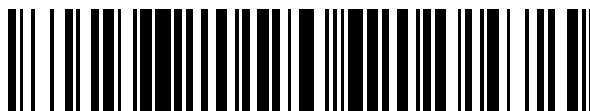


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 527 622**

51 Int. Cl.:

**A01N 59/16** (2006.01)

**A61K 9/08** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

**A61K 31/28** (2006.01)

**A61P 31/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2010 E 10797479 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.12.2014 EP 2427061**

54 Título: **Formulación de galio para el tratamiento y la prevención de enfermedades infecciosas**

30 Prioridad:

**04.05.2009 US 175457 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**27.01.2015**

73 Titular/es:

**ARIDIS PHARMACEUTICALS (100.0%)  
5941 Optical Court  
San Jose, CA 95138, US**

72 Inventor/es:

**OHTAKE, SATOSHI;  
TRUONG-LE, VU;  
LECHUGA-BALLESTEROS, DAVID;  
YEE, LUISA;  
PHAM, BINH V.;  
MARTIN, RUSSELL y  
SAXENA, ATUL**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**ES 2 527 622 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

Formulación de galio para el tratamiento y la prevención de enfermedades infecciosas

5 **Prioridad**

La presente solicitud reivindica prioridad de la solicitud provisional US 61/175,457, presentada el 4 de mayo de 2009.

10 **Declaración relativa a la investigación o al desarrollo patrocinado a nivel federal**

Ciertos aspectos de la invención descrita en el presente documento se realizaron con el apoyo del gobierno de Estados Unidos en virtud de NIH R41AI072866-01. El gobierno de Estados Unidos puede tener ciertos derechos sobre la invención.

15 **Campo de la invención**

La invención engloba un método de formulación del galio para su uso como un agente antiinfeccioso para el tratamiento de bacterias gram-negativas y gram-positivas, virus, hongos y protozoos. En particular, los métodos describen formulaciones líquidas y en polvo seco que contienen galio en una sal farmacéuticamente aceptable o un complejo de la misma, administradas en forma de un líquido o un aerosol de polvo seco.

20 **Antecedentes de la invención**

Hoy en día, se usan aproximadamente 100 antibióticos, hay 15 en fase 2 o 3 de estudio clínico, de los cuales 13 combaten bacterias gram-positivas resistentes a múltiples fármacos y 2 combaten bacterias gram-negativas productoras de  $\beta$ -lactamasa de amplio espectro. El uso intenso de antibióticos y la difusión común de las bacterias han aumentado en gran medida la resistencia a los antibióticos, y la gravedad de dicho problema está aumentando de manera continua. La bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) es un buen ejemplo: el 30 % de los aislados clínicos de pacientes de unidades de cuidados intensivos (UCI) o de hogares de ancianos ya son resistentes a 3 o más fármacos, y existe una situación similar para otros organismos. Otra de las razones por las que los antibióticos convencionales generalmente funcionan mal en infecciones crónicas es que los organismos infecciosos viven en biopelículas, que son comunidades bacterianas asociadas a la superficie que se encuentran dentro de una matriz biopolimérica compleja. Los cambios fisiológicos inherentes al crecimiento de biopelículas convierten a las bacterias en mucho más resistentes a la destrucción por el sistema inmune y los antibióticos que las células que se encuentran en estado de vida libre (planctónicas). Los ejemplos de infecciones por biopelículas incluyen las infecciones de las vías respiratorias en pacientes con fibrosis quística (FQ), las infecciones crónicas de las heridas y de los senos nasales, endocarditis e infecciones de dispositivos médicos, entre otras.

La importancia de la infección por *Pa* y su impacto en el pulmón de los pacientes con FQ está bien documentada (Fick (1989) "Chest" 96: 158-164; Hoiby (1993) *Annu. Rev. Med.* 44:1-10). Las terapias existentes, tales como los antibióticos aminoglucósidos, en última instancia, tienen poco o ningún impacto en la progresión de la enfermedad y, en definitiva, un 80-95 % de los pacientes con FQ sucumbe a una insuficiencia respiratoria debido a la infección crónica por *Pa* y la inflamación de las vías respiratorias. A pesar de los recientes avances en el tratamiento de la enfermedad, los pulmones de los pacientes con FQ son particularmente susceptibles a las infecciones bacterianas crónicas. Por otra parte, las terapias actuales para controlar las infecciones por *Pa* en los pacientes con FQ no son convenientes y tienen un impacto modesto sobre la mortalidad. Existe el consenso de que debido a que *Pa* reside en el pulmón en la interfase entre el tejido y el aire, la vía de administración de fármacos antibióticos más eficaz es localmente por inhalación directa. El actual patrón de tratamiento para la infección por *Pa* en los pacientes con FQ es el tratamiento dos veces al día con solución de tobramicina administrada por inhalación oral en ciclos de 28 días alternos de tratamiento y descanso. La administración del fármaco implica el cebado del nebulizador, seguido por aproximadamente media hora de inhalación en cada dosificación. Dado que los pacientes con FQ están sometidos cada vez más a múltiples pautas de tratamiento en un día normal, la calidad de vida se ha convertido en un factor importante en el desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos pues; por ejemplo, emplean casi tres horas al día en el tratamiento de inhalación (es decir, tratamiento de solución salina, antibióticos y DNasa) (Geller, D. E., *et al* (2007) *Pediatric Pulmonology* 42: 307-313).

La solución de tobramicina inhalada representa un avance significativo en el tratamiento de la infección pulmonar en pacientes con FQ. Se han hecho posibles otras mejoras gracias a los recientes avances en el diseño de polvos, lo que permite una reducción adicional del nivel de dosis, así como del tiempo de dosificación. Por ejemplo, la inhalación de polvo seco de tobramicina produjo perfiles farmacocinéticos de tobramicina en suero comparables a los obtenidos a través de la nebulización, con una reducción significativa de la dosis y un tiempo de administración más breve. Cuatro cápsulas de 28 mg (dosis total de tobramicina de 112 mg) produjeron una exposición sistémica comparable a 300 mg de solución nebulizada inhalada, en menos de un tercio del tiempo de administración (Geller, D. E., *et al* (2007) *Pediatric Pulmonology* 42: 307-313). Además, el polvo seco de tobramicina aumentó la exposición pulmonar local, aumentando la eficacia, y redujo la exposición sistémica, reduciendo así los efectos secundarios sistémicos. Los datos demostraron que los últimos avances tecnológicos en el diseño de partículas y en los

dispositivos de inhalación han permitido una administración rápida, segura y eficaz de alta capacidad de carga del polvo, incluso en el pulmón de los pacientes con FQ ya susceptibles. Sin embargo, a pesar de los avances en la administración que lograron concentraciones de tobramicina locales más altas y retrasaron el inicio del desarrollo de la resistencia bacteriana, la aparición de cepas *Pa* resistentes continúa (Plasencia, V., *et al* (2007) "Antimicrobial Agents Chemotherapy" 51:2574-2581). Por lo tanto, no solo existe la necesidad de nuevas clases de agentes antiinfecciosos seguros y eficaces, sino de aquellos que se puedan administrar localmente en el pulmón con experiencia en la administración sencilla y conveniente.

La eficacia del galio contra *Pa* ha aumentado el interés en el desarrollo de dicho fármaco candidato contra las infecciones pulmonares de la FQ. Durante muchos años, el galio se ha usado para el tratamiento de varios trastornos humanos y animales, incluyendo la hipocalcemia y la osteoporosis (Warell *et al.*, patente de EE.UU. N° 4.529.593; Bockman *et al.*, patente de EE.UU. N° 4.704.277; Bradley *et al.*, patente de EE.UU. N° 5.196.412; Bradley *et al.*, patente de EE.UU. N° 5.281.578), el cáncer (Adamson *et al.* (1975) *Cancer Chemothe. Rept* 59:599-610; Foster *et al.* (1986) *Cancer Treat Rep* 70:1311-1319; Chitambar *et al.* (1997) *Am. J. Clin. Oncol.* 20:173-178), la cicatrización de heridas y la reparación tisular (Bockman *et al.*, patente de EE.UU. N° 5.556.645; Bockman *et al.*, patente de EE.UU. N° 6.287.606), así como infecciones tanto intracelulares como extracelulares (Schlesinger *et al.*, patente de EE.UU. N° 5.997.912; Schlesinger *et al.*, patente de EE.UU. N° 6.203.822; Bernstein *et al.*, publicación de solicitud de patente internacional N° WO 03/053347; Perl, US 2008/0241275). Dichos documentos de patente, y cualquier homólogo de EE.UU., se incorporan expresamente en el presente documento por referencia. El galio ha demostrado ser tanto inhibidor del crecimiento bacteriano, como bactericida, pues tanto la concentración mínima inhibidora (CMI<sub>90</sub>) como la concentración mínima bactericida (CMB) del galio contra *Pa* son aproximadamente 0,7 µg/ml (Kaneko *et al.* (2007) *J. Clin. Invest.* 117:877-888). El nitrato de galio ha demostrado tener una potente actividad bactericida contra muchas bacterias gram-negativas y gram-positivas. La eficacia del nitrato de galio contra una variedad de bacterias que han resultado colonizar crónicamente los pulmones de los pacientes con FQ, tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), hace que sea un prometedor fármaco candidato para el tratamiento de la FQ.

Frecuentemente, la administración local es el método más eficaz para maximizar la biodisponibilidad en el sitio diana, reduciendo al mínimo la exposición sistémica. Para la administración local en el pulmón destinada a tratar las infecciones pulmonares, hay pruebas que demuestran que la administración localizada del nitrato de galio en el tracto respiratorio es protectora en modelos murinos de desafío con *Pa* (Kaneko *et al.* (2007) *J. Clin. Invest.* 117: 877-888). En dichos estudios, la inoculación intratraqueal (i.t.) de una dosis letal de *Pa* seguida de la instilación nasal de un bolo de líquido que contiene nitrato de galio dio lugar a una buena protección, incluso en condiciones de colonización de biopelículas de *Pa in vivo*. Aunque la instilación nasal de una dosis de bolo se usa con frecuencia en muchos estudios realizados en pulmón murino, se sabe que la administración de aerosoles líquidos por vía nasal produjo una baja penetración pulmonar (inferior al 10 % de la dosis administrada), muy probablemente debido al impacto inercial de las gotas de aerosol sobre las tortuosas estructuras anatómicas de la cavidad nasal (Bryant *et al.* (1999) *Nucl. Med. Commun.* 20:171-174). Así pues, la dosis mínima protectora de galio observada para la vía de administración nasal es probablemente significativamente superior a la aplicación i.t. directa o al uso de la inhalación pulmonar.

La presente invención es una formulación líquida a alta concentración de compuestos que contienen galio que se podría administrar de manera eficaz desde los nebulizadores convencionales con breves (< 10 minutos) tiempos de dosificación. La formulación óptima para dicha composición líquida de galio puede requerir una cantidad mínima de contraión, tal como citrato, para tamponarse frente al fluido pulmonar con el fin de evitar la precipitación del galio. Además, es posible modular el tamaño de las gotas de aerosol mediante la incorporación de componentes que aumenten la viscosidad, tales como manitol, que además se puedan usar para ajustar la osmolalidad de la composición de galio. El aumento de la viscosidad de la composición de galio también puede afectar al tiempo requerido para administrar la dosis necesaria. Se pueden observar efectos similares en el tamaño de la gota y el tiempo de administración mediante el aumento de la fuerza iónica de la composición de galio. Una formulación en polvo satisfactoria para la inhalación requiere un equilibrio óptimo entre varios atributos fisicoquímicos, incluyendo el tamaño de partícula geométrico y aerodinámico, la estabilidad física y química, así como la dispersabilidad del aerosol. Una segunda contribución clave de la invención es una formulación de galio en polvo seco inhalable estable a temperatura ambiente con las propiedades de los aerosoles adecuadas para la administración profunda en el pulmón usando los inhaladores de polvo seco disponibles en el mercado (tales como Tubohaler™, Cyclohaler™, Turbospinhaler™). Las formulaciones dieron lugar a formas de dosificación de nitrato de galio, que son compatibles con los inhaladores de polvo seco, sencillos, rentables y portátiles, que se pueden autoadministrar convenientemente y fácilmente. Se usó el secado por pulverización para preparar polvo seco de nitrato de galio para la inhalación. Para la fabricación del polvo seco inhalable, el secado por pulverización es el método seleccionado, ya que es el proceso más eficaz y directo de fabricación de polvos con propiedades de aerosol adecuadas para la administración profunda en el pulmón. Se ha demostrado su uso con polvo seco de tobramicina (Duddu, S. P., *et al.*, (2002) *Pharmaceutical Research* 19: 689-695), y con el producto de insulina inhalado Exubera™, la primera proteína destinada a administrarse por vía pulmonar (White, S., *et al* (2005) *Diabetes Technology & Therapeutics* 7, 896-906). El secado por pulverización es un proceso ideal para crear partículas homogéneas que contengan cantidades exactas de fármaco y excipientes, que se pueden diseñar para actuar de una manera predecible con un dispositivo manual. La viabilidad de la preparación de polvos secados para la pulverización que contengan antibióticos se ha

demostrado previamente (Lechuga-Ballesteros, *et al.* (2008) *J. Pharm. Sci.* 97: 287-302).

### Resumen de la invención

5 Los métodos de la presente invención incluyen la preparación de una solución o una suspensión de galio para su uso como un agente antiinfeccioso. En una realización preferida de la presente invención, se describe un método de preparación de una composición de aerosol, líquida o de polvo seco, que comprende una dosis terapéuticamente eficaz de galio en forma de una sal o un complejo farmacéuticamente aceptable, en el que dicha composición es adecuada para la administración en el pulmón o la administración profunda en el pulmón por inhalación, y que comprende del aproximadamente 1 % en peso al aproximadamente 90 % en peso de galio. En un aspecto preferido de dicha realización, la sal es un contraión seleccionado del grupo que consiste en nitrato, citrato, cloruro o una mezcla de los mismos. El agente complejante se selecciona del grupo que consiste en manitol, maltolato o un derivado, protoporfirina IX o un derivado, lactoferrina, transferrina, ferritina, sideróforos bacterianos pertenecientes a los grupos del catecolato, hidroxamato e hidroxicarboxilato, hemóforos bacterianos, y cualquier quelante de hierro.

15 La composición de galio también puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo que consiste en polioles y péptidos. El poliol se selecciona preferentemente del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa, glucosa, rafinosa, sorbosa, melezitosa, glicerol, fructosa, manosa, maltosa, lactosa, arabinosa, xilosa, ribosa, ramnosa, galactosa, glucosa, manitol, xilitol, eritritol, treitol, dextrosa, fucosa, ácido poliaspártico, hexafosfato de inositol (ácido fítico), ácido siálico o ácido *N*-acetilneuramínico. Los péptidos se seleccionan preferentemente del grupo que consiste en un tripéptido que comprende dos leucinas y un aminoácido seleccionado de la lista que consiste en leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina y prolina. Los péptidos también se pueden seleccionar de un grupo que consiste en dipéptidos y tripéptidos, tales como dileucina, trileucina o sus derivados.

25 En ciertas realizaciones, la composición de galio también puede incluir otros excipientes tales como proteínas, tensioactivos y polímeros. Las proteínas preferidas son albúmina de suero humano y albúmina de suero humano recombinante. Los tensioactivos se seleccionan de un grupo que consiste en polietileno, polipropilenglicol, monolaurato de polietilenglicol-sorbitán o monooleato de polioxietilen-sorbitán. Los ejemplos de polímeros, seleccionados tanto entre biopolímeros como entre polímeros sintéticos, incluyen ácido algínico, alginatos, heparina, sulfatos de heparina, ácido hialurónico, hialuronatos, quitosano, quitina, almidón, derivados de almidón, almidón de carboximetilo, almidón de hidroxietilo (HES), dextrano, polivinilpirrolidona (PVP), gelatina, colágeno, condroitín sulfato o alcohol polivinílico.

35 La presente invención incluye métodos de preparación de una composición líquida de galio que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de galio. Dicha composición líquida de galio se caracteriza por tener una relación molar del contraión con respecto al galio de 1,25:1 a 4:1, para aumentar la solubilidad del galio e impedir su precipitación tras la administración. También se puede ajustar el contenido del contraión, así como del resto de excipientes anteriormente mencionados, para modificar el diámetro aerodinámico mediano de la masa (MMAD) y el tiempo de nebulización mejorando la viscosidad y el tiempo requerido para la evaporación de las gotas.

40 Además, la presente invención incluye métodos de preparación de un polvo seco que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de galio. El polvo seco se puede producir bien mediante secado por pulverización o mediante liofilización. Dicho polvo seco se caracteriza por tener al menos un 95 % de la masa del polvo con un tamaño de partícula inferior a 10  $\mu\text{m}$ . Además, el polvo tiene una distribución del tamaño de partícula de aerosol de aproximadamente 1,0 a 5,0  $\mu\text{m}$  de MMAD, y una densidad aparente de 0,1 a 10  $\text{g}/\text{cm}^3$ . La composición de polvo seco puede ser cristalina, parcialmente cristalina, cristalina en estado líquido, no cristalina o amorfa con una temperatura de transición vítrea superior a 20 °C. Por lo general, la distribución del tamaño más deseada para un aerosol preparado a partir de una formulación líquida es la misma que la distribución del tamaño más deseada de las partículas de polvo seco. En otros aspectos, se contempla que la distribución del tamaño más deseada para un aerosol no es la misma, o no necesita ser la misma, que para las partículas de polvo seco.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un método de tratamiento de infecciones pulmonares, usando una dosis terapéuticamente eficaz de galio, causadas por bacterias, virus, hongos o protozoos. Los ejemplos de bacterias gram-negativas incluyen, pero sin limitación, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de enterobacterias, *Serratia marcescens*, así como las causadas por *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylooxidans*, y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos y *Mycobacterium tuberculosis*. Las infecciones pulmonares también pueden estar causadas por bacterias gram-positivas, incluyendo, pero sin limitación, *staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, *staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), *Actinobacteria*, *Lactobacillae*, *Actinomyces* y *Clostridium*. Las infecciones pulmonares también pueden ser causadas por virus, incluyendo, pero sin limitación, virus de la gripe, virus parainfluenza, virus sincitial respiratorio, metapneumovirus humano, miembros de la familia de los corona virus, virus de la inmunodeficiencia humana, virus de herpes simplex, citomegalovirus, virus SARS (síndrome respiratorio agudo severo), virus de Epstein-Barr, y similares. Las infecciones pulmonares también pueden estar causadas por hongos, incluyendo, pero sin limitación, *Histoplasma capsulatum* que provoca la histoplasmosis, *Coccidioides immitis* que

provoca la coccidioidomicosis, *Blastomyces dermatitidis* que provoca la blastomicosis, *Paracoccidioides brasiliensis* que provoca la paracoccidioidomicosis, *Candida* sp. que provoca la candidiasis, *Aspergillus* sp. que provoca la aspergilosis, *Mucor* sp. que provoca la mucormicosis, *Cryptococcus neoformans* que provoca la criptococcosis. Las infecciones pulmonares también pueden estar causadas por protozoos incluyendo, pero sin limitación, *Entamoeba*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia*, *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Trichomonas*, *Lophomonas*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Toxoplasma*, *Plasmodium*, *Babesia*, *Encephalitozoon*, *Enterocytozoon* y *Balantidium*.

Lo que se proporciona es galio (III) en forma de una sal farmacéuticamente aceptable que comprende del aproximadamente 1 % en peso al aproximadamente 90 % en peso de galio (III), siendo la sal farmacéuticamente aceptable nitrato, citrato, cloruro o una mezcla de los mismos. Además, lo que se proporciona es una composición líquida de galio (III) de la sal anteriormente descrita, en la que la relación molar del citrato con respecto al galio es de 2:1, así como una composición líquida de galio (III) de la sal anteriormente descrita, en la que la relación molar del citrato con respecto al galio es de 3:1.

Por otra parte, lo que se proporciona es un método que usa la sal descrita anteriormente, en el que el galio (III) en forma de una sal farmacéuticamente aceptable comprende la etapa de administrar una dosis terapéuticamente aceptable en el pulmón de un paciente por aerosol, así como un método en el que la vida media del galio se aumenta a través de su administración por vía pulmonar y, en otro aspecto, donde la distribución del tamaño de aerosol se puede modular ajustando la osmolaridad de la solución y, en otro aspecto, el método en el que se administra una dosis terapéuticamente eficaz de galio a un paciente por vía oral, transdérmica, parenteral, vaginal o rectal.

En otro aspecto del método, lo que se proporciona es un método de tratamiento usando la composición de la sal anteriormente descrita para las infecciones pulmonares causadas por: bacterias gram-negativas incluyendo, pero sin limitación, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de enterobacterias, *Serratia marcescens*, así como las causadas por *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos y *Mycobacterium tuberculosis* y/o las bacterias gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*, *Spahylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), *Actinobacteria*, *Lactobacillae*, *Actinomycies* y *Clostridium*. Además, lo que se proporciona es el método anterior, en el que el método es adecuado para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias gram-negativas en pacientes con fibrosis quística, bronquiectasia, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC), o en los pacientes con ventilación artificial, así como el método anterior, en el que el método es adecuado para el tratamiento de infecciones pulmonares causadas por virus, hongos o protozoos. En otro aspecto, lo que se contempla es el método anterior, en el que la composición líquida de galio (III) se administra en combinación con antibióticos tales como aztreonam, vancomicina, tobramicina, amikacina, anfotericina B, colistina, meropenem, ciprofloxacino y piperacilina.

En otro aspecto más, lo que se proporciona es una composición líquida descrita anteriormente, en la que la composición de galio (III) comprende además un agente complejante seleccionado entre manitol, maltolato, protoporfirina IX o su derivado, sideróforos bacterianos pertenecientes a los grupos del catecolato, hidroxamato e hidroxicarboxilato, hemóforos bacterianos, cualquier quelante de hierro, o una mezcla de los mismos. Además, lo que se proporciona es la composición líquida de galio (III) anterior en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, en la que la relación molar del citrato con respecto al galio es de 2:1, y además, la composición líquida de galio (III) anterior, en la que la relación molar del citrato con respecto al galio es de 3:1.

Como alternativa, lo que se proporciona es el método anterior, en el que el galio (III) en forma de una sal farmacéuticamente aceptable comprende la etapa de administrar una dosis terapéuticamente aceptable en el pulmón de un paciente por aerosol. Además, lo que se contempla es la composición líquida y el método anteriores, en los que se mejora la vida media del galio a través de su administración por vía pulmonar, así como la composición líquida de galio y el método anteriores, en los que se puede modular la distribución del tamaño de aerosol mediante el ajuste de la osmolalidad de la solución, y además, la composición líquida y el método anteriores, en los que se administra una dosis terapéuticamente eficaz de galio a un paciente por vía oral, transdérmica, parenteral, vaginal o rectal.

En otro aspecto, la invención proporciona un método de tratamiento usando la composición (descrita anteriormente) para las infecciones pulmonares causadas por: a) bacterias gram-negativas que incluyen, pero sin limitación, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de enterobacterias, *Serratia marcescens*, así como las causadas por *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos y *Mycobacterium tuberculosis* y/o, b) las bacterias gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*, *Spahylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), *Actinobacteria*, *Lactobacillae*, *Actinomycies* y *Clostridium*.

La invención también proporciona el método anterior adecuado para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias gram-negativas en pacientes con fibrosis quística, bronquiectasia, enfermedades pulmonares obstructivas

crónicas (EPOC), o en los pacientes con ventilación artificial, así como un método adecuado para el tratamiento de infecciones pulmonares causadas por virus, hongos o protozoos. Además, lo que se proporciona es el método anterior, en el que la composición líquida de galio (III) se administra en combinación con antibióticos tales como aztreonam, vancomicina, tobramicina, amikacina, anfotericina B, colistina, meropenem, ciprofloxacino y piperacilina.

5 En cuanto a las realizaciones del polvo seco, lo que se proporciona es una composición de polvo seco de galio (III) en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, en la que la relación molar del citrato con respecto al galio es de 1:1 o superior, así como una composición de polvo seco, en la que al menos aproximadamente el 95 % de la masa del polvo tiene un tamaño de partícula inferior a 100 µm, y la composición de polvo seco anterior, en la que al menos aproximadamente el 95 % de la masa del polvo tiene un tamaño de partícula inferior a 10 µm, y también la composición de polvo seco anterior, en la que dichas partículas de polvo seco tienen una distribución del tamaño de partícula de aerosol de aproximadamente 1,0 a 10,0 µm de MMAD, y también la composición de polvo seco anterior, en la que dichas partículas de polvo seco tienen una distribución del tamaño de partícula de aerosol de aproximadamente 1,0 a 5,0 µm de MMAD, y en otro aspecto más de la presente invención, lo que se proporciona es la composición de polvo seco anterior, en la que dicho polvo seco se caracteriza por una dosis administrada superior al aproximadamente 10 % usando los inhaladores de polvo seco disponibles en el mercado, e inhaladores de dosis medidas a presión o en la que dicho polvo seco se caracteriza por una dosis administrada superior al aproximadamente 30 % usando los inhaladores de polvo seco disponibles en el mercado, o en la que la cristalinidad de dicho polvo seco se puede modificar con la adición de excipientes adecuados, o en la que la liberación de galio del polvo seco se puede modificar según el grado de cristalinidad, o en la que el citrato es el excipiente, o en la que la vida media del galio se mejora a través de la administración de la composición de galio por vía pulmonar, o en la que el polvo seco se produce mediante secado por pulverización, o en la que el polvo seco se produce mediante liofilización seguida de molienda.

25 En otra realización de los métodos de la presente invención, lo que se proporciona es el método de tratamiento anterior en el que se usa una composición descrita anteriormente para infecciones pulmonares causadas por: a) bacterias gram-negativas que incluyen, pero sin limitación, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de enterobacterias, *Serratia marcescens*, así como las causadas por *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos y *Mycobacterium tuberculosis* y/o, b) las bacterias gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), *Actinobacteria*, *Lactobacillae*, *Actinomycies* y *Clostridium*. Además, lo que se proporciona es el método anterior adecuado para el tratamiento de infecciones causadas por las bacterias gram-negativas en pacientes con fibrosis quística, bronquiectasia, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC), o en los pacientes con ventilación artificial, y el método anterior adecuado para el tratamiento de infecciones pulmonares causadas por virus, hongos o protozoos, y el método anterior de tratamiento que administra dicha composición de aerosol de polvo seco de galio (III) (una composición descrita anteriormente) en el pulmón de un paciente en necesidad de ello mediante un nebulizador, o un inhalador de dosis medidas o de polvo seco.

40 En otro aspecto más, lo que se proporciona es el método anterior, en el que una dosis de aerosol de polvo seco de galio (III) y la frecuencia de administración para un tratamiento eficaz de la infección pulmonar se determina por un nivel de galio (III) en el esputo de un paciente, y lo que también se proporciona es el método anterior, en el que la formulación de polvo seco se administra no más de tres veces al día, siempre que si el polvo seco se administra más de dos veces al día, se administre una dosis total de galio (III) no superior a 500 mg/día, y lo que se proporciona además mediante la presente invención es el método anterior, en el que la composición de polvo seco de galio (III) (según lo descrito anteriormente) se administra en combinación con antibióticos tales como aztreonam, vancomicina, tobramicina, amikacina, anfotericina B, colistina, meropenem, ciprofloxacino y piperacilina. Además, otra realización más de la composición de polvo seco y el método anteriores permite la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de galio a un paciente por vía oral, transdérmica, parenteral, vaginal o rectal.

50 Además, la composición anterior comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo que consiste en: a) polioles tales como sacarosa, trehalosa, glucosa, rafinosa, sorbosa, melezitosa, glicerol, fructosa, manosa, maltosa, lactosa, arabinosa, xilosa, ribosa, ramnosa, galactosa, glicosa, manitol, xilitol, eritritol, treitol, dextrosa, fucosa, ácido poliaspártico, hexafosfato de inositol (ácido fítico), ácido siálico, lactosa de ácido *N*-acetilneuramínico y sorbitol; b) aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina, prolina, sus derivados y una mezcla de los mismos; c) aminoácidos que comprenden un tripéptido compuesto por dos leucinas y un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina y prolina; d) dipéptidos y tripéptidos tales como di-leucina, tri-leucina y sus derivados; proteínas tales como transferrina, lactoferrina, albúmina de suero humano y albúmina de suero humano recombinante; e) sales de ácidos orgánicos tales como ácido cítrico o citrato, ácido tartárico o tartrato, ácido láctico o lactato; f) copolímeros tensioactivos de bloque de polietileno y polipropilenglicol, monolaurato de polietilenglicolsorbitán y monooleato de polioxietilensorbitán; g) polisacáridos tales como ácido alginico, alginatos, heparina, sulfatos de heparina, ácido hialurónico, hialuronatos, quitosán, quitina, almidón, derivados de almidón, carboximetil almidón, hidroxietil almidón (HES) y dextrano; h) polímeros tales como polivinilpirrolidona (PVP), gelatina, colágeno, condroitin sulfato y alcohol polivinílico (PVA).

En otro aspecto más, lo que se proporciona es la composición de polvo seco anterior, que comprende además un agente farmacéuticamente aceptable para mejorar las propiedades del aerosol que incluye aminoácidos seleccionados entre leucina, L-leucina, D-leucina, DL-leucina, isoleucina, trileucina, valina, alanina, sus derivados y mezclas de los mismos, que comprende no más de 90 % en peso del polvo seco, y la composición de polvo seco anterior, en la que el aminoácido comprende al menos aproximadamente el 5 % de la masa del polvo seco, y la composición de polvo seco anterior, en la que el aminoácido comprende al menos aproximadamente el 10 % de la masa del polvo seco, y la composición de polvo seco anterior, en la que al menos aproximadamente el 95 % de la masa del polvo tiene un tamaño de partícula inferior a 100  $\mu\text{m}$ , y también la composición de polvo seco anterior, en la que al menos aproximadamente el 95 % de la masa del polvo tiene un tamaño de partícula inferior a 10  $\mu\text{m}$  y, además, la composición de polvo seco anterior, en la que dichas partículas de polvo seco tienen una distribución del tamaño de partícula de aerosol de aproximadamente 1,0 a 10,0  $\mu\text{m}$  de MMAD, y en otro aspecto, la composición de polvo seco anterior, en la que dichas partículas de polvo seco tienen una distribución del tamaño de partícula de aerosol de aproximadamente 1,0 a 5,0  $\mu\text{m}$  de MMAD.

Además, lo que se proporciona es la composición de polvo seco anterior, en la que dicho polvo seco se caracteriza por una dosis administrada superior al aproximadamente 10 % usando inhaladores de polvo seco disponibles en el mercado, y la composición de polvo seco anterior, en la que dicho polvo seco se caracteriza por una dosis administrada superior al aproximadamente 30 % usando inhaladores de polvo seco disponibles en el mercado, y la composición de polvo seco anterior, en la que la cristalinidad de dicho polvo seco se puede modificar con la adición de los excipientes adecuados, y la composición de polvo seco anterior, en la que la liberación de galio del polvo seco se puede modificar según el grado de cristalinidad, y la composición de polvo seco anterior, en la que el citrato es el excipiente preferido, y la composición de polvo seco anterior, en la que se mejora la vida media del galio a través de la administración de la composición de galio por vía pulmonar, y también la composición de polvo seco anterior, en la que el polvo seco se produce mediante secado por pulverización y, además, la composición de polvo seco anterior, en la que el polvo seco se produce por liofilización seguida de molienda.

En cuanto a los métodos, la presente invención, en algunos aspectos, proporciona un método de tratamiento en el que se usa la composición anterior para las infecciones pulmonares causadas por: a) bacterias gram-negativas que incluyen, pero sin limitación, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de enterobacterias, *Serratia marcescens*, así como las causadas por *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos y *Mycobacterium tuberculosis* y/o, b) las bacterias gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*, *Spahylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (SARM), *Actinobacteria*, *Lactobacillae*, *Actinomycies* y *Clostridium*. Además, lo que se proporciona es el método anterior, adecuado para el tratamiento de infecciones causadas por las bacterias gram-negativas en pacientes con fibrosis quística, bronquiectasia, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC), o en pacientes en ventilación artificial, y lo que se contempla es el método anterior adecuado para el tratamiento de infecciones pulmonares causadas por los virus, hongos o protozoos, y lo que se contempla es el método de tratamiento anterior que implica la administración de dicha composición de aerosol en polvo seco de galio (III) en el pulmón de un paciente en necesidad de la misma mediante un nebulizador, o un inhalador de dosis medidas o de polvo seco, y lo que se proporciona es el método anterior, en el que una dosis de aerosol de polvo seco de galio (III) y la frecuencia de administración para el tratamiento eficaz de la infección pulmonar se determina por un nivel de galio (III) en el esputo de un paciente, y en otro aspecto más, la presente invención proporciona el método anterior, en el que la formulación de polvo seco se administra no más de tres veces al día, siempre que si el polvo seco se administra más de dos veces al día, se administre una dosis total de galio (III) no superior a 500 mg/día. En otro aspecto más, lo que se describe es el uso en la fabricación de un medicamento para el método de tratamiento anterior, y el uso en la fabricación para el método de administración anterior.

En cuanto a los métodos, la invención proporciona el método anterior, en el que la composición de polvo seco de galio (III) (de acuerdo con una o más de las realizaciones anteriores) se administra en combinación con antibióticos tales como aztreonam, vancomicina, tobramicina, amikacina, anfotericina B, colistina, meropenem, ciprofloxacino y piperacilina.

En cuanto a las composiciones de polvo seco anteriormente descritas y los métodos relacionados, lo que se proporciona es una dosis terapéuticamente eficaz de galio administrada a un paciente por vía pulmonar, oral, transdérmica, parenteral, vaginal o rectal.

La presente invención, en una realización preferida, proporciona una formulación farmacéutica que comprende una solución de galio (III) y un anión o un agente complejante que forma complejos de galio, o que comprende un polvo seco derivado de dicha solución, en la que la solución comprende una concentración antimicrobiana eficaz de galio (III). En otra realización preferida, lo que se proporciona es la formulación farmacéutica anterior, en la que la formulación incluye citrato, y la relación molar del citrato con respecto al galio es superior a 1:1. En otra realización preferida más, lo que se proporciona es la formulación anterior, donde la formulación es un aerosol, y donde la relación molar del citrato con respecto al galio es de 1:1.

La presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende, o es polvo seco que se obtiene de, una solución de galio (III) y un anión o un agente complejante que forma complejos de galio, en la que la solución comprende una concentración antimicrobiana eficaz de galio (III), y en la que la relación molar del anión con respecto al galio, donde el anión es citrato (en la realización donde el anión es citrato), es superior a 1:1.

5 Además, la formulación farmacéutica comprende, o es un polvo seco que se obtiene de, una solución de galio (III) y un anión o un agente complejante que forma complejos de galio, en la que la solución comprende una concentración antimicrobiana eficaz de galio (III), y donde la formulación incluye citrato.

10 En una realización de aerosol de la formulación farmacéutica anterior, lo que se proporciona es un aerosol donde la relación molar del citrato con respecto al galio es de 1:1, o donde la relación molar del citrato con respecto al galio es de aproximadamente 1:1, o donde la relación molar del citrato con respecto al galio está en el intervalo de 0,90-1,10 a 1.

15 Además, lo que se proporciona es la formulación farmacéutica anterior, en la que la adición de un volumen de la solución en un bolo a un volumen diez veces mayor de un fluido biológico, que es plasma sanguíneo humano o un fluido pulmonar extracelular, no produce turbidez, siendo la turbidez evaluada visualmente tras añadir la solución al fluido biológico.

20 En otro aspecto, lo que se proporciona es la formulación farmacéutica anterior, en la que la adición de un volumen de la formulación farmacéutica en un bolo a un volumen diez veces mayor de un fluido biológico, que es plasma sanguíneo humano o un fluido pulmonar extracelular, no produce turbidez, siendo la turbidez evaluada tras añadir la solución al fluido biológico.

25 En otro aspecto, la invención proporciona la formulación farmacéutica anterior, en la que el anión o el agente complejante es citrato.

30 En otro aspecto más, lo que se proporciona es la formulación farmacéutica anterior, que comprende un agente complejante seleccionado entre manitol, maltolato, protoporfirina IX o su derivado, sideróforos del grupo del catecolato, hidroxamato e hidroxicarboxilato, hemóforos bacterianos, un quelante de hierro o una mezcla de los mismos. El sideróforo puede ser, por ejemplo, bacteriano o fúngico. Además, lo que se proporciona es un dispositivo configurado para proporcionar un aerosol, en el que el dispositivo comprende una o más de las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento, y en el que el dispositivo es capaz de administrar un aerosol de la formulación farmacéutica en los pulmones, el tracto gastrointestinal o la piel. El dispositivo puede ser aquel que proporcione la administración de dosis medidas.

35 En otro aspecto más, lo que se proporciona es una formulación farmacéutica descrita en el presente documento que contiene citrato y galio, en la que se usa un ensayo convencional a pH 10,0 y usando nitrato de galio aproximadamente 234,6 mM para analizar la precipitación, y en el que la relación molar del citrato con respecto al galio en la formulación farmacéutica es suficiente para prevenir la formación de un precipitado sometido al ensayo convencional, y en el que la formación de un precipitado se puede evaluar en las condiciones del ensayo convencional mediante la mezcla de 234,6 mM de nitrato de galio con citrato de sodio, y en el que la falta o la presencia de un precipitado se determina visualmente.

45 Además, en una realización que comprende citrato, lo que se proporciona es una o más de las formulaciones farmacéuticas anteriores que comprenden una solución de galio (III) y citrato, en la que la solución comprende una concentración antimicrobiana eficaz de galio (III).

50 Lo siguiente se refiere a un ensayo que añade una solución en un bolo. En otro aspecto, lo que se contempla es la formulación farmacéutica anterior, en el que la adición de un volumen de la formulación en un bolo a un volumen diez veces mayor de un fluido biológico, que es plasma humano o un fluido pulmonar extracelular, no produce turbidez, siendo la turbidez evaluada visualmente tras añadir la solución al fluido biológico.

55 Lo siguiente se refiere a un ensayo que añade una formulación en un bolo. En otro aspecto, lo que se contempla es la formulación farmacéutica anterior, en el que la adición de un volumen de la formulación en un bolo a un volumen diez veces mayor de un fluido biológico, que es plasma humano o un fluido pulmonar extracelular, no produce turbidez, siendo la turbidez evaluada visualmente tras añadir la solución al fluido biológico.

60 En una realización de los métodos de la presente invención, lo que se proporciona es un método para tratar o prevenir una infección que comprende administrar una de las formulaciones farmacéuticas como se describen anteriormente, a un sujeto que tenga la infección o se encuentre en riesgo de padecer la infección. Además, lo que se proporciona es el método anterior, en el que la infección comprende una infección pulmonar; o el método anterior, en el que la composición farmacéutica se administra por inhalación en el pulmón, en el que el galio de la composición farmacéutica tiene un tiempo de residencia en el pulmón, y en el que el tiempo de residencia en el pulmón es al menos 5 veces más prolongado que el tiempo de residencia en el pulmón de galio administrado por vía intravenosa, en el que el número de moles de galio inhalado es aproximadamente el mismo que el número de moles



administrados por vía intravenosa, o en el que la vida media para el tiempo de residencia en el pulmón es de al menos 16 horas, al menos 18 horas, al menos 21 horas, al menos 24 horas, al menos 27 horas, al menos 30 horas, al menos 33 horas, al menos 36 horas, y similares. Lo que también se contempla, es el método anterior donde la vida media para el tiempo de residencia en el pulmón es de al menos 10 horas, al menos 11 horas, al menos 12 horas, al menos 13 horas, al menos 14 horas, al menos 15 horas, y así sucesivamente. En otro aspecto, lo que se describe es el uso en la fabricación de un medicamento para el método de tratamiento anterior, y el uso en la fabricación para el método de administración anterior.

Lo que también se contempla es el método anterior, en el que la infección comprende una bacteria gram-positiva o una bacteria gram-negativa; o el método anterior, en el que la infección comprende: a) una bacteria gram-negativa que es *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de enterobacterias, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos o *Mycobacterium tuberculosis* o, b) una bacteria gram-positiva que es *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), *Actinobacteria*, *Lactobacillales*, *Actinomycies* y *Clostridium*; o el método anterior, en el que la infección es una infección pulmonar que está causada por un virus, hongo o protozoo; o el método anterior, en el que la administración es por medio de una vía que es oral, inhalación, intravenosa, tópica, ocular, intraocular, una transfusión, transdérmica, parenteral, vaginal o rectal; o el método anterior, en el que el sujeto tiene fibrosis quística, bronquiectasia, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC) o es un sujeto con ventilación artificial.

En una realización que comprende polvo seco, lo que se proporciona es una formulación farmacéutica que comprende una composición de polvo seco de partículas de galio (III) que tienen un diámetro aerodinámico mediano de la masa (MMAD) farmacéuticamente aceptable, en la que el tamaño medio de partícula es inferior a 10 micrómetros. Además, lo que se contempla es la formulación farmacéutica anterior, en la que las partículas tienen un MMAD que es igual o inferior a 5 micrómetros; o en la que las partículas tienen un MMAD que es de 1 a 5 micrómetros; o una o más de las formulaciones farmacéuticas anteriores que comprenden un aminoácido, un oligopéptido, un monosacárido, un oligosacárido, o una mezcla de los mismos; o que comprenden uno o más de entre citrato, manitol, leucina o trileucina, y donde el tamaño medio de partícula es de 10 micrómetros o inferior; o que comprende una formulación de polvo seco de la Tabla 2, en la que el MMAD es de 10 micrómetros o inferior; o, en otras realizaciones, en la que el aminoácido es leucina, el oligopéptido es trileucina y el monosacárido es manitol; y en otras realizaciones adicionales, la formulación farmacéutica anterior que comprende uno o más de entre citrato, manitol, leucina y trileucina, en la que las relaciones molares relativas de galio, citrato, manitol, leucina y trileucina, son aproximadamente como las que se encuentran en una de las formulaciones descritas en la Tabla 13, y el tamaño medio de partícula es inferior a 10 micrómetros; y una formulación farmacéutica como la anterior, en la que la relación molar del galio con respecto a la leucina está en el intervalo de 1:0,5 a 1:2,5, y en la que el MMAD es inferior a 10 micrómetros; o en la que la relación molar del galio con respecto a la trileucina está en el intervalo de 1:0,1 a 1:0,8, y en la que el MMAD es inferior a 10 micrómetros; o en la que la relación molar del nitrato con respecto al galio es inferior a aproximadamente 0,1:1,0.

En cuanto a los agentes complejantes, la presente invención proporciona la formulación farmacéutica anterior que comprende un agente complejante seleccionado entre manitol, maltolato, protoporfirina IX o su derivado, sideróforos del grupo del catecolato, hidroxamato e hidroxicarboxilato, hemóforos bacterianos, un quelante de hierro o una mezcla de los mismos.

En cuanto a los excipientes, lo que se proporciona es una o más de las formulaciones farmacéuticas anteriores que comprenden además un excipiente farmacéuticamente aceptable seleccionado entre: a) un poliol que es sacarosa, trehalosa, glucosa, rafinosa, sorbosa, melezitosa, glicerol, fructosa, manosa, maltosa, lactosa, arabinosa, xilosa, ribosa, ramnosa, galactosa, glicosa, manitol, xilitol, eritritol, treitol, dextrosa, fucosa, ácido poliaspártico, hexafosfato de inositol (ácido fítico), ácido siálico, lactosa de ácido *N*-acetilneuramínico o sorbitol; b) un aminoácido que es leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina, prolina, sus derivados y una mezcla de los mismos; c) un tripéptido compuesto por dos leucinas y un aminoácido seleccionado entre leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina y prolina; d) una proteína que es transferrina, lactoferrina, albúmina de suero humano o albúmina de suero humano recombinante; e) una sal de ácido orgánico que es ácido cítrico o citrato, ácido tartárico o tartrato, o ácido láctico o lactato; f) copolímeros tensioactivos de bloque de polietileno, polipropilenglicol, monolaurato de polietilenglicolsorbitán y monooleato de polioxietilensorbitán; g) un polisacárido que es ácido alginico, alginatos, sulfatos de heparina, ácido hialurónico, hialuronatos, quitosán, quitina, almidón, derivados de almidón, carboximetil almidón, hidroxietil almidón (HES) o dextrano; h) un polímero que es polivinilpirrolidona (PVP), gelatina, colágeno, condroitín sulfato o alcohol polivinílico (PVA).

En una realización del dispositivo de la presente invención, lo que se proporciona es un aerosol, en el que el dispositivo comprende la formulación farmacéutica como se ha descrito anteriormente, y en el que el dispositivo es capaz de proporcionar un aerosol de la composición farmacéutica a los pulmones, el tracto gastrointestinal o la piel; o el dispositivo anterior en el que el dispositivo proporciona la administración de dosis medidas.

En otra realización más de los métodos, lo que se proporciona es un método para tratar o prevenir una infección que comprende administrar la formulación farmacéutica, como se ha descrito anteriormente, a un sujeto que tiene la infección o se encuentra en riesgo de padecer la infección; o el método anterior, en el que la infección comprende una infección pulmonar; o el método anterior, en el que la infección comprende una bacteria gram-positiva o una bacteria gram-negativa; y también el método anterior, en el que la infección comprende: a) una bacteria gram-negativa que es *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de enterobacterias, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos o *Mycobacterium tuberculosis* o, b) una bacteria gram-positiva que es *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*, *Spahylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), *Actinobacteria*, *Lactobacillae*, *Actinomycies* o *Clostridium*; o el método anterior, en el que la infección es una infección pulmonar que está causada por un virus, hongo o protozoo; o el método anterior, en el que la administración es por medio de una vía que es oral, inhalación, intravenosa, tópica, ocular, intraocular, una transfusión, transdérmica, parenteral, vaginal o rectal; o el método anterior, en el que el sujeto tiene fibrosis quística, bronquiectasia, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC) o es un sujeto con ventilación artificial. En otro aspecto, lo que se describe es el uso en la fabricación de un medicamento para el método de tratamiento anterior, y el uso en la fabricación para el método de administración anterior.

## Definiciones

A menos que se defina lo contrario, en el presente documento o más adelante, en el resto de la memoria descriptiva, todas las expresiones y todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen los significados comúnmente entendidos por los expertos en la materia a la que pertenece la presente invención.

Antes de describir la presente invención detalladamente, se ha de entender que la presente invención no se limita a dispositivos ni sistemas biológicos particulares que, como es obvio, pueden variar. También se ha de entender que la terminología usada en el presente documento tiene el fin de describir solamente realizaciones particulares, y no pretende ser limitante. Como se usan en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular de "un", "uno", "una", "el" y "ella" incluyen los referentes en plural a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Así pues, por ejemplo, la referencia a "un componente" puede incluir una combinación de dos o más componentes; la referencia a "un tampón" puede incluir mezclas de tampones, y similares.

Aunque se pueden usar muchos métodos y materiales similares, modificados o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica de la presente invención sin la necesidad de experimentación, en el presente documento, se describen los materiales y los métodos preferidos. Al describir y reivindicar la presente invención, se usará la siguiente terminología de acuerdo con las definiciones expuestas a continuación.

El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, indica que el valor de una cantidad dada puede incluir cantidades que varían en un 50 % del valor indicado, en un 25 % del valor indicado, en un 10 % del valor indicado, en un 5 % del valor o en un 1 % del valor.

Como se usan en el presente documento, las expresiones "solución y suspensión" y "formulación líquida", frecuentemente, se usan indistintamente.

Las expresiones "dosis terapéuticamente eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se refieren a la cantidad de compuesto suficiente para tratar o mejorar una enfermedad o un trastorno causado por organismos patógenos en un sujeto. Una dosis terapéuticamente eficaz o una cantidad terapéuticamente eficaz se pueden referir a la cantidad del compuesto suficiente para reducir el número de microorganismos patógenos, para suprimir el crecimiento de microorganismos patógenos o para matar los microorganismos patógenos en los lugares afectados o en el torrente sanguíneo de un sujeto. La dosis terapéuticamente eficaz o la cantidad terapéuticamente eficaz variarán dependiendo del compuesto, de la enfermedad y de su gravedad, y de la edad, del peso, del estado físico y de la capacidad de respuesta del individuo que se vaya a tratar.

"Farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos agentes activos, sales y excipientes que son, dentro del alcance del criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos o los seres humanos y animales inferiores sin provocar toxicidad, irritación, respuesta alérgica, y similares no deseados, en proporción con una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaces para su uso previsto.

## Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** muestra el efecto de la concentración de citrato en la solubilidad del galio en el plasma sanguíneo humano. La imagen se tomó inmediatamente después de añadirse la solución que contenía una relación molar del citrato con respecto al galio de 2:1 (izquierda) y de 1:1 (derecha) a plasma sanguíneo humano.

La **Figura 2** muestra la distribución del tamaño de gota de las composiciones de citrato y galio en aerosol usando

el nebulizador de microbomba Evo Aeroneb Go (Aeroneb, Adel, Iowa). Las cuatro composiciones consistían en una proporción del citrato con respecto al galio de 1:1 (barras blancas), del citrato con respecto al galio de 3:1 (barras negras), del citrato con respecto al galio de 1:1 a tres veces la dosis (barras grises) y del citrato con respecto al galio de 1:1 a tres veces la dosis tratada a una humedad relativa del 75 % (barras discontinuas).

La **Figura 3** muestra la distribución del tamaño de partícula de diversas composiciones que contienen galio. Las cuatro composiciones consistían en nitrato de galio (barras blancas), nitrato de galio con citrato de sodio (relación molar de 1:1, barras negras), nitrato de galio con citrato de sodio (relación molar de 1:1) y L-leucina (0,4 %, p/v, barras grises) y nitrato de galio con citrato de sodio (relación molar de 1:1), manitol (0,6 %, p/v) y L-leucina (0,4 %, p/v, barras discontinuas). La expresión "relación molar", en el presente contexto, se refiere a la relación molar del citrato con respecto al galio.

La **Figura 4** muestra la distribución del tamaño de partícula de diversas composiciones que contienen galio. Las cuatro composiciones consistían en 0,4 % (p/v) de nitrato de galio con 0,5 % (p/v) de L-leucina (barras blancas), 1,5 % (p/v) de nitrato de galio con 0,4 % (p/v) de L-leucina (barras negras), 0,4 % (p/v) de nitrato de galio con 0,5 % (p/v) de tri-leucina (barras grises) y 1,5 % (p/v) de nitrato de galio con 0,5 % (p/v) de tri-leucina (barras discontinuas). En todos los casos, la composición de galio contenía además citrato de sodio y manitol a una concentración del 1,1 % (p/v) y 0,6 % (p/v), respectivamente. La tri-leucina se adquirió en Bachem, Torrance, CA.

La **Figura 5** muestra las exploraciones de pXRD de preparaciones de galio secadas por pulverización: (a) nitrato de galio puro, (b) nitrato de galio con citrato de sodio, (c) nitrato de galio con citrato de sodio y manitol, (d) nitrato de galio con citrato de sodio, manitol y L-leucina, (e) nitrato de galio con manitol, (f) nitrato de galio con L-leucina, y (g) nitrato de galio con citrato de sodio y L-leucina. Las composiciones exactas se muestran en la **Tabla 8**.

La **Figura 6** muestra las imágenes de SEM de preparaciones de galio secadas por pulverización. Nitrato de galio puro (a), nitrato de galio con citrato de sodio (b); nitrato de galio con citrato de sodio y L-leucina (c); nitrato de galio con manitol y L-leucina (d); y nitrato de galio con citrato de sodio, manitol y L-leucina (e) secados por pulverización.

La **Figura 7** muestra el efecto de composiciones de nitrato de galio y citrato sobre el crecimiento de la cepa aislada no mucoide de *P. aeruginosa*, 46IV. La concentración de galio varió de 0 a 250 micromolar.

La **Figura 8** muestra el efecto de composiciones de nitrato de galio y citrato sobre el crecimiento de la cepa aislada de *B. dolosa*, AU0158. La concentración de galio varió de 0 a 150  $\mu$ M.

La **Figura 9** muestra el efecto de composiciones de nitrato de galio y citrato sobre el crecimiento de la cepa aislada de *A. baumannii*, ATCC 17978. La concentración de galio varió de 0 a 150 micromolar.

La **Figura 10** muestra la farmacocinética *in vivo* de galio administrado a ratas adultas Sprague-Dawley bien por vía intratraqueal (i.t.) o intravenosa (i.v.). Se muestra la cantidad de galio que queda en el tejido pulmonar y BAL (solo para las ratas administradas i.t.).

### Descripción detallada

La presente invención se dirige a métodos de preparación de una composición que contiene galio para su uso como un agente antiinfeccioso. Dicha composición se puede administrar a pacientes en una multitud de formas, incluyendo pero sin limitación, la administración pulmonar y las aplicaciones tópicas. El galio se puede administrar a una dosis mucho menor que los antibióticos actualmente disponibles, y tiene la ventaja de demostrar eficacia contra un amplio espectro de bacterias. Las composiciones que comprenden galio a una dosis terapéuticamente eficaz también contienen excipientes farmacéuticamente aceptables, cuyo fin puede incluir: el control de la liberación de galio a partir de la composición, la modulación del diámetro de las gotas en el caso de la administración por aerosol usando un nebulizador, y la mejora de propiedad como aerosol de la composición de polvo seco. Los atributos clave de la presente invención implican la identificación de combinaciones únicas de formulación muy adecuadas para el método de administración de interés.

**Preparación de una solución o una suspensión.** La composición que contiene galio de la presente invención abarca, pero sin limitación, la preparación mediante la disolución de una cantidad terapéuticamente eficaz de galio en forma de sal de nitrato de galio en agua y la adición de excipientes farmacéuticamente aceptables. Si se desea un contraión diferente al nitrato, dicho compuesto se puede preparar usando métodos que son conocidos para los expertos en la materia. Un contraión adecuado incluye, pero sin limitación, nitrato, citrato, cloruro, o una mezcla de los mismos. En una realización preferida de la presente invención, se usa citrato como el contraión. Puede ser necesario ajustar la cantidad de contraión, que también puede actuar como agente tampón, para evitar la precipitación del galio, dependiendo de la vía de administración, así como de la dosis prevista de galio que se vaya a administrar. Además, la cantidad de contraión se puede ajustar para modificar el MMAD y el tiempo de dosificación en un intervalo adecuado, proporcionando flexibilidad en contra de la variación en la producción de aerosoles para los diversos nebulizadores disponibles en el mercado.

En una realización particular de la presente invención, se controla la liberación de galio de la dosis administrada mediante el uso de excipientes farmacéuticamente aceptables. Se sabe que dichos excipientes, o agentes complejantes, interactúan fuertemente con el galio o la sal de galio, y pueden retardar la liberación de galio y, por lo tanto, limitar la disponibilidad del galio a la zona de la administración. Como alternativa, si la diana es diferente de la zona de administración, el agente complejante puede afectar a la velocidad de transporte del galio además de afectar a la liberación del galio de la composición. El agente complejante se selecciona del grupo que consiste en manitol, maltolato o su derivado, protoporfirina IX o su derivado, sideróforos bacterianos pertenecientes al grupo del catecolato, hidroxamato e hidroxicarboxilato, hemóforos bacterianos y cualquier quelante de hierro, o una mezcla de los mismos. En un aspecto preferido de dicha realización, se usa manitol como agente complejante.

Se pueden incluir polioles para modificar la osmolaridad de la solución que contiene galio o como agente de volumen, en el caso de las aplicaciones de polvo seco. También se pueden usar ciertos polioles para formar complejos con el galio, lo que permite un mecanismo de liberación prolongada. Los polioles preferidos son sacarosa, trehalosa, glucosa, rafinosa, sorbosa, melezitosa, glicerol, fructosa, manosa, maltosa, lactosa, arabinosa, xilosa, ribosa, ramnosa, galactosa, glicosa, manitol, xilitol, eritritol, treitol, dextrosa, fucosa, ácido poliaspártico, hexafofato de inositol (ácido fítico), ácido siálico, lactosa de ácido *N*-acetilneuramínico y sorbitol.

Los aminoácidos pueden ser útiles en la modificación de la osmolaridad de la solución que contiene galio, el pH y las propiedades superficiales de las gotas atomizadas y, por lo tanto, de las partículas secas. Los ejemplos de aminoácidos útiles en dicha aplicación pueden incluir leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina, prolina, sus derivados y una mezcla de los mismos. También se pueden usar dipéptidos y tripéptidos tales como di-leucina, tri-leucina y sus derivados, y tripéptidos compuestos por dos leucinas y un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina y prolina. Los aminoácidos que son anfífilicos o hidrófobos se concentrarán en la superficie de la gota debido a su alta actividad superficial, y como resultado de ello, pueden recubrir la superficie de las partículas que contienen galio.

Se pueden incluir proteínas para formar complejos con galio y/o para modificar las propiedades superficiales de las gotas atomizadas. Las proteínas adecuadas incluyen transferrina, lactoferrina, albúmina de suero humano y albúmina de suero humano recombinante.

Los polímeros pueden ser útiles, por ejemplo, en ciertas composiciones de liberación prolongada y/o para proporcionar resistencia estructural a los productos pulverizados. Los ejemplos de polímeros útiles en las formulaciones pueden incluir polivinilpirrolidona (PVP), gelatina, colágeno, condroitín sulfato y alcohol polivinílico (PVA).

De manera similar a los polioles y a las proteínas, se pueden incluir polisacáridos para formar complejos con galio y actuar como un agente de volumen, en las aplicaciones de polvo seco. Los polisacáridos se pueden seleccionar del grupo que consiste en ácido alginico, alginatos, heparina, sulfatos de heparina, ácido hialurónico, hialuronatos, quitosán, quitina, almidón, derivados de almidón, carboximetil almidón, hidroxietil almidón (HES) y dextrano.

Se pueden incluir tensioactivos en las formulaciones, por ejemplo, para ayudar a reducir los tamaños de las gotas, mejorar la solubilidad de otros constituyentes de la formulación, y similares. Por lo general, los tensioactivos preferidos en las formulaciones son tensioactivos no iónicos. Por ejemplo, los tensioactivos preferidos pueden incluir copolímeros de bloque de polietileno y polipropilenglicol, monolaurato de polietilenglicolsorbitán y monooleato de polioxietilensorbitán.

Por lo general, el pH de la solución que contiene galio se ajusta para proporcionar un pH fisiológico, tal como pH 7,4, de un pH que varía de aproximadamente pH 4 a aproximadamente pH 9, de pH 5 a pH 8, o aproximadamente pH 7. La capacidad de tamponamiento de la solución que contiene galio se puede proporcionar mediante un aminoácido o un contraión.

**Formación de un polvo seco.** En otro aspecto de la presente invención, las composiciones que contienen galio se pueden preparar en forma de un polvo seco. La producción del polvo seco se puede realizar empleando una variedad de métodos conocidos por los expertos en la materia, incluyendo, pero sin limitación, el secado por pulverización, secado en lecho fluidizado, secado asistido por fluido supercrítico, liofilización, liofilización por pulverización, secado por espuma y secado al vacío. El uso del secado por pulverización es el más preferido en la presente invención.

En una realización ilustrativa de los métodos de la invención, primero se formula una solución que contiene galio con excipientes estabilizantes, luego se atomiza desde una boquilla usando un gas a presión, con o sin un disolvente orgánico que actúa como modificador líquido. Se hace secar el galio atomizado en partículas de polvo mediante la infusión de una corriente de gas caliente seco en la misma corriente que el penacho de pulverización. El equipo de secado por pulverización puede ser cualquier secador de pulverización disponible en el mercado dotado de cualquier boquilla de atomización disponible en el mercado. El gas de atomización puede ser aire o cualquier otro gas,

preferentemente aire, nitrógeno, CO<sub>2</sub> en o cerca del estado supercrítico. El gas usado para evaporar la solución atomizada, es decir, el gas de secado, normalmente se calienta y puede ser aire, nitrógeno, argón, o similares.

5 Las gotas de suspensiones o soluciones se pueden secar para formar partículas. El secado se puede realizar mediante cualquier medio apropiado para la composición de las gotas y el uso previsto. Por ejemplo, las gotas se pueden pulverizar en una corriente de gas de secado, sobre una superficie de secado, en un fluido frío para congelar las gotas para la posterior liofilización, y similares. Por lo general, las partículas secas no son líquidas y pueden tener un contenido de humedad (por ejemplo, humedad residual) inferior al 15 %, inferior al 10 %, inferior al 5 %, inferior al 3 %, inferior al 1,5 % o aproximadamente del 1 %.

10 En una realización, las gotas se pulverizan en una corriente de un gas de secado. Por ejemplo, el gas de secado puede ser un gas inerte tal como nitrógeno, a una temperatura que varía de la temperatura ambiente a 200 °C. En muchos casos, la corriente de gas de secado puede entrar en la cámara de secado para ponerse en contacto con las gotas a una temperatura de 150 °C o inferior, de 100 °C, 70 °C, 50 °C, 30 °C o inferior. Las partículas se pueden recoger por decantación, filtración, impacto, etc. Las partículas se pueden exponer a condiciones de secado secundarias para eliminar la humedad adicional.

20 Las partículas de polvo seco producidas mediante secado por pulverización pueden ser estables a temperatura ambiente y presentar las propiedades del polvo adecuadas para su administración profunda en el pulmón, así como para la fabricación de otros formatos de dosificación tales como obleas orales, películas finas orales, cápsulas, comprimidos, etc.

25 Como alternativa, las gotas se pueden liofilizar hasta la sequedad. En una realización, las gotas se pulverizan en nitrógeno líquido para formar gotas congeladas. Las gotas se pueden decantar del nitrógeno líquido, o eliminarse por filtración o evaporación del nitrógeno. Las gotas congeladas recogidas se pueden colocar en una cámara de vacío y liofilizarse para formar partículas secas, por ejemplo, sin tener que exponer los materiales bioactivos a altas temperaturas.

30 Una vez que una sustancia entra en el pulmón, el cuerpo puede responder a o interactuar con la sustancia en una serie de maneras. Si la sustancia es una solución, la solución se puede disolver en los fluidos de los pulmones. La solución puede formar un precipitado, por ejemplo, un precipitado proteico, en los pulmones. Si la solución forma un precipitado insoluble, o si la propia sustancia es una sustancia insoluble, se puede aclarar de la garganta y tragarse. Una partícula insoluble o un precipitado insoluble pueden producir inflamación que implique macrófagos alveolares y posiblemente daños a largo plazo en los pulmones. Véase, por ejemplo, Edwards, D. A. y Dunbar, C. (2002) *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 4:93-107, y Poole, J. A., *et al.* (2009) *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 296:L1085-1095.

35 La presente invención, en algunos aspectos, proporciona composiciones, formulaciones y métodos que reducen o previenen la conversión de las sales de galio solubles en partículas insolubles o en precipitados insolubles, que reducen la absorción de las sales de galio por los macrófagos y que reducen la excreción de las sales de galio desde los pulmones.

40 La invención proporciona una composición que comprende citrato de galio (III). Lo que también se abarca es un intervalo de composiciones, donde el intervalo se describe mediante una combinación de una relación descrita anteriormente con una relación descrita a continuación.

45 La invención abarca un intervalo de citrato:galio de 1. También se prevé un intervalo de 1,25:1 a 4:1.

50 Lo que se proporciona es una composición farmacéutica que comprende una sal de galio (III) y un contraión que comprenden del aproximadamente 1 % en peso al aproximadamente 90 % en peso de galio (III), del aproximadamente 5 % al aproximadamente 90 %, del aproximadamente 10 % al aproximadamente 90 %, del aproximadamente 20 % al aproximadamente 90 %, del aproximadamente 40 % al aproximadamente 90 %, del aproximadamente 60 % al aproximadamente 90 % o del aproximadamente 80 % al aproximadamente 90 % en peso de galio (III).

55 La invención proporciona reactivos, composiciones y métodos, en los que la precipitación de una sal de galio se reduce por un factor de al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 99 % o el 100 %. Lo que se proporciona son reactivos, composiciones y métodos, en los que la precipitación de una sal de galio se reduce hasta el punto en que no se puede detectar turbidez a simple vista, es decir, hasta el punto en que el fluido que contiene la sal de galio es transparente y está exento de turbidez.

60

Lo que se proporciona es una composición, una formulación, un reactivo, una sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, donde la precipitación o la turbidez se mide mediante la introducción de la composición, la formulación, el reactivo, la sal, y similares, como un bolo (sin mezclar) en un fluido biológico, tal como plasma, suero, linfa, fluido de la superficie de las vías respiratorias, linfa pulmonar, fluido intersticial, fluido intersticial pulmonar, y similares. La formación de turbidez cuando una solución de sal de galio entra en contacto con un fluido biológico, se puede medir mediante la mezcla de la solución de sal de galio con plasma, fluidos intersticiales, fluido de la superficie de las vías respiratorias, linfa, fluido de la superficie de las vías respiratorias, linfa pulmonar, fluido intersticial pulmonar, fluido alveolar, así como dichos fluidos de pacientes con fibrosis quística, pacientes con una infección pulmonar, o pacientes con fibrosis quística y una infección pulmonar.

La reducción de la precipitación es relativa a la ausencia y la presencia de un determinado contraíón o una determinada mezcla de contraíones. Por ejemplo, lo que se compara puede ser composiciones donde el citrato:galio es de 1:1 y donde el galio:citrato es de 1,5:1. O lo que se puede comparar puede ser una composición de citrato:galio (1,2:1) con isocitrato:galio (1,2:1).

El contraíón añadido puede ser una combinación o una mezcla de uno o más de entre, por ejemplo, citrato, nitrato, cloruro, acetato, isocitrato, tartrato, y similares. El contraíón añadido puede ser citrato y no cualquier otro contraíón añadido.

La presente invención, en algunos aspectos, proporciona métodos para reducir o evitar la formación de precipitados proteicos, cuando se administra una solución de una sal de galio. Los precipitados proteicos pueden resistir la solubilización (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N° 4,659,568 expedida a Heilman).

Para evaluar la idoneidad de diversas relaciones molares de citrato:galio, o la idoneidad de diversas relaciones molares de contraíón:galio, o la idoneidad de diversas relaciones molares de anión:galio, lo que se proporciona es un método de ensayo en el que se añade una solución de sal de galio a plasma, a un fluido de pulmón extracelular o a otro fluido biológico. El plasma es un sustituto razonable de un fluido pulmonar extracelular tal como fluido de la superficie de las vías respiratorias.

Se ha medido la composición iónica del plasma y de los fluidos extracelulares pulmonares (también denominados fluidos extracelulares de pulmón) (Nielson, D. W. (1986) *J. Appl. Physiol.* 60: 972-979). Se han medido el contenido y la composición proteica del plasma y de los fluidos extracelulares pulmonares, y han demostrado ser comparables en cuanto a la composición (Vreim, C. E., y Staub, N. C. (1976) *Am. J. Physiol.* 230:376-379). Se ha estudiado el fluido de la superficie de las vías respiratorias, que es otra expresión usada para referirse al fluido extracelular pulmonar (Rogers, D. F. (1994) *Eur. Respir. J.* 7:1690-1706; Cowley, E. A. (1997) *Am. J. Physiol.* 273:L895-L899). Hay métodos para el muestreo de los fluidos pulmonares en mamíferos (Normandin, D., et al. (1990) *J. Surg. Res.* 48:91-98; Gray, R. D., et al. (2008) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 178:444-452). Se han publicado los cambios en el contenido de proteína del líquido extracelular pulmonar en la fibrosis quística (Griese, M., et al. (2004) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 170:1000-1005).

Hay directrices disponibles para la medición de la precipitación y la turbidez, en relación con las formulaciones de fármacos y los fluidos biológicos. Véase, por ejemplo, Hawe y Friess (2006) "Physico-chemical lyophilization behavior of mannitol, human serum albumin formulations". *Eur J Pharm Sci.* 28:224-232; Martin, et al. (2007) "Comparison of casein micelles in raw and reconstituted skim milk". *J. Dairy Sci.* 90:4543-4551; "International Standards Organization, Water Quality - Determination of Turbidity", ISO 7027, Ginebra, Suiza, 1999; U.S. EPA, "Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes", Method 180.1, "Determination of Turbidity by Nephelometry", Rev 2, Cincinnati, OH, agosto de 1993. Los turbidímetros se pueden adquirir, por ejemplo, en Hanna Instruments, Woonsocket, RI; y LaMotte Co., Chestertown, MD. La cuestión de la existencia de turbidez se puede determinar visualmente, o por medio de un punto de corte predeterminado. La turbidez se puede medir mediante la absorbancia a 660 nm, y en este caso, el punto de corte puede estar a una absorbancia equivalente a 0,01 o superior, 0,02 o superior, 0,04 o superior, y así sucesivamente. La turbidez se puede medir con o sin dispersión mecánica antes de la medición espectrofotométrica o turbidimétrica de la suspensión o la solución que se vaya a ensayar.

En las formulaciones de citrato y galio, la invención contempla diversas relaciones entre el citrato y el galio. Las formulaciones en las que la relación de citrato:galio es elevada pueden provocar efectos no deseados sobre los receptores de citrato de hierro de los microorganismos. Un citrato libre en una cantidad excesiva puede competir por la unión del galio-citrato sobre los receptores de citrato de algunos microorganismos. Se puede llegar a un límite superior para la relación de citrato:galio mediante ensayos sensibles a la actividad del receptor de citrato de hierro. Además, se puede llegar a una relación óptima de citrato:galio con las directrices de los ensayos sensibles a la actividad del receptor de citrato de hierro.

Hay directrices disponibles para la medición de las actividades de los receptores de citrato de hierro, y para medir la inhibición de dichos receptores. Véase, por ejemplo, et al. (2009) "Microbiology". 155:305-315; Takemura, et al. (2003) *J. Dairy Sci.* 86:133-137; Moody, M. D. y Dailey, H. A. (1985) *J. Bacteriol.* 161:1074-1079.

Hay disponibles métodos de medición del nitrato, por ejemplo, véase, Dunphy, M. J., *et al.* (1990) *Analyt. Biochem.* 184:381-387; Miranda, K. M, *et al.* (2001) "Nitric Oxide" 5:62-71; Schild, J. y Klemme, J. H (1985) *Z. Naturforsch C.* 40:134-137.

5 Los iones de amonio pueden producir reacciones tóxicas o adversas en el organismo. En una realización preferida, lo que se proporciona es una composición, una formulación, un reactivo, una sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, y métodos, de galio y un contraión, que contiene ión amonio inferior a 100 mM, ión amonio 80 mM, 60 mM, 50 mM, 40 mM, 20 mM, 10 mM, 5 mM, 2 mM, 1,0 mM, 0,8 mM, 10 0,6 mM, 0,5 mM, 0,4 mM, 0,2 mM, 0,15 mM, 0,10 mM, 0,08 mM, 0,06 mM, 0,05 mM, 0,04 mM, 0,03 mM, 0,025 mM, 0,02 mM, 0,015 mM, 0,010 mM, 0,005 mM, 0,004 mM, 0,003 mM, 0,002 mM, 0,0015 mM o 0,001 mM.

Las altas concentraciones de sales de galio, tales como citrato de galio, pueden ser relativamente insolubles o pueden ser sustancialmente insolubles. La invención proporciona formulaciones o composiciones farmacéuticas en las que la concentración de galio (III) es inferior a 1.000 mM, inferior a 800 mM, inferior a 600 mM, inferior a 400 mM, 15 inferior a 200 mM, inferior a 150 mM, inferior a 125 mM, inferior a 100 mM, inferior a 80 mM, inferior a 60 mM, inferior a 40 mM o inferior a 20 mM.

Lo que se proporciona es una composición, una formulación, un reactivo, una sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, y métodos, de galio y un contraión, tal como citrato, en los que la relación molar del citrato con respecto al galio en la formulación es tal que la inhibición de un receptor de citrato de hierro es inferior al 100 % de inhibición, inferior al 75 % de inhibición, inferior al 50 % de inhibición, inferior al 25 % de inhibición, inferior al 15 % de inhibición, inferior al 10 % de inhibición, inferior al 5 % de inhibición, inferior al 2 % de inhibición, inferior al 1 % de inhibición, y similar.

25 La invención proporciona una composición, una formulación, un reactivo, una sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, y métodos, y similares, que engloban galio, donde el galio no es galio-67, donde el galio no es galio-68, donde el galio está exento de galio-67 y/o donde el galio está exento de galio-68.

30 En otro aspecto, lo que se proporciona es una composición, una formulación, un reactivo, una sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, y métodos, en los que el tamaño medio de las gotas es de aproximadamente 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 o 1,0 micrómetros. También hay disponible una composición o una formulación en la que el tamaño medio de las gotas es de aproximadamente 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 35 50, 60, 70, 80, 90 o 100 micrómetros.

Además, lo que se proporciona es una composición, una formulación, un reactivo, una sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, y métodos, donde el 90 % de las gotas tiene un tamaño inferior a aproximadamente 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,6 o 1,8 micrómetros. En otro aspecto más, lo que se proporciona es una composición o una formulación donde el 90 % de las gotas tiene un tamaño inferior a 40 aproximadamente 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 micrómetros.

Además, lo que se proporciona es una composición, una formulación, un reactivo, una sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, y métodos, donde el 50 % de las gotas tiene un tamaño inferior a aproximadamente 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,6 o 1,8 micrómetros. En otro aspecto más, lo que se proporciona es una composición o una formulación donde el 50 % de las gotas tiene un tamaño inferior a 45 aproximadamente 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 micrómetros. En el presente contexto, el término "aproximadamente" significa el número  $\pm 5$  %.

Lo siguiente se refiere a un límite superior de las concentraciones molares de las soluciones de galio de la presente invención. Lo siguiente también se refiere a un límite superior de las concentraciones molares de las formulaciones farmacéuticas de soluciones de galio de la presente invención. En algún aspecto, la concentración de galio es 1.000 micromolar ( $\mu\text{M}$ ) o inferior, 800  $\mu\text{M}$  o inferior, 600  $\mu\text{M}$  o inferior, 500  $\mu\text{M}$  o inferior, 400  $\mu\text{M}$  o inferior, 300  $\mu\text{M}$  o inferior, 200  $\mu\text{M}$  o inferior, 150  $\mu\text{M}$  o inferior, 100  $\mu\text{M}$  o inferior, 80  $\mu\text{M}$  o inferior, 75  $\mu\text{M}$  o inferior, 70  $\mu\text{M}$  o inferior, 60  $\mu\text{M}$  o inferior, 50  $\mu\text{M}$  o inferior, 40  $\mu\text{M}$  o inferior, 30  $\mu\text{M}$  o inferior, 20  $\mu\text{M}$  o inferior, o 10  $\mu\text{M}$  o inferior. Para repetir, 55 estos límites máximos se pueden aplicar a la concentración de galio en las formulaciones farmacéuticas, o se pueden aplicar a la concentración de galio de la solución de galio.

Lo que se proporciona son composiciones, formulaciones, reactivos, sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, y métodos, para la administración a sujetos o pacientes humanos, a sujetos veterinarios o animales domésticos, a animales usados para ensayos o investigación, y a animales agrícolas o comerciales. Además, lo que se proporciona son reactivos, composiciones, formulaciones y métodos, para la administración solo a sujetos o pacientes humanos, pero no a animales. En otro aspecto, lo que se proporciona son reactivos, composiciones, formulaciones y métodos, para el tratamiento de materiales no vivos, por ejemplo, para el tratamiento de fluidos biológicos o células.

65

En otro aspecto más, la invención contempla un dispositivo de administración pulmonar de fármacos, tal como un inhalador, en el que el dispositivo contiene una composición de galio en polvo, y en el que el dispositivo es capaz de administrar la composición a los pulmones en una cantidad farmacéuticamente eficaz. La composición de galio en polvo puede adoptar la forma de una formulación, una sal, un complejo, y similares. También se contempla un dispositivo de administración pulmonar de fármacos, tal como un inhalador en aerosol, en el que el dispositivo contiene una composición líquida de galio, y en el que el dispositivo es capaz de administrar la composición líquida a los pulmones en una cantidad farmacéuticamente eficaz.

Lo que se proporciona son composiciones, formulaciones, reactivos, sal, opcionalmente en combinación con un dispositivo de administración tal como un inhalador, y métodos, que no son capaces de potenciar la reparación ósea y de prevenir la pérdida excesiva de calcio de los huesos, y que no pueden facilitar la curación o defectos de la piel.

Lo que se proporciona es una formulación farmacéutica que comprende galio, que no contiene maltolato y/o no contiene isomaltolato. Además, lo que se proporciona es un polvo seco que comprende galio, que no contiene maltolato y/o que no contiene isomaltolato. Por otra parte, lo que se contempla es un agente farmacéutico que no contiene maltolato o que no contiene isomaltolato. En otro aspecto, lo que se proporciona es una solución que no contiene maltolato y/o que no contiene isomaltolato. En otra realización más, lo que se proporciona es un método de administración de una formulación farmacéutica, una composición, una solución o un agente, que comprende galio pero que no contiene maltolato y/o que no contiene isomaltolato.

Lo que se proporciona es una formulación farmacéutica, una composición, un agente farmacéutico, una solución o un polvo seco que no contiene sacarosa, que no contiene trehalosa, que no contiene glucosa, que no contiene rafinosa, que no contiene sorbosa, que no contiene melecitosa, que no contiene glicerol, que no contiene fructosa, que no contiene manosa, que no contiene maltosa, que no contiene lactosa, que no contiene arabinosa, que no contiene xilosa, que no contiene ribosa, que no contiene ramnosa, que no contiene galactosa, que no contiene glicosa, que no contiene manitol, que no contiene xilitol, que no contiene eritritol, que no contiene treitol, que no contiene dextrosa, que no contiene fucosa, que no contiene ácido poliaspártico, que no contiene inositol hexafosfato, que no contiene ácido siálico, que no contiene lactosa de ácido *N*-acetilneuramínico, que no contiene sorbitol; que no contiene leucina, que no contiene valina, que no contiene isoleucina, que no contiene triptófano, que no contiene alanina, que no contiene metionina, que no contiene fenilalanina, que no contiene trileucina, tirosina, que no contiene histidina, que no contiene prolina, que no contiene un tripéptido compuesto de dos leucinas y un aminoácido, seleccionado entre leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina y prolina; que no contiene transferrina, que no contiene lactoferrina, que no contiene albúmina de suero humano, que no contiene albúmina de suero humano recombinante; que no contiene ácido cítrico, que no contiene ácido tartárico, que no contiene ácido láctico; que no contiene co-polímeros tensioactivos de bloque de polietileno, polipropilenglicol, monolaurato de polietilenglicolsorbitán o monooleato de polioxietilensorbitán; que no contiene un polisacárido que es ácido alginico, alginatos, heparina, sulfatos de heparina, ácido hialurónico, hialuronatos, quitosán, quitina, almidón, derivados de almidón, carboximetil almidón, hidroxietil almidón o dextrano; que no contiene un polímero que es polivinilpirrolidona (PVP), gelatina, colágeno, condroitín sulfato o alcohol polivinílico.

La presente invención, en algunos aspectos, proporciona composiciones y métodos que reducen, evitan o impiden el desarrollo de proteína insoluble en los pulmones o en otro compartimento o tejido del organismo. Al reducir, evitar o prevenir el desarrollo de proteína insoluble, la presente invención (al menos en algunas realizaciones) puede reducir, evitar o prevenir el desarrollo de la inflamación, la patología o la lesión producida como consecuencia de la proteína insoluble.

Cuando las partículas entran en los pulmones, son envueltas por los macrófagos alveolares y generan una respuesta patológica que conduce a la lesión pulmonar, o se desplazan hasta la faringe y luego se tragan (Brain, J. D. (1980) *Environ. Health Perspectives* 35:21-28; Edwards, D. A., Dunbar, C. (2002) *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 4:93-107). De los estudios sobre la lesión pulmonar producida por la entrada de meconio en los pulmones, se puede obtener una explicación de los efectos patológicos de la proteína insoluble en el pulmón. El meconio comprende proteína insoluble (Herlant-Pares, M. C., *et al.* (1981) *Eur J Biochem.* 117: 291-300). La exposición del meconio hacia los pulmones se produce de manera natural. Cuando el meconio entra en los pulmones, el resultado puede incluir la inflamación, los aumentos de los macrófagos, los aumentos de los neutrófilos y los efectos patológicos similares a los encontrados con el asma (Mokra, D., *et al.* (2007) *J. Physiol. Pharmacol.* 58: Supl. 5: 399-407).

Las propiedades antimicrobianas de la presente invención se pueden determinar de la siguiente manera. Lo que se puede determinar incluye concentraciones antimicrobianas eficaces, relaciones molares antimicrobianas eficaces de galio y citrato, relaciones molares antimicrobianas eficaces de galio y un anión o agente complejante, y vías de administración antimicrobianas eficaces. Dichos parámetros se pueden determinar, por ejemplo, mediante la medición de la destrucción del microbio en cuestión, la pérdida de título del microbio, la inhibición del crecimiento del microbio, el deterioro de algún aspecto del metabolismo del microbio o el deterioro del transporte de hierro del microbio. Además, estos parámetros se pueden medir mediante la evaluación del aumento de la respuesta inmune contra el microbio en cuestión, por ejemplo, el aumento de la respuesta generada por anticuerpos, células dendríticas o linfocitos T. Dichos parámetros se pueden medir, por ejemplo, usando placas de medio de agar, usando medio de agar en un tubo de cultivo, usando un medio de cultivo líquido aeróbico, microaeróbico o



anaeróbico, usando un modelo animal o usando sujetos humanos.

El riesgo a padecer infecciones se puede determinar, por ejemplo, mediante los métodos descritos por Lange (2009) *Pneumonol Alergol Pol.* 77(3):284-288; Amano (2006) *Intern. Med.* 45:991-992; Duncan y Wilkes (2005) *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2:449-455; West, *et al.* (2002) *J. Am. Med. Assoc.* 287:2958-2967.

Hay disponibles aerosoles, propulsores, inhaladores, métodos de obtención de un polvo seco de una solución, formulaciones pertinentes. Véase, por ejemplo, Hickey, A. J. (2003) "Pharmaceutical Inhalation Aerosol Technology", II ed., (Drugs and the Pharmaceutical Sciences) Informa Healthcare; Zeng, X. M., Martin, G. P., Marriott, C. (2000) "Particulate Interactions in Dry Powder Formulation for Inhalation" (Pharmaceutical Science Series) Informa Healthcare; y Gradon, L., Marijnissen, J. C. (2003) "Optimization of Aerosol Drug Delivery", Springer.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos, pero no para limitar el alcance de la invención reivindicada.

#### EJEMPLO 1

Solubilidad del galio en solución de citrato

La solubilidad del galio en el plasma sanguíneo humano se determinó mediante la variación de la concentración de citrato en las composiciones de galio y citrato. Se prepararon composiciones de galio y citrato a relaciones molares del citrato de sodio con respecto al nitrato de galio bien de 1:1 o a de 2:1. La concentración de nitrato de galio fue de 72 mM. Se añadieron 20 microlitros de las composiciones de galio y citrato filtradas a través de 0,22 µm a 200 microlitros de plasma humano y se fotografiaron de inmediato (**Figura 1**). La solución del citrato con respecto al galio a 1:1 produjo la precipitación tras la adición de plasma sanguíneo humano (**Figura 1**, imagen de la derecha), mientras que la adición de solución del citrato con respecto al galio a 2:1 no presentó precipitación observable (**Figura 1**, imagen de la izquierda).

El plasma se preparó de la siguiente manera. Se depositó sangre recién recogida en tubos heparinizados sobre medio de resolución Mono-Poly® (por ejemplo, Fisher Scientific) (20 ml de medio, 25 ml de sangre). A continuación, se centrifugaron los tubos a 350 g durante 30 min. La capa superior era el plasma. El experimento se realizó a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) y el precipitado se observó inmediatamente después de la adición de galio-citrato al plasma.

Se ha descrito la trileucina (tri-leucina) (véase, por ejemplo, Lechuga-Ballesteros, D., *et al.* (2008) *J. Pharm. Sci.* 97:287-302.

#### EJEMPLO 2

Efecto de la concentración del galio-citrato en el diámetro de la gota de aerosol

Se prepararon composiciones de nitrato de galio y citrato de sodio compuestas de las concentraciones mostradas en la **Tabla 1**. Todas las soluciones se ajustaron a pH 6,8. Se determinó la distribución del tamaño de las gotas de aerosol mediante la pulverización de las composiciones de galio y citrato usando el nebulizador de microbomba Evo Aeroneb Go en una unidad de impactador de cascada Andersen (ACI). El nebulizador se mantuvo cerca de la entrada del ACI hasta que dejó de ser visible el aerosol. El caudal del ACI se fijó en 28 l/min y se utilizó en condiciones ambientales, a menos que se indique lo contrario. Una vez vaciado el recipiente del nebulizador, se analizó la concentración de galio en cada una de las fases del ACI usando el espectrofotómetro de absorción atómica 4100ZL de Perkin Elmer dotado de una lámpara de galio. Se enjuagaron las placas del ACI y luego se empaparon con HNO<sub>3</sub> al 1 %. Se diluyó más la solución de galio disuelta con HNO<sub>3</sub> al 1 % hasta las concentraciones apropiadas antes del análisis. En la **Tabla 1**, se muestran el tiempo de funcionamiento del nebulizador y el diámetro aerodinámico mediano de la masa (MMAD) de las soluciones ensayadas. La distribución del tamaño de gota de las soluciones de ensayo se muestra en la **Figura 2**.

**Tabla 1**

Humedad	Concentración de galio (mM)	Concentración de citrato (mM)	Tiempo de funcionamiento del nebulizador (min)	MMAD (µm)
Ambiente	98	98	3,00	1,8
Ambiente	98	293	3,75	1,9
HR del 75 %	98	293	3,25	3,6
Ambiente	293	880	9,08	3,1

**EJEMPLO 3**

Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

- 5 Se disolvió  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  en agua nanopura, obteniéndose  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  al 2,6 % (p/v). Se secó la solución por pulverización a  $T_{\text{int}}/T_{\text{ext}} = 80/60$  °C,  $q = 0,5$  ml/min y  $P_{\text{atm}} = 15$  psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. El contenido de humedad residual fue del 27,8 % (p/p). Se encapsularon 50 mg del polvo en el interior de una cápsula de tipo 2 y se ensayaron en cuanto a la distribución del tamaño de partícula usando un impactador de cascada Andersen (ACI) dotado de Turbospin® (PH & T, Milán, Italia) a un caudal de 28 l/min. Las  $\text{FPD}_{<3,3 \mu\text{m}}$  y  $\text{FPD}_{<4,7 \mu\text{m}}$  fueron del 27 % y 39 %, respectivamente. El MMAD fue de 5,3  $\mu\text{m}$  y la DE se determinó en el 54,5 %.

- 15 La FPD es la distribución de partículas finas. Por ejemplo, una  $\text{FPD} < 4,7 \mu\text{m}$  indica cuánto polvo depositado es de un tamaño inferior a 4,7 micrómetros. En una realización preferida, la  $\text{FPD} < 4,7 \mu\text{m}$  es un mínimo, ya que hace que el polvo sea capaz de fluir aerodinámicamente profundamente en el pulmón, donde hay más alvéolos para absorber el galio. Por otra parte, cuanto más fluya el polvo en el pulmón, probablemente más eficaz será el galio en la destrucción de las bacterias en el pulmón.

- 20 Se prepararon composiciones que contenían galio preparadas con otros excipientes adecuados y se secaron por pulverización en las mismas condiciones. En la **Tabla 2**, se muestran las composiciones de dichas formulaciones de galio. Todas las soluciones se prepararon a pH 7,0, a excepción de aquellas que contenían trileucina, que se prepararon a pH 8,0. Los resultados de los ensayos de los aerosoles, así como el contenido de humedad residual se muestran en la **Tabla 3**. El efecto de la L-leucina y la trileucina sobre la distribución del tamaño de partícula se muestra en las **Figuras 3 y 4**. Las composiciones mostradas en la **Tabla 2** se mezclaron en solución acuosa y luego se prepararon en un polvo seco mediante secado por pulverización, usando las condiciones establecidas en el Ejemplo 3. Las propiedades de los aerosoles de la **Tabla 3** se obtuvieron luego de los análisis de ACI.

**Tabla 2**

Formulación Nº	$\text{NO}_3$ de galio (% p/v)	Citrato de Na (% p/v)	Manitol (% p/v)	L-leucina (% p/v)	Trileucina (% p/v)
1	1,6	1,6			
2	1,6	1,1	0,6		
3	1,5	1,0	0,6		0,2
4	1,5	1,0	0,6	0,8	
5	1,5	1,0	0,6	1,7	
6	1,5	1,0	0,6	0,4	
7	1,5	1,0		1,7	
8	1,5		0,6	1,7	
9	1,5		0,6	0,4	
10	1,5		1,5		
11	0,4	1,1	0,6	1,8	
12	0,4	1,1	0,6	0,5	
13	1,5	1,0	0,6		0,4
14	0,4	1,1	0,6		0,5
15	1,5			1,7	
16	1,5			0,4	
17	0,4			1,9	
18	1,5	1,0		0,4	
19	1,5	1,0	0,6	0,2	
20	1,5	1,0	0,6	0,1	
21	1,5	1,0		0,4	
22	1,5	1,5	0,6	0,4	
23	1,5	1,5		0,4	

Tabla 3

Formulación N°	Humedad residual (% p/p)	FPD <sub>&lt;3,3 μm</sub> (%)	FPD <sub>&lt;4,7 μm</sub> (%)	MMAD (μm)	DE (%)
1	7,7	1	10	>6	34,0
2	8,3	6	17	>6	41,0
3	3,5	41	66	3,5	63,3
4	5,3	32	60	4,1	52,3
5	3,5	45	67	3,3	72,2
6	5,1	40	60	3,6	57,1
7	4,0	40	66	3,7	72,2
8	6,0	44	71	3,5	58,2
9	10,0	49	74	3,3	44,1
10	2,2	47	72	3,5	64,7
11	2,2	47	72	3,3	63,5
12	2,4	41	68	3,5	64,7
13	6,7	45	72	3,5	70,2
14	3,5	46	74	3,4	67,4
15	6,4	46	73	3,5	64,0
16	18	49	75	3,3	49,7
17	1,6	56	82	2,9	71,0
18	7,4	29	55	4,4	47,0
19	5,6	25	49	4,8	52,2
20	7,0	12	26	>6	50,7
21	6,9	17	42	5,3	45,6
22	5,8	17	38	5,6	58,2
23	5,5	31	54	4,4	61,2

**EJEMPLO 4**

5 Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

Se disolvió Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> •9H<sub>2</sub>O en agua nanopura, obteniéndose Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> al 1,5 % (p/v). A la solución, se añadieron manitol al 0,6 % (p/v) y L-leucina al 0,4 % (p/v), y se ajustó el pH a pH 7,0. Se secó la mezcla por pulverización a T<sub>int</sub>/T<sub>ext</sub> = 80/60 °C, q = 0,5 ml/min y P<sub>atm</sub> = 24 psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. El contenido de humedad residual fue del 7,5 % (p/p). Se encapsularon 50 mg del polvo en el interior de una cápsula de tipo 2 y se ensayaron en cuanto a la distribución del tamaño de partícula usando un impactador de cascada Andersen (ACI) dotado de Turbospin® a un caudal de 28 l/min. Las FPD<sub><3,3 μm</sub> y FPD<sub><4,7 μm</sub> fueron del 65 % y 80 %, respectivamente. El MMAD fue de 2,6 μm y la DE se determinó en el 43,1 %.

**EJEMPLO 5**

Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

20 Se disolvió Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> •9H<sub>2</sub>O en agua nanopura, obteniéndose Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> al 1,5 % (p/v). A la solución, se añadieron manitol al 0,6 % (p/v) y L-leucina al 0,4 % (p/v), y se ajustó el pH a pH 7,0. Se secó la solución por pulverización a T<sub>int</sub>/T<sub>ext</sub> = 120/80 °C, q = 0,5 ml/min y P<sub>atm</sub> = 30 psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. El contenido de humedad residual fue del 5,7 % (p/p). Se encapsularon 50 mg del polvo en el interior de una cápsula de tipo 2 y se ensayaron en cuanto a la distribución del tamaño de partícula usando un impactador de cascada Andersen (ACI) dotado de Turbospin® a un caudal de 28 l/min. Las FPD<sub><3,3 μm</sub> y FPD<sub><4,7 μm</sub> fueron del 17 % y 20 %, respectivamente. El MMAD fue de > 6 μm y la DE se determinó en el 27,3 %.

**EJEMPLO 6**

30 Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

Se disolvió citrato de sodio dihidratado en agua nanopura, obteniéndose citrato de sodio al 1,0 % (p/v). A la solución, se añadieron manitol al 0,6 % (p/v) y L-leucina al 0,4 % (p/v), y se disolvió Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> •9H<sub>2</sub>O, obteniéndose Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>

al 1,5 % (p/v). Se secó la mezcla por pulverización a  $T_{int}/T_{ext} = 150/100$  °C,  $q = 0,5$  ml/min y  $P_{atm} = 34$  psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. El contenido de humedad residual fue del 3,7 % (p/p). Se encapsularon 50 mg del polvo en el interior de una cápsula de tipo 2 y se ensayaron en cuanto a la distribución del tamaño de partícula usando un impactador de cascada Andersen (ACI) dotado de Turbospin® a un caudal de 28 l/min. Las  $FPD_{<3,3 \mu m}$  y  $FPD_{<4,7 \mu m}$  fueron del 9 % y 11 %, respectivamente. El MMAD fue de > 6  $\mu m$  y la DE se determinó en el 33,6 %. Se prepararon composiciones que contenían galio preparadas con otros excipientes adecuados y se secaron por pulverización en las mismas condiciones. En la **Tabla 4**, se muestran las composiciones de dichas formulaciones de galio. Todas las soluciones se prepararon a pH 7,0. Los resultados de los ensayos de los aerosoles, así como el contenido de humedad residual se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 4

Formulación N°	NO <sub>3</sub> de galio (% p/v)	Citrato de Na (% p/v)	Manitol (% p/v)	L-leucina (% p/v)
24	1,5			0,4
25	0,4	1,1	0,6	0,5
26	1,5	1,0		0,4

Tabla 5

Formulación N°	Humedad residual (% p/p)	$FPD_{<3,3 \mu m}$ (%)	$FPD_{<4,7 \mu m}$ (%)	MMAD ( $\mu m$ )	DE (%)
24	16,2	33	39	>6	24,2
25	2,3	55	74	3,0	59,5
26	4,9	20	24	>6	36,3

**EJEMPLO 7**

Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

Se disolvió Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> • 9H<sub>2</sub>O en agua nanopura, obteniéndose Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> al 2,6 % (p/v). Se secó la solución por pulverización a  $T_{int}/T_{ext} = 55/35$  °C,  $q = 0,5$  ml/min y  $P_{atm} = 34$  psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. El contenido de humedad residual fue del 31,7 % (p/p). Se encapsularon 50 mg del polvo en el interior de una cápsula de tipo 2 y se ensayaron en cuanto a la distribución del tamaño de partícula usando un impactador de cascada Andersen (ACI) dotado de Turbospin® a un caudal de 28 l/min. Las  $FPD_{<3,3 \mu m}$  y  $FPD_{<4,7 \mu m}$  fueron del 4 % y 10 %, respectivamente. El MMAD fue de > 6  $\mu m$  y la DE se determinó en el 36,6 %.

**EJEMPLO 8**

Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

Se disolvió Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> • 9H<sub>2</sub>O en agua nanopura, obteniéndose Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> al 1,5 % (p/v). A la solución, se añadió iso-leucina al 0,4 % (p/v). Se secó la mezcla por pulverización a  $T_{int}/T_{ext} = 80/60$  °C,  $q = 0,5$  ml/min y  $P_{atm} = 15$  psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. El contenido de humedad residual fue del 18,3 % (p/p)

Se prepararon composiciones que contenían galio preparadas con otros excipientes adecuados y se secaron por pulverización en las mismas condiciones. Las composiciones de dichas formulaciones de galio se muestran en la **Tabla 6** junto con sus contenidos de humedad residual.

Tabla 6

Formulación N°	NO <sub>3</sub> de galio (% p/v)	Citrato de Na (% p/v)	Manitol (% p/v)	Iso-leucina (% p/v)	D-leucina (% p/v)	Humedad residual (% p/p)
27	1,5	1,5	0,6	0,4		4,7
28	1,5				0,4	20,0
29	1,5	1,5	0,6		0,4	5,4

**EJEMPLO 9**

Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

5 Se disolvió citrato de sodio dihidratado en agua nanopura, obteniéndose citrato de sodio al 2,8 % (p/v). A la solución, se añadió  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ , obteniéndose  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  al 2,8 % (p/v). A la solución que contenía galio, se añadió etanol, dando una composición final del 10 % (v/v). Se secó la mezcla por pulverización a  $T_{\text{int}}/T_{\text{ext}} = 80/60$  °C,  $q = 0,5$  ml/min y  $P_{\text{atm}} = 15$  psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. El contenido de humedad residual fue del 6,3 % (p/p)

10 Se prepararon composiciones que contenían galio preparadas con otros excipientes adecuados que contenían etanol y se secaron por pulverización en las mismas condiciones. Las composiciones de dichas formulaciones de galio se muestran en la **Tabla 7** junto con sus contenidos de humedad residual.

Formulación N°	$\text{NO}_3$ de galio (% p/v)	Citrato de Na (% p/v)	Manitol (% p/v)	L-leucina (% p/v)	EtOH (% v/v)	Humedad residual (% p/p)
30	2,8	2,8			30	7,7
31	2,8	2,8			50	10,3
32	1,6	1,6		0,4	10	8,5
33	1,6	1,6		0,4	30	9,1
34	1,6	1,6		0,4	50	7,3
35	1,4	1,4	0,02	0,4	10	6,6
36	1,4	1,4	0,02	0,4	30	6,9
37	1,4	1,4	0,02	0,4	50	6,7
38	1,4	1,4	0,09	0,4	10	7,8
39	1,4	1,4	0,09	0,4	30	7,7
40	1,4	1,4	0,09	0,4	50	8,5
41	1,3	1,3	0,6	0,4	10	5,1
42	1,3	1,3	0,6	0,4	50	5,7

15 **EJEMPLO 10**

Caracterización de la composición de galio secada por pulverización

20 Se determinó la cristalinidad de los polvos de galio secados por pulverización usando un difractor de polvo Philips X-Pert Pro MDP. La radiación usada fue generada por una fuente de  $\text{Cu K}\alpha$  con una longitud de onda de 1,5406 Å a 45 kV y 40 mA. Las muestras se exploraron a 5 ° a 75 °  $2\theta$  a una velocidad de barrido de 1,2 °  $2\theta$ /min usando un ancho de ranura de 0,25 °. Se hizo especial hincapié en la determinación de los efectos de los diversos excipientes en la cristalinidad de las partículas secadas por pulverización. En la **Tabla 8**, se muestran la composición de las formulaciones de galio examinadas, así como el contenido de humedad residual y un análisis cualitativo de la cristalinidad. Las exploraciones realizadas con el difractor de rayos X (XRD) revelan que el nitrato de galio secado por pulverización es amorfo como lo son el manitol y la L-leucina (**Figura 5**). Sin embargo, el citrato de sodio es cristalino, y la cristalinidad se mantiene incluso en presencia de otros excipientes.

25

Formulación N°	%, p/v				%	
	$\text{NO}_3$ de Ga	Citrato de Na	Manitol	L-leucina	Humedad	Cristalino/amorfo
pura	2,6				31,7	Amorfo
1	1,6	1,6			7,7	Cristalino
2	1,5	1,1	0,6		8,3	Cristalino
6	1,5	1,0	0,6	0,4	5,6	Cristalino
10	1,5		1,5		4,8	Amorfo
16	1,5			0,4	20,1	Amorfo
23	1,5	1,5		0,4	5,5	Amorfo

30

**EJEMPLO 10**

Caracterización de la composición de galio secada por pulverización

5 Se examinó la morfología de las partículas de los polvos de galio secados por pulverización mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Las imágenes de SEM se realizaron con SEM de emisión de campo de cátodo frío JEOL JSM-6700F. Por lo general, se fijaron los polvos a una cinta de doble cara de carbono sobre un adaptador de aluminio, y se recubrieron por bombardeo iónico con platino durante 100 segundos. El instrumento usado para el recubrimiento con platino fue un recubridor de bombardeo iónico de alta resolución Polaron Range SC7640 de Quorum Technologies (Reino Unido). El recubrimiento se realizó dos veces con un período de descanso de 5 minutos entre las pasadas para evitar el calentamiento excesivo de la muestra. El espesor aproximado del recubrimiento de platino fue de 15 nm. Inmediatamente después del secado por pulverización, se generaron imágenes de varios polvos de galio, de composición variable. La formación de imágenes reveló que el nitrato de galio secado por pulverización dio lugar a partículas esféricas (**Figura 6a**), en contraste con el nitrato de galio liofilizado, que mantuvo la morfología cúbica del material puro. El secado por pulverización de una composición de galio, que contenía nitrato de galio y citrato de sodio en una relación molar de 1:1, dio lugar a partículas esféricas con estructuras cúbicas enriquecidas sobre la superficie de la partícula (**Figura 6b**), mientras que las que contenían L-leucina produjeron partículas esféricas con morfologías arrugadas (Las **Figuras 6c, d y e**).

**EJEMPLO 11A**

Efecto del galio *in vivo*

25 Para comparar la farmacocinética del galio administrado por vía intratraqueal, se prepararon dos composiciones que contenían galio, como se muestra en la **Tabla 9**. También se preparó una formulación de placebo. Se administraron dichas soluciones por vía intratraqueal a ratas hembras Sprague Dawley que pesaban aproximadamente 200 g. Se anestesiaron las ratas con isoflurano al 1-3 % por inhalación, y se administraron las composiciones que contenían galio usando una jeringa. Se insertó la punta roma de la aguja de alimentación por la cavidad oral en la tráquea hasta el nivel de la bifurcación y se administraron 200 µl de la solución. Una vez completada la instilación intratraqueal, se dejó que los animales se recuperaran. Se sacrificaron los animales en diversos puntos temporales (0 h, 1 h, 3 h, 6 h, 24 h y 72 h), y se extrajeron los riñones, el estómago, el hígado y los pulmones además del líquido de lavado pulmonar y sangre. Como control, también se administró la formulación N° 45 por vía intravenosa.

Tabla 9				
Formulación N°	NO <sub>3</sub> de galio (% p/v)	PPX de galio (% p/v)	Citrato de Na (% p/v)	Manitol (% p/v)
43	0,74		0,74	1,0
44		0,05	0,74	1,0
45			0,74	1,0

35 PPX de galio significa protoporfirina de galio. El pH de la solución que contenía PPX de galio se ajustó a 7,8, mientras que los otros dos se ajustaron a 7,0. Todas las soluciones se filtraron dos veces a través de un filtro de 0,22 µm.

**EJEMPLO 11B**

40 Efecto del galio *in vivo*

45 Para determinar la toxicidad del galio administrado por vía intratraqueal, se prepararon varias composiciones que contenían galio, como se muestra en la **Tabla 10**. También se prepararon dos formulaciones de placebo, la formulación 51 y 52. Para las dos formulaciones que contenían L-leucina, se secaron las soluciones por pulverización a  $T_{in}/T_{ext} = 80/60$  °C,  $q = 0,5$  ml/min y  $P_{atm} = 15$  psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR <5 %, respectivamente. El contenido de humedad residual fue del 5,0 % (p/p) para ambos polvos. Antes de la administración, se rehidrataron los polvos secados por pulverización para ajustarlos a la concentración de citrato inicial antes del secado por pulverización, es decir, 14,7 % (p/v). Todas las soluciones enumeradas en la **Tabla 10** se administraron por vía intratraqueal a ratas hembras Sprague Dawley que pesaban aproximadamente 200 g. Se anestesiaron las ratas con isoflurano al 1-3 % por inhalación y se administraron las composiciones que contenían galio usando una jeringa. Se insertó la punta roma de la aguja de alimentación por la cavidad oral en la tráquea hasta el nivel de la bifurcación y se administraron 50 µl de la solución. Una vez completada la instilación intratraqueal, se dejó que los animales se recuperaran. Los animales recibieron la dosis una vez al día durante los 13 días siguientes y fueron sacrificados al décimo cuarto día. Se extrajeron los riñones, el estómago, el hígado y los pulmones además del líquido de lavado pulmonar y sangre.

Tabla 10

Formulación Nº	NO <sub>3</sub> de galio (% p/v)	PPX de galio (% p/v)	Citrato de Na (% p/v)	Manitol (% p/v)	L-leucina (% p/v)
46	14,7		14,7	1,0	
47	14,7		14,7	0,6	0,9
48		0,05	0,74	1,0	
49			14,7	1,0	
50			14,7	0,6	0,9

PPX de galio significa protoporfirina de galio. El pH de las soluciones de NO<sub>3</sub> de galio se ajustó a 7,0, mientras que la PPX de galio se ajustó a 7,8. Todas las soluciones se filtraron dos veces a través de un filtro de 0,22 µm.

5

**EJEMPLO 12**

Efecto del galio *in vitro*

- 10 Se sembraron varias cepas mucoides y no mucoides de *P. aeruginosa* sobre placas de agar de cetrimida para que crecieran durante la noche. Se recogieron los cultivos de las placas y se inocularon en caldo de soja tripticasa (TSB) al 1 %. Cuando la densidad óptica (DO<sub>590nm</sub>) era de 0,4 (fase de crecimiento exponencial medio), se diluyó el contenido del caldo en caldo BM-2 privado de hierro que contenía diversas concentraciones de nitrato de galio. Se cultivó la muestra durante 24 horas y luego se midió la DO<sub>590nm</sub>. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) para el nitrato de galio para las diferentes especies mostradas en la **Tabla 11**. Los valores de tobramicina y aztreonam se dan a efectos comparativos.
- 15

Tabla 11

Cepa mucoide	CIM de la tobramicina (µg/ml)	CIM del Aztreonam (µg/ml)	CIM del galio (µg/ml)
96JC	16 (R)*	32 (R)	<1
47JS	32 (R)	16 (I)	<1
97JE	256 (R)	32 (R)	<1
41JQ	256 (R)	32 (R)	<32
20JR	4 (S)	8 (S)	<1
62LL	1 (S)	32 (R)	<1
35LK	8 (I)	1 (S)	<1
<b>Cepa no mucoide</b>			
9HN	128(R)	32 (R)	<2
39IV	4 (S)	32 (R)	<1
30IX	16 (R)	1 (S)	<1
46IV	64 (R)	32 (R)	<1
55HY	128(R)	16 (I)	<1
30JS	1 (S)	4 (S)	<1
38LL	16 (I)	32 (R)	<1

\*R (resistente); S (susceptible); I (intermedia)

20 **EJEMPLO 13**

Efecto *in vitro* del galio contra *P. aeruginosa*

- 25 Se sembraron varias cepas mucoides y no mucoides de *P. aeruginosa* (obtenidas de la Universidad de Columbia, Departamento de enfermedades infecciosas pediátricas) en placas de agar cetrimida para que crecieran durante la noche. Se recogieron los cultivos de las placas y se inocularon en caldo de soja tripticasa (TSB) al 1 %. Cuando la densidad óptica (DO<sub>590nm</sub>) era de 0,4 (fase de crecimiento exponencial medio), se diluyó el contenido del caldo en caldo BM-2 privado de hierro que contenía diversas concentraciones de nitrato de galio. Se cultivó *P. aeruginosa* en presencia de composiciones que contenían galio y se midió la densidad óptica (DO<sub>590nm</sub>) en varios puntos temporales después de la exposición. En algunos casos, las mismas cepas expuestas a composiciones que contenían galio también se ensayaron con Aztreonam y tobramicina a concentraciones similares para comparar la eficacia.
- 30

**EJEMPLO 14**

Efecto *in vitro* del galio contra *P. aeruginosa*

- 5 Se sembró cepa no mucoide aislada de *P. aeruginosa* 46IV en placas de agar cetrimida para que crecieran durante la noche. Se recogieron los cultivos de las placas y se inocularon en caldo de soja tripticasa (TSB) al 1 %. Cuando la densidad óptica (DO<sub>590nm</sub>) era de 0,4 (fase de crecimiento exponencial medio), se diluyó el contenido del caldo en caldo BM-2 privado de hierro que contenía diversas concentraciones de composiciones de nitrato-citrato de galio, que variaban de galio 0 a 250 µM a relación molar del galio con respecto al citrato de 1:1. En diversos momentos  
10 después de la exposición del galio, las muestras se sembraron en placas de agar cetrimida para enumerar el título bacteriano restante (**Figura 7**).

**EJEMPLO 15**

- 15 Efecto *in vitro* del galio contra *B. dolosa*

Se sembró cepa aislada de *Burkholderia dolosa*, AU0158, obtenida del Laboratorio Channing, Departamento de medicina, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School, en placas de agar cetrimida para que crecieran durante la noche. Se recogieron los cultivos de las placas y se inocularon en caldo de soja tripticasa (TSB) al 1 %.  
20 Cuando la densidad óptica (DO<sub>590nm</sub>) era de 0,4 (fase de crecimiento exponencial medio), se diluyó el contenido del caldo en caldo BM-2 privado de hierro que contenía diversas concentraciones de composiciones de nitrato-citrato de galio, que variaban de galio 0 a 150 µM a relación molar del galio con respecto al citrato de 1:1. En diversos momentos después de la exposición del galio, las muestras se sembraron en placas de agar cetrimida para enumerar el título bacteriano restante (**Figura 8**).

25

**EJEMPLO 16**

Efecto *in vitro* del galio contra *A. baumannii*

- 30 Se sembró cepa aislada de *Acinetobacter baumannii*, ATCC 17978, obtenida del Laboratorio Channing, Departamento de medicina, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School, en placas de agar cetrimida para que crecieran durante la noche. Se recogieron los cultivos de las placas y se inocularon en caldo de soja tripticasa (TSB) al 1 %. Cuando la densidad óptica (DO<sub>590nm</sub>) era de 0,4 (fase de crecimiento exponencial medio), se diluyó el contenido del caldo en caldo BM-2 privado de hierro que contenía diversas concentraciones de nitrato de galio, que variaban de galio 0 a 150 µM a relación molar del galio con respecto al citrato de 1:1. En diversos  
35 momentos después de la exposición del galio, las muestras se sembraron en placas de agar cetrimida para enumerar el título bacteriano restante (**Figura 9**).

**EJEMPLO 17**

- 40 Efecto *in vitro* del galio contra *B. anthracis*

Se cultivaron células de *B. anthracis* 7702 durante la noche en caldo de soja tripticasa (TSB) al 1 % a 37 °C con agitación a una densidad óptica (DO<sub>600nm</sub>) de ~5. Luego se diluyeron las células a una DO<sub>600nm</sub> de 0,05 en TSB y se  
45 cultivaron durante aproximadamente 3 horas. Una vez que la DO<sub>600nm</sub> hubo alcanzado 0,75, se sedimentaron las células, se lavaron con PBS y se volvieron a suspender en TSB a una concentración de ~10<sup>5</sup> células/ml. Se mezclaron 10 ml del cultivo diluido con una solución de galio recién preparada que contenía diversas concentraciones de nitrato de galio, que variaban de galio 0 a 1.710 µM a relación molar del galio con respecto al citrato de 1:1. Se incubaron las células durante la noche a 37 °C con agitación, y se realizaron las mediciones de  
50 DO<sub>600nm</sub> tras aproximadamente 20 horas de crecimiento. Los resultados se muestran a continuación (**Tabla 12**).

Tabla 12	
Concentración de galio (µM)	DO <sub>600nm</sub>
0	0,114
6,8	0,000
23,3	0,000
27,1	0,001
88,9	0,003
614,8	0,000
1.709,9	0,000



**EJEMPLO 18**

Farmacocinética *in vivo* del galio administrado en el pulmón

- 5 Se ensayó el tiempo de residencia de las formulaciones de galio en aerosol en ratas adultas Sprague-Dawley por vía intratraqueal (i.t.) directa. Se administró una formulación comparable por vía intravenosa como control. La solución de galio formulada administrada i.t. presentó un tiempo de residencia significativamente más largo en el pulmón que la administración por vía i.v. (**Figura 10**).

10 **EJEMPLO 19**

- La Tabla 13 describe las relaciones molares de algunas de las formulaciones de la presente invención. Dichas formulaciones no son limitantes. Las formulaciones 45, 49 y 50 no contienen galio. Las formulaciones 44 y 48 contienen galio en una sal de protoporfirina (de mayor peso molecular que el nitrato), por lo tanto, la relación del manitol y citrato con respecto al galio es sesgada para dichas composiciones.

<b>Tabla 13. Relaciones molares de los componentes de las formulaciones de galio</b>									
	Nº	Ga	Citrato	Manitol	Leu	Leu3	D-leu	iso-leu	EtOH % (v/v)
	1	1,0	1,0						
	2	1,0	0,7	0,5					
	3	1,0	0,7	0,6		0,1			
	4	1,0	0,7	0,6	1,0				
	5	1,0	0,7	0,6	2,2				
	6	1,0	0,7	0,6	0,5				
	7	1,0	0,7		2,2				
	8	1,0		0,6	2,2				
	9	1,0		0,6	0,5				
	10	1,0		1,4					
	11	1,0	2,7	2,1	8,8				
	12	1,0	2,7	2,1	2,4				
	13	1,0	0,7	0,6		0,2			
	14	1,0	2,7	2,1		0,8			
	15	1,0			2,2				
	16	1,0			0,5				
	17	1,0			9,3				
	18	1,0	0,7		0,5				
	19	1,0	0,7	0,6	0,3				
	20	1,0	0,7	0,6	0,1				
	21	1,0	0,7		0,5				
	22	1,0	1,0	0,6	0,5				
	23	1,0	1,0		0,5				
	24	1,0			0,5				
	25	1,0	2,7	2,1	2,4				
	26	1,0	0,7		0,5				
	27	1,0	1,0	0,6				0,5	

Tabla 13. Relaciones molares de los componentes de las formulaciones de galio									
	Nº	Ga	Citrato	Manitol	Leu	Leu3	D-leu	iso-leu	EtOH % (v/v)
	28	1,0					0,5		
	29	1,0	1,0	0,6			0,5		
	30	1,0	1,0						30
	31	1,0	1,0						50
	32	1,0	1,0		0,5				10
	33	1,0	1,0		0,5				30
	34	1,0	1,0		0,5				50
	35	1,0	1,0	0,02	0,6				10
	36	1,0	1,0	0,02	0,6				30
	37	1,0	1,0	0,02	0,6				50
	38	1,0	1,0	0,1	0,6				10
	39	1,0	1,0	0,1	0,6				30
	40	1,0	1,0	0,1	0,6				50
	41	1,0	1,0	0,6	0,6				10
	42	1,0	1,0	0,6	0,6				50
	43	1,0	1,0	1,9					
PPX de Ga	44	1,0	36,1	69,2					
Sin galio	45								
	46	1,0	1,0	0,1					
	47	1,0	1,0	0,1	0,1				
	48	1,0	36,1	69,2					
Sin galio	49								
Sin galio	50								

**EJEMPLO 20**

Efecto de las relaciones del citrato con respecto al galio en la solubilidad

5

Lo siguiente se refiere a la preparación de diversas realizaciones de la formulación de la presente invención que se usarán para la administración en aerosol. Para determinar la solubilidad de las mezclas de galio y citrato, se variaron la concentración del galio, la proporción del citrato con respecto al galio y el pH de la solución. Se mezcló nitrato de galio 58,7 mM con cantidades apropiadas de citrato de sodio, obteniéndose las relaciones que se muestran en la **Tabla 14** que se presenta a continuación. Al añadirse, el citrato de sodio era citrato de sodio dihidratado sólido (cristalino o en polvo). La mezcla se realizó mediante agitación manual en un tubo de ensayo, facilitándose la disolución mediante el calentamiento en un baño de agua caliente, donde el baño se mantuvo a aproximadamente 60-80 °C. Se ajustó el pH a los valores indicados (pH 3, 7 o 10) usando NaOH o HCl. La solubilidad de la mezcla se determinó visualmente, es decir, por la falta de precipitado. El término "precipitado" engloba bien que el nitrato de galio y el citrato de sodio nunca se disuelven por completo en solución, o que el nitrato de galio y el citrato de sodio se disuelven completamente, pero con la formación de un precipitado al dejar que la mezcla alcance la temperatura ambiente. Para ajustar el pH, se añadió NaOH 10 N inicialmente controlando el pH. A medida que el pH se acercaba al pH deseado, se añadió NaOH 1 N, en lugar de NaOH 10 N. Aunque el tiempo hasta la evaluación de la precipitación no es relevante, se esperaron aproximadamente 48 horas hasta la evaluación de la precipitación con el fin de garantizar la estabilidad de la solución durante largos períodos de tiempo.

20

A la concentración de galio dada, cualquier relación molar del citrato con respecto al galio superior o igual a 1:1 resultó en una mezcla soluble para los intervalos de pH estudiados de la solución. En ausencia de citrato, sin

embargo, la mezcla de galio y citrato resultó no ser soluble en las condiciones neutras a alcalinas.

**Tabla 14.** Efecto de la relación molar del citrato con respecto al galio sobre la solubilidad de la mezcla a diversos pH, que varían de pH 3 a 10. El galio estaba presente a 58,7 mM, y se añadieron cantidades apropiadas de citrato de sodio, de acuerdo con la relación molar mostrada a continuación, tras lo que se ajustó el pH. Los ejemplos de las dos tablas siguientes, relativas a la precipitación, demuestran el efecto de la relación molar del citrato con respecto al galio sobre la solubilidad de la mezcla. La solubilidad se determinó en base a si los sólidos se disolvían o si precipitaban durante el almacenamiento a corto plazo, juzgado visualmente. El ejemplo demuestra que la relación del citrato con respecto al galio de 2:1 produce la solubilidad más alta, en un amplio intervalo de pH (pH 3-10), permitiendo así el aumento de la dosis de galio para un volumen dado. En el caso de que existan limitaciones en la solubilidad (como puede ser el caso de una relación 1:1), entonces puede que no sea viable administrar una dosis terapéutica de galio en una cantidad práctica de dosis o tiempo. Los resultados de estas dos tablas tienen aplicación para su uso en forma de aerosol, y también pueden proporcionar directrices para las formulaciones de polvo seco.

Citrato/Galio (relación molar)	pH	¿Precipitado?
0	3	No
0	7	Sí
0	10	Sí
1	3	No
1	7	No
1	10	No
2	3	No
2	7	No
2	10	No
3	3	No
3	7	No
3	10	No

#### EJEMPLO 21

Efecto de las relaciones del citrato con respecto al galio en la solubilidad

Para determinar la solubilidad de las mezclas de galio y citrato, se variaron la concentración del galio, la proporción del citrato con respecto al galio y el pH de la solución. Se mezcló nitrato de galio (234,6 mM) con cantidades apropiadas de citrato de sodio, obteniéndose las relaciones que se muestran en la **Tabla 15** que se presenta a continuación. Se ajustó el pH a los valores indicados (pH 3, 7 o 10) usando NaOH o HCl. La solubilidad de la mezcla se determinó visualmente, es decir, por la falta de precipitado. A la concentración de galio dada, la relación molar del citrato con respecto al galio de 2 resultó en una mezcla soluble para los intervalos de pH de la solución estudiados, mientras que la solución de galio que no contenía citrato resultó no ser soluble a ninguno de los pH examinados. A la relación molar 1:1 del citrato con respecto al galio, se observó precipitado para la solución preparada a pH 10, mientras que a la relación molar 3:1, el precipitado se observó a pH 3.

**Tabla 15.** Efecto de la relación molar del citrato con respecto al galio sobre la solubilidad de la mezcla a diversos pH, que varían de pH 3 a 10. El galio estaba presente a 234,6 mM, y se añadieron cantidades apropiadas de citrato de sodio, de acuerdo con la relación molar mostrada a continuación, tras lo que se ajustó el pH. Lo que se proporciona son formulaciones y soluciones, donde la relación molar de citrato:galio es de aproximadamente 1:1, aproximadamente 1,2:1, aproximadamente 1,3:1, aproximadamente 1,4:1, aproximadamente 1,5:1, aproximadamente 1,6:1, aproximadamente 1,7:1, aproximadamente 1,8:1, aproximadamente 1,9:1, aproximadamente 2,0:1, o superior, donde la formulación o la solución tiene la siguiente propiedad. Cuando se ensaya a pH 10, de acuerdo con el método descrito en el presente documento, por ejemplo, con galio a 234,6 mM, no hay precipitado. Además, lo que se proporciona son formulaciones y soluciones, donde la relación molar del citrato:galio es de al menos 1:1, de al menos 1,2:1, de al menos 1,3:1, de al menos 1,4:1, de al menos 1,5:1, de al menos 1,6:1, de al menos 1,7:1, de al menos 1,8:1, de al menos 1,9:1, de al menos 2,0:1, o superior, donde la formulación o la solución tiene la siguiente propiedad. Cuando se ensaya a pH 10, de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento, por ejemplo, con galio a 234,6 mM, no hay precipitado

- 5 En otro aspecto, se pueden realizar los ensayos anteriores, donde la concentración de galio es de 234,6 mM, 117,3 mM, 58,65 mM, 29,3 mM o 14,6 mM, y así sucesivamente, y las formulaciones, las soluciones y los métodos relacionados se pueden basar en relaciones de citrato:galio que no produzcan precipitación. En otro aspecto, se puede usar un anión o agente complejante distinto del citrato, pudiéndose preparar las formulaciones, las soluciones y los métodos apropiados de la presente invención.

Tabla 15		
Citrato/Galio (relación molar)	pH	¿Precipitado?
0	3	Sí
0	7	Sí
0	10	Sí
1	3	No
1	7	No
1	10	Sí
1,5	3	No
1,5	7	No
1,5	10	Sí
2	3	No
2	7	No
2	10	No
3	3	Sí
3	7	No
3	10	No
Galio a 469,2 mM		
1	3	Sí
1	7	No
1	10	(No ensayado porque se encontró precipitado con 234,6 mM)
1,5	3	No
1,5	7	No
1,5	10	(No ensayado porque se encontró precipitado con 234,6 mM)
2	3	No
2	7	No
2	10	Sí

## EJEMPLO 22

- 10 Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

- 15 Se disolvió  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ , obteniéndose  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  58,7 mM. Se añadió citrato de sodio dihidratado a la solución de galio en una cantidad correspondiente a las relaciones molares del citrato con respecto al galio de 1:1, 2:1 y 3:1 (Tabla 16). A la solución, se añadió L-leucina 30,5 Mm, y se ajustó el pH de la solución a 7. Se secó la solución por pulverización a  $T_{\text{int}}/T_{\text{ext}} = 80/60$  °C,  $q = 0,5$  ml/min y  $P_{\text{atm}} = 24$  psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. Se encapsularon 50 mg del polvo en el interior de una cápsula de tipo 2 y se ensayaron en cuanto a la distribución del tamaño de partícula usando un impactador de cascada Andersen (ACI) dotado de Turbospin® a un caudal de 28 l/min. Se determinaron la  $\text{FPD}_{<3,3 \mu\text{m}}$ , la  $\text{FPD}_{<4,7 \mu\text{m}}$

y el MMAD, y se muestran en la siguiente tabla (**Tabla 16**).

**Tabla 16.** Composiciones compuestas de galio 58,7 mM a varias relaciones molares del citrato con respecto al galio, que varían de 1 a 3, y L-leucina a 30,5 mM. También se dan las propiedades de los aerosoles, según lo caracterizado mediante el ACI.

Formulación N°	Citrato/Galio (relación molar)	Galio (mM)	L-leucina (mM)	FPD <sub>&lt;3,3 μm</sub> (%)	FPD <sub>&lt;4,7 μm</sub> (%)	MMAD (μm)
51	1	58,7	30,5	0,530	0,759	3,13 ± 0,06
52	2	58,7	30,5	0,403	0,613	3,87 ± 0,06
53	3	58,7	30,5	0,465	0,675	3,49 ± 0,11

### EJEMPLO 23

Preparación de galio en polvo seco usando el método de secado por pulverización

Se disolvió Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> • 9H<sub>2</sub>O, obteniéndose Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 58,7 mM. Se añadió citrato de sodio dihidratado a la solución de galio en una cantidad correspondiente a las relaciones molares del citrato con respecto al galio de 2:1 (**Tabla 17**). Se añadieron varios aminoácidos, a una concentración correspondiente al 1,2 % (p/v), y se ajustó el pH de la solución a 7. Se secó la solución por pulverización a T<sub>int</sub>/T<sub>ext</sub> = 80/60 °C, q = 0,5 ml/min y P<sub>atm</sub> = 24 psi. El polvo se recogió en condiciones de temperatura y humedad controladas de 30 °C y HR < 5 %, respectivamente. Se encapsularon 50 mg del polvo en el interior de una cápsula de tipo 2 y se ensayaron en cuanto a la distribución del tamaño de partícula usando un impactador de cascada Andersen (ACI) dotado de Turbospin® a un caudal de 28 l/min. Se determinaron la FPD<sub><3,3 μm</sub>, la FPD<sub><4,7 μm</sub> y el MMAD, y se muestran en la siguiente tabla (**Tabla 18**).

**Tabla 17.** Composiciones compuestas de galio 58,7 mM a la relación molar del citrato con respecto al galio de 2 y un aminoácido presente al 1,2 % (p/v). Los aminoácidos examinados incluían L-leucina, valina, histidina y lisina.

Formulación N°	Citrato/Galio (relación molar)	Galio (mM)	Leucina (mM)	Valina (mM)	Histidina (mM)	Lisina (mM)
54	2	58,7	91,6			
55	2	58,7		102,4		
56	2	58,7			77,3	
57	2	58,7				82,1

**Tabla 18.** Propiedades de los aerosoles, según lo caracterizado por el ACI, para las formulaciones descritas en la **Tabla 17**.

Formulación N°	FPD <sub>&lt;3,3 μm</sub> (%)	FPD <sub>&lt;4,7 μm</sub> (%)	MMAD (μm)
54	64,1 ± 2,0	84,3 ± 2,0	2,67 ± 0,05
55	37,4 ± 3,2	62,8 ± 3,0	4,06 ± 0,23
56	33,9 ± 3,5	54,5 ± 3,0	4,61 ± 0,28
57	32,1 ± 1,6	51,6 ± 1,5	4,84 ± 0,16

La **Tabla 19** proporciona los valores de control del tamaño de partícula (MMAD), donde las partículas de control se prepararon sin ningún tipo de aminoácido.

	Formulación N° 1	Formulación N° 2	Formulación N° 3
Citrato:Galio	0:1	1:1	2:1
Peso (% de galio)	27,26 %	13,57 %	9,03 %
Excipiente	ninguno	ninguno	ninguno
MMAD medio	>9	>9	8,05 ± 1,04

	Formulación N° 1	Formulación N° 2	Formulación N° 3
% de CH	9,21	8,13 ± 0,06	7,35 ± 0,34
% depositado	7,90 %	22,35 % ± 7,71	26,65% ± 1,34
% de rendimiento	48,80 %	68,20 %	74,95 %
FPD < 3 micrómetros	0,187	0,009 ± 0,013	0,122 ± 0,018
FPD < 5 micrómetros	0,321	0,026 ± 0,026	0,298 ± 0,032
% de CH significa el porcentaje de contenido de humedad. En una realización preferida, el contenido de humedad es mínimo. En general, con la humedad mínima, el polvo se agregará al mínimo, por ejemplo, durante el almacenamiento.			

Como será evidente para el experto en la materia, es posible realizar muchas modificaciones y variaciones de la presente invención, con el fin de adaptarse a una situación, un material, una composición de materia o un proceso en particular, para preservar el objetivo, el espíritu y el alcance de la invención. Se pretende que la totalidad de dichas modificaciones se encuentre dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas sin apartarse del espíritu ni alcance de la invención. Las realizaciones específicas descritas en el presente documento se ofrecen solamente a modo de ejemplo, y la invención está limitada por los términos de las reivindicaciones adjuntas, junto con el alcance completo de los equivalentes a los que dichas reivindicaciones tienen derecho; y la invención no está limitada por las realizaciones específicas que se han presentado en el presente documento a modo de ejemplo.

5

10

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una formulación farmacéutica que comprende una solución, o un polvo seco obtenido de dicha solución, de una concentración antimicrobiana eficaz de galio (III) y citrato, en la que la relación molar del citrato con respecto al galio es de 1,25:1 a 4:1.
2. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la formulación es una formulación líquida y la relación molar del citrato con respecto al galio es de 2:1.
- 10 3. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la relación molar del nitrato con respecto al galio es inferior a 0,1:1.
4. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la formulación es un aerosol.
- 15 5. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1 que comprende un agente complejante seleccionado entre manitol, maltolato, protoporfirina IX, sideróforos de los grupos del catecolato, hidroxamato e hidroxicarboxilato, hemóforos bacterianos, un quelante de hierro o cualquier mezcla de los mismos.
- 20 6. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la formulación es un polvo seco.
7. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1 que comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable seleccionado entre:
- 25 a) un poliol que es sacarosa, trehalosa, glucosa, rafinosa, sorbosa, melezitosa, glicerol, fructosa, manosa, maltosa, lactosa, arabinosa, xilosa, ribosa, ramnosa, galactosa, glicosa, manitol, xilitol, eritritol, treitol, dextrosa, fucosa, ácido poliaspártico, hexafosfato de inositol (ácido fítico), ácido siálico, lactosa de ácido *N*-acetilneuramínico o sorbitol;
- 30 b) un aminoácido que es leucina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina, prolina y una mezcla de los mismos;
- c) un tripéptido compuesto por dos leucinas y un aminoácido seleccionado entre leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina y prolina;
- d) una proteína que es transferrina, lactoferrina, albúmina de suero humano o albúmina de suero humano recombinante;
- 35 e) una sal de ácido orgánico que es ácido tartárico o tartrato, o ácido láctico o lactato;
- f) copolímeros tensioactivos de bloque de polietileno, polipropilenglicol, monolaurato de polietilenglicolsorbitán o monooleato de polioxietilensorbitán;
- g) un polisacárido que es ácido algínico, alginatos, heparina, sulfatos de heparina, ácido hialurónico, hialuronatos, quitosán, quitina, almidón, derivados de almidón, carboximetil almidón, hidroxietil almidón (HES) o dextrano;
- 40 h) un polímero que es polivinilpirrolidona (PVP), gelatina, colágeno, condroitín sulfato o alcohol polivinílico (PVA).
8. Un dispositivo configurado para proporcionar un aerosol, donde el dispositivo comprende la formulación farmacéutica de la reivindicación 1 y donde el dispositivo es capaz de administrar un aerosol de la formulación farmacéutica en los pulmones, la nariz, los senos nasales, el tracto gastrointestinal o la piel.
- 45 9. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1 para su uso en un método de tratamiento o prevención de una infección en un sujeto que tiene la infección o se encuentra en riesgo de padecer la infección.
- 50 10. La formulación farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 9, donde la infección comprende una infección pulmonar.
11. La formulación farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 9, donde la infección comprende:
- 55 a) una bacteria gram-negativa que es *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, especies de enterobacterias, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos o *Mycobacterium tuberculosis*; o
- 60 b) una bacteria gram-positiva que es *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*, *Spahylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), *Actinobacteria*, *Lactobacillaes*, *Actinomycies* o *Clostridium*.
12. La formulación farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 9, donde el sujeto tiene fibrosis quística, bronquiectasia, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC), o es un paciente con ventilación artificial.
- 65

**Figura 1**

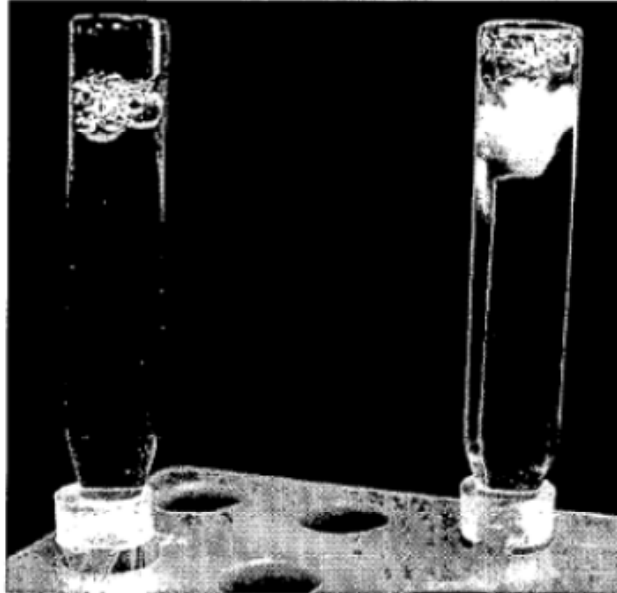




Figura 2

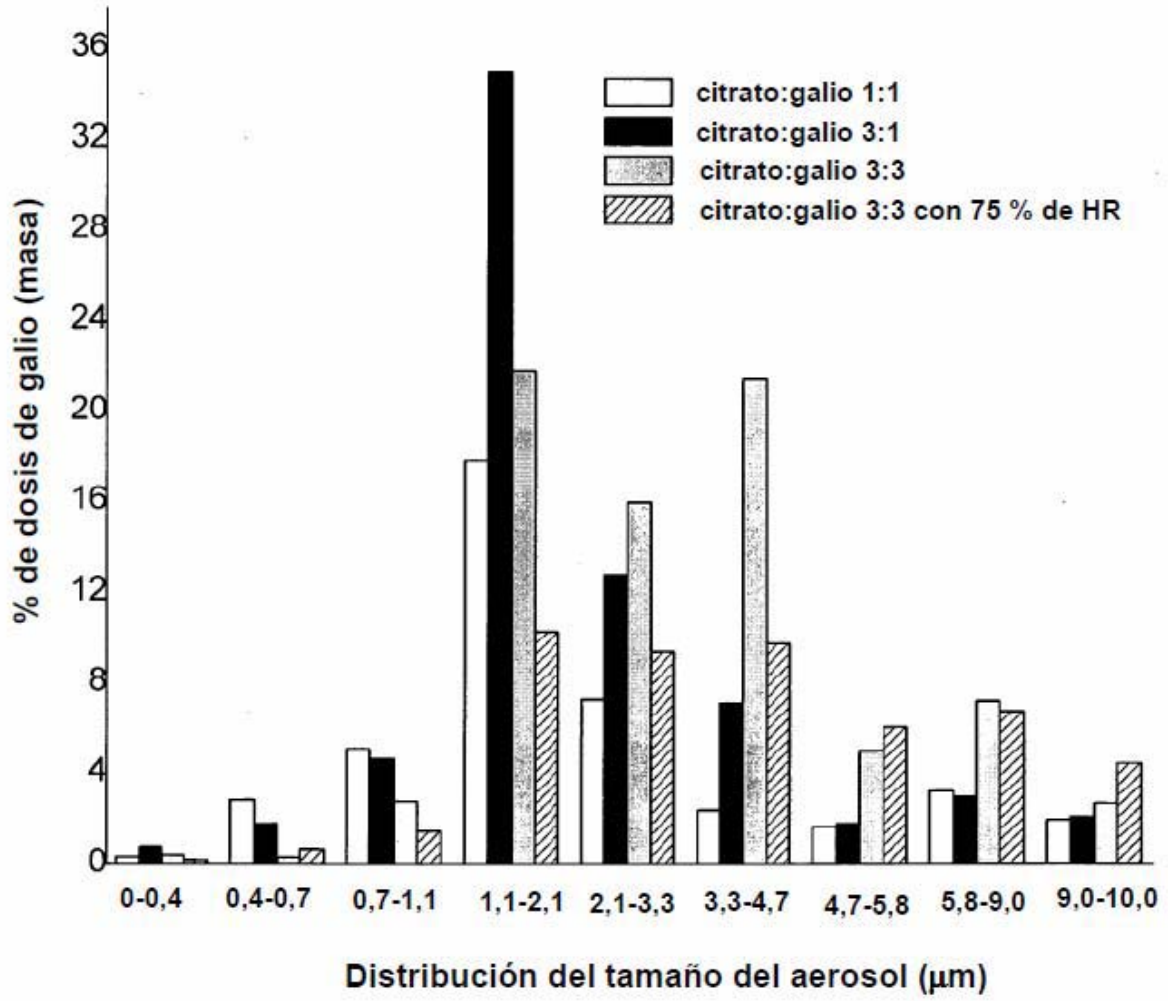


Figura 3

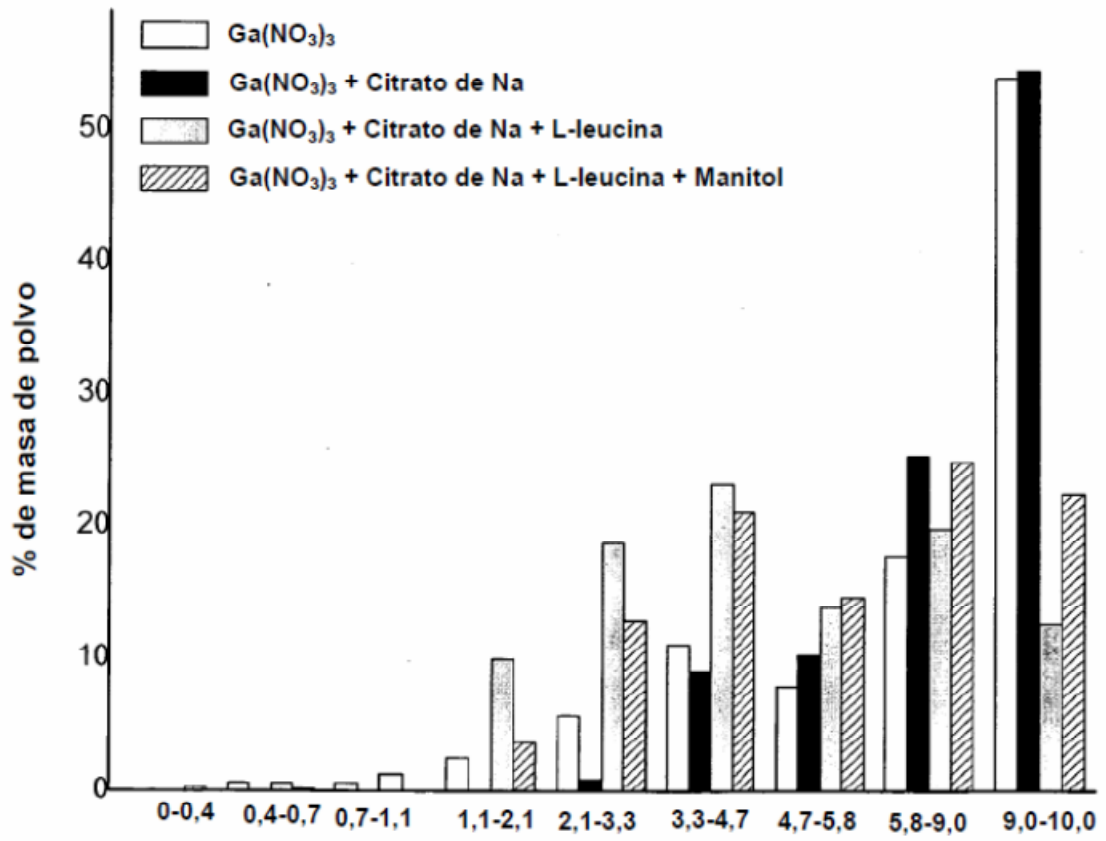
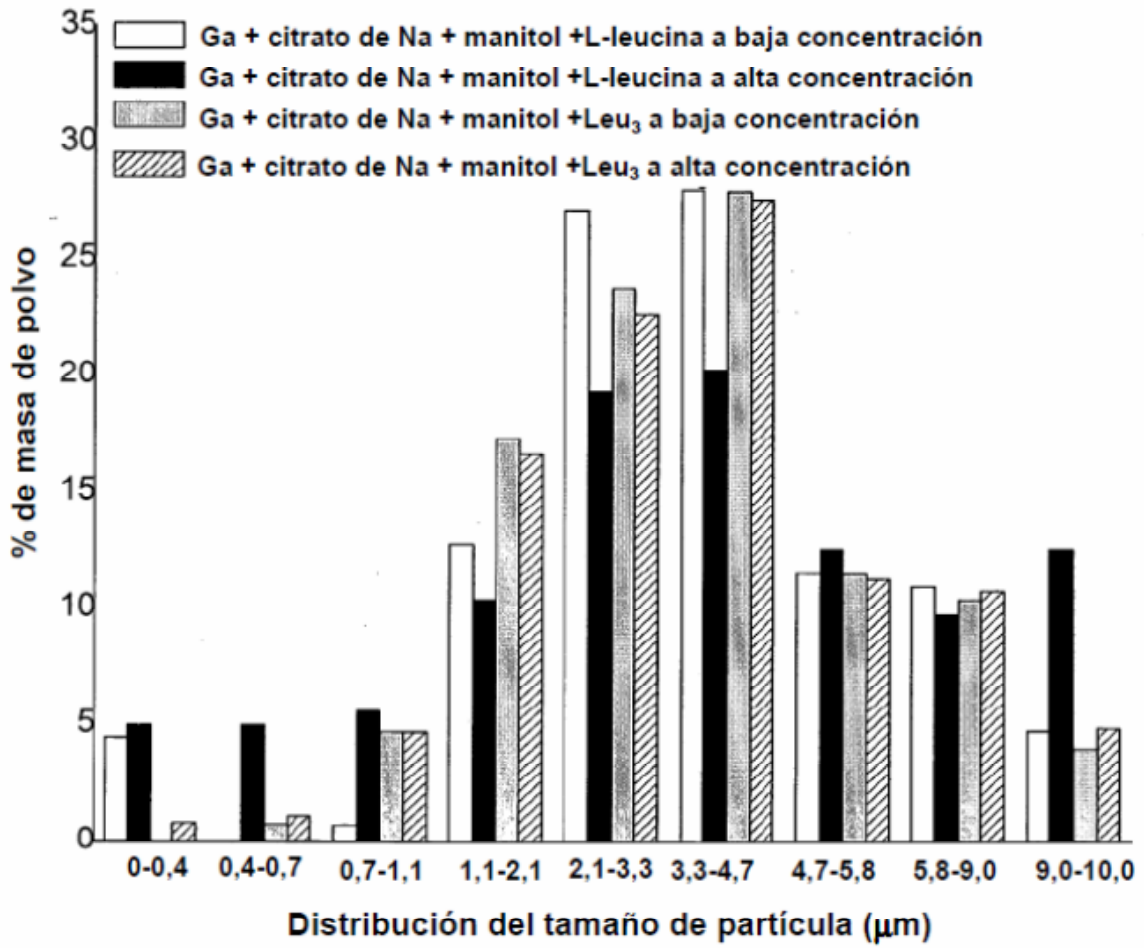


Figura 4



**FIG. 5**

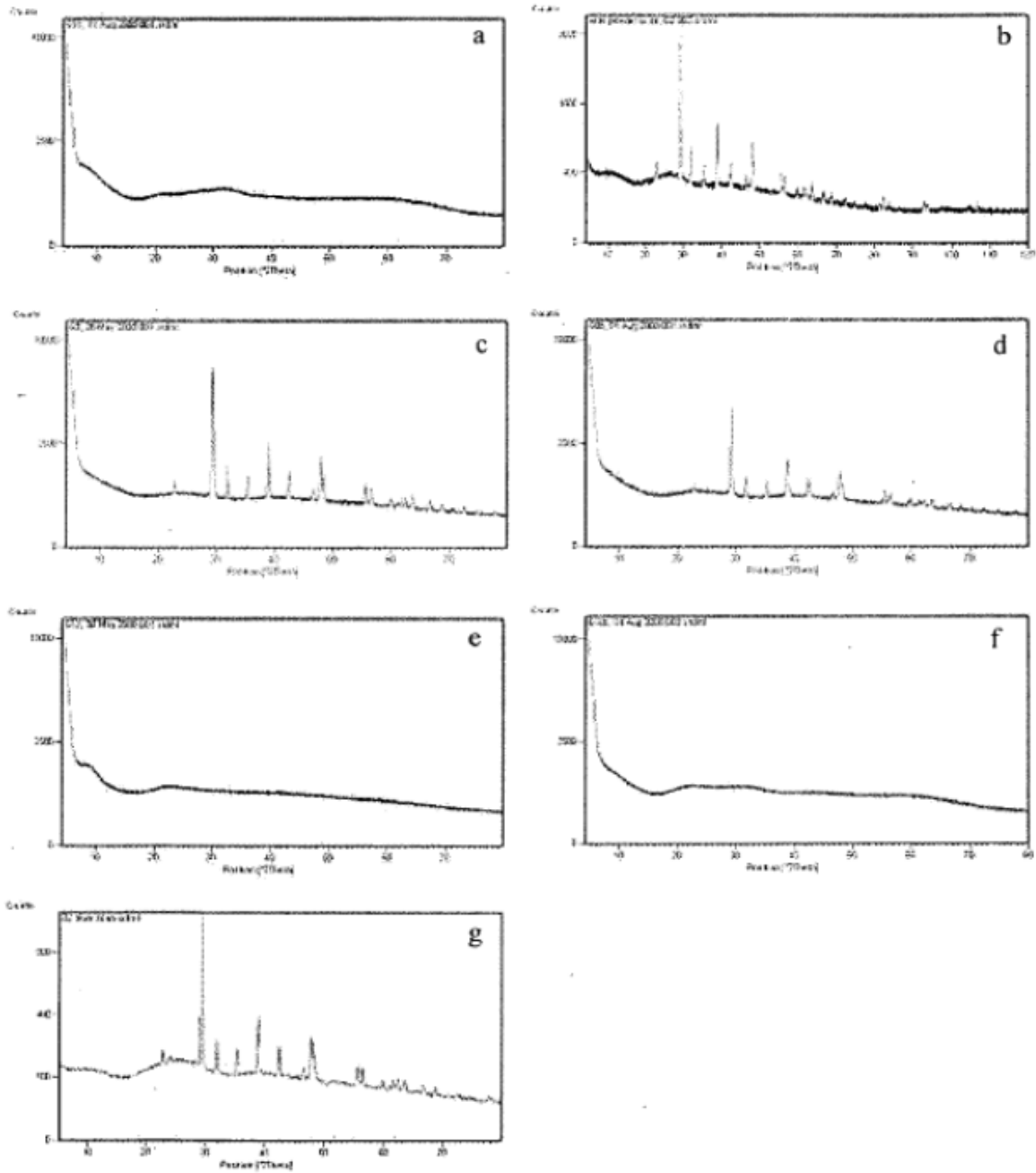
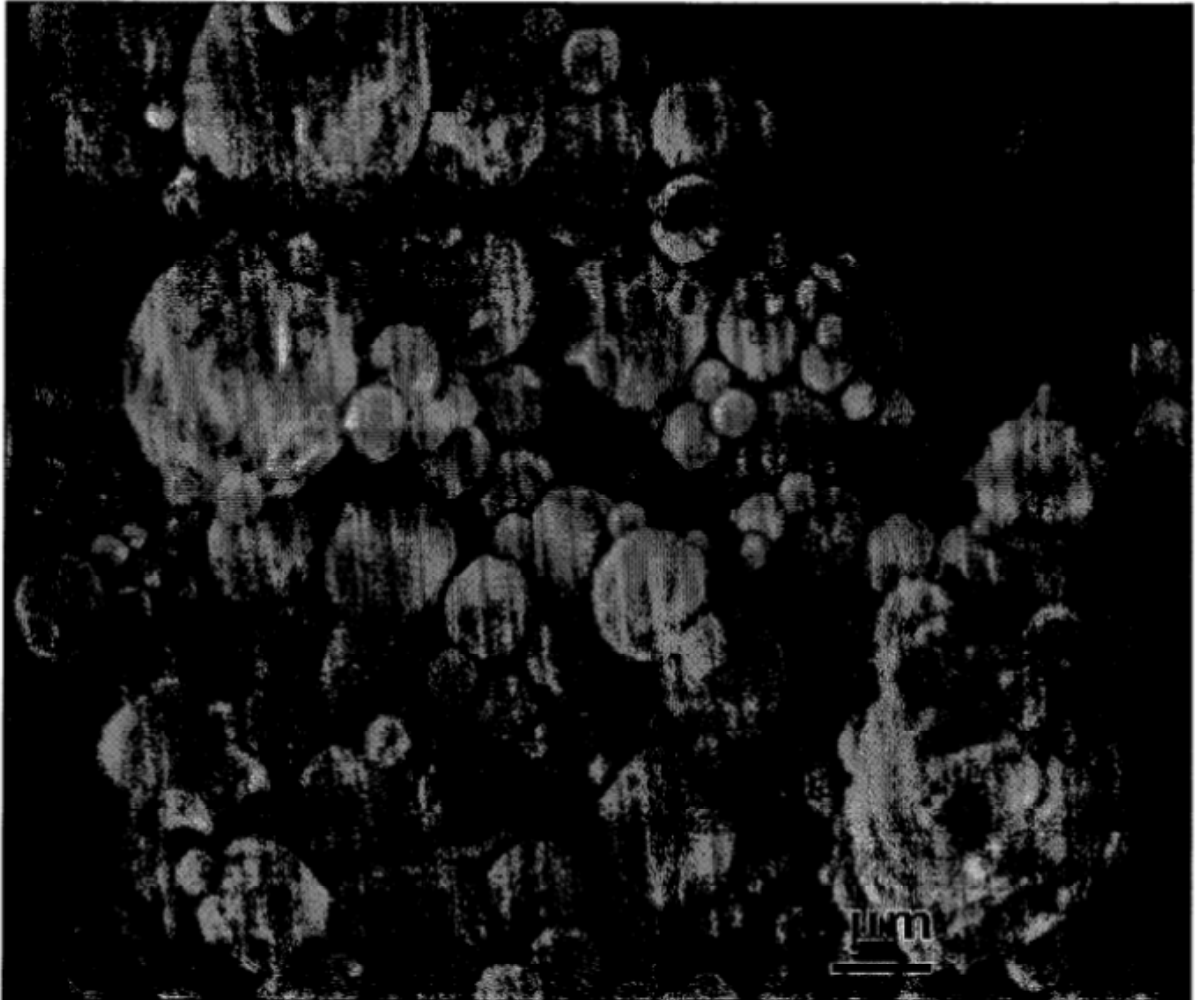


Figura 6a



**Figura 6b**



Figura 6c

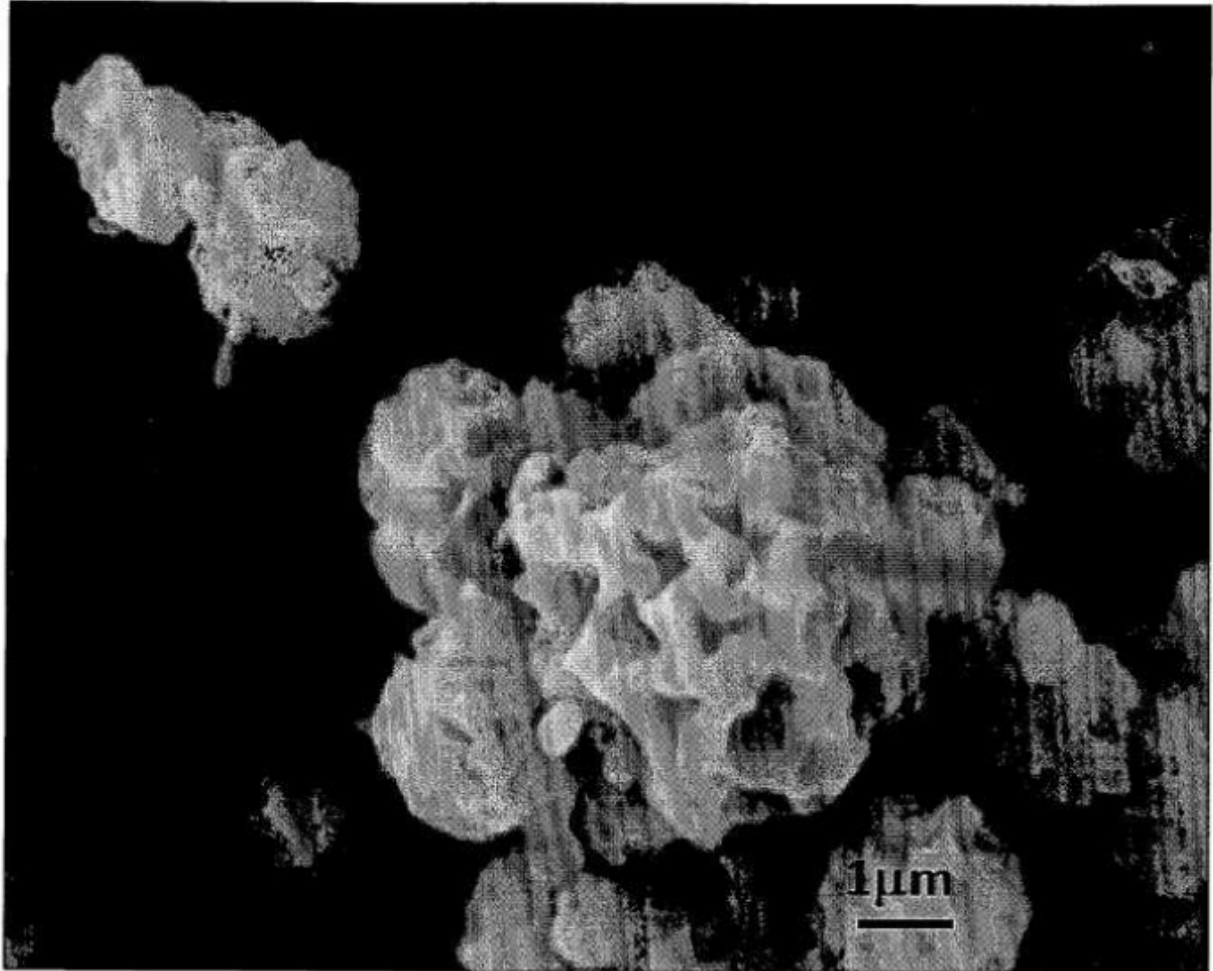
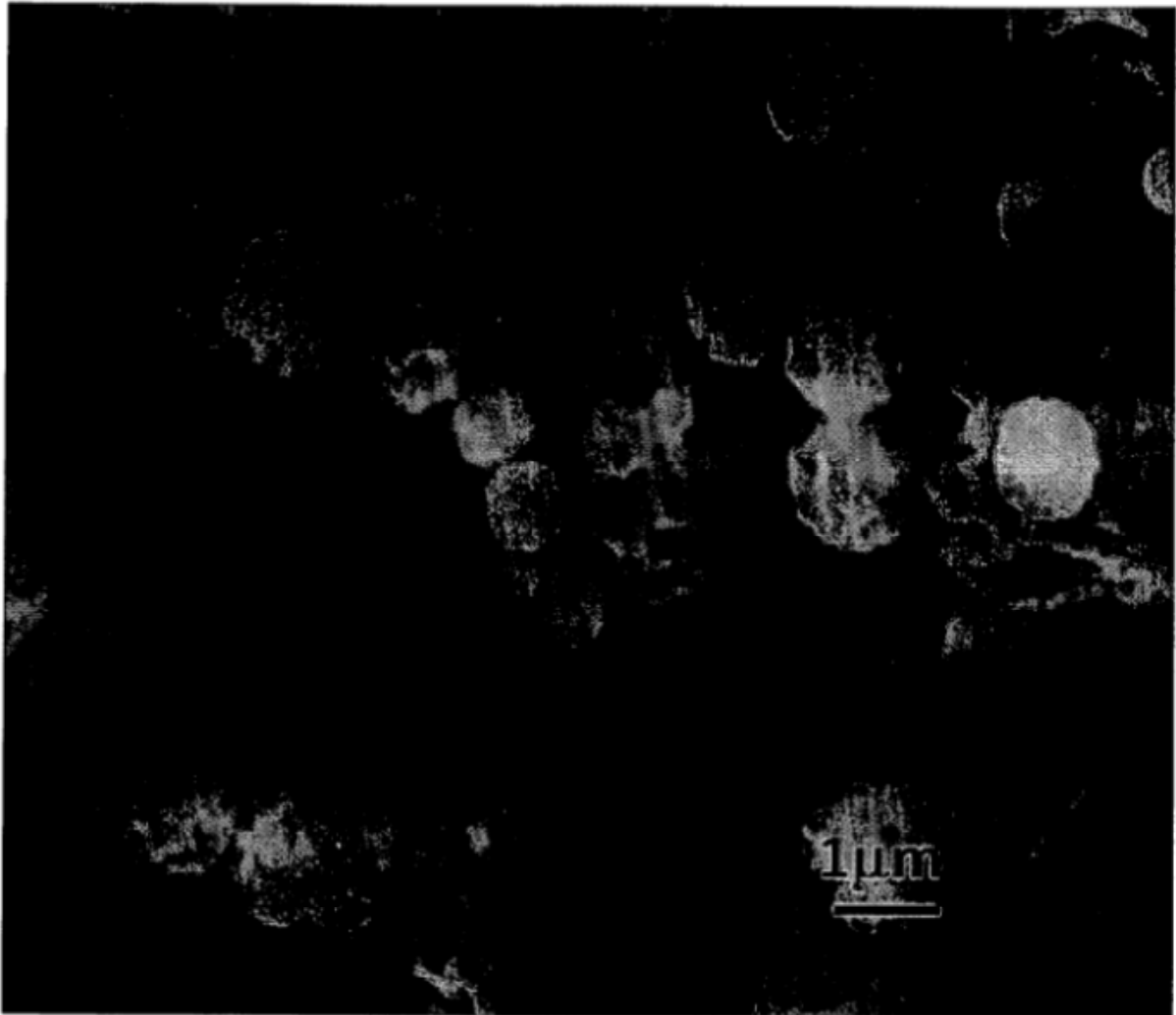


Figura 6d





**Figura 6e**

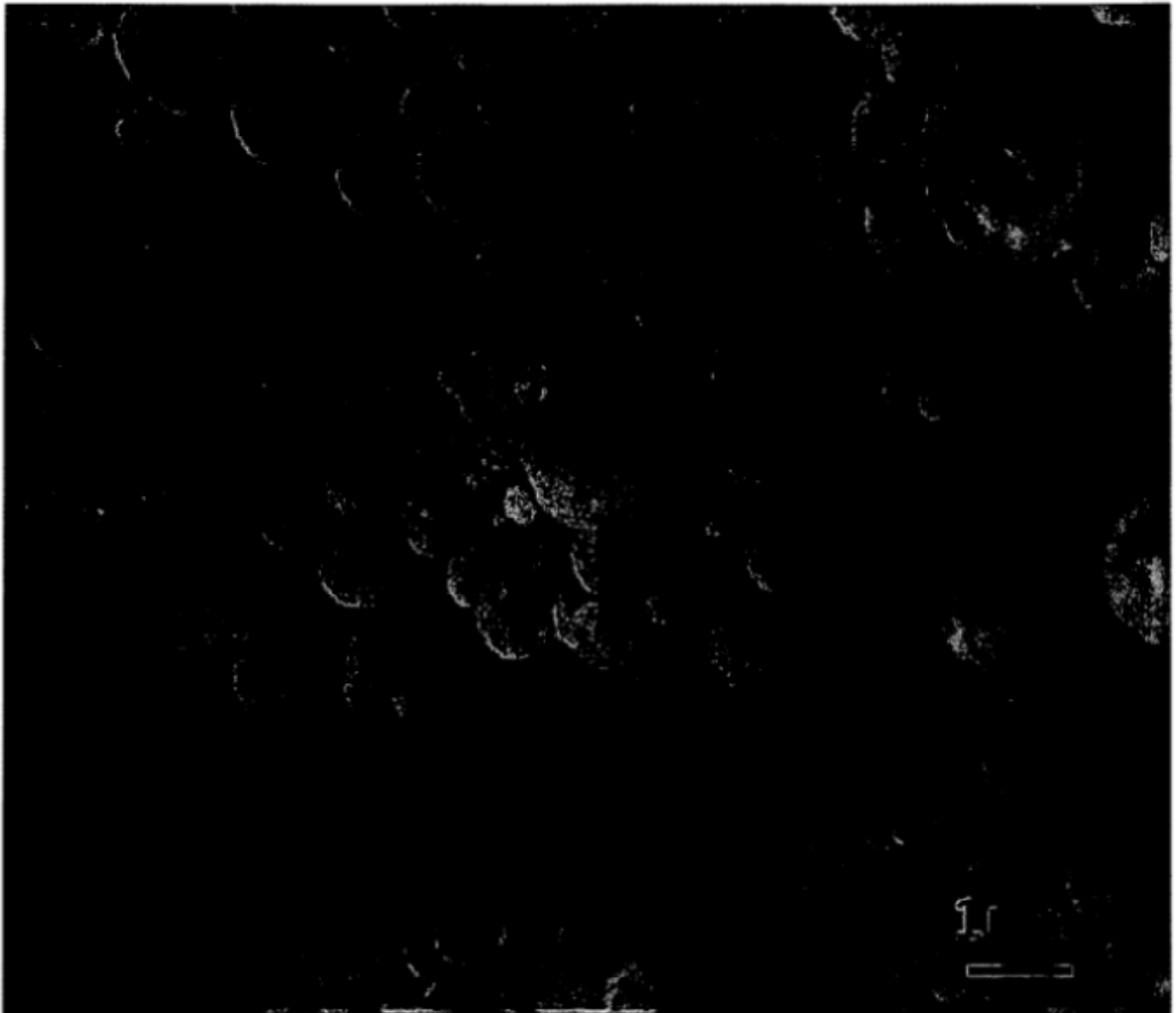


Figura 7

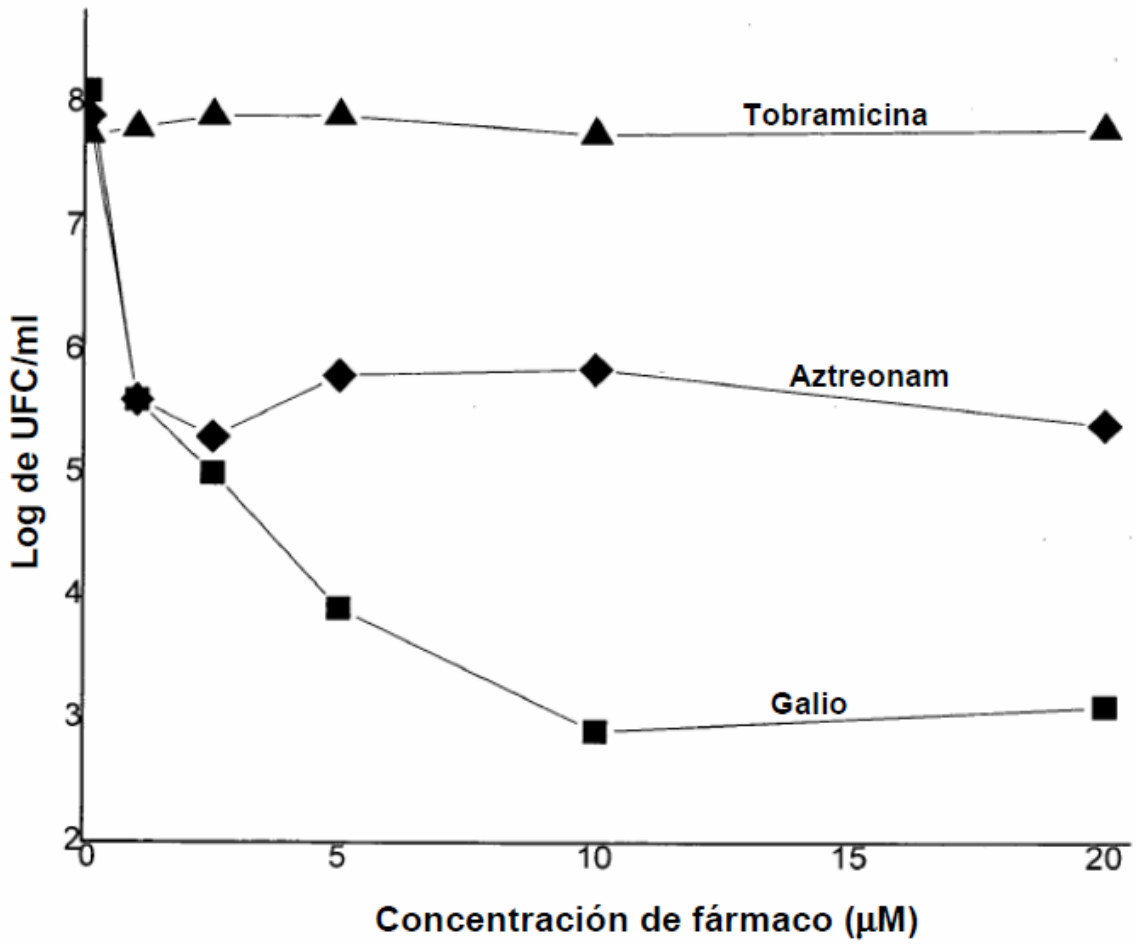


Figura 8

Destrucción en el tiempo con nitrato de galio para *B. dolosa* AU0158 a DO 0,4

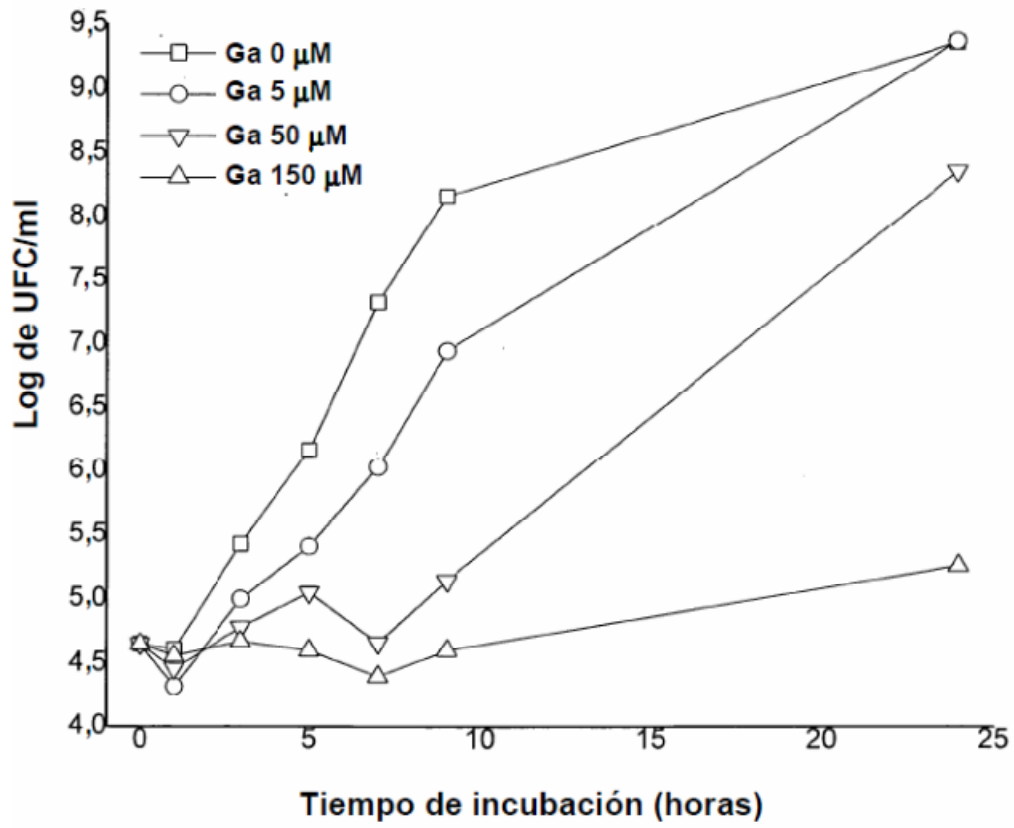


Figura 9

Destrucción en el tiempo con nitrato de galio para *A. baumannii* ATCC17978  
a DO 0,4

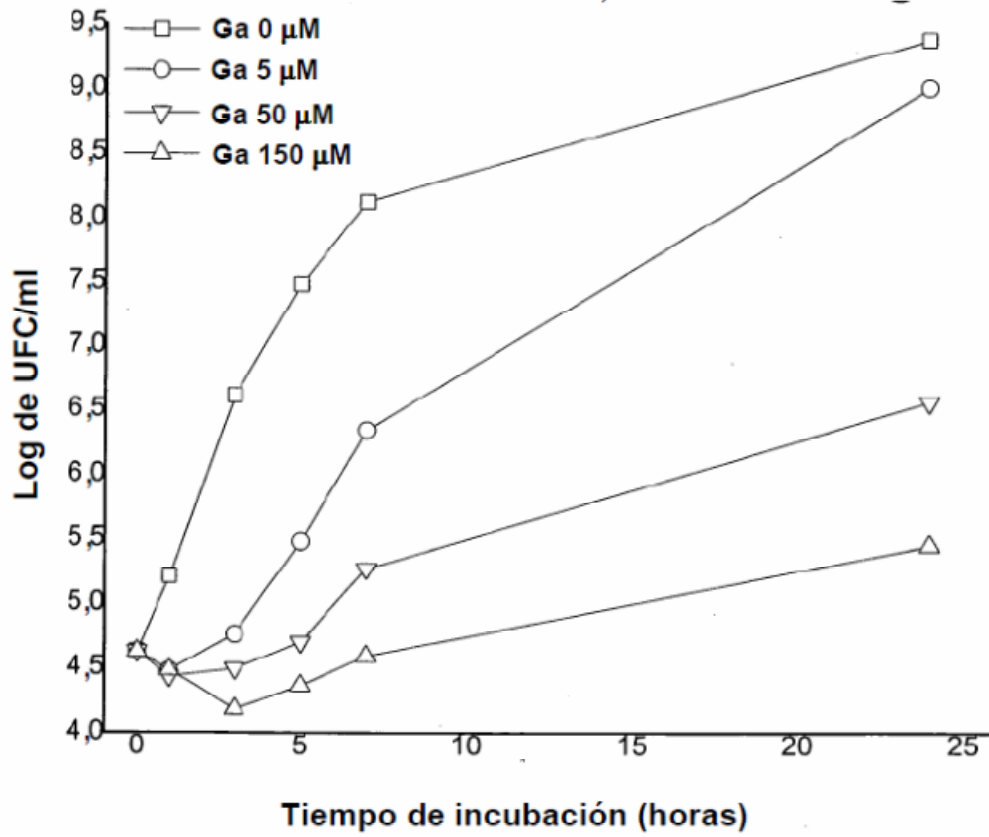


Figura 10

