou mais mg/ml. Em determinadas modalidades, a concentração de tensoativo na composição pode oscilar, por exemplo, de cerca de 5-60 mg/ml, mais especificamente cerca de 10-30 mg/ml, ainda mais especificamente cerca de 15-20 mg/ml, com essa última diluição sendo particularmente aplicável à formulações em aerossol. Será apreciado que a concentração de tensoativo e/ou osmolalidade da composição farmacêutica pode ser ajustada de acordo com a natureza e gravidade da condição pulmonar que está sendo tratada. Por exemplo, tratamento de bronquite crônica branda pode requerer uma composição com osmolalidade na faixa, por exemplo, de 300-500 mOsm/kg, enquanto que tratamento de fibrose cística utilizaria uma composição com osmolalidade na faixa, por exemplo, de 400-1200 mOsm/kg. Para reduzir os efeitos colaterais associados ao tratamento extremamente hiperosmótico, a concentração de tensoativo pulmonar também pode precisar ser aumentada. Um pré-tratamento com um medicamento broncodilatador, tal como um beta-agonista inalado (por exemplo, albuterol) também pode ser útil para assegurar depósito ótimo no pulmão do tensoativo aerossolizado.

Composições farmacêuticas compreendendo um tensoativo pulmonar e um agente osmoticamente ativo são preparadas de acordo com a metodologia farmacêutica padrão. Por exemplo, formulações podem ser feitas como dispersões líquidas através de uma ampla variedade de métodos, incluindo a técnica do evaporação de filme fino ou como um produto

lioofilizado. O agente osmótico pode ser incluído no tensoativo durante fabricação. Alternativamente, ele pode ser combinado com o tensoativo no momento de uso, por exemplo, diluindo uma dispersão líquida ou reconstituindo um produto liofilizado com uma solução contendo o agente osmótico. Adicionalmente, um agente osmótico seco pode ser adicionado ao tensoativo líquido (dispersão líquida ou produto liofilizado reconstituído) no momento de uso.

Os exemplos a seguir são fornecidos para descrever a invenção em maiores detalhes. Eles se destinam a ilustrar, não limitar a invenção.

Exemplo 1

10 Determinação do efeito de sal em alta concentração molar sobre a viscosidade da formulação de tensoativo

Concentrações crescentes de NaCl foram adicionadas às soluções contendo tensoativo pulmonar, conforme descrito na Tabela 1. O tampão usado nesses exemplos era Tris (Tris Hidróximetilaminoetano; Trisamina). Na tabela, "dispersão" se refere à formulação preparada como i) uma dispersão líquida e "lio" se refere a uma formulação que foi produzida como um produto liofilizado e, então, reconstituído no momento de uso.

Tabela 1. Formulações de solução de tensoativo-sal

Formulação	Concentração total de fosfolipídio (mg/ml)	Concentração de tampão (M)	n
S-43	10	0,13	3
S-43	10	0,5	3
S-43	10	1,0	3
S-43	20	0,13	3
S-43	20	0,5	3
S-43	20	1,0	3
Dispersão	30	0,13	3
Dispersão	30	0,5	3
Dispersão	30	1,0	3
Lio	30	0,13	3
Lio	30	0,5	3
Lio	30	1,0	3

Cada formulação foi, então, avaliada com relação à sua viscosidade aparente a 25°C. As viscosidades aparentes das formulações de tensoativo foram medidas a 25 °C usando um Reômetro TA AR1000 (TA Instruments, New Castle, Del., EUA) adaptado com um cone de acrílico de 40 mm /1 °. As formulações de tensoativo foram removidas do refrigerador e deixadas equilibrar em temperatura ambiente durante 30 min. Aproximadamente 350 µl de tensoativo não diluído foram colocados sobre o reômetro e deixados equilibrar termicamente com a temperatura de ajuste. As amostras foram analisadas em um procedimento de fluxo gradual com um aumento linear na taxa de cisalhamento com o tempo (0 a 200 seg⁻¹), seguido por uma diminuição linear na taxa de cisalhamento (200 a 0 seg⁻¹) durante um tempo total de operação de aproximadamente 6 min. A média dos valores de viscosidade aparente, medidos em uma taxa de cisalhamento de 157 seg⁻¹ durante a elevação e diminuição foi calculada e reportada. Cada formulação de tensoativo foi analisada em triplicata em cada temperatura.

Os resultados das medições de viscosidade são apresentados na Tabela 2. Os resultados não demonstram nenhum impacto discernível da concentração de NaCl sobre a viscosidade aparente da amostra.

Tabela 2. Viscosidade aparente das formulações de sal-tensoativo a 25°C

Conc. de NaCl (M)	Viscosidade aparente a 25°C (cp) (n = 3)							
	10 mg/ml		20 mg/ml		30 mg/ml		30 mg/ml - Lio	
	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD
0,13	9	1	28	1	43	5	12	1
0,5	9	1	29	1	32	7	9	1
1,0	9	0	28	2	31	9	7	1

20 Exemplo 2

Determinação da atividade da formulação de tensoativo-sal *in vitro*

Cada solução de tensoativo-sal foi avaliada para determinar sua atividade de superfície *in vitro*. Amostras foram diluídas em tampão de Tris-Ac a 20 mM/NaCl a 130 mM em um pH de 7,6 ou um tampão equivalente: Tris-Ac a 20 mM, pH de 7,6 contendo NaCl a 0,13, 0,5 ou 1,0 M. Os resultados das medições de atividade *in vitro* são apresentados na Tabela 3 (Tris-

Ac a 20 mM/NaCl a 130 mM) e 4 (tampão equivalente). Nenhum impacto da concentração de NaCl sobre a atividade *in vitro*, quando diluído usando tampão de NaCl a 0,13 M, foi observado.

Tabela 3. Atividade de amostras diluídas em tampão de Tris-Ac a 20 mM/NaCl a 130 mM

Conc. De NaCl (M)	Tensão de superfície mínima a 3 mg-TPL/ml (mN/m)(n = 3)							
	10 mg/ml		20 mg/ml		30 mg/ml		30 mg/ml - Lio	
	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD
0,13	0	0	1	1	0	0	5	4
0,5	0	0	0	0	3	5	4	5
1,0	0	0	2	3	0	0	7	6

Tabela 4. Atividade de amostras diluídas igualmente

Conc. De NaCl (M)	Tensão de superfície mínima a 3 mg-TPL/ml (mN/m)(n = 3)							
	10 mg/ml		20 mg/ml		30 mg/ml		30 mg/ml - Lio	
	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD
0,13	0	0	1	1	0	0	5	4
0,5	0	1	5	5	10	4	0	0
1,0	7	4	12	1	11	3	7	7

Exemplo 3

Medição da taxa de produção de aerossol de formulações de tensoativo-sal

Cada solução de tensoativo-sal foi avaliada para determinar sua taxa de produção de aerossol. A taxa de produção de aerossol foi medida usando o nebulizador com malha vibratória Aeroneb Pro e o nebulizador a jato Pari LC Star. As amostras foram totalmente passadas em cada nebulizador em triplicata. Os resultados para o nebulizador Aeroneb Pro são apresentadas na Figura 1 e os resultados para o nebulizador Pari LC Star são apresentadas na Figura 2.

A taxa de produção de aerossol foi medida a 10 mg/ml, 20 mg/ml e 30 mg/ml. A taxa de produção de aerossol era maior para a amostra de 10 mg/ml, com uma ligeira diminuição na taxa de produção observada para a amostra de 20 mg/ml com relação à amostra de 10 mg/ml e uma di-

minuição ainda maior na taxa de produção observada para a amostra de 30 mg/ml com relação às amostras de 10 mg/ml e 20 mg/ml (Figura 1). Uma ligeira diminuição na taxa de produção de aerossol foi observada quando a concentração de sal aumentou para as amostras de 10 mg/ml e 20 mg/ml (Figura 1). Em contraste, a amostra de 30 mg/ml demonstrou uma taxa de produção relativamente uniforme, com aumento da concentração de sal (Figura 1).

A taxa de produção observada usando o nebulizador Pari LC Star era menos global do que a taxa observada usando o nebulizador Aeroneb, particularmente com relação às amostras de 10 mg/ml e 20 mg/ml. A taxa de produção para a amostra de 10 mg/ml foi maior do que para as amostras de 20 mg/ml e 30 mg/ml e foi observado que as amostras de 20 mg/ml e 30 mg/ml têm taxas de produção quase idênticas em todas as concentrações de sal testadas (Figura 2). Nenhum efeito significativo de aumento da concentração de NaCl sobre a taxa de produção foi observado para qualquer amostra (Figura 2). O dispositivo eFlow (Pari) emprega uma tecnologia que é similar ao Aeroneb Pro e as taxas de produção são comparáveis ou ligeiramente maiores usando o dispositivo eFlow.

Exemplo 4

Avaliação de eficácia clínica de co-administração de agentes hiperosmóticos e tensoativos pulmonares

Esse exemplo prognóstico descreve como combinações candidatas de agentes hiperosmóticos e tensoativos, conforme identificado pelos investigadores, descritas acima podem ser avaliadas com relação à sua eficácia em pacientes com distúrbios pulmonares.

Para avaliar clinicamente a segurança e eficácia das composições da invenção e métodos para tratar distúrbios pulmonares, o seguinte protocolo é empregado. Os experimentos são estruturados como avaliação duplamente cega, multi-local, aleatória, veículo-controlada, com grupo paralelo e são conduzidas durante o curso de 2 a 12 semanas. O estudo compara diferentes combinações de agente hiperosmótico/tensoativo com um placebo.

Quando de seleção para participar no estudo, os indivíduos de teste foram avaliados sob o seguinte esquema: medições de FEV₁ semanalmente, eliminação mucociliar e Qualidade de Vida no início e final do estudo.

5 Os indivíduos de teste foram aleatoriamente atribuídos a um dos seguintes grupos: (a) agente hiperosmótico mais tensoativo; (b) placebo (em solução salina isotônica a 0,9%). Cada indivíduo é tratado durante 4 semanas, três vezes ao dia com 3 ml de tensoativo KL4 a 20 mg/ml distribuído através do gerador de aerossol Akita 2. As membranas do dispositivo são
10 limpas diariamente através de ultra-som e handsets são substituídas semanalmente.

O estudo avalia as seguintes variáveis: (a) manutenção de função pulmonar, isto é, volume expiratório forçado em um segundo (FEV₁) com o tempo; (b) capacidade vital forçada (FVC); (c) taxa de eliminação de muco;
15 (d) proporção de volume residual para capacidade pulmonar total (RV:TLC); (d) escore de raio X do peito; (e) medição de Qualidade de Vida validada (CFQoL); (f) ocorrência ou redução na obstrução das vias aéreas.

A presente invenção não está limitada às modalidades descritas e exemplificadas acima, mas é capaz de variação e modificação dentro do
20 escopo das reivindicações em anexo.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para promoção de eliminação de muco em um paciente com uma condição pulmonar caracterizada por secreção excessiva de muco, eliminação deficiente de muco ou condição pulmonar inflamatória compreendendo administração, ao paciente, de pelo menos um tensoativo pulmonar em uma quantidade eficaz para promover eliminação de muco no paciente.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, em que a condição pulmonar é fibrose cística, bronquite crônica ou aguda, bronquiectasia, bronquiolite, discinesia ciliar primária ou secundária, COPD, asma, pneumonia ou sinusite.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o tensoativo pulmonar é um tensoativo pulmonar sintético compreendendo um ou mais fosfolipídios farmaceuticamente aceitáveis misturados com um polipeptídeo SP-B ou fragmento do mesmo ou um polipeptídeo compreendendo pelo menos 10 resíduos de aminoácido e não mais do que cerca de 60 resíduos de aminoácido, o referido polipeptídeo incluindo uma sequência tendo regiões de resíduo de aminoácido hidrofóbico e hidrofílico alternadas representada pela fórmula:

$$(Za U_b)_c Zd$$

em que:

Z é um resíduo de aminoácido hidrofílico independentemente selecionado do grupo consistindo em R e K;

U é um resíduo de aminoácido hidrofóbico independentemente selecionado do grupo consistindo em L e C;

a é 1 ou 2;

b tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 8;

c é 1 a 10; e

d é 0 a 2.

4. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o tensoativo pulmonar é administrado como um instilado líquido.

5. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o tensoativo

pulmonar é administrado como um aerossol líquido ou como um aerossol seco.

5 6. Método de acordo com a reivindicação 1, em que a acessibilidade das vias aéreas no paciente é melhorada com relação a um paciente ao qual tensoativo pulmonar não foi administrado.

- 7. Método de acordo com a reivindicação 1, em que a inflamação pulmonar no paciente é reduzida com relação a um paciente ao qual tensoativo pulmonar não foi administrado.

10 8. Método de acordo com a reivindicação 1, em que obstrução das vias aéreas no paciente é reduzida com relação a um paciente ao qual tensoativo pulmonar não foi administrado.

- 9. Método de acordo com a reivindicação 1, em que a função pulmonar é mantida ou aumentada com relação a um paciente ao qual tensoativo pulmonar não foi administrado.

15 10. Método de acordo com a reivindicação 1, em que a qualidade de vida é melhorada com relação a um paciente ao qual tensoativo pulmonar não foi administrado.

11. Método de acordo com a reivindicação 1, ainda compreendendo administração de um agente osmoticamente ativo ao paciente.

20 12. Método de acordo com a reivindicação 11, em que o tensoativo pulmonar é administrado concomitante ou sequencialmente com o agente osmoticamente ativo.

25 13. Método de acordo com a reivindicação 11, em que o agente osmoticamente ativo é um açúcar, álcool de açúcar ou sal farmacêuticamente aceitável.

14. Método de acordo com a reivindicação 13, em que o agente osmoticamente ativo é NaCl e é formulado como uma solução salina.

15. Método de acordo com a reivindicação 14, em que a solução salina compreende cerca de 0,13 a cerca de 1,2 Osm de cloreto de sódio.

30 16. Método de acordo com a reivindicação 11, em que a acessibilidade das vias aéreas no paciente é melhorada com relação a um paciente tratado apenas com um agente osmoticamente ativo.

17. Método de acordo com a reivindicação 11, em que a inflamação pulmonar no paciente é reduzida com relação a um paciente tratado apenas com um agente osmoticamente ativo.

5 18. Método de acordo com a reivindicação 11, em que obstrução das vias aéreas no paciente é reduzida com relação a um paciente tratado apenas com um agente osmoticamente ativo.

19. Método de acordo com a reivindicação 11, em que a função pulmonar é mantida ou aumentada com relação a um paciente tratado apenas com um agente osmoticamente ativo.

10 20. Método de acordo com a reivindicação 11, em que a qualidade de vida é melhorada com relação a um paciente tratado apenas com um agente osmoticamente ativo.

21. Composição farmacêutica para promover a eliminação de muco compreendendo um tensoativo pulmonar e um agente osmoticamente
15 ativo.

22. Composição de acordo com a reivindicação 21, em que o agente osmoticamente ativo é um açúcar, álcool de açúcar ou um sal e o tensoativo pulmonar é um tensoativo pulmonar sintético compreendendo um ou mais fosfolipídios farmaceuticamente aceitáveis misturados com um polipeptídeo SP-B ou fragmento do mesmo ou um polipeptídeo compreendendo pelo menos 10 resíduos de aminoácido e não mais do que cerca de 60 resíduos de aminoácido, o referido polipeptídeo incluindo uma sequência tendo regiões de resíduo de aminoácido hidrofóbico e hidrofílico alternadas representada pela fórmula:

25
$$(Z_a U_b)_c Z_d$$

em que:

Z é um resíduo de aminoácido hidrofílico independentemente selecionado do grupo consistindo em R e K;

U é um resíduo de aminoácido hidrofóbico independentemente
30 selecionado do grupo consistindo em L e C;

a é 1 ou 2;

b tem um valor médio de cerca de 3 a cerca de 8;

c é 1 a 10; e

d é 0 a 2.

23. Composição de acordo com a reivindicação 21, em que o agente osmoticamente ativo é um sal.

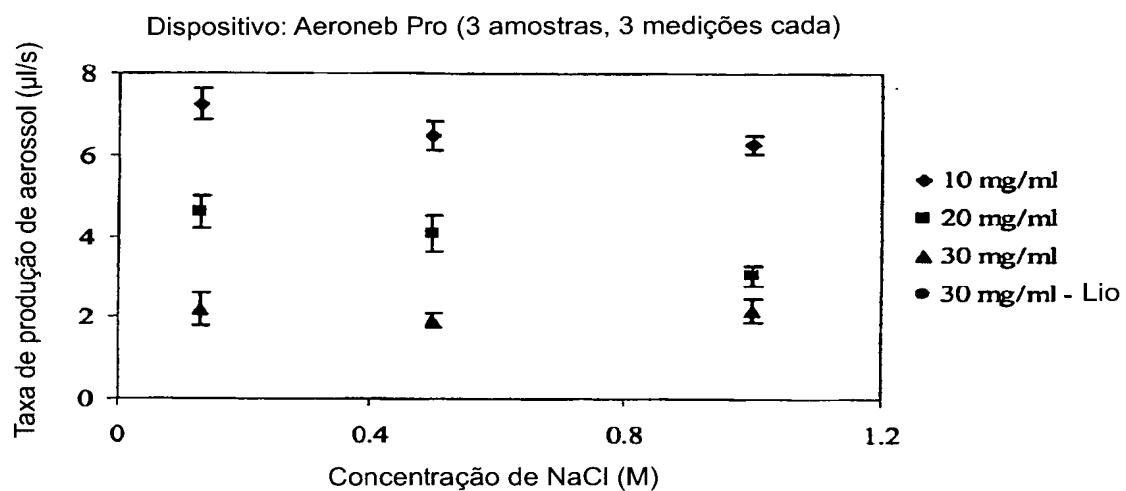
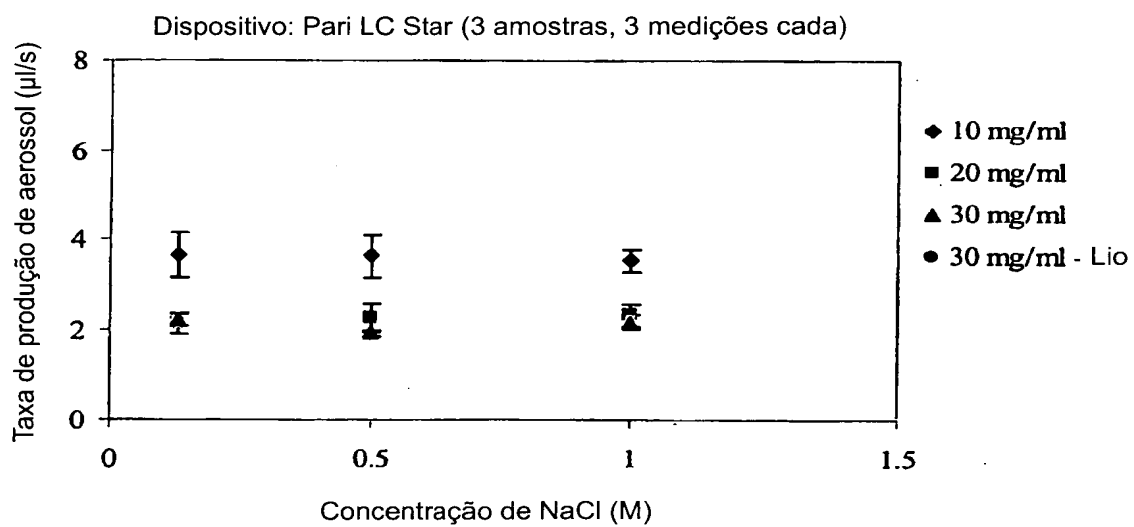
5 24. Composição de acordo com a reivindicação 21, tendo uma osmolalidade entre cerca de 220-1200 mOsm/kg, uma concentração de ânion livre de entre cerca de 20-200 mmols/l e um pH entre cerca de 6,8 e 8,0.

 25. Composição de acordo com a reivindicação 23, em que o sal é NaCl e o tensoativo pulmonar compreende 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfolina (DPPC), 1-palmitoil-2-oleoil-*sn*-glicero-3-fosfoglicerol (POPG), ácido palmítico (PA) e um peptídeo tendo uma sequência de KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK (KL4, SEQ ID NO:1).

10

 26. Composição de acordo com a reivindicação 21, formulada para distribuição através de aerossol.

15 27. Composição de acordo com a reivindicação 25, formulada para distribuir entre cerca de 20 e 200 mg de dose pulmonar de equivalente de fosfolipídio total por dia.

**Fig. 1****Fig. 2**

RESUMO

Patente de Invenção: **"FORMULAÇÕES DE TENSOATIVO PULMONAR E MÉTODOS PARA PROMOÇÃO DE ELIMINAÇÃO DE MUÇO".**

5 A presente invenção refere-se a métodos e composições para intensificar a eliminação de muco e tratar distúrbios pulmonares, tal como fibrose cística, são divulgados. Os métodos utilizam tensoativos pulmonares, sozinhos ou combinados com agentes hiperosmóticos, administrados a pa-
cientes em uma quantidade eficaz para intensificar a eliminação de muco. As
composições compreendem um tensoativo pulmonar combinado com um
10 agente osmoticamente ativo.