



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 692**

51 Int. Cl.:  
**A61K 9/12** (2006.01)  
**A61K 31/427** (2006.01)  
**A61P 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01991523 .0**  
96 Fecha de presentación : **20.12.2001**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1353647**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.10.2003**

54 Título: **Aztreonam inhalable para tratamiento y prevención de infecciones bacterianas pulmonares.**

30 Prioridad: **27.12.2000 US 258423 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.06.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.06.2011**

73 Titular/es: **GILEAD SCIENCES, Inc.**  
**333 Lakeside Drive**  
**Foster City, California 94404, US**

72 Inventor/es: **Montgomery, Alan, Bruce**

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 360 692 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Aztreonam inhalable para tratamiento y prevención de infecciones bacterianas pulmonares

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

La presente invención se refiere a una nueva formulación de aztreonam inhalable, segura, no irritante y fisiológicamente compatible para el tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares causadas por bacterias gram negativas tales como *Escherichia coli*, especies de *Enterobacteria*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*. En particular, la invención se refiere a la formulación inhalable que comprende aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo adecuada para el tratamiento y profilaxis de infecciones bacterianas pulmonares crónicas y agudas, particularmente las causadas por las bacterias gram negativas *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármaco que son resistentes al tratamiento con otros antibióticos. La formulación inhalable se suministra como un aerosol o como un polvo seco inhalable. Para aerosolización, se disuelven de aproximadamente 1 a aproximadamente 250 g de aztreonam en aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de solución salina u otra solución acuosa que tenga un pH entre 4,5 y 7,5, suministrada al espacio endobronquial del pulmón en un aerosol que tiene partículas con mediana del diámetro aerodinámico de la masa predominantemente entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ , usando un nebulizador capaz de atomizar la solución de aztreonam en partículas de los tamaños requeridos. La formulación de aerosol tiene un volumen pequeño pero suministra una dosis terapéuticamente eficaz de aztreonam al sitio de la infección en cantidades suficientes para tratar infecciones pulmonares bacterianas. Una combinación de la formulación nueva con el nebulizador atomizante permite aproximadamente 50% del suministro de la dosis administrada de aztreonam a las vías respiratorias. Para el suministro de polvo inhalable seco, el aztreonam se muele o se seca por pulverización a tamaños de partícula de aproximadamente entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ . La formulación de polvo seco o un sólido de aztreonam reconstituido para aerosolización tienen una estabilidad de almacenamiento y vida útil largas.

30 **Antecedentes y Descripciones Relacionadas**

Una amplia diversidad de bacterias gram negativas provocan infecciones pulmonares graves. Muchas de esas bacterias son o se hacen resistentes a antibióticos usados habitualmente o de especialidad y requieren tratamiento con nuevos tipos de antibióticos. Las infecciones pulmonares causadas por bacterias gram negativas son particularmente peligrosas para los pacientes que tienen respuestas inmunoprotectoras reducidas, tales como por ejemplo, paciente con VIH y fibrosis quística, pacientes con bronquiectasia o los que se someten a ventilación mecánica.

40 Por lo tanto, las infecciones respiratorias bacterianas causadas por organismos resistentes a antibióticos continúan siendo un problema importante, particularmente en pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos, así como en pacientes asistidos por ventilación mecánica, como se describe en Principles and Practice of Infectious Diseases, Eds. Mandel, G.L., Bennett, J.E. y Dolin R., Churchill Livingstone Inc. Nueva York, NY, (1995).

45 La terapia actualmente aceptada para infecciones bacterianas graves del tracto respiratorio, particularmente para el tratamiento de neumonía en pacientes con enfermedades subyacentes, incluye tratamiento con diversos agentes antibacterianos intravenosos, con frecuencia usados en una combinación de dos o tres vías. La mayoría de estos agentes no son adecuados, no están disponibles o no están aprobados por la FDA para la dosificación oral o en aerosol. En algunos casos la dosis oral o intravenosa sistémica u oral, si es posible el suministro oral, eficaz requiere dosis que son límite o plenamente tóxicas evitando de este modo con frecuencia un uso de antibiótico perfectamente válido para el tratamiento de las infecciones pulmonares.

50 Por lo tanto sería deseable tener disponibles otros modos de vías de suministro de estos antibióticos que permitieran un suministro dirigido de cantidades más pequeñas del antibiótico al espacio endobronquial de las vías respiratorias para el tratamiento de estas infecciones bacterianas en lugar de administrar el antibiótico por vía sistémica en grandes cantidades.

60 Adicionalmente, los pacientes enfermos crónicos con frecuencia están afectados por infecciones causadas por bacterias que son en gran medida resistentes a antibióticos usados de forma habitual o, tras un uso prolongado de cierto antibiótico, con frecuencia desarrollan resistencia fuerte a tal antibiótico. Por ejemplo, la colonización pulmonar crónica con *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística es una causa principal de su alta mortalidad. Cuando se establece, la infección pulmonar crónica es muy difícil, si no imposible, de erradicar. Más del 60% de los pacientes con fibrosis quística están colonizados con cepas bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa* que son en gran medida resistentes a antibióticos regulares y de especialidad, tales como piperacilina, ticarcilina, meropenem, netilmicina y solamente un poco sensibles a azlocilina, ciprofloxacina, timentina y ceftazidima. También se ha mostrado que muchas cepas desarrollan resistencia a tobramicina y a colistina, si se usan de forma

65

continuada.

5 Con frecuencia, después de terapia de antibióticos prolongada, se desarrolla una superinfección con organismos intrínsecamente resistentes a antibióticos orales, intravenosos o inhalados en pacientes con fibrosis quística y otras infecciones pulmonares crónicas. Los cuatro organismos resistentes a fármacos más comunes son *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármaco.

10 Los pacientes con fibrosis quística infectados con *Burkholderia cepacia* tienen una tasa de mortalidad aumentada en comparación con los pacientes con infecciones de *Pseudomonas aeruginosa*. En algunos pacientes con fibrosis quística, *Burkholderia cepacia* puede provocar una letalidad rápida, como se describe, por ejemplo en Arn. J. Respir. Crit. Care Med., 160: 5, 1572-7 (1999).

15 El alto nivel de resistencia a antibióticos demostrado por la mayoría de las cepas de *Burkholderia cepacia* limita gravemente las opciones terapéuticas para su tratamiento (Clinics Chest Med., 19: 473-86 (sept. 1998)). Además, a diferencia de *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* puede provocar una extensión epidémica entre pacientes con fibrosis quística y por lo tanto cualquier paciente infectado con *Burkholderia cepacia* se aísla habitualmente de otros pacientes. Esto provoca gastos adicionales relacionados con el cuidado de estos pacientes y puede también ser psicológicamente devastador para el paciente. Además, la mayoría de los centros de trasplante de pulmón no realizaron un trasplante de pulmón a pacientes infectados con *Burkholderia cepacia* (Clinics Chest Med., 19: 473-86 (sept. 1998)). Por lo tanto, la infección de *Burkholderia cepacia* con frecuencia se ve como una sentencia de muerte por pacientes con fibrosis quística.

25 *Burkholderia cepacia* es habitualmente resistente al suministro parenteral de diversos antibióticos, incluyendo aztreonam, mostrando solamente el 5% de los aislados sensibilidad a dicho tratamiento (Antimicrob. Agents Chemother, 34: 3, 487-8 (Mar. 1990)). Por lo tanto sería ventajoso tener disponible tratamiento para infecciones de *Burkholderia cepacia*.

30 Otras bacterias gram negativas intrínsecamente resistentes a tobramicina también pueden complicar el cuidado de un paciente con fibrosis quística. Estas bacterias incluyen *Stenotrophomonas maltophilia* y *Alcaligenes xylosoxidans*. La terapia de antibióticos de estas infecciones habitualmente también es ineficaz o conduce al surgimiento rápido de resistencia a fármaco. Por lo tanto, el tratamiento exitoso de todas estas infecciones requiere que las muestras de estos aislados se envíen a un laboratorio para determinación de sinergia de antibióticos compleja o terapia apropiada para cada paciente individual (Ped. Pulmon., S17: 118-119 (1998)). Sería, por lo tanto, ventajoso también proporcionar una terapia para estas infecciones bacterianas poco comunes pero difíciles de tratar.

40 De forma similar, el desarrollo de infección por *P. aeruginosa* con cepas que son resistentes a, es decir que tienen una concentración inhibitoria mínima (MIC) alta para una mayoría de antibióticos incluyendo tobramicina, predice un deterioro de la función pulmonar y también pueden descalificar al paciente para tomarle en consideración para un trasplante de pulmón (Clinics Chest Med., 19: 535-554 (sept. 1998)).

45 Los tratamientos de antibióticos existentes para infecciones pulmonares por *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos son ineficaces o conducen a un surgimiento rápido de resistencia a fármacos.

50 A partir de la breve descripción anterior, resulta claro que existe una necesidad continua de una terapia eficaz para el tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares crónicas y agudas causadas por bacterias gram negativas y particularmente las causadas por infecciones pulmonares por *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos. Dicha terapia preferiblemente comprendería una inhalación de la formulación de fármaco en aerosol que suministra una cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco directamente al espacio endobronquial de las vías respiratorias para evitar tratamiento sistémico.

55 Los problemas relacionados con infecciones causadas por estas bacterias resistentes a antibióticos son muy graves y sería ventajoso tener disponibles modos más eficaces de tratamientos con diferentes tipos de antibióticos.

60 Aztreonam es un antibiótico sintético que tiene una buena actividad biológica contra bacterias gram negativas y se ha usado previamente para tratamiento intravenoso de infecciones bacterianas. Sin embargo, su uso está gravemente limitado debido a su baja eficacia que requiere administración de dosis intravenosas muy grandes entre 1000 y 4000 mg por día para tratar las infecciones causadas por bacterias gram negativas. Aunque sería un antibiótico de elección para tratamiento complementario de pacientes tratados con tobramicina y otros antibióticos, particularmente en pacientes con fibrosis quística, tal tratamiento no es práctico debido a las altas dosis requeridas.

65 Además, aztreonam actualmente sólo está disponible como una sal de arginina. Se ha mostrado que la arginina es tóxica para el pulmón y provoca irritación de tejido pulmonar, inflamación, broncoespasmos y tos y por lo tanto no es adecuada para un suministro por aerosol. Por consiguiente, la sal de arginina de aztreonam no está aprobada para su uso por inhalación en los Estados Unidos o en otro sitio.

5 Sin embargo, como el antibiótico para el tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares causadas por bacterias gram negativas, aztreonam podrían convertirse en un fármaco de elección para dicho tratamiento, si se pudiera suministrar por inhalación en concentraciones terapéuticamente eficaces directamente a los pulmones y si los problemas relacionados con la arginina de aztreonam pudieran superarse.

10 Sin embargo, la administración eficaz de aztreonam por inhalación se complica adicionalmente por una falta de formulaciones seguras, fisiológicamente aceptables y estables para su uso por inhalación. Dicha formulación debe cumplir varios criterios, tales como cierto intervalo de tamaño de partículas inhalables, cierto intervalo de pH y cierto grado de salinidad. Cuando el aerosol contiene un gran número de partículas con una mediana del diámetro aerodinámico de la masa (MMAD) mayor de 5  $\mu\text{m}$ , éstas se depositan en las vías respiratorias superiores reduciendo la cantidad de antibiótico suministrado al sitio de infección en el espacio endobronquial de las vías respiratorias. De forma similar, condiciones altamente ácidas y alcalinas o hipotónicas o hipertónicas conducen a complicaciones respiratorias, tales como broncoespasmos y tos, lo que evita la inhalación del fármaco.

15 Por lo tanto sería ventajoso y deseable proporcionar una formulación inhalable para el suministro de aztreonam por aerosol o una formulación de polvo seco para el tratamiento de infecciones bacterianas gram negativas pulmonares y particularmente las causadas por cepas resistentes a fármacos de *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos, comprendiendo la formulación una cantidad terapéuticamente eficaz lo más pequeña posible de fármaco en una forma que no causa inflamación pulmonar, ajustándose el pH a niveles fisiológicamente aceptables, siendo la solución acuosa isotónica y teniendo dicha formulación periodo de caducidad adecuado para distribución comercial, almacenamiento y uso.

20 Es por lo tanto un objeto primario de esta invención proporcionar un método para el tratamiento de infecciones gram negativas, especialmente las causadas por *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos proporcionando una formulación segura, fisiológicamente aceptable y eficaz para inhalación usando una base libre de aztreonam concentrado pura o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, conteniendo dicha formulación concentración suficiente pero no excesiva del fármaco activo, pudiendo dicha formulación aerosolizarse de forma eficaz por nebulización usando nebulizadores de inyección, ultrasónicos o de atomización, en una aerosol que tiene tamaños de partícula dentro de un intervalo de 25 30 1 a 5  $\mu\text{m}$  o administrarse como un polvo seco, bien tolerado por pacientes con fibrosis quística y por pacientes con función pulmonar alterada debido a infecciones, inflamación u otra enfermedad subyacente.

35 El documento WO 01/02024 describe compuestos antiinfecciosos, antiinflamatorios y descongestionantes en aerosol para el tratamiento de sinusitis.

### Sumario

40 La presente invención proporciona una composición que comprende aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método de tratamiento de una infección pulmonar causada por bacterias gram negativas en un ser humano que necesite dicho tratamiento, no conteniendo la composición arginina o una sal de arginina de aztreonam y en la que el tratamiento es por inhalación y la dosis está entre 1 y 250 mg por una dosis de aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 La presente invención también proporciona una composición que comprende en forma de dosificación liofilizada de 1 a 250 mg por una dosis de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, formulándose dicha composición para suministro por inhalación y no conteniendo dicha composición arginina o una sal de arginina de aztreonam. La presente invención comprende adicionalmente una formulación que comprende esta composición en la que dicho aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se disuelve en de 1 a 5 ml de una solución salina que contiene de 0,1 a aproximadamente 0,9% de cloruro sódico y no conteniendo la formulación arginina o una sal de arginina de aztreonam.

50 La presente invención proporciona adicionalmente un producto que comprende una formulación adecuada para aerosolización para terapia de inhalación, en el que la formulación se proporciona como dos componentes separados (i) aztreonam seco o sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y (ii) un diluyente que comprende solución salina de 0,1 a 0,9 N adecuado para la reconstitución como la formulación; y en el que la formulación comprende entre 1 y 250 mg por una dosis de aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y no contiene arginina o una sal de arginina de aztreonam.

60 Se describe un método para el tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares causadas por bacterias gram negativas que comprende administrar una formulación de aproximadamente 1 a aproximadamente 250 mg de aztreonam una vez, dos veces, tres veces o cuatro veces al día hasta una dosificación diaria de aztreonam de 750 mg por día.

65 Se describe un método para el tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares causadas por *Escherichia coli.*, especies de *Enterobacteria*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*,

*Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos usando una formulación inhalable de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo suministrada por inhalación al espacio endobronquial de las vías respiratorias en una forma de polvo seco o en un aerosol.

Se describe una formulación de aztreonam en forma de aerosol que comprende de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg/ml de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo disuelto en de aproximadamente 1 a 5 ml de una solución salina normal o diluida u otra solución acuosa, que tiene pH entre 4,5 y 7,5.

Se describe una formulación que comprende de aproximadamente 1 a aproximadamente 250 mg de aztreonam en una solución salina diluida que varía de un décimo a la mitad de solución salina normal u otro disolvente acuoso que contiene cloruro u otro anión, teniendo dicha formulación un pH de entre 5,5 y 7,0 y suministrándose por aerosolización en aproximadamente 1-5 ml de solución teniendo el aerosol partículas con mediana de diámetro aerodinámico de la masa predominantemente entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ , nebulizándose dicha formulación usando un nebulizador de inyección, atomización, electrónico o ultrasónico.

Se describe una formulación de polvo seco que comprende de aproximadamente 1 a 200 mg de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que dicha formulación se muele, se seca por pulverización o se precipita en un polvo fino que tiene partículas con mediana de diámetro aerodinámico de la masa entre 1 y 5  $\mu\text{m}$  usadas para inhalación del polvo seco administrado de una a cuatro veces por día sin exceder 750 mg por día.

Se describe un sistema de reconstitución de dos partes que comprende un aztreonam en una forma de polvo seco o liofilizado y un diluyente almacenado de forma separada hasta su uso.

#### Definiciones:

Como se usan en este documento:

"MMAD" significa mediana del diámetro aerodinámico de la masa.

"Solución salina normal" significa solución en agua que contiene NaCl 0,9% (p/v).

"Solución salina diluida" significa solución salina normal que contiene NaCl 0,9% (p/v) diluido a su concentración Menor de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 0,8%.

"Solución salina media normal" o "½ NS" significa solución salina normal diluida a la mitad de su concentración que contiene NaCl 0,45% (p/v).

"Solución salina normal un cuarto" o "1/4 NS" significa solución salina normal diluida a un cuarto de su concentración que contiene NaCl 0,225% (p/v).

"Solución salina normal un décimo" o "1/10 NS" significa solución salina normal diluida a un décimo de su concentración que contiene NaCl 0,09% (p/v).

"CF" significa fibrosis quística.

"Predominantemente" significa que incluye al menos el 70% pero preferiblemente el 90% de los tamaños de partícula entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ .

"Solución fisiológicamente aceptable" significa una solución salina diluida a entre 1/10 NS y 1 NS u otra solución acuosa que comprende cloruro de aproximadamente 31 a aproximadamente 154 nM o una concentración equivalente de bromo o yodo.

"Composición" significa una formulación que contiene aztreonam que contiene adicionalmente otros componentes, tales como excipientes, diluyentes, soluciones isotónicas, tampones, etc.

"Formulación" significa una composición específica formulada para uso específico, tal como para aerosolización de solución que contiene aztreonam o nebulización de polvo seco.

"Composición de aztreonam" o "formulación de aztreonam" significa una composición o formulación que comprende una cantidad indicada de base libre de aztreonam o el equivalente de esa cantidad en una sal de aztreonam. Por lo tanto, si por ejemplo, la dosis de aztreonam comprende una cantidad molar de base libre de aztreonam, la sal de aztreonam comprende una cantidad molar igual de sal.

"Aztreonam concentrado" significa un aztreonam concentrado en una forma que permite dilución de más de 83,3 mg de base libre de aztreonam en 1 ml de diluyente.

#### Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un descubrimiento de que aztreonam formulado de forma específica y suministrado de forma inhalable o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es eficaz para el tratamiento de infecciones pulmonares causadas por bacterias gram negativas.

En consecuencia, la invención se refiere a una composición inhalable para su uso en un método de tratamiento para infecciones bacterianas pulmonares causadas por *Escherichia coli.*, especies de *Enterobacteria*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, incluyendo cepas resistentes a ampicilina y otras productoras de penicilinasas y especies de *Nitrobacter*

así como para el tratamiento de bacterias menos comunes, tales como *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármaco. La formulación del aztreonam o una formulación que comprende una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se suministra al espacio endobronquial de las vías respiratorias de un paciente por inhalación de un polvo seco o una solución de aerosol.

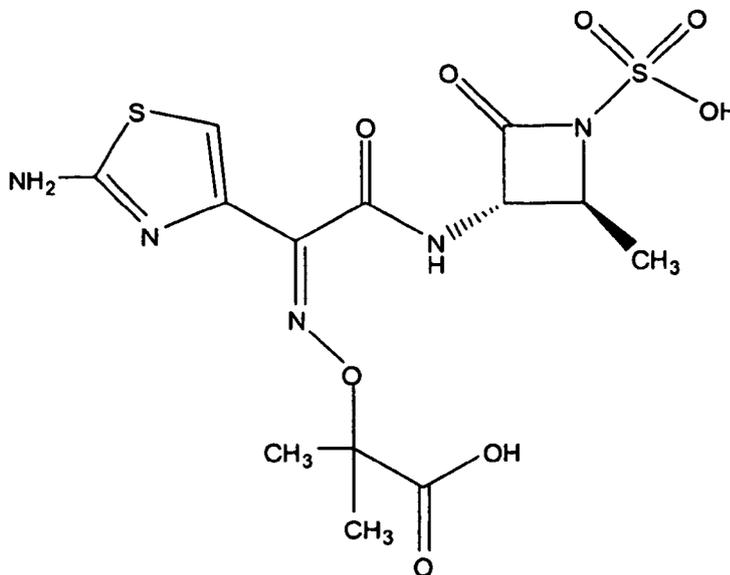
El método de tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares es especialmente adecuado para el tratamiento de pacientes con fibrosis quística, bronquioectasis y pacientes con neumonía asistida por ventiladores, sin embargo también es útil para el tratamiento de otras afecciones que se complican por infecciones causadas por *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos u otras bacterias gram negativas.

La presente invención se refiere por lo tanto a una nueva composición de aztreonam inhalable eficaz, segura, no irritante y fisiológicamente compatible adecuada para el tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares causadas por bacterias gram negativas particularmente las que son resistentes a tratamiento con otros antibióticos. La formulación inhalable de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es adecuada tanto para tratamiento como para profilaxis de infecciones pulmonares crónicas y agudas. La formulación inhalable se suministra como aerosol o como un polvo seco inhalable. Para aerosolización, aztreonam se disuelve en un volumen mínimo de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de un disolvente acuoso que comprende ión cloruro, bromo o yodo, que tiene un pH entre 4,5 y 7,5, suministrado al espacio endobronquial en un aerosol que tiene partículas de mediana de diámetro aerodinámico de la masa predominantemente entre 1 y 5  $\mu\text{m}$  usando un nebulizador capaz de aerosolizar la solución de aztreonam en partículas de los tamaños requeridos.

#### I. Aztreonam y Sales Farmacéuticamente Aceptables del Mismo

Aztreonam es un antibiótico monobactámico monocíclico sintético con actividad antibacteriana contra la mayoría de las bacterias gram negativas. La sal de arginina de aztreonam, conocida por su nombre comercial AZACTAM® actualmente está aprobada por la FDA solamente para uso intravenoso e intramuscular.

#### A. Compuesto de Aztreonam



La fórmula química de aztreonam es ácido (Z)-2-[[[(2-amino-4-tiazolil)][(2S,3S)-2-metil-4-oxo-1-sulfo-3-acetidil]carbamoil]metilen]amino]oxi]-2-metilpropiónico.

Aztreonam es un monobactámico y como tal tiene un núcleo de beta-lactama monocíclico único y por lo tanto es estructuralmente diferente de otros antibióticos de  $\beta$ -lactama tales como, por ejemplo, penicilinas, cefalosporinas o cefamicinas.

El sustituyente de ácido sulfónico en la posición 1 del anillo activa el resto de beta-lactama. Una cadena lateral de aminotiazolil oxima en la posición 3 y un grupo metilo en la posición 4 confieren el espectro antibacteriano específico

y la estabilidad de beta-lactamasa.

AZACTAM® (aztreonam para inyección, USP) disponible en el mercado de DURA Pharmaceuticals, Inc. San Diego, California, contiene aztreonam como principio activo. AZACTAM® se proporciona como un polvo estéril, no pirogénico, sin sodio, de color blanco a blanco-amarillento liofilizado que contiene arginina. AZACTAM® se formula para uso intramuscular o intravenoso (PDR, pág. 1159 (2001)).

La formulación intravenosa o intramuscular de AZACTAM® disponible en el mercado no es adecuada para uso inhalable debido a la presencia de arginina en la formulación. Se ha descubierto que la arginina causa inflamación pulmonar cuando se administra en forma de aerosol al pulmón en la rata.

La arginina se ha usado sin éxito como un agente mucolítico aerosolizado potencial en pacientes con fibrosis quística. Un estudio, descrito en *Pediatrics*, 55: 96-100 (1975) recomienda que la arginina no debiera usarse en pacientes con fibrosis quística. En un estudio de 24 pacientes con fibrosis quística, la terapia de inhalación con una solución de arginina en cinco pacientes tuvo que detenerse debido a grave deterioro de sus condiciones generales y la aparición de tos. La presencia de inflamación de las vías respiratorias en estos cinco pacientes se confirmó por broncoscopia. Desde entonces, se ha descubierto que la arginina es un sustrato para la producción de radicales de óxido nítrico.

Los radicales de óxido nítrico reaccionan con el anión súper óxido para formar peronitrilo, que es por sí mismo tóxico para el tejido y también puede reaccionar adicionalmente para formar radicales hidroxilos tóxicos y altamente reactivos. Puesto que la inflamación es una alteración grave para fibrosis quística y todas las demás enfermedades que esta invención intenta tratar, el uso de sal de arginina frustraría este propósito puesto que empeoraría en lugar de mejorar las condiciones del paciente.

La arginina también es un sustrato importante para lesión del complejo inmune en el pulmón, como se describe en *PNAS*, 14: 6338-6342 (1991). Puesto que la aerosolización concentra altos niveles del fármaco aerosolizado en el pulmón en comparación con la dilución vista después de administración intravenosa, la aerosolización de la sal de arginina de aztreonam sería un tratamiento perjudicial en lugar de ventajoso para pacientes con fibrosis quística o pacientes que padecen infecciones pulmonares. Además, diluiría y/o anularía el efecto del aztreonam.

El aztreonam no está aprobado actualmente para su uso para tratamiento de inhalación y administración por aerosol en los Estados Unidos. En consecuencia, no se conoce ninguna formulación que contenga aztreonam disponible para suministro de aerosol de aztreonam en el espacio endobronquial de las vías respiratorias. El único intento para suministrar aztreonam de forma intermitente a sujetos con fibrosis quística se describe en *Spanish Annals on Pediatrics*, 40: N° 3 (1994) en el que dicho suministro se realizó en un ensayo abierto en pacientes con fibrosis quística con 500 y 1000 mg de sal de arginina USP AZACTAM® administrada de forma intermitente, dos veces al día durante 21 días, usando nebulizador unitario CR60 System 22. El propósito de este estudio fue tratar organismos con *Pseudomonas aeruginosa* sensible a aztreonam, pero no *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos. No hubo ningún intento o especulación para tratar *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, infecciones causadas por *Alcaligenes xylosoxidans* u otras bacterias gram negativas.

En este estudio, la solución nebulizada de aztreonam se suministró después de la sesión de terapia física. Antes de la sesión de terapia, se administró a los pacientes 3 cc de solución salina sola o mezclada con los broncodilatadores salbutamol o bromuro de ipratropio y bromhidrato de fenoterol para prevenir broncoespasmos. El tratamiento descrito en este estudio requirió por lo tanto el pretratamiento con solución salina inhalada y/o agentes broncodilatadores y la sesión de terapia física anterior así como administración de grandes dosis del fármaco a administrar dos veces al día. Aunque aproximadamente en el 80% de los pacientes se mejoró en cierta medida la función pulmonar, dicha mejoría no fue estadísticamente significativa. Al menos un paciente no pudo tolerar la terapia debido a broncoespasmos. La mayoría de los pacientes requirió administración de broncodilatadores y todos los pacientes se sometieron a terapia física antes del tratamiento con aztreonam para tolerar la administración de grandes dosis de aztreonam nebulizado. La terapia de aztreonam se detuvo si se halló resistencia *in vitro*. Un paciente desarrolló *Burkholderia cepacia*, que se vio como una súper infección y un posible resultado adverso. La referencia, aunque sugiere eficacia en *Pseudomonas aeruginosa* sensible a fármaco, lo cual se espera debido a que el fármaco se conoce por su efecto en las bacterias gram negativas, no describe el uso de dosis bajas de aztreonam o su uso continuado o el uso de sales de aztreonam que no causen broncoespasmos o el uso de aztreonam para el tratamiento de *P. aeruginosa* resistente a multifármacos y enseña en contra del uso en *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármaco. Además, la alta incidencia de broncoespasmo desarrollado con el uso de la fórmula descrita que requiere la detención o el pretratamiento con broncodilatadores indica la necesidad de una formulación diferente segura para su uso en inhalación.

#### B. Actividad Farmacológica y Biológica de Aztreonam

Aztreonam muestra una actividad potente y específica *in vitro* contra un amplio espectro de patógenos aeróbicos

gram negativos incluyendo *Pseudomonas aeruginosa*. La acción bactericida de aztreonam resulta de la inhibición de la síntesis de pared celular bacteriana debido a una alta afinidad del aztreonam por la proteína de unión a penicilina 3 (PBP3).

5 Aztreonam, a diferencia de la mayoría de antibióticos de  $\beta$ -lactama, no induce actividad  $\beta$ -lactamasa y su estructura molecular confiere un alto grado de resistencia a hidrólisis por  $\beta$ -lactamasas, tales como penicilinasas y cefalosporinas, producidas por la mayoría de los patógenos gram negativos y gram positivos. Aztreonam es por lo tanto especialmente activo contra organismos aerobios gram negativos que son resistentes a antibióticos hidrolizados por  $\beta$ -lactamasas.

10 Aztreonam mantiene su actividad antimicrobiana a un pH que varía de 6 a 8 *in vitro* (etiqueta de producto de AZACTAM®, Dura Pharmaceuticals), así como en presencia de suero humano y en condiciones anaerobias. Aztreonam es activo *in vitro* y es eficaz en modelos de animales de laboratorio e infecciones clínicas contra la mayoría de las cepas de los siguientes organismos, *Escherichia coli*. Especies de *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae* y especies de *Nitrobacter*, incluyendo muchas que son multi resistentes a otros antibióticos tales como ciertas cefalosporinas, penicilinas y aminoglucósidos.

15 Aztreonam es por lo tanto adecuado para el tratamiento de infecciones causadas por *Escherichia coli*, especies de *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, especies de *Nitrobacter*.

20 En la actualidad, las únicas infecciones para las que AZACTAM está aprobado por la FDA son las causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de *Enterobacter*, y *Serratia marcescens*.

25 Se ha descubierto ahora que todas las cepas bacterianas anteriormente nombradas así como cepas muy resistentes y poco habituales, tales como *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos se erradican exitosamente por tratamiento diario con dosis bajas entre 1 y aproximadamente 250 mg de base libre de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, preferiblemente administradas una vez o dos veces al día, no excediendo el total de dosis diaria 750 mg/día.

## II. Sales de Aztreonam Farmacológicamente Aceptables

35 En la actualidad, la única sal disponible en el mercado de aztreonam es arginina. Como ya se ha analizado anteriormente, la sal de aztreonam no es adecuada para administración por inhalación debido a que se sabe que la arginina, después de su exposición en aerosol, provoca inflamación pulmonar, broncoespasmos y tos. AZACTAM®, sal de arginina que contiene aztreonam, no está aprobada por las autoridades reguladoras para su uso en inhalación. Por lo tanto, se necesitan otras sales de aztreonam para conseguir una formulación segura de aztreonam para tratamiento por inhalación de pacientes con infecciones pulmonares o los que tienen la función pulmonar alterada debido a fibrosis quística o bronquiectasia.

40 Puesto que la arginina que contiene aztreonam no es adecuada para inhalación de acuerdo con esta invención, se prepararon otras sales de adición de ácidos de acuerdo con el Ejemplo 3, se ensayaron y se hallaron farmacológicamente aceptables y sin efectos secundarios perjudiciales cuando se administran como un polvo seco o aerosol.

45 El aztreonam para su uso en la presente invención se prepara en forma de sales derivadas de ácidos inorgánicos u orgánicos. Estas sales incluyen pero sin limitación las siguientes sales: acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato y undecanoato.

50 Los ejemplos de ácidos que pueden emplearse para formar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen tales ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico y tales ácidos orgánicos como, por ejemplo, ácido oxálico, ácido maleico, ácido acético, aspártico, succínico y ácido cítrico. Las sales de adición de bases que pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento final y purificación del compuesto de fórmula (I) o de forma separada por reacción de la función de ácido carboxílico o sulfúrico con una base adecuada tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable o con amoníaco o con una amina, primaria, secundaria o terciaria orgánica.

55 Las sales farmacéuticas aceptables también incluyen, pero sin limitación, cationes basados en los metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sales de sodio, litio, potasio, calcio, magnesio o aluminio y similares, así como amonio,

amonio cuaternario y cationes de amina no tóxicos, incluyendo, pero sin limitación amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, aminoácidos incluyendo aminoácidos básicos (es decir, lisina, histidina, ornitina) y similares. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietilamina y similares.

5 Cualquiera de las sales anteriormente nombradas puede suministrarse como una sal sencilla o como una mezcla de una o varias sales siempre que la cantidad equivalente de aztreonam esté dentro de 1 a 250 mg por dosificación.

10 La sal de aztreonam farmacéuticamente aceptable preferida deriva de la reacción de aztreonam con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico puesto que no se sabe que estas sales causen inflamación pulmonar y son más seguras que las sales de arginina.

### III. Composición Inhalable de Aztreonam

15 La presente invención se refiere principalmente a una composición de aztreonam inhalable concentrada adecuada para suministro eficaz de aztreonam o la sal farmacéuticamente aceptable de aztreonam al espacio endobronquial de las vías respiratorias por aerosolización o como un polvo seco.

20 La invención es más preferiblemente adecuada para formulación de aztreonam concentrado para aerosolización por nebulizadores de atomización, inyección, ultrasónicos, presurizados, de placa porosa vibrante o equivalentes o por inhaladores de polvo seco que producen predominantemente aerosol de aztreonam o partículas de polvo seco entre 1 y 5 µm. Tales tamaños de partícula son necesarios para suministro eficaz de aztreonam en el espacio endobronquial para tratar infecciones bacterianas.

#### 25 A. Composición de Aztreonam Aerosolizado

La composición de aztreonam para aerosolización se formula para el suministro eficaz de aztreonam aerosolizado al espacio endobronquial de las vías respiratorias del pulmón.

30 La formulación de aerosol se suministra en un volumen total de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5 ml de solución acuosa fisiológicamente aceptable para una dosis de inhalación. Cuando se formula y se suministra de acuerdo con el método descrito, proporciona una dosis terapéuticamente eficaz del aztreonam al sitio de la infección en cantidad de aztreonam suficiente para tratar infecciones pulmonares bacterianas.

35 Una combinación de la nueva formulación acuosa con el nebulizador de atomización, inyección, presurizado, de placa porosa vibrante o ultrasónico permite, dependiendo del nebulizador, aproximadamente de al menos 20 a aproximadamente 90%, típicamente aproximadamente 70% del suministro de la dosis administrada de aztreonam en las vías respiratorias.

40 La formulación contiene una cantidad mínima pero eficaz de aztreonam de 1 a aproximadamente 250 mg formulados en el volumen más pequeño posible de diluyente fisiológicamente aceptable que tiene un cierto grado de salinidad y cierto pH, ajustados para permitir la generación de un aerosol de aztreonam bien tolerado por pacientes pero que minimice el desarrollo de efectos secundarios no deseables tales como broncoespasmos y tos.

45 Los requisitos primarios para la formulación del aztreonam aerosolizado son su seguridad y eficacia. Las ventajas adicionales son coste inferior, aspectos prácticos de uso, largo periodo de caducidad, almacenamiento y manipulación del dispositivo de aerosol. Se ha descubierto ahora que estos requisitos para aztreonam aerosolizado se cumplen mediante la formulación que contiene cierto grado de salinidad y cierto intervalo de pH.

#### 50 1. Dosificación de Aztreonam o Sal del Mismo

El aztreonam tiene un tiempo de vida relativamente corto. En consecuencia, el tratamiento eficaz de infecciones pulmonares bacterianas requiere un régimen de tratamiento que proporciona suficiente cantidad de fármaco para mantener el nivel antibacteriano de aztreonam en el pulmón. Dicho régimen requiere por lo tanto la administración de un aztreonam inhalable de una a varias, preferiblemente de dos a cuatro, veces al día. El régimen de dosificación más preferido para conveniencia del paciente es de una o dos veces al día, sin embargo, debido a un efecto específico que el aztreonam ejerce sobre las bacterias y debido a su tiempo de vida relativamente corto de aproximadamente 12 horas, con frecuencia se requiere una dosificación mayor de dos veces al día para erradicación completa de las bacterias del espacio endobronquial.

60 Por lo tanto es preferible suministrar aztreonam en forma de aerosol o polvo seco o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la cantidad terapéuticamente eficaz más pequeña al menos dos veces al día, en algunos casos de tres a cuatro veces y excepcionalmente más de cuatro veces al día. Una dosis de aztreonam o una sal del mismo deben ser por lo tanto entre 1 y 250 mg por una dosis. Típicamente, una dosis terapéuticamente eficaz contiene entre 1 y 250 mg de base libre de aztreonam o la sal del mismo, en equivalente. Típicamente, la formulación y el nebulizador se seleccionan para proporcionar al menos aproximadamente 50%-70% de eficacia de

suministro de aztreonam al espacio endobronquial. Por lo tanto, con aproximadamente una dosis de 250 mg, se suministran 125 mg de aztreonam durante cada administración. Se ha descubierto que 100-250 mg de aztreonam suministrado al pulmón es eficaz en la erradicación de bacterias. En ningún caso una dosis debería exceder 250 mg. Por encima de esta cantidad, la aerosolización es difícil, el fármaco tiende a precipitar y son necesarios volúmenes mayores para su suministro por aerosol, lo que contrarresta el propósito de la invención de suministrar la cantidad terapéutica de fármaco con la mayor eficacia.

La determinación de dosificación eficaz del aztreonam administrado y el régimen usado para el tratamiento de cada paciente depende de la sensibilidad del paciente individual al tratamiento. El factor decisivo último es el nivel esperado de aztreonam en el esputo después de la aerosolización. El intervalo óptimo de aztreonam en 1 ml de esputo en cualquier momento dado debería estar en el intervalo de 500 a 2000 µg/ml. Por lo tanto, la frecuencia de la administración se correlaciona con la eficacia del aztreonam administrado.

La eficacia de aztreonam aerosolizado es sorprendentemente alta cuando se compara con la eficacia del aztreonam administrado por vía intravenosa en el que los niveles máximos en suero después de la dosis máxima permitida de 2000 mg da como resultado solamente 242 µg/ml de esputo. Después de dicha administración intravenosa, se descubrió que los niveles a las 6 horas estaban en el intervalo de 16 µg/ml que es la MIC para *Pseudomonas aeruginosa* no resistente.

El nuevo modo de administración que permite una administración no invasiva de cantidades pequeñas pero eficaces de aztreonam directamente en los pulmones es una gran mejora en comparación con todos los métodos previamente conocidos usados para suministro de aztreonam.

## 2. Efecto del pH sobre la Formulación en Aerosol de Aztreonam

La solución o diluyente usados para la preparación de aerosol de aztreonam tiene un intervalo de pH limitado de 4,5 a 7,5, preferiblemente entre 5,5 y 7,0.

El pH de la formulación es una característica importante para el suministro de aztreonam en aerosol. Cuando el aerosol es ácido o básico, puede causar broncoespasmos y tos. Aunque el intervalo seguro de pH es relativo y algunos pacientes pueden tolerar un aerosol suavemente ácido, otros, particularmente los que tienen fibrosis quística u otra enfermedad subyacente experimentarán broncoespasmos. Cualquier aerosol con un pH menor de 4,5 típicamente induce a broncoespasmos. Los aerosoles con un pH entre 4,5 y 5,5 causarán broncoespasmos ocasionalmente. Los ensayos con aerosol de aztreonam descubrieron que una formulación de aztreonam que puede formularse en aerosol que tiene un pH entre 5,5 y 7,0 se tolera bien y es segura. Cualquier aerosol que tenga pH mayor de 7,5 debe evitarse puesto que los tejidos corporales son incapaces de tamponar aerosoles alcalinos. Un aerosol con pH controlado por debajo de 4,5 y por encima de 7,5 da como resultado irritación del pulmón acompañada de broncoespasmo grave, tos y reacciones inflamatorias.

Por estas razones, así como para evitar broncoespasmos, tos o inflamación en pacientes, se determinó que el pH óptimo para la formulación de aerosol, estaba entre pH 5,5 y pH 7,0.

En consecuencia, la formulación de aerosol de aztreonam se ajusta a pH entre 4,5 y 7,5 con intervalo de pH preferido de aproximadamente 5,5 a 7,0. El intervalo de pH más preferido es de 5,5 a 6,5.

## 3. Efecto de la Salinidad sobre la Formulación de Aztreonam

Los pacientes que padecen infecciones endobronquiales agudas o crónicas y particularmente los que tienen fibrosis quística o bronquiectasia tienen una sensibilidad aumentada a diversos agentes químicos y tienen alta incidencia de incidentes broncoespásticos, asmáticos o de tos. Sus vías respiratorias son particularmente sensibles a condiciones hipotónicas o hipertónicas y ácidas o alcalinas y a la presencia de cualquier ión permanente, tal como cloruro. Cualquier desequilibrio en estas condiciones o una presencia de cloruro por encima de cierto valor conduce a acontecimientos broncoespásticos o inflamatorios y/o tos que dificultan en gran medida el tratamiento con formulaciones inhalables. Ambas de estas condiciones evitan un suministro eficaz de aztreonam en aerosol al espacio endobronquial. Las manifestaciones clínicas de las vías respiratorias irritadas son extremadamente no deseables.

Claramente, para aztreonam, no es posible usar solamente un disolvente acuoso sin proporcionar cierto grado de osmolalidad para alcanzar y emular las condiciones fisiológicas halladas en pulmones sanos. En consecuencia, se necesita cierta cantidad del anión cloruro u otro para un suministro exitoso y eficaz de aztreonam en aerosol pero dicha cantidad es mucho menor que las cantidades proporcionadas y típicamente usadas para aerosoles de otros compuestos.

El broncoespasmo o los reflejos de tos no responden a la misma osmolalidad del diluyente para aerosolización, sin embargo, pueden controlarse y/o suprimirse lo suficiente cuando la osmolalidad del diluyente está en un cierto intervalo. La solución preferida para nebulización de aztreonam que es segura y tiene tolerancia de las vías

respiratorias tiene una osmolalidad total entre 50 y 550 mOsm/kg con un intervalo de concentración de cloruro entre 31 mM y 300 mM. La osmolalidad dada controla broncoespasmos, la concentración de cloruro, como un anión permeable, controla la tos. A este respecto, el anión cloruro puede sustituirse con aniones de bromo o yoduro, puesto que ambos son aniones permeables. Además, el bicarbonato puede sustituir completa o parcialmente el ión cloruro. La solución salina normal (NS) contiene cloruro 154 mM mientras que el cloruro 31 mM corresponde a aproximadamente solución salina 0,2 normal.

En consecuencia, la formulación para aerosol de aztreonam de la invención comprende de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg, preferiblemente de aproximadamente 10 mg, de aztreonam disuelto en 1 ml de una solución salina normal o preferiblemente una diluida de aproximadamente solución salina 1/10 normal (NS) a aproximadamente y como máximo una solución 1 NS, preferiblemente de aproximadamente 1/10 a aproximadamente 1/4 NS, es decir una solución salina normal diluida de un décimo a un cuarto. Se ha descubierto ahora que aztreonam se suministra de forma eficaz a los pulmones cuando se disuelve en solución salina menor que la normal, es decir solución salina que contiene cloruro sódico 0,9% y que la concentración de un ión cloruro es igual o menor que solución salina 1/4 N permite y asegura un suministro de aztreonam al espacio endobronquial.

La formulación de aztreonam que contiene aproximadamente 50 mg de aztreonam por 1 ml de 0,2 NS tiene una osmolalidad de aproximadamente 90 mOsm/l. Dicha osmolalidad está dentro de un intervalo seguro de aerosoles adecuados para la administración a pacientes que padecen infecciones bacterianas pulmonares y también los pacientes con una fibrosis quística o bronquiectasia.

Una característica y ventaja adicional de usar una solución de 1/10 a 1/4 NS que comprende aztreonam 50 mg/ml es que la formulación de aerosol resultante se nebuliza de forma muy eficaz por un nebulizador atómico, de inyección o ultrasónico en comparación con aztreonam disuelto en una solución salina normal. Puesto que el suministro de aztreonam formulado como se describe en este documento es mucho más eficaz, se necesita una cantidad de aztreonam mucho menor para conseguir la erradicación completa de bacterias gram negativas en pulmones. En lugar de 1000 a 4000 mg de aztreonam que se ha mostrado que es eficaz en cierta medida en el único intento anterior de aerosolizar aztreonam, la formulación de aztreonam de acuerdo con esta invención permite tratamientos con tan poco como 1 mg/ml y con un máximo de 50 mg/ml de aztreonam en una cantidad máxima de 5 ml de volumen, suministrado preferiblemente con un nebulizador de atomización, inyección, electrónico o ultrasónico.

#### 4. Formulación de Aztreonam Aerosolizable Preferida

La formulación de aztreonam aerosolizable comprende aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg/ml de aproximadamente 1 a 5 ml de una solución acuosa que contiene concentración baja de ión cloruro, que tiene pH ajustado a entre 4,5 y 7,5, suministrada dicha formulación por aerosolización usando un nebulizador de atomización, de inyección, electrónico, ultrasónico.

La formulación preferida de la presente invención es una formulación que comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 mg de aztreonam disueltos en aproximadamente 1-5 ml de una solución salina diluida preferiblemente a una concentración de un cuarto o un décimo de la solución salina normal, que tiene pH ajustado a entre 5,5 y 7,0, suministrada por nebulización en partículas de aerosol que tienen una mediana de diámetro aerodinámico de la masa predominantemente entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ , nebulizándose dicha formulación usando un nebulizador de atomización, de inyección, electrónico o ultrasónico.

La formulación de acuerdo con la invención contiene aztreonam formulado como un polvo seco, solución de aerosol o suspensión de aerosol de liposomas u otras partículas microscópicas en un disolvente acuoso. La formulación se diseña para tolerarse bien y capaz de nebulizarse de forma fiable y completa a partículas de aerosol dentro del intervalo de tamaño respirable de 1 a 5  $\mu\text{m}$ .

Las dosis se diseñan para contener tanto como, pero no más de, la cantidad necesaria de la forma más activa de aztreonam para evitar la colonización y/o tratar infecciones pulmonares graves causadas por una serie de organismos gram negativos sensibles.

Los pacientes pueden ser sensibles a pH, osmolalidad, y contenido iónico de una solución nebulizada. Por lo tanto estos parámetros se ajustan para ser compatibles con química de aztreonam y aún ser tolerables para los pacientes.

La formulación de la invención se nebuliza predominantemente en tamaños de partículas que permiten un suministro del fármaco en los bronquiolos terminales y respiratorios en los que las bacterias residen durante la infección y las vías respiratorias mayores durante la colonización.

Para un suministro eficaz de aztreonam al espacio endobronquial pulmonar de las vías respiratorias en una partícula de aerosol, es necesaria la formación de un aerosol que tiene una mediana de diámetro aerodinámico de la masa predominantemente entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ . La cantidad formulada y suministrada de aztreonam para el tratamiento y profilaxis de infecciones bacterianas endobronquiales debe dirigirse de forma eficaz a la superficie pulmonar. La

formulación debe tener el volumen aerosolizable más pequeño posible capaz de suministrar una dosis eficaz de aztreonam al sitio de la infección. La formulación debe proporcionar adicionalmente condiciones que no afecten de forma adversa a la funcionalidad de las vías respiratorias. En consecuencia, la formulación debe contener suficiente fármaco formulado en las condiciones que permitan su suministro eficaz evitando a la vez reacciones no deseables. La nueva formulación de acuerdo con la invención cumple todos estos requisitos.

#### B. Composición de Polvo Seco de Aztreonam

Un modo alternativo de suministrar aztreonam inhalable es por medio de polvo inhalable seco.

Los compuestos antibióticos de aztreonam de la invención pueden administrarse por vía endobronquial en una formulación de polvo seco para suministro eficaz del antibiótico finamente molido en el espacio endobronquial usando polvo seco o inhaladores de dosis medida como una alternativa a suministro en aerosol.

Una formulación de polvo seco tiene una potencia, según la masa, que permite dicho suministro alternativo de aztreonam como un polvo seco usando inhalador de polvo seco. Una formulación suficientemente potente de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, proporciona un polvo seco que puede suministrarse de forma ventajosa por inhalador de polvo seco o por inhalador de dosis medida. Para suministro de polvo inhalable seco, aztreonam se muele, se precipita, se seca por pulverización o se procesa de otro modo a tamaños de partícula entre aproximadamente 1 y 5  $\mu\text{m}$ .

La formulación de polvo seco comprende de aproximadamente 20 a 200 mg, preferiblemente de 10 a 100 mg de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Para formulación de polvo seco de la invención, aztreonam, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se muele hasta un polvo que tenga mediana de diámetros aerodinámicos de la masa que varíen de 1 a 5 micrómetros por técnicas de molienda de medios, molienda de inyección, secado por pulverización o precipitación de partículas.

Las determinaciones de tamaño de partículas se realizan usando un impactador en cascada Anderson multietapa u otro método adecuado. El Impactador en Cascada No Viable de Ocho Etapas Thermo Andersen se cita específicamente dentro del Capítulo 601 de la Farmacopea de Estados Unidos como un dispositivo de caracterización para aerosoles dentro de los inhaladores de polvo seco y dosis medida. El Impactador en Cascada de Ocho Etapas utiliza ocho etapas de inyección que permiten la clasificación de aerosoles de 9,0 micrómetros a 0,4 micrómetros (a 28,3 l/min) y permite que las partículas portadas por aire impacten sobre superficies de impacto de acero inoxidable o una diversidad de sustratos de medios de filtración. Un filtro final recoge todas las partículas menores de 0,4.

La molienda de medios se logra colocando una sustancia farmacológica en un molino que contenga por ejemplo, bolas de acero inoxidable o cerámica y rotando o volteando el material hasta que se consiguen los intervalos de tamaños de partícula de fármaco deseados. Las ventajas de la molienda de medios incluyen buen control de tamaño, intervalos de tamaño de producto estrechos, altas eficacias de recuperación y procesos fácilmente escalables. Las desventajas incluyen largos tiempos de procesos de prefabricación que duran de varias horas a varios días. El requisito de que los medios de molienda se separen del producto tras la compleción, y la posibilidad de contaminación del producto con el medio.

La molienda de inyección usa corrientes de aire de muy alta presión para hacer colisionar partículas entre sí, recuperándose partículas finas del tamaño deseado del molino. Las ventajas incluyen la rapidez del proceso de fabricación y menos transferencia de energía durante la molienda, dando como resultado un menor aumento de la temperatura durante la producción del fármaco. El proceso de molienda de inyección se contempla de segundos a minutos. Las desventajas de la molienda de inyección incluyen eficacias de recogida y rendimiento menores, siendo un rendimiento típico solamente del 50 al 80% de recuperación.

El secado por pulverización es otra técnica útil para la preparación de polvos secos inhalables. El secado por pulverización implica pulverizar una bruma fina de solución de aztreonam en un soporte y secar las partículas. Después se recogen las partículas. El secado por pulverización tiene la ventaja de ser el menos propenso a degradar las entidades químicas. La adición de un co-disolvente que disminuye la solubilidad de un fármaco a una solución farmacológica uniforme da como resultado precipitación de la solución. Cuando se añade suficiente co-disolvente, la solubilidad del fármaco disminuye al punto en el que se forman partículas de fármaco sólidas que pueden recogerse por filtración o centrifugación. La precipitación tiene la ventaja de ser altamente reproducible, tener un alto rendimiento de recuperación y poder realizarse en condiciones de baja temperatura, que reducen la degradación.

La inhalación de polvo seco y las inhalaciones de dosis medida son más prácticas cuando las dosis administradas dan como resultado el suministro de al menos aproximadamente 10 mg y más preferiblemente de aproximadamente 25 a aproximadamente 100 mg, de compuesto antibiótico de aztreonam al pulmón del paciente que recibe el tratamiento. Dependiendo de la eficacia del dispositivo de suministro de polvo seco, que es típicamente de

aproximadamente 70%, los niveles de dosificación de polvo seco eficaces típicos quedan en el intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 mg de aztreonam. Por lo tanto, típicamente se requiere más de una inhalación del fármaco.

5 En este aspecto, la invención proporciona una formulación suficientemente potente de antibiótico aztreonam puro o una sal farmacéuticamente aceptable en polvo seco o forma de dosis medida de partículas farmacológicas molidas o preparadas de otro modo a tamaños de partículas predominantemente con un intervalo de 1 a 5 micrómetros. Dicha formulación es práctica y conveniente debido a que no requiere ningún procesamiento adicional tal como diluir el polvo seco o rellenar un envase de aerosol. Además, utiliza los dispositivos que son suficientemente pequeños, completamente transportables y no requieren, por ejemplo, un compresor de aire que se necesita para un nebulizador de inyección. Adicionalmente, la formulación en polvo seco tiene un periodo de caducidad más largo que las formulaciones de aztreonam líquidas para aerosolización. Aztreonam, cuando se reconstituye en una solución aerosolizable, tiene solamente un periodo de caducidad limitado a temperatura ambiente debido a la hidrólisis del anillo monobactámico. El polvo seco de aztreonam no tiene este problema.

15 La formulación de polvo seco es por lo tanto práctica y conveniente para uso ambulatorio debido a que no requiere dilución u otro procesamiento, tiene un periodo de caducidad prolongado y estabilidad de almacenamiento y los dispositivos de suministro de inhalación de polvo seco son transportables y no requieren un compresor de aire requerido por los nebulizadores de aerosol.

20 Se pretende que todas las técnicas adecuadas para la preparación de polvos inhalables secos y todas y cada una de las mejoras de los mismos así como cualquier inhalador de polvo seco estén dentro del alcance de la invención.

#### 25 C. Periodo de Caducidad y Almacenamiento

La estabilidad de la formulación es otra cuestión muy importante para la formulación eficaz. Si el fármaco se degrada antes de la aerosolización, se suministra una cantidad menor del fármaco al pulmón alterando de este modo la eficacia del tratamiento. Además, la degradación de aztreonam almacenado puede generar materiales que se toleran mal por los pacientes.

30 La forma seca del aztreonam tiene al menos 2 años de periodo de caducidad. Las formas líquidas de arginina/base libre de aztreonam tienen una estabilidad de 24 horas a temperatura ambiente, 48 horas cuando se refrigeran y, cuando se congelan a -4°C, dicha estabilidad puede extenderse hasta aproximadamente tres meses. Sin embargo, la estabilidad de la sal de arginina de aztreonam es un atributo de la arginina. La estabilidad de otras sales después de la reconstitución líquida puede diferir.

35 Una estabilidad a largo plazo de la base libre de aztreonam o sal de aztreonam en soluciones acuosas puede no proporcionar un periodo de caducidad suficientemente largo que sería aceptable comercialmente. Una formulación líquida, por lo tanto, puede requerir una separación de aztreonam o sal de aztreonam del diluyente apropiado. Por esta razón, la formulación se proporciona preferiblemente en una forma seca y puede reconstituirse antes de la administración.

40 Una formulación para aerosolización por lo tanto se proporciona preferiblemente como dos componentes separados, uno que contiene un aztreonam seco o una sal del mismo y un segundo que contiene un diluyente apropiado tal como solución salina de 0,1 a 0,9 N, bicarbonato o cualquier solución acuosa equivalente, como se ha descrito anteriormente. La formulación se reconstituye inmediatamente antes de la administración. Esta disposición evita problemas relacionados con la estabilidad a largo plazo de aztreonam en disolventes acuosos.

45 De acuerdo con la invención, el aztreonam para aerosolización se formula preferiblemente en una forma de dosificación liofilizada pretendida para su uso como un polvo seco para reconstitución antes de la terapia de inhalación. La formulación de aztreonam puede prepararse asépticamente como un polvo liofilizado para suministro de polvo seco o para reconstitución y suministro o como una solución congelada, una suspensión liposomal o como partículas microscópicas. La adecuación para almacenamiento de la formulación permite reconstitución fiable del aztreonam formulado adecuado para aerosolización.

#### 50 IV. Administración de Aztreonam por Inhalación

El aztreonam actualmente sólo está disponible para uso parenteral en forma de sal de arginina. Se sabe que la arginina causa inflamación pulmonar e irritación, como se ha analizado anteriormente, y, por lo tanto, no es adecuada para su uso en inhalación.

#### 55 A. Dos Modelos de Administración Inhalable

La administración de aztreonam inhalable se consigue con aerosol de aztreonam o con polvo de aztreonam seco inhalable.

Se ha mostrado que una formulación sin arginina de acuerdo con la invención suministrada por inhalación, sin embargo, trata de forma segura infecciones respiratorias causadas por todas las bacterias gram negativas sensibles incluyendo *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, Especies de *Enterobacter* y *Serratia marcescens*, así como, y de forma más importante, cepas resistentes a antibióticos de *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármaco.

#### B. Frecuencia de Dosificación

La frecuencia de dosificación es otro aspecto de esta invención. El tratamiento de infecciones pulmonares causadas por las bacterias anteriormente nombradas se consigue por un régimen de tratamiento que proporciona de una a varias, preferiblemente cuatro, veces al día un aztreonam inhalable. El régimen de dosificación más preferido para conveniencia del paciente es una o dos veces al día, sin embargo, debido a un efecto específico que el aztreonam ejerce sobre las bacterias y debido a su tiempo de vida relativamente corto de aproximadamente 12 horas, con frecuencia se requiere una dosificación más frecuente para la completa erradicación de las bacterias del espacio endobronquial.

En pacientes con función pulmonar gravemente alterada, la frecuencia de dosificación puede aumentarse hasta aproximadamente doce veces al día cada vez, proporcionando solo la cantidad de aztreonam que sea necesaria para mantener el nivel terapéutico en el pulmón.

El aztreonam mata a las bacterias por lisis de las paredes celulares siempre que la concentración local de antibióticos exceda la concentración inhibitoria mínima bacteriana (Med. Clinics N. Am., 79:4, 733-743 (1995)). Debido a la eliminación relativamente rápida de antibióticos del tracto respiratorio debido a acción mucociliar, se obtiene mayor eficacia a una dosis menor del aztreonam administrado por tratamiento de un paciente tres, cuatro o más veces al día en lugar de administrar el fármaco solamente una vez o dos veces. Para conseguir esto la dosis suministrada por inhalación es al menos cuatro veces y puede ser mil veces inferior a la dosis suministrada por vía intravenosa o utilizada en el intento descrito anteriormente para suministrar aztreonam por aerosolización cuando se suministraron 500-1000 mg dos veces al día hasta una cantidad total de 1000 mg para niños menores de 5 años de edad y 2000 mg para individuos mayores de 5 años.

La dosis diaria actual puede ser tan pequeña como 2 mg. El límite superior típico es de 500 mg de aztreonam por día suministrados en de dos a cuatro administraciones. En casos extremos la dosis puede alcanzar hasta 750 por día suministrados en tres, cuatro o más administraciones de aerosol. El intervalo típico y preferido para una dosificación de aerosol está entre 20 y 200 mg administrados dos veces al día o entre 10 y 100 mg administrados tres o cuatro veces al día. Para inhalación de polvo seco, la dosis para una administración es menor, típicamente entre aproximadamente 10 y 100 mg por una dosis y como máximo puede alcanzar 200 mg por una dosis.

La aerosolización de aztreonam utiliza suministro de aztreonam aerosolizado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una mezcla de sales usando nebulizadores de atomización, inyección, ultrasónicos, electrónicos o equivalentes de otro tipo. Los que son portátiles, tales como nebulizadores de atomización, ultrasónicos y electrónicos se prefieren para tratamiento ambulatorio. Los nebulizadores de inyección con un compresor nebulizan la formulación de aztreonam de forma muy eficaz pero son más adecuados para su uso en el hospital y en la consulta del médico.

Una inhalación de polvo seco, como el segundo modo de administración del aztreonam inhalable, también utiliza el aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable o una mezcla del mismo, pero el aztreonam se formula como una formulación de polvo seco de aztreonam. Tal formulación comprende un suministro del aztreonam finamente molido directamente al espacio endobronquial. En este caso, el aztreonam se suministra en el espacio endobronquial usando inhaladores de polvo seco o dosis medida. La potencia de aztreonam, determinada según la masa, permite la inhalación de polvo de aztreonam, como un modo alternativo de administración al aerosol. La inhalación de polvo seco es la más eficaz, práctica y económica cuando las dosis administradas contienen menos de 100 mg. La frecuencia de dosificación, por lo tanto, es típicamente de tres o cuatro veces al día pero también incluye régimen de dosificación de una o dos o más de cuatro veces puesto que este régimen depende de la necesidad y condición del paciente.

La invención proporciona una formulación suficientemente potente de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en una forma de polvo seco suministrada como inhalación de dosis medida de partículas de aztreonam molidas o secadas por pulverización a tamaños de partícula predominantemente dentro de un intervalo de 1 a 5  $\mu\text{m}$ . Dicho suministro de polvo seco es posible y preferible particularmente para inhalación ambulatoria puesto que simplifica el proceso de suministro. Tal suministro es conveniente debido a que no requiere ninguna manipulación adicional tal como diluir el polvo seco o mezclar el polvo con un disolvente, etc. Además, la inhalación de polvo seco utiliza los dispositivos que son suficientemente pequeños, completamente portátiles y no requieren, por ejemplo, un compresor de aire que se requiere para un nebulizador de inyección. Adicionalmente, la formulación de polvo seco tiene un periodo de caducidad incluso más largo que la formulación de aztreonam líquida para aerosolización.

El régimen de dosificación para aztreonam tanto en aerosol como en polvo seco comprende de una a cuatro, típicamente, o más de cuatro veces al día, en casos no típicos, de administración del aerosol o polvo seco.

- 5 Los pacientes con fibrosis quística gravemente afectados, por ejemplo, pueden ser capaces de soportar solamente una inhalación cada vez pero podrían repetir esta inhalación de cantidad pequeña de aztreonam cada dos, tres o cuatro horas para tener suficiente nivel de aztreonam en los pulmones.

#### V. Dispositivos para Suministro de Aztreonam Aerosolizado

10 Un requisito principal de esta invención es suministrar aztreonam de forma eficaz al espacio endobronquial de las vías respiratorias de un modo económico. Por lo tanto, la invención requiere que al menos el 30-50%, preferiblemente el 70-90% del fármaco activo, es decir aztreonam o una sal del mismo, sometido a nebulización se suministre de hecho a un sitio en el que ejerza su efecto terapéutico.

##### 15 a) Nebulizadores

La composición de la inversión descrita anteriormente proporciona el fármaco formulado en una solución que permite el suministro de una cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco, siempre que el aerosol generado por la nebulización cumpla los criterios requeridos para dicho suministro eficaz. El aparato (nebulizador) que aerosoliza la formulación de aztreonam se convierte por lo tanto en una parte muy importante de la invención.

Existen bastantes tipos de nebulizadores actualmente disponibles en el mercado. No todos ellos son adecuados para la práctica de esta invención.

25 Un nebulizador se selecciona principalmente basándose en permitir la formación de aerosol de aztreonam que tenga una mediana del diámetro aerodinámico de la masa predominantemente entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ . La cantidad suministrada de aztreonam debe ser eficaz para el tratamiento y profilaxis de infecciones endobronquiales, particularmente las causadas por bacterias sensibles. El nebulizador seleccionado debe por lo tanto poder aerosolizar de forma eficaz la formulación que tiene salinidad, fuerza osmótica y pH ajustados para permitir la generación de aerosol de aztreonam que sea terapéuticamente eficaz y se tolere bien por los pacientes. El nebulizador debe poder manipular la formulación que tiene un volumen aerosolizable lo más pequeño posible aún capaz de suministrar una dosis eficaz de aztreonam al sitio de la infección. Adicionalmente, la formulación en aerosol no debe afectar a la funcionalidad de las vías respiratorias y debe minimizar los efectos secundarios no deseados.

35 La incapacidad de ciertos nebulizadores para nebulizar cantidades terapéuticas de fármacos en aerosoles de tamaños de partícula pequeños y uniformes se conoce bien. Para el suministro eficaz de aztreonam un intervalo de partículas aerosolizadas con MMAD necesario para suministrar el fármaco al espacio endobronquial, el sitio de la infección, está entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ . Muchos nebulizadores disponibles en el mercado son capaces de aerosolizar grandes volúmenes de la solución con el objetivo de suministrar al menos el 10% al espacio endobronquial produciendo aproximadamente el 90% de partículas de aerosol grandes por encima de 5  $\mu\text{m}$  con una gran variedad de partículas en el intervalo de 50-100  $\mu\text{m}$ . Estos nebulizadores son ineficaces y no son adecuados para el suministro de aztreonam de acuerdo con esta invención.

45 Para ser terapéuticamente eficaz, la mayoría de las partículas de aztreonam aerosolizadas no deberían tener medianas del diámetro aerodinámico de la masa (MMAD) mayores de entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ . Cuando el aerosol contiene una gran variedad de partículas con una MMAD mayor de 5  $\mu\text{m}$ , éstas se depositan en las vías respiratorias superiores reduciendo la cantidad de antibióticos suministrados al sitio de infección en el tracto respiratorio inferior.

50 Previamente, se ha mostrado que dos tipos de nebulizadores, de inyección y ultrasónicos, son capaces de producir y suministrar partículas de aerosol que tienen tamaños entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ . Estos tamaños de partícula son óptimos para el tratamiento de infección bacteriana pulmonar causada por bacterias gram negativas tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, especies de *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos. Sin embargo, a no ser que se use una solución formulada especialmente, estos nebulizadores típicamente necesitan grandes volúmenes para administrar suficiente cantidad de fármaco para obtener un efecto terapéutico. Por lo tanto, sin un aztreonam especialmente formulado el suministro eficaz de aztreonam no se consigue.

60 El nebulizador adecuado para practicar esta invención debe poder nebulizar un pequeño volumen de la formulación de forma eficaz, es decir en el tamaño de partícula de aerosol predominantemente en el intervalo de 1-5  $\mu\text{m}$ . Predominantemente en esta solicitud significa que al menos el 70%, pero preferiblemente más del 90% de todas las partículas de aerosol generadas están dentro del intervalo de 1-5  $\mu\text{m}$ .

65 Los nebulizadores de inyección y ultrasónicos pueden producir y suministrar partículas entre el tamaño de partículas

de 1 y 5  $\mu\text{m}$ . Un nebulizador de inyección utiliza rotura por presión de aire de una solución de aztreonam acuosa en gotas de aerosol. Un nebulizador ultrasónico utiliza cizallamiento de la solución del aztreonam acuoso mediante un cristal piezoeléctrico.

5 Típicamente, sin embargo, los nebulizadores de inyección solamente son eficaces al 10% en condiciones clínicas, mientras que el nebulizador ultrasónico sólo es aproximadamente eficaz al 5%. La cantidad depositada y absorbida en los pulmones es por lo tanto una fracción del 10% a pesar de las grandes cantidades de fármaco colocadas en el nebulizador.

10 Un tipo de nebulizador que es adecuado y preferido para suministro de aztreonam es un nebulizador de atomización que consiste en un recipiente de almacenamiento de líquidos en contacto fluido con el diafragma y válvulas de inhalación y exhalación. Para la administración de la formulación de aztreonam, se colocan de 1 a 5 ml de la formulación en el recipiente de almacenamiento, se acopla el generador de aerosol que produce aerosol atomizado de tamaños de partículas selectivamente entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ .

15 Los dispositivos de nebulización típicos adecuados para la práctica de esta invención incluyen nebulizadores de atomización o nebulizadores de inyección modificados, nebulizadores ultrasónicos, nebulizadores electrónicos, nebulizadores de placa porosa vibrante e inhaladores de polvo seco activados modificados para manipular un volumen pequeño de fármaco altamente concentrado en una formulación específica que tiene un pH, osmolalidad y salinidad específicos. El más preferido es el nebulizador de inhalación PARI descrito en el documento PCT/US00/29541 modificado para cumplir los requisitos de esta invención.

#### 20 b) Inhaladores de Polvo Seco

25 El polvo seco se administra como tal usando dispositivos que suministran el polvo seco directamente a los pulmones.

Existen dos diseños principales de inhaladores de polvo seco. Un diseño es el dispositivo de medida en el que se coloca un recipiente para el fármaco dentro del dispositivo y el paciente añade una dosis del fármaco en la cámara de inhalación. El segundo es un dispositivo de dosis medida en fábrica en el que cada dosis individual se ha fabricado en un recipiente separado. Ambos sistemas dependen de la formulación del fármaco en partículas pequeñas de mediana de diámetro de la masa de 1 a 5 micrómetros y habitualmente implican co-formulación con partículas excipientes mayores (típicamente partículas de lactosa de un diámetro de 100 micrómetros). El polvo del fármaco se coloca en la cámara de inhalación (por medida del dispositivo o por rotura de una dosificación medida en fábrica) y el flujo de inspiración del paciente acelera el polvo fuera del dispositivo y hacia la cavidad oral. Las características de flujo no laminar de la vía del polvo provoca que los agregados de excipiente y fármaco se descompongan y la masa de las partículas de excipiente grandes provoca su impacto en la parte posterior de la garganta, mientras que las partículas de fármaco más pequeñas se depositan en profundidad en los pulmones.

30 La tecnología actual para inhaladores de polvo seco es tal que los límites de carga útil son de aproximadamente 100 mg de polvo. La falta de estabilidad a largo plazo de aztreonam en una solución acuosa debido a hidrólisis permite que la tecnología de inhalador de polvo seco se convierta en un vehículo de suministro preferido para polvo seco de aztreonam.

#### 35 C. Tamaño de Partícula de Polvo Seco o Aerosol

El tamaño de partículas de la formulación de aerosol de aztreonam es uno de los aspectos más importantes de la invención. Si el tamaño de partículas es mayor de 5  $\mu\text{m}$  entonces las partículas se depositan en las vías respiratorias superiores. Si el tamaño de partículas del aerosol es menor de 1  $\mu\text{m}$  entonces no se deposita en el espacio endobronquial sino que continúa suministrándose a los alvéolos y puede transferirse a la circulación sanguínea sistémica.

Un nebulizador de inyección utiliza presión de aire para romper una solución líquida en gotas de aerosol. Un nebulizador ultrasónico funciona mediante un cristal piezoeléctrico que cizalla un líquido en pequeñas gotas de aerosol. Un sistema de nebulización presurizado empuja la solución bajo presión a través de pequeños poros para generar gotas de aerosol. Un dispositivo de placa porosa vibrante utiliza la vibración rápida para cizallar una corriente de líquido en tamaños de gota apropiados. Sin embargo, solamente algunas formulaciones de aztreonam pueden nebulizarse de forma eficaz puesto que los dispositivos son sensibles a pH y salinidad.

55 En inhaladores de polvo seco, el polvo seco de aztreonam preparado como se ha descrito anteriormente en dosificaciones de 1-100 mg, preferiblemente de 10-50 mg de polvo seco como partículas que tienen tamaños entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ , se usa directamente.

D. Eficacia de Nebulización de Aztreonam

La selección y elección del nebulizador afecta de forma importante a la eficacia del suministro de aztreonam inhalable.

Una combinación de una formulación de aerosol de aztreonam y un dispositivo de nebulización potencia de forma significativa la eficacia y velocidad de la administración del fármaco. En la actualidad, por ejemplo el tiempo medio para administración de otros fármacos aerosolizados, tal como por ejemplo tobramicina, es de 15-20 minutos por dosis. El tiempo requerido para este tratamiento representa una carga significativa para el paciente y contribuye a la reducción de la conformidad con el régimen de BID.

Además, el sistema de nebulizador usado para administración de tobramicina es menos eficaz que los nuevos dispositivos de atomización. La dosis total depositada de tobramicina en el pulmón está en el intervalo de 12 a 15%. Aproximadamente el 30% del fármaco dispersado permanece en el nebulizador al final del tratamiento y de la porción que se aerosoliza, aproximadamente el 30% se emite como partículas demasiado grandes o pequeñas para alcanzar las vías respiratorias inferiores.

El nuevo nebulizador de atomización, con una producción de 8 a 10 microlitros/segundo o 0,48 a 0,60 ml/minuto, es capaz de suministrar material farmacológico de 2 a 4 veces más rápido que los nebulizadores anteriores ejemplarizados por nebulizador PARI LC plus. Además, el nuevo nebulizador es capaz de aerosolizar aproximadamente el 90% de la dosis dispersada, con el 85% o más de las partículas de aerosol dentro del intervalo de tamaño requerido para la deposición en las vías respiratorias inferiores. Como resultado, la administración de una formulación diseñada específicamente de aztreonam usando el nebulizador de atomización conduce a una mejora sustancial en el suministro local a las vías respiratorias, a la necesidad de un tiempo más corto para el suministro y, dependiendo de la concentración final de la solución de aztreonam, reduce el tiempo de tratamiento hasta tan poco como cuatro minutos.

VI. Tratamiento de Infecciones Bacterianas Pulmonares

Esta invención proporciona un tratamiento eficaz y prevención de infecciones bacterianas pulmonares agudas y crónicas causadas por *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenza*, *Proteus mirabilis*, especies de *Enterobacter* y *Serratia marcescens*, así como infección causada por cepas resistentes a antibióticos de *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos.

A. Dos Modos de Tratamiento Inhalable

Un método para tratamiento de infecciones pulmonares comprende administración de aztreonam en forma inhalable mediante aerosol o como un polvo seco, varias veces al día. La dosis diaria de aztreonam está entre 1 y 500 mg/día, con dosis excepcionales hasta 750 mg/día administradas en 1-50 mg/ml para aerosol y de 2 a 200 mg de dosis diaria de polvo seco administrada en una dosis de 1-100 mg/un tratamiento. La dosificación del aztreonam y la frecuencia de dosificación dependen del tipo de infección bacteriana, la gravedad de la misma, la edad del paciente, las condiciones del paciente, etc. En caso de pacientes con fibrosis quística en los que la capacidad aérea pulmonar está disminuida, la dosificación es más frecuente con dosis más bajas.

La formulación de polvo seco adecuada para el tratamiento de infecciones pulmonares comprende de 1 a 200 mg, preferiblemente aproximadamente de 10 a 100 mg, de polvo en un estado amorfo o cristalino en tamaños de partícula entre 1 y 5 micrómetros de mediana de diámetro aerodinámico de la masa necesarios para el suministro eficaz de aztreonam en el espacio endobronquial. La formulación de polvo seco se suministra de una a cuatro veces al día, preferiblemente dos veces al día. La formulación de polvo seco es estable para temperatura y tiene un pH fisiológicamente aceptable de 4,5-7,5, preferiblemente 5,5 a 7,0 y un período de caducidad de más de cinco años.

B. Tratamiento de Infecciones en Pacientes con Enfermedades Pulmonares Purulentas

La terapia de aerosol de esta invención es particularmente útil para el tratamiento de pacientes que padecen enfermedades pulmonares purulentas y es especialmente adecuada para el tratamiento de pacientes con fibrosis quística, bronquiectasia y los pacientes sometidos a ventilación mecánica.

Previamente, los antibióticos inhalados de terapia de aerosol para fibrosis quística (ATCF) han demostrado un beneficio significativo de dicho tratamiento para pacientes de fibrosis quística (CF) que padecen infecciones pulmonares crónicas.

En los Estados Unidos, el agente más exitoso y ampliamente usado a este respecto ha sido tobramicina, que se ha mostrado que producen mejoras sustanciales en la función pulmonar y otros parámetros clínicos.

Se ha descubierto ahora que aztreonam inhalable proporciona tratamiento exitoso en fibrosis quística,

bronquiectasia u otras enfermedades pulmonares purulentas para infecciones pulmonares causadas por bacterias gram negativas y particularmente las causadas por *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos resistentes a antibióticos.

- 5 El tratamiento de esas infecciones bacterianas multi resistentes con aztreonam aerosolizado ha sido exitoso en la erradicación de las bacterias como se ha descrito en el Ejemplo 2.

Dicho tratamiento es autónomo o puede ser tratamiento complementario a otros antibióticos, tal como tobramicina, que, tras un uso prolongado, da como resultado el desarrollo de resistencia a tobramicina. Cuando el tratamiento con tobramicina se intercala con periodos de tratamiento con aztreonam, dicha resistencia se reduce o no se desarrolla.

### C. Limitaciones de los Antibióticos Aerosolizados Actuales en el Tratamiento de Fibrosis Quística

- 15 Hasta la fecha, un aminoglucósido tobramicina es el único antibiótico con aprobación de la FDA para su administración como un aerosol. Sin embargo, a pesar de los beneficios obtenidos en pacientes con fibrosis quística con la administración de tobramicina aerosolizada, su utilidad está limitada en cierto grado.

Primero, el uso frecuente de aminoglucósidos para controlar las exacerbaciones pulmonares conduce a desarrollo selectivo de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes. La aparición generalizada de tales organismos se reconoce como una crisis creciente en la comunidad de CF. Por ejemplo el 21% de los pacientes explorados de 69 centros diferentes de CF para los ensayos clínicos de tobramicina en fase III tienen aislados resistentes a tobramicina (MIC > 16 µg/ml). En consecuencia, muchos especialistas clínicos son reticentes a prescribir este aminoglucósido aerosolizado como terapia supresora crónica, temiendo que pueda promover adicionalmente la resistencia y por lo tanto disminuir la eficacia de terapia IV. Para reducir el riesgo de dicha resistencia surgida por tratamiento, la terapia de tobramicina se restringe a ciclos de 28 días con y 28 días sin el fármaco.

Una segunda limitación de la tobramicina aerosolizada es su falta de actividad contra varias bacterias intrínsecamente resistentes a tobramicina, incluyendo *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Burkholderia cepacia*, la última de las cuales se reconoce ampliamente como una amenaza significativa para pacientes con fibrosis quística. Los pacientes con fibrosis quística infectados con *Burkholderia cepacia* tienen una tasa aumentada de mortalidad y muchos experimentan un recorrido letal rápido como se describe en Am. J. Respir. Crit. Care Med., 160: 1572-1577, (1999). Adicionalmente, *Burkholderia cepacia* es una infección transmisible que puede causar expansión epidémica entre pacientes con fibrosis quística. Por lo tanto, un paciente infectado con *Burkholderia cepacia* debe aislarse de otros pacientes.

El aztreonam aerosolizado no induce a resistencia a aminoglucósidos y tiene actividad contra patógenos resistentes observados en pacientes con fibrosis quística.

- 40 Un aztreonam aerosolizado puede reemplazar a la tobramicina o usarse como una alternativa y tratamiento intermitente para tobramicina durante los periodos de 28 días sin tobramicina, que se requieren para evitar el desarrollo de resistencia permanente a tobramicina.

Aztreonam es un antibiótico con excelente actividad contra muchas bacterias gram negativas aeróbicas, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa* multi resistente. El espectro de actividad de aztreonam es similar al de los antibióticos de aminoglucósido tobramicina y gentamicina y su actividad antipseudomonas es comparable a ceftazidina.

El aztreonam resiste la destrucción por la mayoría de las β-lactamasas bacterianas, que son la fuente de mucha resistencia que surge en tratamiento a antibióticos de β-lactama que aparece frecuentemente entre pacientes hospitalizados.

La actividad del aztreonam contra bacterias gram negativas, especialmente *Pseudomonas aeruginosa*, combinado con su excelente perfil de seguridad le hace una buena alternativa a aminoglucósidos en el tratamiento de infecciones pulmonares crónicas entre pacientes con fibrosis quística. Hasta el momento. El uso clínico de aztreonam en pacientes con CF ha incluido la administración IV de aztreonam como una terapia de agente único o en combinación con otros antibióticos para el tratamiento de exacerbaciones pulmonares.

### D. Ventajas de Aztreonam como un Antibiótico Aerosolizado

- 60 El aztreonam posee varias características que lo hacen muy atractivo para administración de aerosol a pacientes con CF.

La primera de estas características surge de su mecanismo de acción, que, a diferencia de antibióticos de aminoglucósidos, implica unión preferente a proteína de unión a penicilina 3 (PBP3) e interferencia posterior con síntesis de la pared celular bacteriana. Debido a que el mecanismo de acción del aztreonam difiere del de la tobramicina, su uso no contribuye a la aparición de cepas resistentes a aminoglucósido de *Pseudomonas*

*aeruginosa*.

La segunda ventaja de una formulación en aerosol del aztreonam es su actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* resistente a tobramicina y resistente a multifármacos. Cuando se examinaron aislados de pacientes admitidos en la Fase II de los ensayos de tobramicina, casi el 75% de los aislados con una MIC de tobramicina >16 µg/ml eran sensibles a aztreonam.

La tercera característica es la capacidad de aztreonam en aerosol para controlar los organismos intrínsecamente resistentes a tobramicina, especialmente *Burkholderia cepacia*, que se considera resistente a los niveles de aztreonam conseguidos por administración parenteral.

#### VII. Ensayos In Vitro

Para ensayar la actividad bacteriana de aztreonam aerosolizado contra cepas multi resistentes de *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Alcaligenes xylosoxidans*, las actividades *in vitro* de aztreonam en concentraciones correspondientes a las que se pueden conseguir con aztreonam inhalable se ensayaron frente a aislados clínicos de pacientes con fibrosis quística.

El suministro en aerosol de aztreonam de acuerdo con la invención consigue concentraciones de aztreonam hasta alcanzar niveles desde 500 hasta tanto como 8000 µg/ml con un nivel medio de aproximadamente 2000 µg/ml de aztreonam en el esputo. Estos niveles dependen de la formulación así como del nebulizador usado para aerosolización. Con ciertos nebulizadores la concentración de aztreonam puede conseguir un nivel medio de 5000 µg/ml.

Las sensibilidades determinadas *in vitro* de las bacterias ensayadas son predictivas de la eficacia clínica de aerosol o polvo seco de aztreonam inhalado.

Aztreonam mata mediante la lisis de las paredes celulares siempre que la concentración local de antibiótico exceda la concentración inhibitoria mínima de las bacterias (Med. Clinics N. Am., 79: 4, 733-743 (1995)).

La actividad *in vitro* de altas concentraciones de aztreonam contra aislados clínicos de *B. cepacia*, *S. maltophilia* y *A. xylosoxidans* se ensayaron en el Hospital Infantil y Centro Médico Regional en Seattle, WA. Los ensayos se realizaron en bandejas de microdilución de caldo de cultivo preparadas con concentraciones de 2 veces de aztreonam de 2 a 2048 µg/ml. *Staphylococcus aureus*, un organismo gram positivo, se usó como un control negativo. El procedimiento detallado usado para los ensayos se describe en el Ejemplo 1. Los resultados se ven en la Tabla 1.

Tabla 1

Organismo (nº de aislados)	Intervalo de MIC	MIC50	MIC90
<i>P. aeruginosa</i> (54)	2-1024	16	512
<i>B. cepacia</i> (38)	2-2048	32	512
<i>S. maltophilia</i> (20)	8->2048	256	>2048
<i>A. xylosoxidans</i> (20)	2>2048	256	2048
<i>S. aureus</i> (20)	512-2048	1024	2048

Para los ensayos, cada placa de micropocillos contenía una dilución 2 veces, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 y 2048 µg/ml de aztreonam. Cada placa que contenía los micropocillos se usó para ensayar un aislado de un organismo.

La Tabla 1 muestra las diferentes especies de bacterias ensayadas con respecto a sensibilidad, que es la capacidad del antibiótico para inhibir su crecimiento, a aztreonam, con el número de aislados para cada especie proporcionado entre paréntesis. La columna designada "intervalo de MIC" muestra el intervalo de los límites superior e inferior de sensibilidades vistas en los aislados ensayados. La columna designada MIC50 muestra la mediana del nivel de sensibilidad para el 50% más sensible de los aislados. La columna final, designada MIC90 muestra el valor de la mediana para el nivel de sensibilidad para el 90% más sensible de los aislados.

La Tabla 1 muestra los resultados de actividad *in vitro* comparativa de aztreonam frente a aislados clínicos obtenidos de pacientes con fibrosis quística.

Para interpretación de estos datos, estos valores que representan qué concentración de aztreonam se requiere para inhibir el crecimiento de bacterias se comparan con las concentraciones de aztreonam obtenibles por las diferentes vías de administración. Por lo tanto, para la administración intravenosa de aztreonam, el nivel en suero después de la administración de 2 g de aztreonam, la dosis intravenosa máxima permitida, el nivel en suero máximo es 256 µg/ml y después disminuye rápidamente. A las seis horas después de la administración, el nivel de aztreonam en el

suero está en el intervalo de 16 µg/ml. Por razones de seguridad, el aztreonam intravenoso sólo puede administrarse cada seis horas. Con la posible excepción de *Pseudomonas aeruginosa* que tiene una MIC50 de 16 µg/ml todos los otros organismos serían predominantemente resistentes a aztreonam intravenoso, puesto que su nivel de resistencia excede incluso la concentración máxima (256 µg/ml) de concentración en suero de esputo de aztreonam después de la administración intravenosa. Puesto que, sin embargo, la resistencia de las bacterias es relativa a la concentración del fármaco, para administración en aerosol, la concentración máxima debería estar al menos en el intervalo de 500 a 2000 µg/ml. Dicho intervalo se consigue con las dosis de aztreonam y la formulación de la invención combinadas con el nebulizador eficaz, de acuerdo con esta invención. En la concentración de 500-2000 µg/ml en el esputo, la terapia de aerosol de acuerdo con la presente invención es capaz de tratar la mayoría de las infecciones endobronquiales causadas por las bacterias gram negativas, específicamente las bacterias enumeradas en la Tabla 1, con excepción, por supuesto, de *Staphylococcus aureus*.

Las MIC50 y MIC90 han mostrado que el tratamiento de *P. aeruginosa* con aztreonam inhalable erradica la mayoría de los aislados de *P. aeruginosa* con las concentraciones altas de aztreonam en esputo de pacientes con fibrosis quística obtenibles después del suministro de aerosol. Los datos obtenidos para aislado de *Burkholderia cepacia* indicaron que se esperaba que al menos la mitad de los pacientes respondieran a dicho tratamiento con erradicación de las bacterias. Si se suministra una concentración suficientemente alta de aztreonam al pulmón, se espera que el porcentaje sea mayor. Puesto que la infección de *Burkholderia cepacia* se ve ahora como una afección principalmente no tratable, el tratamiento con aztreonam inhalable por aerosol es la primera terapia eficaz documentada.

Los resultados obtenidos en estos estudios son sorprendentes e inesperados puesto que no existe indicio en la bibliografía de que *Burkholderia cepacia* sea susceptible a tratamiento con aztreonam. Los datos también muestran que algunos aislados de *S. maltophilia* y *A. xylosoxidans* responden a alta concentración de aztreonam.

La inhalación de aztreonam de acuerdo con la invención permite alcanzar concentraciones de aztreonam en el esputo tan altas como 2000-5000 µg/ml. Los niveles de aztreonam en el esputo conseguidos mediante administración por aerosol exceden los requeridos para inhibir organismos responsables de infecciones no tratables de otro modo en pacientes con CF.

Además, el aztreonam suministrado por inhalación a todos los pacientes con *Burkholderia cepacia*, *S. maltophilia* y/o *A. xylosoxidans* junto con otros antibióticos administrados de forma sistémica por vía parenteral o por inhalación contribuye a la sinergia de dicho tratamiento. Una combinación de aztreonam inhalable con otros antibióticos proporciona otro enfoque terapéutico para tratar cepas bacterianas multi resistentes.

Los estudios descritos en este documento demostraron que las concentraciones de aztreonam conseguidas después de la administración de aerosol tenían actividad contra *Burkholderia cepacia* aisladas de esputo de pacientes con CF así como frente a otras bacterias que son ampliamente resistentes al tratamiento con otros antibióticos.

La MIC50 y MIC90 observadas para una bacteria gram positiva, *Staphylococcus aureus*, muestran que concentraciones altas de aztreonam tenían algo de actividad contra esta bacteria gram positiva. Estos hallazgos, sin embargo, no tienen gran significación puesto que existen muchos otros fármacos con eficacia razonable contra *Staphylococcus aureus*.

## VII. Ensayos In Vivo

Las infecciones que requieren atención particular son infecciones causadas por e incluyen *B. cepacia*, *S. maltophilia* y *A. xylosoxidans*, así como cepas multi resistentes de *Pseudomonas aeruginosa*, la infección más clínicamente significativa es la primera.

Para determinar si un aztreonam formulado de forma apropiada para aerosolización podría hacerse eficaz para el tratamiento de estas cepas bacterianas raras pero muy resistentes, el tratamiento con aztreonam aerosolizado se inició y ensayó en un paciente con fibrosis quística que tenía una infección de *Burkholderia cepacia* grave que no respondía a ningún tratamiento. El tratamiento clínico y los resultados obtenidos con un aztreonam aerosolizado se describen en el Ejemplo 2.

## Utilidad

El método de tratamiento y las composiciones de aztreonam inhalables descritas en este documento son adecuados para tratamiento de infecciones del tracto respiratorio causadas por *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a mutifármacos así como para el tratamiento de otras infecciones pulmonares causadas por bacterias gram negativas.

**Ejemplo 1**Ensayos *in vitro* de Aislados de Pacientes con Fibrosis Quística

5 Este ejemplo describe el procedimiento usado para estudios *in vitro* de aislados bacterianos obtenidos de pacientes con fibrosis quística.

Se cultivaron aislados bacterianos del tracto respiratorio (144) de pacientes con CF que se habían almacenado a -70°C mediante dos pases consecutivos durante una noche a 37°C en agar sangre 5% (Remel, Lenexa, KS).

10

Se determinaron las concentraciones inhibitoras mínimas (MIC) por las siguientes etapas:

Ensayos Antimicrobianos de MIC en Organismos Aerobios

- 15 1. Se pusieron las bandejas de MIC a temperatura ambiente.  
 2. Se inocularon 3,0 ml de solución salina fisiológica con un cultivo de 18-24 h del organismo a ensayar hasta una turbidez igual a un patrón de McFarland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml). Esto corresponde a una DO600 de 80-88% de transmisión.  
 20 3. A los 15 minutos de la preparación, la suspensión de inóculo ajustada se diluyó transfiriendo 100  $\mu$ l a 2,9 ml de diluyente de agua estéril.  
 4. La suspensión se mezcló suavemente por inversión y se distribuyeron 10  $\mu$ l en cada pocillo de MIC que tenían un volumen inicial de 100  $\mu$ l. La concentración final en cada pocillo fue igual a  $5 \times 10^5$  UFC/ml o  $5 \times 10^4$  UCF/pocillo.  
 25 5. Se incubaron las bandejas de forma aerobia a 37°C durante 16-20 horas. Se mantuvo la misma temperatura de incubación para todos los cultivos. Las bandejas de microdilución no se apilaron a una altura de más de cuatro.  
 6. Se leyó el punto final antimicrobiano y se registró como el primer pocillo que no muestra crecimiento fácilmente visible o turbidez según se detecta por el ojo desnudo.  
 30 7. Las bandejas de microdilución se pusieron en contacto con concentraciones de 2 veces de aztreonam de 2 a 2098  $\mu$ g/ml. Cada placa de micropocillos se trató con una dilución de 2 veces de aztreonam en las siguientes cantidades: 2, 4, 9, 18, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 y 2048  $\mu$ g/ml. Cada placa que contenía los micropocillos se usó para ensayar un aislado de un organismo.  
 8. Los resultados se leyeron y se registraron.

**Ejemplo 2**Tratamiento Clínico de Paciente con *Burkholderia cepacia*

40 Este ejemplo describe un primer hallazgo de eficacia del tratamiento de aztreonam en aerosol de un paciente con fibrosis quística que padece *Burkholderia cepacia* resistente.

El paciente fue una mujer de 20 años de edad con fibrosis quística y enfermedad pulmonar de etapa final. Se le habían diagnosticado infecciones pulmonares de *Burkholderia cepacia* que se habían vuelto resistentes a todos los antibióticos conocidos intravenosos, orales e inhalados. Tenía dos cepas documentadas genéticamente diferentes de *Burkholderia cepacia*. Por esta razón se rechazó al paciente como un candidato para un trasplante de pulmón.

45

Se proporcionó al paciente una formulación de la invención que comprendía aztreonam 200 mg/ml y se le indicó que usara esta formulación en de 3 a 5 ml de diluyente y la usara en un nebulizador de inyección mejorado para respiración impulsado por compresor de aire y tomara la terapia dos veces al día. Este tipo de nebulizador solamente suministra aproximadamente del 10 al 20% de la dosis situada en los nebulizadores a los pulmones, sin embargo, era el único nebulizador disponible para el paciente para tratamiento en casa.

50

Después de tres meses de terapia de dos veces al día continua, la infección pulmonar se trató de forma exitosa y no pudieron detectarse pruebas de *Burkholderia cepacia*. Se consideró a la paciente tratada de la infección y con el tiempo se sometió a un procedimiento de trasplante de pulmón exitoso.

55

No hubo reaparición o recaída postoperatoria de la infección de *Burkholderia cepacia* a pesar de la terapia de inmunosupresión intensiva después del trasplante.

60 Estos hallazgos fueron sorprendentes puesto que el uso previo de aztreonam disponible en el mercado en una generación más vieja suministrado en nebulizadores aún menos eficaces no condujo a la erradicación de *P. aeruginosa* como se describe en Clinics Chest Med., 19: 473-86 (sep. 1998). En este ensayo, los autores detuvieron la terapia en el desarrollo de cualquier resistencia a aztreonam en lugar de continuar tratando a estos pacientes. El trabajo anterior no ensayó o especuló que esta terapia pudiera ser eficaz en el tratamiento de otras bacterias gram negativas incluyendo *Burkholderia cepacia*, *S. maltophilia*, *X. xylosoxidans* u otras infecciones de pseudomonas

65

resistentes a mutifármacos.

Los resultados obtenidos con el tratamiento del paciente anterior son incluso más sorprendentes en tanto que la erradicación de *Burkholderia cepacia* es una situación extremadamente rara, particularmente cuando la infección está bien establecida como era el caso con este paciente.

### Ejemplo 3

#### Preparación de Polvo Seco de Aztreonam

Este ejemplo proporciona métodos y procedimientos usados para la preparación de polvo seco inhalable que contiene aztreonam.

Para la formulación en polvo seco de la invención, se muele un antibiótico de aztreonam purificado, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, hasta un polvo que tenga mediana de diámetros aerodinámicos de la masa que varían de 1 a 5  $\mu\text{m}$  por técnicas de molienda del medio, molienda de inyección, secado por pulverización o de precipitación de partículas.

Las determinaciones de tamaño de partículas se realizan usando impactador de cascada de Anderson multietapa.

La molienda de medios puede conseguirse situando la sustancia farmacológica en un molino que contiene, por ejemplo, bolas de acero inoxidable o cerámica y rotando o volteando el material hasta que se consiguen los intervalos de tamaño de partícula del fármaco deseados.

La molienda de inyección usa corrientes de aire de muy alta presión para hacer chocar las partículas entre sí, recuperándose partículas finas del tamaño deseado del molino.

El secado por pulverización se consigue pulverizando una bruma fina de solución farmacológica en un soporte y secando las partículas. Las partículas se recogen después.

La precipitación de partículas se consigue añadiendo un co-disolvente a las partículas secadas por pulverización. La solubilidad del fármaco se reduce hasta el punto en el que se forman partículas del fármaco sólidas. Las partículas se recogen por filtración o centrifugación. La precipitación tiene la ventaja de ser altamente reproducible y puede realizarse en condiciones de baja temperatura, lo que reduce la degradación.

### Ejemplo 4

#### Inhaladores de Polvo Seco

Las formulaciones de polvo seco de la invención pueden usarse directamente en dosis medida o inhaladores de polvo seco.

Un inhalador de dosis medida consiste en tres componentes: un recipiente que contiene la suspensión de fármaco propulsora, una válvula de medición diseñada para suministrar volúmenes medidos de forma precisa de la suspensión propulsora y un adaptador oral que contiene un orificio de pulverización desde el que se suministra la dosis medida. En la posición de descanso, la cámara de medición de la válvula se conecta al depósito de suspensión del fármaco mediante una ranura u orificio de relleno. En la depresión de la válvula esta ranura de relleno se sella y la cámara de medición se expone a presión atmosférica mediante el orificio de pulverización en el adaptador oral y el orificio del vástago de la válvula. Esta reducción rápida de la presión conduce a ebullición ultra rápida del propulsor y expulsión de la mezcla en expansión rápida de la cámara de medición. La mezcla de líquido/vapor entra después en la cámara de expansión que está constituida por el volumen interno del vástago de la válvula y el adaptador oral. La mezcla experimenta una expansión adicional antes de expulsarse, bajo su propia presión, desde la boquilla de pulverizador. Al salir del orificio de pulverización, los ligamentos líquidos que están incluidos en el vapor propulsor se rompen por fuerzas aerodinámicas. Típicamente, en esta etapa, las gotas son de 20 a 30  $\mu\text{m}$  de diámetro y se mueven a la velocidad del sonido de la mezcla líquida de vapor de dos fases (aproximadamente 30 metros por segundo). A medida que la nube de gotas se aleja de la boquilla de pulverización, arrastra aire del entorno y desacelera, mientras que el propulsor se evapora a través de evaporación, las gotas arrastradas alcanzan con el tiempo su diámetro residual.

En este punto, las partículas/gotas consisten en un núcleo de fármaco en polvo recubierto de tensioactivo. Dependiendo de la concentración y el tamaño del material en suspensión el núcleo de fármaco en polvo consiste en partículas de fármaco individuales o agregados. En la actualidad, la tecnología de inhalador de dosis medida está optimizada para suministrar masas de 80 a 100 microgramos de fármaco, con una limitación superior de 1 mg de fármaco suministrable.

Una vía alternativa de suministro de polvo seco es por inhaladores de polvo seco. Existen dos diseños principales de

inhaladores de polvo seco, diseños de medición de dispositivo, en los que un recipiente de fármaco se almacena dentro del dispositivo y el paciente “carga” una dosis del dispositivo en la cámara de inhalación, y los dispositivos de dosis medida en fábrica en los que cada dosis individual se ha fabricado en un recipiente separado. Ambos sistemas dependen de la formulación del fármaco en partículas pequeñas de mediana de diámetros de la masa de 1 a 5 micrómetros y habitualmente implican la co-formulación con partículas excipientes grandes (típicamente partículas de lactosa de 100 micrómetros de diámetro). El polvo seco se proporciona en la cámara de inhalación (por medición de dispositivo o por rotura de una dosificación de dosis medida en fábrica) y el flujo de inspiración del paciente acelera el polvo fuera del dispositivo y hacia la cavidad oral. Las características de flujo no laminar de la ruta del polvo provocan que el agregado de fármaco-excipiente se descomponga y la masa de las partículas de excipiente grandes causen su impacto en la parte posterior de la garganta, mientras que las partículas de fármaco del inhalador se depositan en profundidad en los pulmones. La tecnología actual para inhaladores de polvo seco es tal que los límites de carga útil son de aproximadamente 50 mg de polvo (de los que el fármaco es habitualmente un componente parcial en masa). Los excipientes habitualmente usados son lactosa, sin embargo en el caso de base libre de aztreonam la adición de los aminoácidos lisina o leucina conducirán a una mejor formación de polvo.

Los niveles de dosificación eficaces de antibiótico de aztreonam para inhalación de polvo seco e inhalación de dosis medida dan como resultado el suministro de al menos aproximadamente 25 mg y más preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg de compuesto de antibiótico aztreonam al pulmón del paciente que recibe el tratamiento. Dependiendo de la eficacia del dispositivo de suministro de polvo seco, las formulaciones de polvo seco adecuadas para su uso en la invención comprenden de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 250 mg, preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mg de polvo en un estado amorfo o cristalino en tamaños de partícula de entre 1 y 5 micrómetros en mediana de diámetro aerodinámico de la masa necesaria para el suministro eficaz del antibiótico en el espacio endobronquial. La formulación de polvo seco puede suministrarse de 1 a 4 veces al día, preferiblemente dos veces al día, durante un periodo de al menos un día, más preferiblemente al menos 5 días y más preferiblemente al menos 14 días o más. Las formulaciones de polvo seco son estables para temperatura y tienen un pH fisiológicamente aceptable de 4,0 a 7,5, preferiblemente de 5,5 a 7,0 y largos periodos de caducidad.

### **Ejemplo 5**

#### Preparación de Sal Sódica de Aztreonam

Este ejemplo describe el procedimiento usado para la preparación de sal sódica de aztreonam.

A una solución de 10 g (23 mmol) de aztreonam en 100 ml de MeOH enfriada en un baño de hielo se añadió en gotas 23 ml (23 mmol, 1,0 eq.) De solución de hidróxido sódico 1 N. La solución resultante se calentó hasta temperatura ambiente durante un periodo de 30 min y después se retiró el disolvente a presión reducida. Se añadió dietiléter (50 ml) y se concentró la suspensión. Esta etapa se repitió cuatro veces para proporcionar un rendimiento de 10,1 g (96%) de sal sódica de aztreonam como un polvo blanco.

### **Ejemplo 6**

#### Preparación de Soluciones de Sal Sódica de Aztreonam

Este ejemplo describe el procedimiento usado para la preparación de solución de sal sódica de aztreonam.

Se añadió base libre de aztreonam (10 g, 23 mM) a un matraz de Erlenmeyer de 100 ml tarado. Se añadió metanol (25 ml) al matraz con agitación por agitador magnético. Se añadió gradualmente hidróxido sódico 1 N (23 ml, 1 equivalente) en agitación. Cuando la solución era transparente, se retiró de la placa de agitación y se retiró el exceso de disolvente bajo presión reducida para proporcionar un sólido seco. Se añadió agua desionizada (166 ml) en gotas al sólido seco y se ajustó el pH de la solución resultante al valor deseado de 6,5 por adición en gotas de ácido sulfúrico 1 N controlando a la vez con un pHmetro. El procedimiento anterior se usó para preparar soluciones de sal de aztreonam a 60 mg/ml ajustando el peso de aztreonam y el volumen de hidróxido sódico 1 N.

### **Ejemplo 7**

#### Formulación de Aztreonam

Este ejemplo ilustra la preparación de la formulación que contiene aztreonam de la invención.

1. Se lavó abundantemente con agua caliente para inyección (WFI) a través de un recipiente de producto Millipore de 20 l.
2. Se ensayó la potencia del aztreonam (g/l) y se determinó su eficacia.
3. Se añadió aztreonam a una botella de muestra de ensayo de boca ancha y recipiente de marca del producto en la cantidad pesada de forma precisa.
4. Se dispersaron 11,25 kg de WFI en un recipiente de producto Millipore de 20 l limpio.

5. Con agitación moderada, se añadieron lentamente 33,75 g de cloruro sódico, USP, y se mezclaron hasta su disolución.
6. Se añadió WFI al recipiente de producto hasta 12 kg y se mezcló durante 5 minutos.
7. Con mezcla continua, se añadieron de forma cuidadosa 100 ml de ácido sulfúrico 5 N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) por cada litro de WFI en la formulación final.
8. Se roció el recipiente de producto con nitrógeno (N<sub>2</sub>).
9. Después de aproximadamente 15 minutos de rociado, se midió el oxígeno disuelto (O<sub>2</sub>) por control continuo del oxígeno disuelto en el tanque, usando una sonda.
10. Se continuó la medición del O<sub>2</sub> disuelto hasta cinco (5) mediciones consecutivas  $\leq 3$  ppm de O<sub>2</sub> disuelto.
11. Con rociado continuo de N<sub>2</sub> y mezcla moderada, se añadieron los 562,5 g de aztreonam (50 g/l) y se mezclaron hasta su disolución.
12. Se retiraron 20 ml de muestra de la formulación del producto y se midió el pH. La formulación del producto se ajustó a un valor de pH final de 6,0.
13. Se tomó una muestra de una alícuota de la fórmula del producto y se analizó con respecto a concentración de aztreonam.
14. Se analizó una alícuota de la fórmula del producto con respecto a pH.
15. Se analizó una alícuota de la fórmula del producto con respecto a O<sub>2</sub> disuelto (por triplicado).
16. Cuando el lote obtuvo los criterios de ensayo de control de calidad, el producto se liberó para su uso.
17. El producto se congeló a -20°C y se mantuvo a esta temperatura o por debajo hasta su uso real.

### Ejemplo 8

#### Nebulizadores de Ensayo

Se realiza un estudio clínico para determinar la concentración de aztreonam en la formulación de aerosol requerida para conseguir una concentración en el esputo entre 500 µg/g y 2000 µg/g de esputo a 10 min después de la compleción de la administración en aerosol usando un nebulizador de atomización, ultrasónico o de inyección.

En este estudio, los pacientes con fibrosis quística reciben dosis seriadas de 250 mg de aztreonam (5 ml de una solución de 50 mg/ml en 1/4 NS) de cada uno de los nebulizadores. Las dosis se separan por al menos 2 días y no más de 5 días. Se evalúan las concentraciones en esputo y suero máximas.

### Ejemplo 9

#### Protocolo de Ensayo Clínico

Este ejemplo describe un protocolo usado para ensayo clínico y para comparar la farmacocinética de dosificación creciente de una formulación de aztreonam administrada por el nebulizador electrónico PARI a pacientes con fibrosis quística.

El objetivo principal de este estudio es determinar cuál de los niveles de dosis ensayados suministrados por aerosol pueden suministrar suficiente cantidad de aztreonam o una sal del mismo para conseguir una concentración de aztreonam en esputo máxima media de 2000 µg/g o mayor medida 10 minutos después de la compleción de la nebulización en pacientes con CF.

El objetivo secundario es determinar si la concentración de aztreonam requerida para conseguir una concentración de esputo máxima media de 2000 µg/g o más es segura y se tolera bien por el paciente.

#### Diseño de Estudio

Éste es un estudio abierto, de escalación de dosis multicentro, aleatorio.

Cada rama es una dosis diferente. Dos ramas suministran la misma formulación de aztreonam.

1. 0,5 de solución de aztreonam de 50 mg/ml
2. 1,0 de solución de aztreonam de 50 mg/ml
3. 2,0 de solución de aztreonam de 50 mg/ml
4. 3,0 de solución de aztreonam de 50 mg/ml
5. 4,0 de solución de aztreonam de 50 mg/ml
6. 5,0 de solución de aztreonam de 50 mg/ml

#### Evaluación de Eficacia y Seguridad

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

La eficacia se determina para cada nebulizador midiendo la concentración de aztreonam en el esputo 10 minutos

después de la compleción de la nebulización. La concentración media de 2000 µg/g de esputo se considera adecuada.

Los parámetros de seguridad evaluaron:

- 5 1. La incidencia de reacciones adversas relacionadas con el tratamiento que se producen durante la administración del aztreonam en aerosol a los diferentes niveles de dosis.
2. Broncoespasmos agudos en el momento de la administración del fármaco.
3. Absorción de aztreonam en la circulación sistémica.

10 Cada paciente recibe en orden aleatorio al menos una administración. Cada administración de aerosol se separa por un mínimo de 48 h. Se recogen las muestras de esputo en el momento inicial, 1, 2, 4 y 6 horas después de la compleción de la administración del fármaco en aerosol para medir la concentración de aztreonam. Las muestras de suero se recogen en el momento inicial, 1, 2, 4 y 6 horas después de la compleción de la administración de aerosol para medir los niveles de aztreonam.

15 Se evalúan la irritación de las vías respiratorias y el broncoespasmo agudo midiendo la espirometría inmediatamente antes y 30 min después de la compleción de la administración de aerosol. Una reducción en el volumen espirado forzado en un segundo (FEV1) >15% en el ensayo de espirometría de 30 min se considera prueba de broncoespasmos.

20 El objetivo principal de este estudio es determinar si y en qué dosis el nebulizador electrónico PARI ensayado puede aerosolizar suficiente sulfato de aztreonam para conseguir una concentración máxima media de aztreonam en esputo de 2000 µg/g o mayor en al menos el 85% de los pacientes con CF medida 10 minutos después de la compleción de la nebulización.

25 El segundo objetivo es determinar si la concentración de aztreonam requerida para conseguir una concentración máxima media en esputo de 2000 µg/g o mayor es segura y se tolera bien por el paciente. La seguridad se define como una falta de broncoespasmo agudo y absorción sistémica mínima.

### 30 Tratamiento del Paciente

Todos los pacientes con enfermedad subyacente de fibrosis quística (CF), confirmados en la entrada por los criterios de inclusión/exclusión especificados en este protocolo, son elegibles para admisión en el estudio. Los investigadores en los centros de CF participantes seleccionan pacientes que cumplen todos los criterios de inclusión y uno de los

35 criterios de exclusión.  
Los pacientes elegibles se admiten en el centro de estudio el día del estudio y reciben terapia de aerosol si han cumplido los criterios de entrada.

40 Se administra examen físico por un médico o enfermero RC antes del tratamiento con aerosol inicial solamente.

Se usan signos vitales, altura, peso, oximetría, evaluación de estado respiratorio actual y breve historia médica. Se recogen muestras de esputo y suero para medir las concentraciones de aztreonam en el momento inicial.

45 Los pacientes se sientan erguidos y usan pinzas nasales durante la administración del aerosol.

La duración total del tiempo y el número de inhalaciones requerido para completar el tratamiento de aerosol se registran.

50 Se registra cualquier prueba de distrés respiratorio o sibilancia así como el número de periodos de descanso requeridos por el sujeto debido a disnea o tos excesiva durante el periodo de administración.

Inmediatamente después de completar la terapia de aerosol, el sujeto se aclara con 30 ml de solución salina normal a través de la boca, realiza gargarismos durante 5-10 segundos y expectora el aclarado. Esto se repite para un total

55 de tres aclarados.  
Las muestras de ensayo de esputo se recogen a los 10 minutos después de aclarar la cavidad oral y 2 horas después de la compleción de la administración de fármaco en aerosol.

60 Se recoge el suero 1 y 2 horas después de la compleción de la administración de fármaco en aerosol para la determinación de los niveles de aztreonam.

Se obtiene espirometría 30 minutos después de la compleción de la administración de fármaco en aerosol.

65 Después del último tratamiento de aerosol del estudio, los pacientes reciben un examen físico breve después de haberse medido la post-espirometría.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método de tratamiento de una infección pulmonar causada por bacterias gram negativas en un ser humano que necesite dicho tratamiento, en el que la composición no contiene arginina o una sal de arginina de aztreonam y en el que el tratamiento es por inhalación y la dosis está entre 1 y 250 mg por una dosis de aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el método como se define en la reivindicación 1, en el que la dosis se suministra hasta doce veces al día y en el que la dosis total de aztreonam no es mayor de 750 mg por día.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 para su uso en el método definido en la reivindicación 1 ó 2 respectivamente, en la que la infección pulmonar causada por bacterias gram negativas es *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* o *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos.
4. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la infección pulmonar está causada por *Pseudomonas aeruginosa* o *Pseudomonas aeruginosa* resistente a multifármacos.
5. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 para su uso en el método definido en la reivindicación 1 ó 2 respectivamente, en la que el ser humano es un ser humano que tiene fibrosis quística o bronquiectasia.
6. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 respectivamente, comprendiendo dicha composición aztreonam.
7. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 respectivamente, comprendiendo dicha composición aztreonam en forma de una sal de aminoácido farmacéuticamente aceptable.
8. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 respectivamente, comprendiendo dicha composición aztreonam en forma de una sal farmacéuticamente aceptable seleccionada de acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptaonato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, lisinato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, fosfato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato y undecanoato.
9. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 respectivamente, en la que una dosis de inhalaciones comprende dicho aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo disuelto en de 1 a 5 ml de una solución formulable en aerosol que contiene de 0,1 a 0,9% de cloruro.
10. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 respectivamente, en la que una dosis de inhalación comprende dicho aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo disuelto en de 1 a 5 ml de solución salina que contiene de 0,1 a 0,45% de cloruro sódico.
11. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 respectivamente, teniendo la composición un pH de 4,5 a 7,5.
12. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 respectivamente, teniendo la composición una osmolalidad de entre 50 y 550 mOsm/kg.
13. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para su uso en el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 respectivamente, aerosolizándose dicha composición usando un nebulizador seleccionado de nebulizadores de atomización, de inyección, ultrasónicos, electrónicos y de placa porosa vibrante.
14. Uso de una composición que comprende aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una infección pulmonar causada por bacterias gram negativas en un ser humano que lo necesite, en el que dicha composición se formula para suministro por inhalación

y no contiene arginina o una sal de arginina de aztreonam y en la que el tratamiento es por inhalación y la dosis está entre 1 y 250 mg por una dosis de aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 15. Una composición que comprende en forma de dosificación liofilizada de 1 a 250 mg por una dosis de aztreonam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, formulándose dicha composición para suministro por inhalación y no conteniendo dicha composición arginina o una sal de arginina de aztreonam.
16. La composición de acuerdo con la reivindicación 15 que comprende aztreonam.
- 10 17. La composición de acuerdo con la reivindicación 15 que comprende aztreonam en forma de una sal de aminoácido farmacéuticamente aceptable.
- 15 18. La composición de acuerdo con la reivindicación 15 que comprende aztreonam en forma de una sal farmacéuticamente aceptable seleccionada de acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptaonato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, lisinato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, fosfato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato y undecanoato.
- 20 19. Una formulación que comprende la composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 18, en la que dicho aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se disuelve en de 1 a 5 ml de una solución salina que contiene de 0,1 a 0,9% de cloruro y no conteniendo la formulación arginina o una sal de arginina de aztreonam.
- 25 20. La formulación de acuerdo con la reivindicación 19, en la que el aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se disuelve en de 1 a 5 ml de solución salina que contiene de 0,1 a 0,45% de cloruro sódico.
- 30 21. La formulación de acuerdo con la reivindicación 19 ó 20, que tiene un pH de 4,5 a 7,5.
- 35 22. La formulación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21 que tiene una osmolalidad de entre 50 y 550 mOsm/kg.
- 40 23. Un producto que comprende una formulación adecuada para aerosolización para terapia de inhalación, en el que la formulación se proporciona como dos componentes separados  
(i) aztreonam seco o sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y  
(ii) un diluyente que comprende solución salina de 0,1 a 0,9 N  
adecuados para reconstitución como la formulación; y en el que la formulación comprende entre 1 y 250 mg por una dosis de aztreonam o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y no contiene arginina o una sal de arginina de aztreonam.
- 45 24. El producto de acuerdo con la reivindicación 23, en el que el aztreonam seco o la sal farmacéuticamente aceptable es una forma de dosificación liofilizada.
- 50 25. El producto de acuerdo con la reivindicación 23 ó 24, en el que la formulación comprende aztreonam.
- 55 26. El producto de acuerdo con la reivindicación 23 ó 24, en el que la formulación comprende aztreonam en forma de una sal de aminoácido farmacéuticamente aceptable.
- 60 27. El producto de acuerdo con la reivindicación 23 ó 24, en el que la formulación comprende aztreonam en forma de sal farmacéuticamente aceptable seleccionada de acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptaonato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, lisinato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, fosfato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato y undecanoato.
- 65 28. El producto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 27, en el que la formulación tiene un pH de 4,5 a 7,5.
29. El producto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28, en el que la formulación tiene una osmolalidad de entre 50 y 550 mOsm/kg.
30. El producto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 29, en el que la formulación es adecuada para aerosolización usando un nebulizador seleccionado de nebulizadores de atomización, inyección, ultrasónicos y de placa porosa vibrante.