



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 136 883**

⑤① Int. Cl.⁶: A61K 9/12
A61K 31/73
A61K 9/00

⑫

TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **95937397.8**
⑧⑥ Fecha de presentación : **17.10.1995**
⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0 734 249**
⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **02.10.1996**

⑤④ Título: **Nueva formulación mejorada de aminoglucósido para administración en forma de aerosol.**

③⑩ Prioridad: **19.10.1994 US 325705**

④⑤ Fecha de la publicación de la mención BOPI:
01.12.1999

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de patente:
01.12.1999

⑦③ Titular/es:
PATHOGENESIS CORPORATION
Suite 150, 201 Elliot Avenue West
Seattle, WA 98119, US
CHILDREN'S HOSPITAL AND
REGIONAL MEDICAL CENTER

⑦② Inventor/es: **Smith, Arnold L.;**
Ramsey, Bonnie W. y
Montgomery, Alan B.

⑦④ Agente: **Ungría López, Javier**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (artº 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Nueva formulación mejorada de aminoglicósido para administración en forma de aerosol.

5 **Antecedentes de la invención****Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una formulación nueva y mejorada de aminoglicósido para suministro por aerosolización. En particular, la invención se refiere a la formulación que consiste en una solución concentrada del aminoglicósido formulado en 5 ml de un cuarto de una solución salina normal que tiene un pH entre 5,5 y 6,5. La formulación permite y es adecuada para suministro del aminoglicósido hasta el espacio endobronquial del pulmón de la vías respiratorias en un aerosol que tiene un diámetro medio de masa predominantemente entre 1 a 5 μm . La cantidad eficaz formulada y suministrada de aminoglicósido es suficiente para el tratamiento y profilaxis de infecciones endobronquiales crónicas, particularmente las provocadas por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. La nueva formulación tiene un volumen pequeño aunque suministra dosis efectivas de aminoglicósidos al sitio de la infección.

Descripciones de la técnica anterior y técnica relacionada

20 La *Pseudomonas aeruginosa* crece en el espacio endobronquial y se encuentra en el esputo de individuos infectados. Durante exacerbaciones de la infección, tal crecimiento se produce también en los alvéolos. La enfermedad representativa más común de la infección endobronquial de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* es la fibrosis cística.

25 La fibrosis cística (CF) es una enfermedad genética común que se caracteriza por la inflamación y la destrucción progresiva del tejido pulmonar. La debilitación de los pulmones en los pacientes CF está asociada con la acumulación de esputos purulentos producidos como resultado de infecciones endobronquiales crónicas provocadas por *H. influenzae*, *staphylococcus aureus*, y *Pseudomonas aeruginosa*. Casi todos los individuos que sufren de CF se mueren normalmente de fallo respiratorio. La llegada de los aminoglicósidos antibióticos antipseudomonaes tales como tobramicina ha reducido la mortalidad de los pacientes CF y han aumentado su duración de vida.

30 La tobramicina es un aminoglicósido específicamente activo contra *Pseudomonas aeruginosa*. Cuando se suministra parenteralmente durante un periodo de tiempo corto, se ha mostrado que trata con éxito las exacerbaciones que se producen en pacientes con CF.

Actualmente, la administración parenteral de un aminoglicósido y una beta-lactama activos contra *Pseudomonas aeruginosa* es el tratamiento de elección para bronquitis crónica o bronquiectasia observada en pacientes CF. No obstante, la penetración de aminoglicósidos en las secreciones bronquiales es pobre en aproximadamente solamente alrededor del 12% de la concentración máxima de suero (*Rev. Infect. Dis.*, 3:67 (1981)). De acuerdo con *Advances in Pediatric Infections Diseases*, 8:53 (1993), el propio esputo es inhibidor de la bioactividad de los aminoglicósidos debido a su alta resistencia iónica y a la presencia de cationes divalentes. El esputo contiene también mucina glicoproteínas y ADN, que ligan los aminoglicósidos. Esta actividad inhibidora puede solucionarse aumentando la concentración de aminoglicósidos en el esputo a diez veces la concentración mínima inhibidora del producto aislado particular *Pseudomonas aeruginosa* (*J. Infect. Dis.*, 148:1069 (1983)).

Los aminoglicósidos penetran escasamente en el esputo y, por lo tanto, para alcanzar concentraciones terapéuticas en el esputo, son necesarias altas dosis de administración parenteral. Esto aumenta el riesgo de toxicidad sistémica que incluye ototoxicidad y nefrotoxicidad debido a que el suero contiene altas concentraciones de aminoglicósido. La terapia intravenosa puede aumentar el esfuerzo sobre el paciente, requiere frecuentemente hospitalización, lo que aumenta los costes de tratamiento y expone al paciente a otras infecciones potenciales.

Se realizaron previamente ensayos para administrar aminoglicósido por aerosol. Cuando se administran altas dosis de aminoglicósidos, tales como tobramicina, a los pulmones por aerosolización, los niveles de esputo de tobramicina son maximizados y se reducen al mínimo los niveles de suero. Por lo tanto, la administración de aminoglicósido por aerosolización tiene la ventaja de reducir la toxicidad sistémica, al mismo tiempo que proporciona concentraciones eficaces del antibiótico en el esputo. La barrera bronquial limita el movimiento del aminoglicósido aerosolizado y evita que el aminoglicósido alcance niveles sistémicos altos. Desafortunadamente, las propiedades físicas de aminoglicósidos requieren dosis relativamente altas de fármaco para aerosolización y un tratamiento de este tipo es, por lo tanto, bastante costoso.

Uno de los primeros estudios que utilizan antibióticos aerosolizados para el tratamiento de CF se ha informado en *Lancet*, 22: 1377-9 (1981). Un estudio doble-ciego controlado sobre veinte paciente CF demostró que la administración del aerosol de carbenicilina y aminoglicósido gentamicina puede mejorar la salud de los pacientes CF. Desde ese instante, los informes dispersados en la bibliografía han examinado el suministro por aerosol de aminoglicósidos en general y tobramicina en particular. No obstante, una evaluación y comparación clínica de estos estudios es con frecuencia difícil debido a las diferencias en las formulaciones antibióticas, técnicas de respiración, nebulizadores y compresores. Además, el suministro por aerosol es, con frecuencia, difícil de evaluar debido a que difieren las formulaciones, los dispositivos aerosolizados, las dosis, los regímenes de tamaños de partícula, etc. Cuando, por ejemplo, el aerosol contiene un gran número de partículas con un MMAD mayor de 5 μm , éstas son depositadas en las vías respiratorias superiores reduciendo la cantidad de antibiótico suministrado al sitio de la infección en el tracto respiratorio inferior. El artículo publicado en *Arch. Dis. Child.*, 67:788 (1993) enfatizó la necesidad de procedimientos normalizados y mejora en administración de aerosol de fármacos a pacientes CF.

La aerosolización de tobramicina se ha ensayado y utilizado específicamente con pacientes CF para suprimir las infecciones de *Pseudomonas aeruginosa* y reducir de este modo la inflamación del pulmón y mejorar la función del pulmón.

La aerosolización de los aminoglicósidos tiene la ventaja de ser capaz de suministrar altas concentraciones del fármaco directamente a las vías respiratorias con baja absorción sistémica. Esto permitiría el desarrollo de una terapia más segura, de larga duración. No obstante, la administración efectiva de aerosol está comprometida actualmente por la falta de formulaciones equilibradas fisiológicamente y libres de aditivos y particularmente por la incapacidad de ciertos nebulizadores para generar aerosoles de tamaño de partícula pequeña y uniforme. Un intervalo de partículas aerosolizadas necesario para suministrar el fármaco al espacio endobronquial, el sitio de la infección, es 1-5 μm . Muchos nebulizadores que aerosolizan los aminoglicósidos producen gran número de partículas de aerosol en el intervalo de 10-100 μm . Con el fin de que sean terapéuticamente efectivas, la mayoría de las partículas de aminoglicósido aerosolizadas no debería tener MMAD mayores de entre 1 y 5 μm . Cuando el aerosol contiene un gran número de partículas con un MMAD mayor de 5 μm , éstas son depositadas en las vías respiratorias superiores reduciendo la cantidad de antibiótico suministrado al lugar de la infección en el tracto respiratorio inferior. Aunque los aminoglicósidos no son muy fácilmente absorbidos sistémicamente a través de la membrana mucosa, existe todavía cierto riesgo de desarrollo de toxicidad en algunos pacientes.

La obstrucción de bronquios o bronquiolos más pequeños y, por lo tanto, la prevención de un suministro del fármaco en un espacio endobronquial donde reside la bacteria, es una limitación potencial asociada con aerosoles que están disponibles actualmente y son utilizados para el tratamiento de infecciones de *Pseudomonas aeruginosa*. Adicionalmente, un derroche del fármaco que se produce durante el suministro de partículas muy grandes a lugares donde el fármaco no es efectivo genera una pérdida económica substancial y aumenta el coste del tratamiento.

Actualmente, dos tipos de nebulizadores disponibles, de chorro y ultrasónico, pueden producir y suministrar partículas de aerosol que tienen tamaños entre 1 y 5 μm . Estos son de tamaños de partícula óptimos para el tratamiento de infecciones de *Pseudomonas aeruginosa*. No obstante, estos nebulizadores son incapaces de suministrar los aminoglicósidos y particularmente la tobramicina de alguna manera eficiente, puesto que son incapaces de nebulizar volúmenes pequeños de aminoglicósidos concentrados formulados de modo estándar en solución salina normal.

Típicamente, la aerosolización de la técnica anterior de los aminoglicósidos, tales como tobramicina, podría utilizar solamente formulaciones que contienen altos volúmenes, tales como por ejemplo la formulación adecuada para la aerosolización por nebulizador ultrasónico DeVilbiss donde se formularon 20 g de tobramicina por 1 ml de solución salina normal, en volúmenes grandes de 30 ml. Esto conduce a la acumulación de concentración considerablemente alta de fármaco en el esputo, al desarrollo de efectos secundarios, a un derroche de fármaco, prolongación del tiempo de tratamiento, demandas de nebulizadores que traten volúmenes grandes y, en general, a que sea costoso, laborioso y poco práctico. La necesidad de nebulizadores que traten volúmenes grandes complica o elimina su uso en tratamiento en casa o en el ambulatorio, necesitando por lo tanto la visita a la consulta del médico o al hospital.

Por lo tanto, sería muy ventajoso proporcionar la formulación que pueda aerosolizarse eficientemente tanto en un nebulizador de chorro como ultrasónico.

Otro requerimiento para una formulación aceptable es su periodo de conservación adecuado. Gene-

ralmente, el aminoglicósido y particularmente las soluciones intravenosas de tobramicina contienen fenol u otros conservantes para mantener la potencia y para reducir al mínimo la producción de productos de degradación que pueden colorear la solución de aminoglicósido. No obstante, el fenol y otros conservantes, cuando se aerosolizan, pueden inducir a broncoespasmo, un suceso no deseado en pacientes con enfermedades pulmonares tales como fibrosis cística.

Sería muy ventajoso, por lo tanto, proporcionar una formulación de aminoglicósido que no contenga conservantes, cuyo pH se ajusta a niveles que reducen o previene la decoloración, proporcionando de esta manera un periodo de conservación adecuado de la formulación apropiado para distribución comercial, almacenamiento y uso.

Teniendo en cuenta todos los problemas e inconvenientes unidos con el suministro de aerosol de aminoglicósido de la técnica anterior, sería muy ventajoso proporcionar una formulación y el sistema para suministrar dosis suficientes de aminoglicósidos tales como tobramicina en forma concentrada, conteniendo el volumen más pequeño posible de la solución que puede aerosolizarse y suministrarse predominantemente al espacio endobronquial.

Por lo tanto, un objeto primario de esta invención es proporcionar una formulación concentrada del aminoglicósido, que contiene concentración de fármaco suficiente, pero no excesiva que puede aerosolizarse eficientemente por nebulización tanto en nebulizadores de chorro como ultrasónicos en tamaños de partículas de aerosol predominantemente dentro de un intervalo de 1 a 5 μm y cuya salinidad se ajusta para permitir la generación de un aerosol amino glicósido bien tolerado por los pacientes, cuya formulación tiene adicionalmente un periodo de conservación adecuado.

Resumen

Un aspecto de la presente invención es una formulación concentrada adecuada para el suministro eficaz de aminoglicósido en el espacio endobronquial de un paciente que sufre de infección endobronquial bacterial.

Otro aspecto de la presente invención es una formulación adecuada para suministro eficaz de tobramicina en el espacio endobronquial de un paciente que sufre de infección endobronquial de bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.

Todavía otro aspecto de la presente invención es una formulación que comprende de 40-100 g de aminoglicósido en 1 ml de solución salina diluida en una graduación de un cuarto de solución salina normal, donde dicha formulación tiene un pH entre 5,5 y 6,5 y es suministrada en 5 ml en forma concentrada por aerosolización.

Todavía otro aspecto de la presente invención es una formulación que comprende de 50-70 mg de tobramicina en 1 ml de solución salina diluida en una osmolaridad de equilibrio de graduación adecuada, graduación iónica y concentración de cloruro a valores tolerables, donde dicha formulación tiene un pH entre 5,5 y 6,5 y es suministrada en 5 ml de forma concentrada por aerosolización.

Todavía otro aspecto de la presente invención es una formulación que comprende 60-80 mg de aminoglicósido en 1 ml de solución salina diluida en una graduación de un cuarto de solución salina, donde dicha formulación tiene un pH entre 5,5 y 6,5 y es suministrada en 5 ml de forma concentrada en partículas de aerosol que tienen un diámetro medio del medio de masa predominantemente entre 1 y 5 μm , donde dicha formulación es nebulizada utilizando un nebulizador de chorro o ultrasónico.

Todavía otro aspecto de la presente invención es una formulación que comprende 60 mg de tobramicina en 1 ml de solución salina diluida en una graduación de un cuarto de solución salina normal, donde dicha formulación tiene un pH entre 5,5 y 6,5 y es suministrada en 5 ml de forma concentrada en partículas de aerosol que tienen un diámetro medio del medio de masa predominantemente entre 1 y 5 μm , donde dicha formulación es nebulizada utilizando un nebulizador de chorro o ultrasónico.

La presente invención proporciona el uso de una formulación en la fabricación de un medicamento para uso en un método para el tratamiento de infecciones pulmonares provocadas por bacterias mediante la administración a un sujeto, que requiere un tratamiento de este tipo una formulación que comprende 40-100 mg de aminoglicósido en 1 ml de solución salina diluida en una graduación de un cuarto solución salida normal, donde dicha formulación tiene un pH entre 5,5 y 6,5 y es suministrada por un nebulizador de chorro o ultrasónico en 5 ml de forma concentrada en un aerosol que produce un tamaño de partícula

que tiene un diámetro medio del medio de masa predominantemente entre 1 y 5 μm .

La presente invención proporciona también el uso de una formulación en la fabricación de un medicamento para uso en un método para el tratamiento de infecciones pulmonares provocadas por *Pseudomonas aeruginosa* mediante la administración a un sujeto que requiere un tratamiento de este tipo de una formulación que comprende 60 mg de tobramicina en 1 ml de solución salina diluida en una graduación de un cuarto de solución salina normal, donde dicha formulación tiene un pH entre 5,5 y 6,5 y es suministrado por nebulizador de chorro en 5 ml de forma concentrada en un aerosol que produce un tamaño de partículas que tiene un diámetro medio del medio de masa predominantemente entre 1 y 5 μm .

Definiciones

Como se utiliza aquí:

“Solución salina normal” significa solución de agua que contiene 0,9% de NaCl.

“Solución salina diluida” significa solución salina normal que contiene 0,9% de NaCl diluida en su graduación menor.

“Un cuarto de solución salina” o “1/4 NS” significa solución salina normal diluida hasta su graduación de un cuarto que contiene 0,225% de NaCl.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra subdivisiones y la estructura de las vías respiratorias intrapulmonares.

La figura 2 ilustra una estructura de tobramicina.

La figura 3 ilustra un nebulizador de chorro adecuado para aerosolización de la solución de aminoglicósido concentrada.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a una formulación de aminoglicósido concentrado adecuada para suministro eficaz del aminoglicósido por aerosolización en espacio endobronquial. La invención es más preferentemente adecuada para formulación de tobramicina concentrada para aerosolización por nebulizadores de chorro o ultrasónicos para producir tamaño de partícula del aerosol de tobramicina entre 1 y 5 μm necesario para suministro eficaz de tobramicina en espacio endobronquial para tratar infecciones de *Pseudomonas aeruginosa*. La formulación contiene una cantidad mínima, pero eficaz de aminoglicósido formulado en el menor volumen posible de solución fisiológicamente aceptable que tiene una salinidad ajustada para permitir la generación de aerosol aminoglicósido bien tolerado por pacientes, pero previniendo el desarrollo de efectos secundarios no deseados tales como broncoespasmo y tos.

Los requerimientos primarios para cualquier formulación aerosolizada son su seguridad y eficacia. Las ventajas adicionales son coste inferior, funcionalidad de uso, largo periodo de conservación, almacenamiento y manipulación del nebulizador.

La formulación del aerosol es nebulizada predominantemente en tamaños de partículas que pueden suministrarse a los bronquiolos terminales y respiratorios donde reside la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* u otras bacterias susceptibles en pacientes con fibrosis cística.

La subdivisión y la estructura de las vías respiratorias intrapulmonares se observa en la figura 1. La *Pseudomonas aeruginosa* está presente a lo largo de toda las vías respiratorias hacia abajo hasta los bronquios y bronquiolos. No obstante, es más predominante en bronquiolos terminales y respiratorios. Durante la exacerbación de la infección, las bacterias pueden estar presentes también en los alvéolos. Es evidente, por lo tanto, que cualquier formulación terapéutica debe suministrarse a lo largo de toda la rama endotelial hasta los bronquiolos terminales.

La formulación del aminoglicósido aerosolizado es formulada para suministro eficaz del aminoglicósido hasta el espacio endobronquial del pulmón. Un nebulizador de chorro o ultrasónico específico se selecciona permitiendo la formación de las partículas de aerosol de aminoglicósido que tienen un diámetro medio del medio de masa predominantemente entre 1 y 5 μm . La cantidad formulada y suministrada de

aminoglicósido es eficaz para el tratamiento y profilaxis de infecciones endobronquiales, particularmente las provocadas por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* cuando se utiliza la tobramicina aminoglicósido. La formulación tiene una salinidad ajustada para permitir la generación de aerosol aminoglicósido bien tolerado por los pacientes. Adicionalmente, la formulación tiene graduación iónica de osmolaridad equilibrada y concentración de cloruro. La formulación tiene un volumen aerosolizable lo más pequeño posible capaz de suministrar dosis efectivas de aminoglicósido al lugar de la infección. Adicionalmente, la formulación aerosolizada no afecta de manera negativa la funcionalidad de las vías respiratorias ni provoca efectos secundarios no deseados.

10 I. Formulación de aminoglicósido aerosol

Los aminoglicósidos de la invención son antibióticos, tales como gentamicina, ampicilina, canamicina, estreptomycin, neomicina, netilmicina y tobramicina.

15 La formulación de acuerdo con la invención contiene de 200-500, preferentemente 300 mg de sulfato aminoglicósido por 5 ml de un cuarto de solución salina normal. Esto corresponde a 40-100, preferentemente 60 mg/ml de aminoglicósido, que es la cantidad mínima, pero eficaz de aminoglicósido para suprimir las infecciones *Pseudomonas aeruginosa* en el espacio endobronquial.

20 Típicamente, aproximadamente trescientos mg de aminoglicósido se disuelven en 5 ml de solución típicamente de un cuarto de solución salina normal que contiene aproximadamente 0,225 % de NaCl. Se ha descubierto ahora que un cuarto de solución salina normal, es decir, 0,225 % de cloruro de sodio, es el vehículo más adecuado para el suministro de aminoglicósido en el espacio endobronquial.

25 La dosis efectiva para cada aminoglicósido individual dependerá de su efectividad y el uso pretendido. Por ejemplo, la gentamicina se utiliza de forma óptima en dosis de 80 mg/ml, mientras que la tobramicina se utiliza de forma óptima en dosis de 60 mg/ml al menos para el tratamiento de infección endobronquial.

II. Formulación de tobramicina aerosol

30 La tobramicina es un aminoglicósido que tiene una estructura química mostrada en la figura 2. La tobramicina es un fármaco de elección para tratamiento y prevención de infecciones endobronquiales de *Pseudomonas aeruginosa*.

35 Típicamente, de doscientos a cuatrocientos, preferentemente 300 mg de tobramicina se disuelven en 5 ml de solución de un cuarto de solución salina normal diluida, que contiene preferentemente 0,225 % de NaCl.

40 La formulación de tobramicina de aerosol más preferida de acuerdo con la invención contiene 300 mg de sulfato de tobramicina por 5 ml de un cuarto de solución salina normal. Esto corresponde a 60 mg/ml de tobramicina que es la cantidad mínima, pero eficaz de tobramicina para suprimir las infecciones de *Pseudomonas aeruginosa* en el espacio endobronquial.

45 Los nebulizadores de chorro y ultrasónicos son sensibles a la osmolaridad de la formulación. Los nebulizadores ultrasónicos son sensibles adicionalmente al pH de la formulación y a su resistencia iónica, y por lo tanto, es difícil a veces aerosolizar aminoglicósido tal como tobramicina formulada en solución salina normal. Se ha descubierto ahora que este problema se resuelve convenientemente formulando aminoglicósidos en un cuarto de solución salina normal, es decir, solución salina que contiene 0,225 % de cloruro de sodio, y que 1/4 de solución N es un vehículo adecuado para el suministro de tobramicina en el espacio endobronquial.

50 Los pacientes de fibrosis cística y otros pacientes con infecciones endobronquiales crónicas tienen alta incidencia de vías respiratorias broncoespásticas o asmáticas. Estas vías respiratorias son sensibles a aerosoles hipotónicos o hipertónicos, a la presencia de iones permanentes, particularmente un haluro tal como cloruro, así como a aerosoles que son ácidos o básicos. Los efectos de irritación de las vías respiratorias pueden manifestarse clínicamente mediante tos o broncoespasmo. Ambas condiciones previenen el suministro eficiente de tobramicina aerosolizada en el espacio endobronquial.

60 La formulación de tobramicina que contiene 1/4 NS con 60 mg de tobramicina por ml de 1/4 NS tiene una osmolaridad en el intervalo de 165-190 mOsm/l. Esto entra dentro del intervalo seguro de los aerosoles administrados a un paciente de fibrosis cística. La seguridad de esta solución ha sido estudiada y probada. El estudio se describe en el ejemplo 4. Una ventaja adicional de la solución de NS de 0,225 %

con 60 mg/ml de tobramicina es que esta formulación es nebulizada más eficientemente por un nebulizador ultrasónico comparado con la tobramicina formulada en una solución 0,9 % de solución salina normal como se muestra en el ejemplo 2. Por lo tanto, es necesaria una cantidad inferior a la mitad del fármaco.

5 El pH de la formulación es igualmente importante para el suministro de aerosol. Como se indica anteriormente, cuando el aerosol es o bien ácido o bien básico, puede provocar broncoespasmo y tos. El intervalo seguro de pH es relativo; algunos pacientes tolerarán un aerosol moderadamente ácido, que en otros provocará broncoespasmo. Cualquier aerosol con un pH de menos de 4,5 inducirá normalmente a broncoespasmo en un individuo susceptible; los aerosoles con un pH entre 4, 5 y 5,5 provocarán ocasionalmente este problema. Un aerosol con un pH entre 5,5 y 7,0 es considerado seguro. Debe evitarse cualquier aerosol que tenga un pH mayor de 7,0, puesto que los tejidos del cuerpo son incapaces de tamponar los aerosoles alcalinos y como resultado se produce la irritación con broncoespasmo.

15 El pH es igualmente importante para la estabilidad de la formulación. Aparentemente a pH mayor de 7,0, se produce degradación de tobramicina. En los estudios de estabilidad de solución salina al 0,225 % de 60 mg/ml de solución de tobramicina, descrita en el ejemplo 6, el ensayo de la estabilidad acelerada a 40°C a pH 7,0, mostró, en un mes, amarilleo obvio de la solución indicando la presencia de producto de degradación de cromóforo. Este descubrimiento fue inesperado y no previsto por la bibliografía sobre la degradación de aminoglicósido (*Drug Develop Industr. Pharm.*, 18:1423-36 (1992)). Esta reacción fue menos evidente a pH 5,5 o 6,5. A un pH tal, aparentemente, la degradación no está presente o es mucho más lenta. Por estas razones, así como para la evitación de broncoespasmo en los pacientes, el pH óptimo para la formulación de aerosol fue determinado entre pH 5,5 y pH 6,5. En los estudios de estabilidad extendidos descritos en el ejemplo 7, se encontró la estabilidad completa durante más de 6 meses a temperatura 5°C a pH 6. La formulación almacenada durante 6 meses a 25°C se encontró estable pero menos que a 5°C. Allí la formación de color aumentó desde 15 KS unidades hasta 52 KS unidades.

20 La formulación de la invención es nebulizada predominantemente en tamaños de partículas que permiten un suministro del fármaco en bronquiolos terminales y respiratorios, donde reside la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (figura 1). Para el suministro eficaz de tobramicina al espacio endobronquial del pulmón de las vías respiratorias en un aerosol, es necesaria la formación de las partículas de aerosol que tienen un diámetro medio del medio de masa entre predominantemente 1 y 5 μm . La cantidad formulada y suministrada de tobramicina para el tratamiento y profilaxis de infecciones endobronquiales, particularmente las provocadas por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, debe dirigirse efectivamente al esputo producido por la bacteria. La formulación debe tener un volumen aerosolizable lo más pequeño posible capaz de suministrar la dosis efectiva de aminoglicósido al lugar de la infección. La formulación debe proporcionar adicionalmente condiciones que no afecten adversamente a la funcionalidad de las vías respiratorias. Como consecuencia, la formulación debe contener suficiente fármaco formulado bajo las condiciones que permitan su suministro eficaz al mismo tiempo que eviten reacción no deseada. La nueva formulación de acuerdo con la invención cumple estos requerimientos.

35 La elección del nebulizador es también crítica. Entre los nebulizadores disponibles, los nebulizadores de chorro conocidos como Sidestream^(R), obtenidos de Medicaid y Pari LC^(R) obtenidos de Pari Respiratory Equipment, Richmond, Virginia, se ha descubierto que producen un aerosol antibiótico con características potencialmente respirables. Dos nebulizadores ultrasónicos que producen tamaño de partícula adecuado de 1 a 5 μm , y tienen una capacidad de depósito de 5 ml, son el Aerosonic de DeVilbiss y UltraAire de Omron. Estos nebulizadores de chorro y ultrasónicos, pueden utilizarse también ventajosamente en la invención.

40 La dosis formulada de 60 mg/ml de un cuarto de solución salina diluida se ha encontrado que es óptima para el suministro más eficaz. Aunque en algunos casos, pueden utilizarse de forma ventajosa tanto dosis menores como mayores, típicamente de 40-80 mg/ml, se prefiere la dosis de 60 mg/ml de tobramicina. Una solución de tobramicina más concentrada tiene tres inconvenientes. En primer lugar, si la solución se aproxima a la solubilidad de la tobramicina, 160 mg/ml, se espera precipitación durante el almacenamiento. En segundo lugar, una concentración más alta de tobramicina que la clínicamente necesaria es económicamente desfavorable. En tercer lugar, una solución más concentrada incrementará la osmolaridad de la solución, disminuyendo de este modo la salida de la formulación tanto con nebulizadores de chorro como ultrasónicos. La alternativa de una solución más concentrada en un volumen total más pequeño es también inconveniente. La mayoría de los nebulizadores tienen un volumen de espacio muerto de 1 ml. Lo que significa que el último 1 ml de la solución se desperdicia debido a que el nebulizador no está actuando completamente. Por lo tanto, aunque para el ejemplo 2, una solución de 2 ml tendría 50 % de desperdicio, la solución de 5 ml (la capacidad del nebulizador) tiene solamente 20 % de desperdicio. Adicionalmente, puesto que no existe aerosolización suficiente del fármaco en las partículas

pequeñas, el fármaco en partículas grandes o como una solución se deposita en las vías respiratorias superiores e induce a tos y puede provocar también broncoespasmo. Las partículas de aerosol grandes limitan también el suministro de fármaco.

5 La dosis inferior a 60 mg de tobramicina por ml de solución salina diluida no es suficiente para suprimir la bacteria y para tratar la infección. Las concentraciones menores de tobramicina no serán suficientemente efectivas en al menos el 90% de los pacientes. Esto es debido a la variabilidad de los niveles de tobramicina en el esputo provocada por la variabilidad anatómica entre los pacientes como se observa en los ejemplos 4 y 5, y también debido a que varía también la concentración de inhibición mínima de
10 *Pseudomonas aeruginosa*. Como se observa en la Tabla 4, se ha encontrado que es óptima una dosis de 300 mg total. Las dosis estudiadas previamente de 80 mg, *Pediat. Pulmonol.*, 6:91-8 (1989) se han informado como efectivas. No obstante, esta dosis sería pronosticada eficaz en aproximadamente sesenta o setenta por ciento de los pacientes. Si se desarrollase cierto grado de resistencia al fármaco, solamente se trataría de manera efectiva un pequeño porcentaje de pacientes.

15 El tamaño de las partículas aerosolizadas se encontró que era crítico. Las partículas mayores de 1-5 μm impactaron en la vía respiratoria superior, de manera que fueron depositadas por encima del espacio endobronquial, en la orofaringe y en la boca. Como resultado de esto, se deterioró el suministro de fármaco, se desperdició una gran cantidad de fármaco, se hizo lento el tratamiento del paciente o se
20 dañó en gran medida y se elevó el coste del tratamiento. Adicionalmente, el fármaco depositado en la orofaringe es ingerido y puede tener lugar cierta absorción del aminoglicósido del tracto gastrointestinal. Puesto que la ototoxicidad y la nefrotoxicidad del aminoglicósido es acumulativa, cualquier absorción del fármaco es inconveniente para el paciente.

25 De acuerdo con la invención, el aminoglicósido es formulado en forma de dosis destinada a terapia de inhalación para pacientes con fibrosis cística. Puesto que los paciente CF residen en todo el mundo, es esencial que la formulación tenga un periodo de conservación razonablemente largo. Por lo tanto, las condiciones de almacenamiento y empaquetado son importantes.

30 Como se describe anteriormente, el pH de la solución es importante en la prevención de la degradación de la tobramicina. El pH entre 5,5 y 6,5, preferentemente 6,0, se encontró que era el más óptimo desde el punto de vista del almacenamiento y el periodo de conservación más largo.

35 La formulación se almacena típicamente en viales de polietileno de baja densidad (LDPE) de cinco mililitros. Los viales son rellenados asépticamente utilizando un proceso de soplado, llenado, sellado. Los viales son sellados en superbolsas de lámina, seis por superbolsa. Este esquema de envase proporciona convenientemente un suministro de tres días de producto por superbolsa, con un régimen de dosis de dos tratamientos por día, un vial por tratamiento.

40 La estabilidad de la formulación es otra cuestión muy importante para la formulación eficaz. Si el fármaco se degrada antes de su aerosolización, se suministra menos cantidad de fármaco al pulmón, deteriorando de esta manera el tratamiento así como provocando condiciones que podrían conducir al desarrollo de resistencia de aminoglicósido, puesto que la dosis suministrada sería demasiado pequeña. Además, los productos de degradación de tobramicina pueden provocar broncoespasmo y tos.

45 Los estudios de estabilidad y de estabilidad prolongada descritos en los ejemplos 6 y 7 muestran que la formulación de tobramicina es estable durante 6 meses a temperaturas de 5°C y 25°C. A 40°C, la formulación es menos estable que a 5°C y 25°C. La mejor estabilidad se alcanzó a 5°C, donde los cambios de color no fueron apreciados después de 6 meses de almacenamiento a esta temperatura.

50 Para prevenir la degradación de la tobramicina a la concentración propuesta de 60 mg/ml y con el fin de proporcionar la estabilidad aceptable, un producto con contenido de oxígeno bajo es producido envasando los viales de LPDE en envase con protección contra el oxígeno que comprende superbolsas de lámina, seis viales por superbolsa. Antes del llenado del vial, la solución en el depósito de mezcla se rocía
55 con nitrógeno, y el espacio de cabecera de la superbolsa anular se purga con nitrógeno. De este modo, se previene tanto la hidrólisis como la oxidación del aminoglicósido.

II. Nebulizadores

60 Una parte indivisible de esta invención es un nebulizador de chorro o ultrasónico capaz de nebulizar la formulación de la invención en tamaño de partícula de aerosol predominantemente en el intervalo de 1-5 μm . Predominantemente en esta solicitud significa que al menos 70 %, pero preferentemente más del

90% de todas las partículas de aerosol generadas están dentro de 1-5 μm .

Están disponibles actualmente, dos tipos de nebulizadores, tales como de chorro o ultrasónicos, que pueden producir y suministrar partículas entre 2 y 5 μm de tamaño de partícula que es óptimo para el tratamiento de las infecciones *Pseudomonas aeruginosa*. Un nebulizador de chorro trabaja mediante presión neumática para romper una solución de líquido en las gotitas del aerosol. Un nebulizador ultrasónico actúa por un cristal piezoeléctrico que cizalla un líquido en gotitas de aerosol pequeñas. No obstante, solamente pueden nebulizarse eficientemente algunas formulaciones de aminoglicósidos y particularmente tobramicina por ambos nebulizadores, puesto que ambos dispositivos son sensibles al pH de la formulación y a su resistencia iónica. Las formulaciones que pueden nebulizarse deben contener típicamente grandes cantidades del aminoglicósido que es suministrado en volúmenes grandes de aerosol.

Las formulaciones aerosolizadas de la técnica anterior con concentraciones más altas de aminoglicósido (50 mg/ml o mayor) han utilizado soluciones salinas normales que no son nebulizadas tan eficientemente por un nebulizador ultrasónico.

Aunque está disponible una amplia variedad de nebulizadores, solamente un número limitado de estos nebulizadores son adecuados para los fines de esta invención. El nebulizador adecuado para los fines de esta invención se ilustra en la figura 3.

La figura 3 muestra el nebulizador de chorro 10 útil para la aerosolización de tobramicina y otros aminoglicósidos para el aerosol que tiene tamaño de partícula predominantemente en la región 1-5 μm . El nebulizador 10 consta de la caja exterior 14, la boquilla 30, la copa del nebulizador 22 cubierta con la etapa 16, la cámara Venturi 28, el tubo de suministro de aire 24, la copa de medicina líquida 22 y el desviador 18.

La formulación de líquido es colocada en la copa del nebulizador 22 eliminando y substituyendo la tapa de la copa (16). La tapa 16 tiene uno o más agujeros de entrada de aire (20) que permiten la entrada de aire ambiente a la cámara Venturi 28. La cámara Venturi 28 permite que el aire ambiente introducido se mezcle con el aerosol para incrementar el suministro de fármaco. Un tubo de suministro de aire 24, típicamente (8 l/M) está conectado a la copa de medicina de líquido 22 del nebulizador. El aire pasa a través de la copa 22 dentro del orificio del nebulizador de chorro 26, donde crea el aerosol cizallando la solución líquida en pequeñas hebras de líquido que se fragmentan en pequeñas partículas cuando impactan en un desviador 18. El nebulizador 10 comprende adicionalmente una boquilla 30 para inhalación del aerosol. La boquilla contiene una válvula de mariposa 12 para permitir la exhalación. La boquilla 30 está conectada al cuerpo principal del nebulizador 10.

Para identificar el nebulizador eficiente y adecuado para uso en la presente invención, se realizaron dos estudios separados.

El primer estudio, descrito a continuación, fue determinar in vitro que los nebulizadores cumplen los criterios que son importantes para el suministro de antibióticos aerosolizados. Se estudiaron tanto nebulizadores ultrasónicos como de chorro. El segundo estudio fue determinar la farmacodinámica del aminoglicósido en el esputo que es una medida de la eficacia del suministro del aerosol.

Las limitaciones principales del nebulizador ultrasónico Ultraneb 99 (DeVilbiss) utilizado para el suministro de formulación de tobramicina son su alto coste, derroche de fármaco e inconveniencia. Como se observa en la Tabla 1, este nebulizador requiere 30 ml de la solución de fármaco, y tiene un depósito de aerosol grande de 1200 ml. Con el fin de que la terapia del aerosol aminoglicósido esté ampliamente disponible y sea utilizada por pacientes con fibrosis quística en el ambulatorio o en casa, es necesario un nebulizador más eficiente y más fácil de utilizar.

Este estudio fue la primera etapa en el ensayo para ver si el primer nebulizador de chorro podría substituirse por el nebulizador ultrasónico y si pueden obtenerse niveles de aminoglicósido de esputo adecuados con un nebulizador de chorro. Estudios posteriores incluyeron una eficiencia clínica de larga duración.

Un estudio comparativo in vitro evaluó una variedad de nebulizadores de chorro disponibles comercialmente, incluyendo entre otros, el Acorn II^(R) de Marquest, T-Updraft^(R) de Hudson, Sidestream^(R) de Medicaid, y Pari LC^(R) de Pari. El compresor PulmoAide^(R) fue elegido debido a su fiabilidad y uso extendido en la población CF.

Una observación más detallada en todos estos nebulizadores reveló que la mayoría de ellos son relativamente ineficientes en el suministro de una neblina inhalable. Los tres nebulizadores elegidos utilizados en los protocolos clínicos, el ultrasónico DeVilbiss 99, el Pari CL jet y el Medicaid Sidestream jet, han mostrado propiedades que sugieren que podrían suministrar posiblemente aerosol tobramicina en el espacio endobronquial. De los tres, los dos nebulizadores de chorro fueron claramente superiores al nebulizador ultrasónico DeVilbiss. Por lo tanto, se han evaluado *in vitro* para determinar cuál de ellos podría proporcionar la mayor cantidad de fármaco a las vías respiratorias y dos nebulizadores de chorro se encontraron que cumplían los requerimientos.

Las características comparativas del Ultraneb 99 DeVilbiss (ultrasónico) y dos de los nebulizadores de chorro, el Sidestream y el Pari LC con el compresor PulmoAide, que muestran las mejores características *in vitro*, son indicadas en la Tabla 1.

TABLA 1

Características comparativas de diferentes nebulizadores

Nebulizador	DeVilbiss 99	Sidestream	Pari LC
Tipo	Ultrasónico	Chorro	Chorro
Flujo aire	8 L/m	8 L/m	8 L/m
Depósito líquido	30 ml	5 ml	5 ml
Tiempo de nebulización	10-12 min.	~13 min. (*)	10 min. (**)
Formulación de aminoglicósido	20 mg/ml en 1/2NS	60 mg/ml en 1/4NS	60 mg/ml en 1/4NS
Depósito de aerosol	1.200 ml	30 ml	30 ml
MMAD**	~4-5 μm (micras)	~2,2 μm (micras)	~4-5 μm (micras)
Dosis fármaco/ml	33 \pm 1,8 mg	30 \pm 1,8 mg	29 \pm 5 mg
Dosis fármaco total	600 mg	300 mg	300 mg

* Tiempo de chisporroteo del chorro

** Diámetro aerodinámico mediano de masa.

Como se ve de la Tabla 1, existen diferencias substanciales entre los sistemas de nebulizador ultrasónico y de chorro. Los dos nebulizadores de chorro requieren un volumen de solución aproximadamente seis veces más pequeño y no tienen ni requieren un depósito grande desde el que pueda inhalarse el aerosol. En términos de dosis, por ejemplo, se utilizaron dosis de 60 mg en el nebulizador ultrasónico DeVilbiss 99, mientras que se encontró que solamente la mitad de esta cantidad era suficiente para uso en el nebulizador de chorro. Para alcanzar la dosis de 600 mg en el nebulizador de chorro, la formulación requerida en un nebulizador de chorro sería 120 mg/ml en una solución de 5 ml que es dos veces mayor que la necesaria. En estas condiciones, sería necesario que se redujera la tonicidad de soluto para mantener la osmolaridad fisiológica de la solución. La osmolaridad es la suma de los osmoles del aminoglicósido y la solución salina en la solución. La osmolaridad fisiológica es un intervalo que no induce a broncoespasmo o tos.

De los dos nebulizadores de chorro comparados en la Tabla 2, el Sidestream puede ser más eficiente en el suministro de aminoglicósido para la vía respiratoria inferior debido a la emisión de tamaño de partícula más pequeña (2,2 μm). A la inversa, el Pari PC produce un tamaño de partícula más grande (4,5 μm) a una emisión mayor reduciendo de esta manera el tiempo de suministro y la molestia del paciente. Ambos nebulizadores de chorro tienen un diseño Venturi que aumenta el suministro de fármaco en la inspiración. El tamaño más pequeño del equipo disminuye la caída de las partículas aerosolizadas que se produce antes de la inspiración por el paciente. Los nebulizadores de chorro Sidestream y Pari LC tienen también la ventaja de estar disponibles tanto en unidades reutilizables como desechables.

Como se ve también en la Tabla 1, todos los tres nebulizadores suministraron aproximadamente 30

mg/ml de aminoglicósido a las vías respiratorias incluso aunque el nebulizador ultrasónico DeVilbiss 99 necesitó dos veces más fármaco, es decir, 600 mg de aminoglicósido, comparado con 300 mg para los dos nebulizadores de chorro, para suministro de 33 mg/ml.

5 Un régimen de aminoglicósido de dosis alta (600 mg) suministrado a través del nebulizador ultrasónico DeVilbiss demostró función pulmonar mejorada y un descenso de mil veces en la densidad de *P. aeruginosa* en el esputo después de la administración de treinta días, como se describe en NEJM, 328:1740 (1993). Aunque la administración de aminoglicósido aerosolizado de alta dosis a través del nebulizador ultrasónico DeVilbiss Ultraneb 99 demostró seguridad y eficacia del tratamiento de aerosol de tobramicina, se ha limitado la aceptación por el paciente y el médico debido al coste del fármaco requerido para este sistema de suministro. Con el fin de proporcionar una dosis eficaz adecuada de aminoglicósido a las vías respiratorias inferiores de una manera de coste efectivo, es decir, utilizando dosis de aminoglicósido lo más bajas posibles, es necesario un nebulizador que suministre una equivalencia de eficacia de aminoglicósido al menos como la del sistema ultrasónico Ultraneb 99.

15 La presente invención ensayó e identificó dos nebulizadores de chorro que son capaces de suministrar la equivalencia de eficacia de tobramicina utilizando solamente la mitad de la dosis necesaria por el nebulizador ultrasónico.

20 Basado en el ensayo in vitro de nebulizadores en condiciones clínicas con un equipo de pulmón de ensayo de volumen tidal 0,6 L, velocidad respiratoria 18 aspiraciones/minuto, relación entre inspiración y expiración 1:3, y un patrón de aspiraciones de onda cuadrada, se determinó el suministro de dosis de fármaco previsto para el paciente midiendo la cantidad de aminoglicósido recogida después del paso del fármaco aerosolizado a través de un sistema de filtración que elimina las partículas aerosolizadas > 6,4 μm (micras).

25 Los estudios descritos anteriormente confirmaron también que los nebulizadores de chorro son aproximadamente 10% eficientes bajo condiciones clínicas, mientras que los nebulizadores ultrasónicos son solamente aproximadamente 5% eficientes. La cantidad depositada y absorbida en los pulmones es una fracción del 10% y por lo tanto el peligro de la exposición sistémica es baja a pesar de grandes cantidades de fármaco en el nebulizador.

35 Además de los nebulizadores de chorro ensayados anteriormente, fueron ensayados también dos nebulizadores ultrasónicos de volumen pequeño, Aerosonic de DeVilbiss y UltraAire de Omron y se encontraron adecuados para el suministro de la formulación de la invención. Estos nebulizadores ultrasónicos se diferencian del UltraNeb 99 puesto que tienen un depósito más pequeño y pueden utilizar la solución de volumen más pequeño.

III. Eficacia

40 El suministro y la eficacia de la formulación de aminoglicósido aerosolizado se determinaron y se predijeron por la presencia y concentración de aminoglicósido en esputo. Si la concentración de aminoglicósido encontrada en el esputo es suficientemente grande para suprimir la infección bacteriana, entonces la combinación de formulación/nebulizador será eficiente en el suministro del fármaco al pulmón. No obstante, si al mismo tiempo, la cantidad de fármaco que debe aerolizarse para alcanzar niveles terapéuticos es también muy grande, entonces obviamente, la formulación no es eficiente y conduce a derroche del fármaco. La formulación más eficiente es una donde la cantidad de fármaco aerosolizado es terapéuticamente eficiente en la amplia mayoría (>90%) de los pacientes, donde todo o casi todo el fármaco es suministrado en el lugar de la infección, y donde la cantidad de fármaco suministrado es todavía suficiente para suprimir las bacterias en el esputo. La medida de la eficacia en este caso es la cantidad suficiente hallada de fármaco nebulizado en el esputo en la amplia mayoría (>90%) de los pacientes en la población. El suministro eficiente de tobramicina se define como la consecución de la concentración del espectro ≥ 10 veces la concentración de inhibición media (MIC) de 90% de patógenos de *Pseudomonas aeruginosa* (es decir, 1,28 mg/ml) en $\geq 90\%$ de los pacientes ensayados.

55 La segunda cuestión de este estudio se refirió a la concentración objetiva adecuada de aminoglicósido en el esputo, como una medida de eficacia. La determinación de las concentraciones de aminoglicósido objetivo deben tener en cuenta la variabilidad de 10-veces típica de concentración de aminoglicósido vista en el esputo entre pacientes debido a factores anatómicos y fisiológicos intrínsecos. Tal determinación debe tener en cuenta también el intervalo de concentración de inhibición media (MIC) observada en productos aislados clínicos.

Los estudios que examinan la eficacia de aminoglicósido aerosolizado muestran consistentemente la mejora en pacientes CF. En el estudio más extensivo hasta la fecha descrito por el inventor Smith en *N. Engl. J. Med.*, 328:1740 (1993), 71 pacientes tomaron parte en un ensayo cruzado de tres periodos, controlado por placebo, doble ciego, multicentros para determinar la eficacia del aminoglicósido aerosolizado para el tratamiento de infección endobronquial debida a *P. aeruginosa* en pacientes CF. Los pacientes estaban divididos en dos grupos. El grupo 1 recibió 600 mg de aminoglicósido aerosolizado tres veces al día por nebulizador ultrasónico durante 28 días. Esto fue seguido por un placebo durante dos periodos consecutivos de 28 días. El grupo 2 recibió un placebo durante los primeros 28 días y fue seguido por aminoglicósido durante dos periodos consecutivos de 28 días.

Una comparación de los datos de los grupos 1 y 2 después de la terminación del primer periodo de 28 días mostró que el aminoglicósido estaba asociado con cambios favorables en una variedad de ensayos cuantificables que incluyen volumen de espiración forzada, capacidad vital forzada y un descenso en las unidades que forman la colonia (CFUs) de *P. aeruginosa* en el esputo.

Una comparación de los datos después de la terminación de todo el estudio de tres periodos mostró que la mejora significativa estaba asociada con tratamiento de tobramicina aerosolizada. Esta mejora se produjo a una mayor extensión después del primer periodo de 28 días. No obstante, en los tres periodos, se observó una reducción en la densidad de *P. aeruginosa* en el esputo en un factor de 10.

Estudios previos han mostrado que las concentraciones en el esputo de tobramicina mayores de 13.500 $\mu\text{g}/\text{m}$ pueden alcanzarse por inhalación.

IV. Farmacocinética y estudios clínicos

Durante el desarrollo de la presente invención, teniendo en mente una propuesta primaria para alcanzar la mayor eficacia utilizando la menor dosis posible de fármaco, en primer lugar, la farmacocinética de la tobramicina en el esputo ha sido estudiada después de la administración de aerosol a veinte pacientes con CF. Utilizando el mismo protocolo de inhalación utilizado en ensayos clínicos posteriores, es decir, una dosis de 20 mg/ml de sulfato de tobramicina en 30 ml de una semi solución salina normal administrada por nebulizador ultrasónico Ultraneb 99 para 200 inhalaciones, se alcanzaron niveles de esputo máximos a los 10-30 minutos después de recibir la terapia. Estos niveles oscilaron desde 310,4 $\mu\text{g}/\text{gm}$ hasta 5,941 $\mu\text{g}/\text{gm}$, con un nivel medio a 1,606 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Los niveles de esputo se redujeron rápidamente después de 30 minutos, alcanzando un mínimo en cuatro horas.

Revisando los MICs para los productos aislados con la densidad máxima (columna derecha) indicada en la Tabla 3, es evidente que los niveles de esputo obtenidos en el estudio anterior fueron innecesariamente altos y serían suficientes niveles de esputo menores que los alcanzados con el régimen del nebulizador ultrasónico Ultraneb 99. Un nivel de esputo de 128 $\mu\text{g}/\text{gm}$ sería mayor que o igual al MIC para 98 % de todos los productos aislados y aproximadamente diez veces mayor que el MIC para el 90 % de todos los productos aislados. El propósito del protocolo de eficiencia fue, por tanto, comparar varios sistemas del nebulizador ultrasónico y de chorro con el objetivo de alcanzar una concentración de esputo de aproximadamente 128 $\mu\text{g}/\text{gm}$ pero no menor o no mucho mayor.

Después de estos estudios preliminares, se realizaron dos ensayos clínicos descritos en detalle en los ejemplos 3-5.

En el primer ensayo clínico, como la primera parte del estudio, se realizaron las valoraciones farmacodinámicas de eficacia de suministro de aerosol de dos nebulizadores de chorro con el propósito principal de determinar la concentración objetiva adecuada de tobramicina en el esputo. Este estudio concluyó que la formulación de tobramicina óptima es una donde la combinación de un nebulizador específico con una formulación específica alcanza una concentración de tobramicina en el esputo de aproximadamente 128 $\mu\text{g}/\text{g}$ en aproximadamente 90 % de los pacientes. Una concentración de este tipo corresponde al 98 % de concentración de inhibición mínima (MIC).

En la segunda parte del estudio clínico, dos nebulizadores de chorro, Sidestream y Pari LC, fueron comparados y evaluados con respecto a su capacidad para alcanzar la concentración de tobramicina en el esputo entre 128 $\mu\text{g}/\text{g}$ y 100 $\mu\text{g}/\text{g}$. Ambos nebulizadores de chorro fueron encontrados capaces de alcanzar concentraciones objetivas de tobramicina en el esputo cuando se utiliza la formulación que contiene 300 mg en 5 ml en 1/4 NS.

El ensayo clínico II confirmó los resultados obtenidos en el ensayo clínico I y comparó el suministro de

formulación de tobramicina ensayada en el ensayo clínico I, en dos nebulizadores de chorro y 1 nebulizador ultrasónico. Las dosis para los nebulizador ultrasónico fueron 600 mg/30 ml. La mitad de la dosis de la tobramicina suministrada por los nebulizadores de chorro fue suficiente para alcanzar concentración terapéuticamente efectiva de la tobramicina en el espacio endobronquial.

5

Los ensayos clínicos confirmaron que utilizando la nueva formulación de tobramicina en combinación con nebulizadores de chorro se suministra concentración suficiente de tobramicina en el espacio endobronquial hasta alcanzar la supresión de la infección endobronquial provocada por *Pseudomonas aeruginosa*. La combinación de la nueva formulación de tobramicina en 1/4 de solución salina normal se aerosoliza fácilmente por nebulizador de chorro y las partículas de aerosol producidas tienen tamaños predominantemente entre 1-5 μg . La combinación de la nueva formulación con el nebulizador de chorro da lugar a una mejora considerable con relación a las formulaciones y los medios de suministro de la técnica anterior. La combinación proporciona mayor eficacia, es más segura y proporciona ahorros de hasta 50 % de fármaco necesarios para alcanzar los mismos resultados que los alcanzados por los tratamientos de la técnica anterior.

15

Utilidad

La utilidad de esta invención está basada en el descubrimiento de que la formulación de alta concentración de aminoglucósidos de pequeño volumen puede utilizarse o bien por un nebulizador de chorro o ultrasónico manual y concentraciones eficaces del fármaco pueden suministrarse al espacio endobronquial en pacientes humanos que sufren de bronquitis crónica y bronquiectasia provocadas por bacterias susceptibles a aminoglicósido u otras infecciones. La formulación es segura y de coste muy efectivo. Adicionalmente, la formulación tiene periodo de conservación y de almacenamiento prolongados cuando se mantiene en un medio de nitrógeno y con pH controlado. La formulación actual y el método para su almacenamiento proporcionan un periodo de conservación adecuadamente largo para la amplia distribución comercial.

20

25

Ejemplo 1

30

Formulación de tobramicina

Este ejemplo ilustra la preparación de la formulación de la invención.

35

1. Agua caliente para inyección se inundó continuamente (WFI) a través del recipiente del producto de 20 L Millipore.

2. Se ensayó la potencia de tobramicina (g/L) y se añadió tobramicina al recipiente del producto.

40

3. La cantidad de tobramicina se pesó de forma segura en una botella de espécimen de boquilla ancha y se etiquetó.

4. Se dispersaron 11,25 Kg de WFI en un recipiente del producto limpio de 20 L Millipore.

45

5. Con agitación moderada, se añadieron lentamente 33,75 g de cloruro de sodio, USP y se mezclaron hasta que se disolvieron.

6. Se añadió WFI al recipiente del producto hasta 12 Kg y se mezclaron durante 5 minutos.

50

7. Con mezcla continua, se añadieron 100 mL de 5 N de H_2SO_4 (ácido sulfúrico) para cada litro de WFI en la formulación final.

8. El recipiente del producto se roció con nitrógeno (N_2).

55

9. Después de aproximadamente 15 minutos de rociado, se midió el oxígeno disuelto (O_2) por supervisión continua de oxígeno disuelto en el depósito, utilizando una sonda.

10. Se continuó la medición del O_2 disuelto hasta cinco mediciones (5) consecutivas ≤ 3 ppm disueltas en O_2 .

60

11. Con rociado continuo de N_2 y mezcla moderada, se añadió tobramicina y se mezcló hasta que se disolvió.

ES 2 136 883 T3

12. Se retiró la muestra de 20 mL de la formulación del producto y se midió el pH. La formulación del producto se ajustó hasta alcanzar un valor de pH final de 6,0.

5 13. Una parte alícuota de las fórmulas del producto se muestreó y analizó para concentración de tobramicina.

14. Se analizó una parte alícuota de la fórmula del producto para pH.

10 15. Una parte alícuota de la fórmula del producto se analizó para O₂ disuelto (en triplicado).

16. Cuando el lote cumplió los criterios de ensayo de control de calidad, se liberó el producto.

Ejemplo 2

15 *Suministro de tobramicina y efecto de solución salina normal o diluida*

Este ejemplo ilustra el efecto de la solución salina normal y diluida de un cuarto de graduación en la cantidad aerosolizada de fármaco suministrado durante un periodo de diez minutos.

20 Para ensayar la salida de un nebulizador ultrasónico portátil manual, se utilizó un UltraAirs de Omron. Este nebulizador ultrasónico tiene una copa de medicación reutilizable que está sobre el cristal ultrasónico. La copa de medicación se pesó, se añadió una solución de tobramicina de 5 ml (60 mg/ml) y se volvió a pesar la copa. El soluto fue o bien una solución salina normal (0,9 % p/v) o 1/4 normal (0,225 % p/v).
25 Después de 10 minutos de aplicaciones de nebulización, se volvió a pesar la copa. La salida fue la diferencia entre los pesos previos y los pesos posteriores. Cada soluto se ensayó 14 veces. La tabla adjunta muestra los resultados.

30 Los análisis estadísticos de los resultados muestran que la solución normal del 1/4 suministra una cantidad mayor de fármaco durante un periodo de diez minutos ($p = 0,031$)

Los resultados se muestran en la Tabla 2.

TABLA 2

35 *Efecto de dilución salina sobre nebulizador ultrasónico suministro de tobramicina*
Comparación de 0,9 % NS con respecto a 0,22 % NS

	Medio	Desv. ST.	VAR	COEF/VAR
0,9 % No diluido	3,635714	0,583737	0,340749	0,160556
0,22 % NS 1/4 diluido	4,070714	0,41174	0,16953	0,101147

45 Se suministró tobramicina formulada en solución salina diluida en mayor cantidad que la formulada en la solución salina no diluida.

Ejemplo 3

50 *Ensayo clínico - I Valoración farmacodinámica de la eficacia de suministro de aerosol*

Este ejemplo ilustra el ensayo clínico-valoración farmacodinámica de la eficacia de suministro de aerosol.

55 *Diseño del estudio*

60 Este estudio fue una revisión anual de todos los registros microbiológicos en el Hospital Infantil en Seattle. Se compilaron todos los datos de cultivos positivos de *Pseudomonas aeruginosa* que se produjeron en pacientes con Fibrosis Cística. Si se han obtenido cultivos múltiples a partir de un individuo único, el primer cultivo se tomó como representativo. Se generó entonces una base de datos sobre el número de

individuos y las características respectivas del nivel de tobramicina requerida para inhibir el crecimiento bacteriano.

El propósito principal de este estudio clínico se refirió a la concentración objetiva adecuada de tobramicina en el esputo para tratar la infección de *Pseudomonas aeruginosa*. Las concentraciones de tobramicina objetivas deben tener en cuenta la variabilidad de 10 veces típica de la concentración de tobramicina vista en esputo entre pacientes debido a factores anatómicos y fisiológicos intrínsecos. Deben tener en cuenta también el intervalo de concentración media de inhibición (MIC) observada en los productos aislados clínicos.

Las Tablas 3 y 4 ilustran el MIC obtenido a partir de productos aislados de *Pseudomonas aeruginosa* comunes y resistentes a tobramicina.

TABLA 3

Distribución de los MICs para el producto aislado más resistente a tobramicina obtenido del esputo de cada paciente (n = 58)

MIC ($\mu\text{g/ml}$)*	Producto aislado (<i>P. aeruginosa</i>) # de pacientes	con MIC máximo frecuencia acumulativa
0,25	21	36 %
0,5	10	53 %
1	8	67 %
2	5	75 %
4	4	83 %
8	2	86 %
16	2	90 %
32	2	93 %
64	1	95 %
128	2	98 %
256	1	100 %

*MIC = Concentración de Inhibición Mínima

Los MICs de tobramicina para los productos aislados de *P. aeruginosa* de pacientes en el Hospital Infantil de Seattle oscilaron de 0,25 $\mu\text{g/ml}$ a 256 $\mu\text{g/ml}$ con un MIC₉₀ de 16 $\mu\text{g/ml}$ (Tabla 3). El MIC₉₀ es la concentración del fármaco que inhibe el 90 % de los productos aislados de *Pseudomonas aeruginosa*. Las muestras de esputo de los pacientes CF fueron cultivadas para producir unidades de formación de colonias individuales (CFUs). El MIC se determinó entonces para CFUs individuales. Los CFUs fueron considerados productos aislados diferentes si su MICs eran distintos.

La frecuencia de estos productos aislados (Tabla 4) muestra que los niveles de esputo inferiores a los alcanzados con el régimen del nebulizador ultrasónico (Ultraneb 99) son suficientes para alcanzar los niveles terapéuticos. Un nivel en el esputo de 128 $\mu\text{g/gm}$ sería mayor o igual al MIC para el 98 % de todos los productos aislados como se observa en la Tabla 3 y aproximadamente diez veces mayor que el MIC para el 90 % de todos los productos aislados como se observa en la Tabla 4. Una concentración objetiva inicial de tobramicina de diez veces mayor que el MIC es necesaria debido a que el esputo parece para adherirse al 90 % de tobramicinas. La formulación de tobramicina óptima es una donde una combinación de nebulizador y formulación que alcanza una concentración de esputo de tobramicina de > 128 $\mu\text{g/gm}$ en al menos 56 de 60 pacientes CF.

TABLA 4

Distribución de los MICs para el producto aislado más común obtenido del esputo de cada paciente (n = 58)

MIC ($\mu\text{g/ml}$)*	Producto aislado (<i>P. aeruginosa</i>) # de Pacientes	con MIC máximo frecuencia acumulativa
0,25	26	45 %
0,5	10	63 %
1	9	78 %
2	3	83 %
4	2	86 %
8	2	90 %
16	2	93 %
32	1	95 %
64	1	97 %
128	2	98 %
256	1	100 %

*MIC = Concentración de Inhibición Mínima

Como se ve en las Tablas 3 y 4, se encontró que 128 $\mu\text{g/ml}$ de tobramicina consiguen el 98% de inhibición de la máxima resistencia así como los productos aislados de *Pseudomonas aeruginosa* más comunes.

Ejemplo 4

Estudio 2 - Nebulizadores de ensayo

Se llevó a cabo un estudio clínico 2 del Ensayo Clínico I en la Universidad de Washington para determinar la formulación de tobramicina requerida para alcanzar una concentración en el esputo entre 128 $\mu\text{g/gm}$ y 1000 $\mu\text{g/gm}$ de esputo a los 10 min. después de la administración de aerosol desde un nebulizador de chorro Sidestream utilizando un compresor PulmoAide y un nebulizador de chorro Pari LC utilizando un compresor PulmoAide y un nebulizador de chorro Pari LC utilizando un compresor PulmoAide.

Cinco pacientes CF recibieron dosis en serie de 300 mg de tobramicina (5 ml de una solución de 60 mg/ml en 1/4 NS) de cada uno de los nebulizadores de chorro. Las dosis fueron separadas por al menos dos días y no más de 5 días. Las concentraciones máximas de suero y esputo fueron valoradas y los resultados se observan en las Tablas 5 y 6.

ES 2 136 883 T3

TABLA 5

Concentraciones de esputo después de la administración de aerosol de 300 mg de tobramicina en 5 ml de 1/4 NS

Sujeto#	Nebulizador de chorro	Concentración de tobramicina en el esputo ($\mu\text{g}/\text{gm}$)			
		Línea de base	10 min.*	1 hora*	2 horas *
001	Sidestream Pari LC	bql bql	792,8 1595,9	1026,7 481,8	163 416,8
002	Sidestream Pari LC	bql bql	460,6 764,2	23,1 231,8	49,1 52,8
003	Sidestream Pari LC	bql bql	162,5 133,7	180,5 110,7	58,1 92,5
004	Sidestream Pari LC	bql bql	84,2 166,5	36,6 32,4	57,5 60,5
005	Sidestream Pari LC	bql bql	1135,9 1395,6	488,2 186,8	331,5 131,8
Media/ desviación St.	bql bql	527,2 \pm 585,9 811,2 \pm 677,2			

* tiempo desde la terminación del tratamiento con aerosol

+ < 20 $\mu\text{g}/\text{gm}$

TABLA 6

Concentraciones de suero después de la administración de aerosol de 300 mg de tobramicina en 5 ml de 1/4 NS

Sujeto#	Nebulizador chorro	Suero tobramicina $\mu\text{g}/\text{ml}$ \pm % cambio FEV ₁ *			
		Línea de base	1 hora*	2 horas*	30 minutos*
001	Sidestream Pari LC	no detectada no detectada	0,3 0,2	0,2 0,3	-2,2% -1,2%
002	Sidestream Pari LC	no detectada no detectada	0,2 0,5	0,2 0,4	0,0% 1,2%
003	Sidestream Pari LC	no detectada no detectada	0,9 0,6	0,8 0,5	-7,6% -0,6%
004	Sidestream Pari LC	no detectada no detectada	1,2 0,5	1,0 0,4	-1% -2%
005	Sidestream Pari LC	no detectada no detectada	1,6 0,8	1,0 0,7	0,0% -5%

* tiempo desde la terminación del tratamiento con aerosol

< 20 $\mu\text{g}/\text{gm}$

Los resultados muestran que una dosis de tobramicina aerosolizada de 300 mg en 5 ml de 60 mg/ml en 1/4 de NS alcanzó la concentración objetiva ($> 128 \mu\text{g}/\text{gm}$ de esputo). Esta dosis se consideró también extremadamente segura debido a que las concentraciones de suero ($< 1,6 \mu\text{g}/\text{ml}$) estuvieron también por debajo de las concentraciones máximas de suero terapéutico recomendadas, 5-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

5 Ejemplo 5

Ensayo clínico II

10 Este ejemplo muestra los resultados del ensayo clínico para confirmar los resultados de los estudios clínicos I y II (Ejemplos 3 y 4) y para comparar la eficacia y la farmacocinética de una formulación de tobramicina administrada por tres sistemas de suministro de nebulizador diferentes para pacientes con fibrosis cística.

15 El propósito principal de este estudio fue determinar cuál de los tres sistemas de nebulizador ensayados, de chorro y ultrasónico, puede aerosolizar sulfato de tobramicina suficiente para alcanzar una concentración máxima de tobramicina en el esputo de 128 $\mu\text{g}/\text{gm}$ o mayor medida 10 minutos después de la terminación de la nebulización en al menos el 85 % de pacientes con CF. El propósito secundario fue determinar si la concentración de tobramicina requerida para alcanzar una concentración máxima en 20 el esputo de 128 $\mu\text{g}/\text{gm}$ o mayor es segura y bien tolerada por el paciente.

Diseño del estudio

25 Este fue un estudio de tres brazos transversal, aleatorio, multicentros, de etiqueta abierta. Cada brazo era un sistema de suministro del nebulizador diferente. Dos brazos suministran la misma formulación de tobramicina.

30 1. *Método estándar:* El nebulizador Ultrasonico DeVilbiss que contenía una solución de 30 ml de 20 mg/ml de tobramicina en 1/2 solución salina normal (NS) fue inhalado durante 200 inspiraciones. El nebulizador Ultrasonico DeVilbiss que contenía una solución de 30 ml de 20 mg/ml de tobramicina en 1/2 solución salina normal (NS) fue inhalado durante 200 inspiraciones. La formulación ultrasónica contenía 1/2 de NS en lugar de 1/4 de NS debido a que la concentración inferior de tobramicina mantiene una osmolaridad similar en ambas soluciones.

35 2. *Método de ensayo A:* El nebulizador de chorro Sidestream con compresor PulmoAide (a 8 L/minuto) que contenía una solución de 5 ml de 60 mg/ml de tobramicina de 1/4 de NS fue inhalado hasta chisporroteo del nebulizador. Se registró el número de inhalaciones requeridas.

40 3. *Método de ensayo B:* El nebulizador de chorro Pari LC con compresor PulmoAide (a 8 L/minuto) que contenía una solución de 5 ml de 60 mg/ml de tobramicina de 1/4 de NS fue inhalado hasta chisporroteo del nebulizador. Se registró el número de inhalaciones requeridas.

Selección de pacientes

45 Se seleccionaron un número total de 60 pacientes. Cuatro centros médicos participaron en la selección de pacientes. Cada uno de los pacientes recibió tres regímenes de tobramicina aerosolizada en orden aleatorio. Cada sitio fue capaz de seleccionar un mínimo de pacientes. Los pacientes, machos y/o hembras, con enfermedad subyacente de fibrosis cística fueron elegibles para participar en este estudio.

Formulación

50 El sulfato de tobramicina (Lilly^(R)) libre de conservante, ajustado a pH $6,95 \pm 0,05$, fue suministrado por Home Health Care de Washington (HHCW) en un envase de plástico sellado herméticamente dentro de una bolsa de lámina.

Dispositivo nebulizador de aerosol

55 El nebulizador fue o bien nebulizador de chorro Sidestream con compresor PulmoAide (a 8 L/minuto), o nebulizador Pari LC con compresor PulmoAide (a 8 L/minuto).

60

Dosis de fármaco de ensayo

1. *Método estándar*: El nebulizador ultrasónico DeVilbiss “Ultraneb 99” que contenía una solución de 30 ml de 20 mg/ml de tobramicina en 1/2 de NS (la formulación ultrasónica contenía 1/2 de NS en lugar de 1/4 de NS debido a la concentración inferior de tobramicina, manteniendo, por lo tanto, una osmolaridad similar en ambas soluciones) fue inhalado durante 200 inspiraciones. El nebulizador se dejó funcionar durante un minuto antes de permitir que las salidas de las inhalaciones fuesen lineales.

2. *Método de ensayo A*: El nebulizador de chorro Sidestream con compresor PulmoAide (a 8 L/minuto) que contenía una solución de 5 ml de 60 mg/ml de tobramicina de 1/4 de NS fue inhalado hasta el chisporroteo del nebulizador.

3. *Método de ensayo B*: El nebulizador Pari LC con compresor PulmoAide (a 8 L/minuto) que contenía una solución de 5 ml de 60 mg/ml de tobramicina de 1/4 de NS fue inhalado hasta el chisporroteo del nebulizador.

Valoración de la eficacia y seguridad

En este estudio, se valoraron los siguientes parámetros de eficacia y seguridad:

La eficacia se determinó para cada nebulizador midiendo la concentración de tobramicina en esputo 10 minutos después de la terminación de la nebulización. La concentración de $\geq 128 \mu\text{g}/\text{gm}$ de esputo fue considerada adecuada.

Los parámetros de seguridad valorados fueron:

1. Incidencia de tratamiento relacionado con reacciones adversas que se producen durante la administración de la tobramicina aerosolizada por los diferentes sistemas de suministro del nebulizador.

2. Broncoespasmo agudo en el momento de la administración del fármaco.

3. Absorción de tobramicina en la circulación sistémica.

4. Nebulizador de Chorro Pari LC con compresor PulmoAide (a 8 L/min) que contenía una solución de 5 ml de 60 mg/ml de sulfato de tobramicina en el Método de Ensayo B de 1/4 de NS.

Se seleccionaron sesenta pacientes. Cada paciente recibió, en orden aleatorio, una administración desde cada sistema de suministro del nebulizador. Cada administración con aerosol estaba separada por un mínimo de 48 horas. Las muestras de esputo fueron recogidas en la línea de base, 10 minutos, 1 hora y 2 horas después de la terminación de la administración del fármaco con aerosol para medir la concentración de tobramicina. Las muestras de suero fueron recogidas en línea de base, 1 hora y 2 horas después de la terminación de la administración con aerosol para medir los niveles de tobramicina. La irritación de las vías respiratorias y el broncoespasmo agudo fueron valorados midiendo la espirometría inmediatamente antes y 30 minutos después de la terminación de la administración con aerosol. Un descenso de $\text{FEV}_1 > 15\%$ en el ensayo de espirometría de 30 min fue considerado evidencia de broncoespasmo.

El objetivo primario de este estudio fue determinar si los nebulizadores de chorro ensayados pueden aerosolizar sulfato de tobramicina suficiente para alcanzar la concentración máxima de tobramicina en el esputo de $128 \mu\text{g}/\text{gm}$ o mayor en al menos el 85% de los pacientes con CF medida 10 minutos después de la terminación de la nebulización. La dosis utilizada con el nebulizador ultrasónico (20 mg/ml en 30 ml 1/2 NS) como se utiliza en los estudios previos se incluyó como un control. La dosis, tanto la concentración como el volumen, para los nebulizadores de chorro se basó en el estudio descrito en el Ejemplo 4.

El segundo objetivo fue determinar si la concentración de tobramicina requerida para alcanzar una concentración máxima de esputo de $128 \mu\text{g}/\text{gm}$ o mayor es segura y bien tolerada por el paciente. La seguridad se definió como una falta de broncoespasmo agudo y absorción sistémica mínima.

La formulación ultrasónica (Método Estándar) contenía 1/2 de NS en lugar de 1/4 de NS debido a la dilución alta inferior y por lo tanto la concentración de tobramicina, manteniendo entonces una osmolaridad similar en ambas soluciones.

Tratamiento de los pacientes

Todos los pacientes con enfermedad subyacente de fibrosis cística (CF), confirmados a la entrada mediante criterios de inclusión/exclusión especificados en este protocolo, fueron elegibles para selección en el estudio. Los investigadores en los centros de CF participantes seleccionaron pacientes que cumplieran todas los criterios de inclusión y uno de los criterios de exclusión.

Los paciente elegibles fueron admitidos al centro de estudio el día del estudio y recibieron terapia con aerosol si cumplían los criterios de entrada.

El examen físico fue administrado por un médico o enfermero RC para iniciar solamente el tratamiento con aerosol.

Se utilizaron signos vitales, altura, peso, oximetría, valoración del estado respiratorio actual y breve historial médico.

Se recogieron muestras de esputo y suero para medir las concentraciones de tobramicina en la línea de base.

Los pacientes se sentaron en posición vertical y utilizaron clips nasales durante la administración con aerosol. Fueron registrados la duración total del tiempo y el número de inhalaciones necesarias para completar el tratamiento con aerosol. Se registraron también cualquier evidencia de resuello o alteración respiratoria así como el número de periodos de descanso requeridos por el sujeto debido a disnea o excesiva tos durante el periodo de administración.

Inmediatamente después de la terminación de la terapia con aerosol, el sujeto se aclaró con 30 ml de solución salina normal a través de la boca, hizo gárgaras durante 5-10 segundos y expectoró el aclarado. Esto se repitió durante un total de tres aclarados. Los especímenes de esputo fueron recogidos diez minutos después del aclarado de la cavidad oral y 2 horas después de la terminación de la administración de fármaco con aerosol. Se recogió el suero 1 y 2 horas después de la terminación de la administración de fármaco con aerosol para la determinación de los niveles de tobramicina. Se obtuvo espirometría 30 minutos después de la terminación de la administración de fármaco con aerosol. Después del último tratamiento con aerosol del estudio, los pacientes recibieron un breve examen físico después que se había medido la post-espirometría.

TABLA 7

Medios principales para 20 pacientes (μg tobramicina/gm esputo)

Tratamiento	Tiempo	Media	Desviación estándar	% RSD
Sidestream	0 h	0	0	nq
	10 min.	465,3	463,8	100
	1 h	75,7	118,6	157
	2 h	88,8	123,8	139
Pari LC	0	0	0	nq
	10 min.	639,1	521,3	82
	1 h	117,0	173,3	148
	2 h	77,6	89,3	115
UltraNeb	0 h	0	0	nq
	10 min.	1335,7	1042,8	78
	1 h	360,0	352,4	98
	2 h	158,8	163,3	103

Estas son las medias principales de niveles de esputo con tobramicina ($\mu\text{g}/\text{gm}$) de 20 pacientes después de nebulización obtenidas de cuatro centros diferentes. Los datos de Sidestream y Pari LC se obtuvieron utilizando la nueva formulación de 300 mg (60 mg/ml) en 5 ml 0,225 NS, el UltraNeb, una volumen alto (30 ml) de 600 mg en 0,45 % NS.

ES 2 136 883 T3

Los resultados de este estudio indican que esta formulación, cuando se utiliza con un nebulizador de chorro, suministra concentraciones de tobramicina al espacio endobronquial que están en el intervalo eficaz basado en la relación conocida entre niveles de tobramicina en el esputo, MICs y la eficacia clínica.

5 Ejemplo 6

Estabilidad de la formulación de tobramicina

Un estudio de estabilidad acelerada de tobramicina 60 mg/ml en 0,225% de NS en viales LDPE, 10 envasados en un medio enriquecido con nitrógeno, se llevó a cabo durante 35 días a 40°C. Se eligió temperatura más alta para acelerar cualquier proceso de degradación. Se estudiaron los viales para cualquier pH objetivo 5,5, 6,5 y 7,0 en el Día 0 y Día 35. Se examinó el color por la escala de Klett-Summerson de los Estados Unidos. La KS se utiliza para medir el color y los cambios de color en las formulaciones farmacéuticas líquidas. Un valor KS de 0 sería solución sin color, 200 sería típicamente un color ámbar 15 fuerte. El ojo humano puede detectar en primer lugar un tinte a aproximadamente una escala KS de 20. Típicamente, un cambio de escala KS del intervalo 0-20 (una solución sin color) hasta un valor mayor de 200 sería un factor de limitación en los estudios de estabilidad incluso aunque el fármaco en la formulación pueda ser todavía potente.

20 Puesto que *Drug Develop Industr. Pharm.*, 18: 1423-36 (1992) detalla que el principal proceso de degradación para la tobramicina es dependiente del oxígeno, en envase de realizó en un entorno enriquecido con nitrógeno. Los resultados están en la Tabla 8.

25 TABLA 8

Resultados del estudio de estabilidad de 35 días a 40°C

pH objetivo	N	Tiempo (días)	pH real (medio)	Unidades KS color (medio)
5,5	3	0	5,55	13
5,5	5	35	5,51	104
6,5	3	0	6,57	12
6,5	5	35	6,56	107
7,0	3	0	7,07	13
7,0	5	35	7,04	171*

40 * p < 0,05 comparado con 5,5 y 6,5.

Las unidades KS expresan los cambios de color como se describe anteriormente. Viales de LDPE de 45 tres niveles de pH o 60 mg/ml de tobramicina en 0,225% de NS, almacenamiento de volumen total de 5 ml en medio enriquecido con nitrógeno de superbolsa de lámina. Se realizó el ensayo de color y pH actual en el instante y después del almacenamiento durante 35 días a 40°C.

Los resultados mostrados en la Tabla 8 son sorprendentes en la medida en que la formulación de 50 color parece ser dependiente del pH de la formulación. El desarrollo del color es un marcador precoz de la degradación de tobramicina y una característica no deseada del producto. La dependencia de la formulación del pH muestra que el pH óptimo para la formulación de tobramicina está en el intervalo de pH 5,5 a 6,5.

Adicionalmente, la coloración rápida de la solución a 40°C muestra que el almacenamiento a tempe- 55 raturas inferiores tales como 5°C a 25°C incluyendo refrigeración, es deseable.

Ejemplo 7

Estudio de estabilidad prolongada

60 Un estudio de estabilidad prolongada tenía el siguiente diseño de estudio.

ES 2 136 883 T3

Dos lotes separados de tobramicina fueron formulados a 60 mg/ml de tobramicina en 1/4 de solución salina normal a pH 6,0. La solución fue envasada en viales de polietileno de baja densidad a 5 ml por vial, almacenada en superbolsas de lámina que fueron purgadas con nitrógeno. Los estudios de estabilidad para 3 muestras por punto de ensayo fueron iniciados a 5°C y 25°C.

Los primeros dos lotes (I y II) fueron almacenados en la bolsa a 5°C durante 6 meses. Las muestras de los segundos dos lotes (III y IV) se almacenaron en la bolsa a 25°C durante 6 meses. En todos estos lotes se ensayaron el color, la concentración de tobramicina, impurezas de tobramicina, estabilidad de pH y oxígeno.

TABLA 9
Estudio I estabilidad prolongada
Línea de base, datos 3 meses y 6 meses a 5°C

Descripción ensayo	Unidades	Límites	Inicial	3 meses	6 meses
pH		5,5-6,5	6,0	6,1	6,2
Tobramicina	mg/ml	54,0-72,0	59,0	58,3	57,2
Cloruro como cloruro de sodio	mg/ml	2,02-2,48	2,24	2,30	2,24
Color	KS	0-200	15	19	18
Inspección visual		Pasada	Pasada	Pasada	Pasada
Máximo impurezas D	%	0,00-5,00	ND	0,00	0,00
Máximo impurezas X	%	0,00-5,00	ND	0,00	0,00
Conoc. oxígeno anular	%	0,00-5,00	4,68	4,78	4,08

ND = No Detectado

Producto: 60 mg/ml tobramicina para inhalación

Contenedor: Rexene 6010 LDPE

Volumen contenedor: 5 ml

Volumen relleno: 5 ml

Condición almacenamiento: 5°C

Esterilización: llenado aséptico

Superbolsa: hoja laminada preformada

ES 2 136 883 T3

TABLA 10

Estudio II estabilidad prolongada
Línea de base, datos 3 meses y 6 meses a 5°C

Descripción ensayo	Unidades	Límites	Inicial	3 meses	6 meses
pH		5,5-6,5	5,8	6,1	6,0
Tobramicina	mg/ml	54,0-72,0	60,3	59,5	59,4
Cloruro como cloruro de sodio	mg/ml	2,02-2,48	2,29	2,30	2,31
Color	KS	0-200	22	20	25
Inspección visual		Pasada	Pasada	Pasada	Pasada
Máximo impurezas D	%	0,00-5,00	ND	ND	0,00
Máximo impurezas X	%	0,00-5,00	ND	4,87	0,00
Conoc. oxígeno anular	%	0,00-8,00	4,87	4,66	4,06

ND = No Detectado

Producto: 60 mg/ml tobramicina para inhalación

Contenedor: Rexene 6010 LDPE

Volumen contenedor: 5 ml

Volumen relleno: 5 ml

Condición almacenamiento: 5°C

Esterilización: llenado aséptico

Superbolsa: hoja laminada preformada

ES 2 136 883 T3

TABLA 11

*Estudio III estabilidad prolongada
Línea de base, datos 3 meses y 6 meses a 25° C*

Descripción ensayo	Unidades	Límites	Inicial	3 meses	6 meses
pH		5,5-6,5	6,0	6,3	6,1
Tobramicina	mg/ml	54,0-72,0	59,0	58,5	57,4
Cloruro como cloruro de sodio	mg/ml	2,02-2,48	2,24	2,24	2,25
Color	KS	0-200	15	34	52
Inspección visual		Pasada	Pasada	Pasada	Pasada
Máximo impurezas D	%	0,00-5,00	ND	0,00	0,04
Máximo impurezas X	%	0,00-5,00	0,00	0,05	0,07
Conoc. oxígeno anular	%	0,00-8,00	4,68	4,62	4,47

ND = No Detectado

Producto: 60 mg/ml tobramicina para inhalación

Contenedor: Rexene 6010 LDPE

Volumen contenedor: 5 ml

Volumen relleno: 5 ml

Condición almacenamiento: temperatura ambiente (25°C)

Esterilización: llenado aséptico

Superbolsa: hoja laminada preformada

ES 2 136 883 T3

TABLA 12
Estudio IV estabilidad prolongada
Línea de base, datos 3 meses y 6 meses a 25° C

5
10
15
20
25
30
35

Descripción ensayo	Unidades	Límites	Inicial	3 meses	6 meses
pH		5,5-6,5	5,8	6,1	5,9
Tobramicina	mg/ml	54,0-72,0	60,3	60,1	59,4
Cloruro como cloruro de sodio	mg/ml	2,02-2,48	2,9	2,30	2,31
Color	KS	0-200	22	52	73
Inspección visual		Pasada	Pasada	Pasada	Pasada
Máximo impurezas D	%	0,00-5,00	0,00	0,03	0,05
Máximo impurezas X	%	0,00-5,00	ND	0,00	0,07
Conoc. oxígeno anular	%	0,00-8,00	4,87	4,38	4,69

ND = No Detectado

Producto: 60 mg/ml tobramicina para inhalación

40
45

Contenedor: Rexene 6010 LDPE

Volumen contenedor: 5 ml

Volumen relleno: 5 ml

Condición almacenamiento: temperatura ambiente (25°C)

Esterilización: llenado aséptico

Superbolsa: hoja laminada preformada

50 Como se ve a partir de las Tablas 9-12, el color de la solución de tobramicina no cambió confirmando la buena estabilidad de la solución de tobramicina en las condiciones de estudio establecidas.

Después de seis meses a 5°C, ninguno de los dos lotes habían mostrado cambios fuera de los límites establecidos. En almacenamiento a 25°C, el único cambio observado fue la formación de niveles bajos de color, mostrando los dos lotes aumentos de 15 KS unidades a 52 KS de unidades y de 22 KS de unidades a 73 KS unidades.

La formulación a alta concentración a pH óptimo de 6 es, por lo tanto, completamente estable a 5°C. Después de seis meses a 25°C, la formulación era efectivamente estable, permaneciendo perfectamente dentro un intervalo de color aceptable.

60

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de aerosol para supresión e inhibición de al menos el 95 % de bacterias susceptibles en el espacio endobronquial de un paciente que sufre de infección endobronquial,

5 comprendiendo dicha formulación de 200 mg a 400 mg de aminoglicósido disuelto en aproximadamente 5 ml de solución que contiene aproximadamente 0,225 % de cloruro de sodio;

teniendo dicha formulación un pH entre aproximadamente 5,5 y 6,5;

10 utilizando dicha formulación administrada por aerosolización un nebulizador de chorro o ultrasónico capaz de producir tamaños de partículas de aerosol predominantemente entre 1 y 5 μm .

2. El aerosol de la reivindicación 1, donde el pH es aproximadamente 6,0.

15 3. El aerosol de la reivindicación 2, donde el nebulizador es el nebulizador de chorro.

4. El aerosol de la reivindicación 2, donde el nebulizador es el nebulizador ultrasónico.

20 5. Una formulación de aerosol para supresión e inhibición de al menos el 95 % de bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en el espacio endobronquial de un paciente que sufre de la infección de *Pseudomonas aeruginosa*,

25 comprendiendo dicha formulación aproximadamente 300 mg de tobramicina disuelta en aproximadamente 5 ml de solución que contiene 0,225 % de cloruro de sodio;

teniendo dicha formulación un pH entre aproximadamente 5,5 y 6,5;

30 utilizando dicha formulación administrada por aerosolización un nebulizador de chorro o ultrasónico capaz de producir tamaños de partícula de aerosol predominantemente entre 1 y 5 μm .

6. El aerosol de la reivindicación 5, donde el pH es 6,0.

7. El aerosol de la reivindicación 6, donde el nebulizador es un nebulizador de chorro.

35 8. El aerosol de la reivindicación 6, donde el nebulizador es un nebulizador ultrasónico.

9. Uso de una formulación de aerosol que comprende aproximadamente 300 mg de tobramicina disuelta en aproximadamente 5 ml de la solución que contiene 0,225 % de cloruro de sodio;

40 teniendo dicha formulación un pH entre aproximadamente 5,5 y 6,5;

45 en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de infecciones endobronquiales por bacterias *Pseudomonas aeruginosa* por la administración de dicha formulación por aerosolización utilizando un nebulizador de chorro o ultrasónico capaz de producir tamaños de partícula de aerosol predominantemente entre 1 y 5 μm .

10. El uso de la reivindicación 9, donde el pH de la formulación del aerosol es aproximadamente 6,0.

50 11. El uso de la reivindicación 10, donde el nebulizador utilizado para administración de la formulación de aerosol es un nebulizador de chorro.

12. El uso de la reivindicación 10, donde el nebulizador utilizado para la administración de la formulación del aerosol es un nebulizador ultrasónico.

55 13. El uso de una formulación del aerosol que comprende de 200 a 400 mg de aminoglicósido disuelto en aproximadamente 5 ml de la solución que contiene 0,225 % de cloruro de sodio;

teniendo dicha formulación un pH entre aproximadamente 5,5 y 6,5;

60 en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de infecciones endobronquiales por bacterias *Pseudomonas aeruginosa* mediante la administración de dicha formulación por aerosolización

utilizando un nebulizador de chorro o ultrasónico capaz de producir tamaños de partícula de aerosol predominantemente entre 1 y 5 μm .

14. El uso de la reivindicación 13, donde el pH de la formulación de aerosol es aproximadamente 6,0.

5

15. El uso de la reivindicación 14, donde el nebulizador utilizado para la administración de la formulación de aerosol es un nebulizador de chorro.

16. El uso de la reivindicación 14, donde el nebulizador utilizado para administración de la formulación de aerosol es un nebulizador ultrasónico.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

NOTA INFORMATIVA: Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

55

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

60

FIG. 1

SUBDIVISIONES Y ESTRUCTURA
de VIAS RESPIRATORIAS INTRAPULMONARES

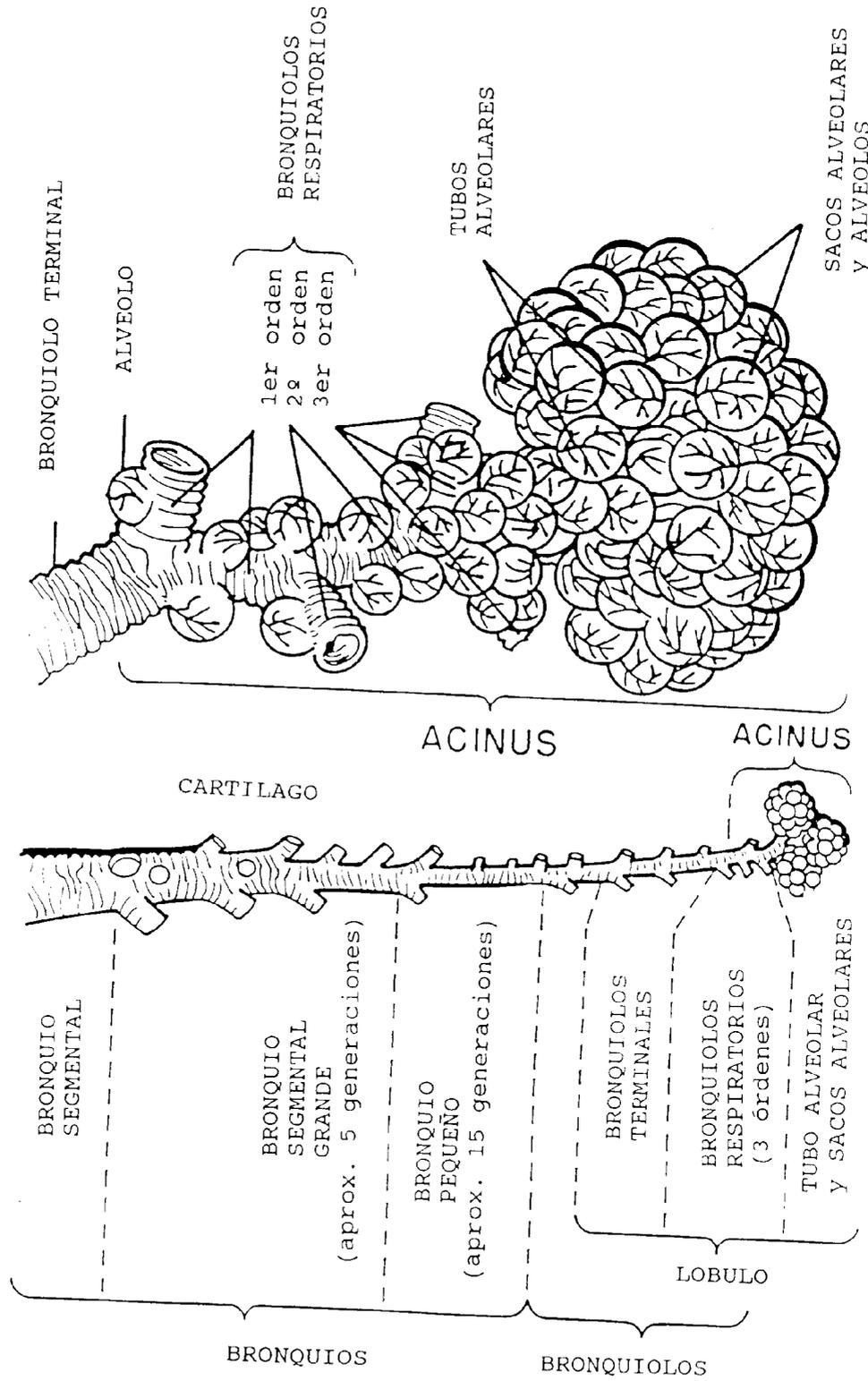


FIG. 2

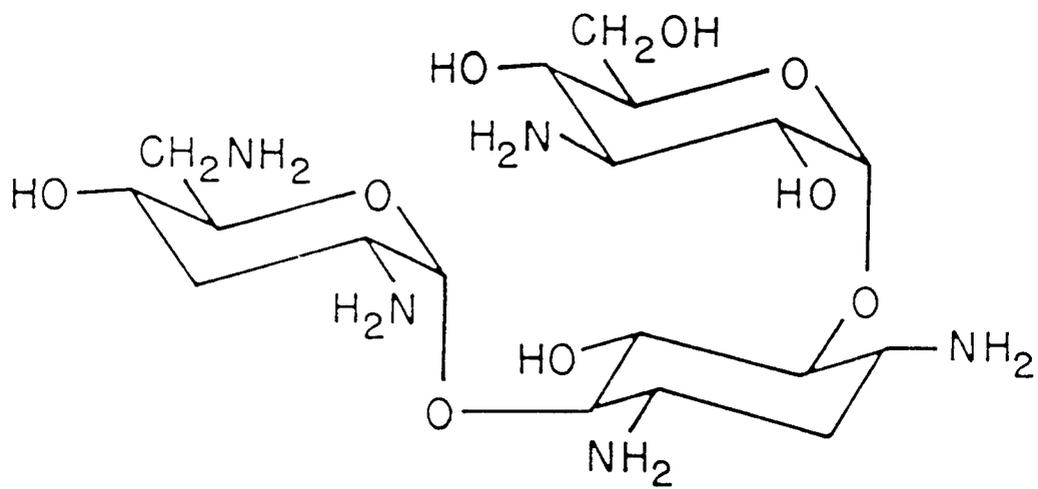


FIG. 3

