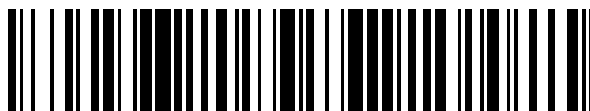


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 594 368**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/7036** (2006.01)

**A61K 31/7048** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 9/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.12.2006 PCT/US2006/046360**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.06.2007 WO07067520**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2006 E 06847502 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.07.2016 EP 1962805**

54 Título: **Composiciones a base de lípidos de antiinfecciosos para tratar infecciones pulmonares**

30 Prioridad:

**08.12.2005 US 748468 P**

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

**19.12.2016**

73 Titular/es:

**INSMED INCORPORATED (100.0%)  
10 Finderne Ave, Building 10  
Bridgewater NJ 08807-3365, US**

72 Inventor/es:

**NICHOLSON, SUSAN y  
WEERS, JEFF**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 594 368 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

Composiciones a base de lípidos de antiinfecciosos para tratar infecciones pulmonares

### Antecedentes de la invención

5 De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades respiratorias son la primera causa de mortalidad en todo el mundo, con la menos 20% de la población mundial afectada. Más de 25 millones de americanos tienen enfermedad pulmonar crónica, convirtiéndola en la primera causa incapacitante de trabajadores americanos (>50 billones de dólares/año), y la tercera causa de mortalidad.

10 Actualmente, la mayoría de las infecciones se tratan con antiinfecciosos orales o inyectables, incluso cuando el patógeno entra por el tracto respiratorio. A menudo los antiinfecciosos tienen una mala penetración en el pulmón y pueden tener la dosis limitada debido a efectos secundarios sistémicos. Muchos de estos problemas se pueden superar por el suministro local del antiinfeccioso a los pulmones de los pacientes por inhalación. Por ejemplo, la tobramicina inhalada (TOBI®, Chiron Corp, Emeryville, CA), es una forma nebulizada de la tobramicina, que se ha mostrado que tiene mejor eficacia y menor nefrotoxicidad y ototoxicidad respecto a los aminoglucósidos inyectables. Desgraciadamente, la absorción rápida del fármaco necesita que el medicamento se administre dos veces al día a lo largo de un periodo de aproximadamente 20 min por administración. Para pediatría y adultos jóvenes con fibrosis quística, este régimen de tratamiento puede ser agotador, en especial cuando se tiene en cuenta el hecho de que estos pacientes tienen múltiples terapias que requieren tiempo. Cualquier ahorro en términos de tiempo de tratamiento sería bienvenido, y probablemente conduciría a mejoras en la observancia del paciente. Lograr una mejor observancia con otras poblaciones de pacientes (p. ej., enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), exacerbaciones bronquiales agudas de bronquitis crónica) dependerá críticamente de la conveniencia y eficacia del tratamiento. Por lo tanto, un objeto de la presente invención es mejorar la observancia del paciente proporcionando formulaciones con actividad sostenida en los pulmones. Las formulaciones de liberación sostenida de antiinfecciosos se logran por encapsulación del antiinfeccioso en un liposoma. La mejora del direccionamiento pulmonar con formulaciones de liberación sostenida mejoraría más el índice terapéutico aumentando las concentraciones locales de fármaco y reduciendo la exposición sistémica. También se espera que las mejoras en el direccionamiento reduzcan los requisitos de dosis.

25 Lograr la liberación sostenida de fármacos en el pulmón es una tarea difícil, dados los múltiples mecanismos de depuración que actúan en concierto para eliminar rápidamente los fármacos inhalados del pulmón. Estos métodos de depuración incluyen: (a) rápida depuración de las vías aéreas conductoras a lo largo de un periodo de horas por el movimiento mucociliar; (b) depuración de partículas del pulmón profundo por macrófagos alveolares; (c) degradación del producto terapéutico por enzimas pulmonares; y (d) absorción rápida de fármacos moléculas pequeñas en la circulación sistémica. La absorción de fármacos moléculas pequeñas se ha mostrado que es casi cuantitativa, con un tiempo de absorción para moléculas pequeñas hidrófilas de aproximadamente 1 h, y un tiempo de absorción para fármacos lipófilos de aproximadamente 1 min.

35 Para TOBI® la semivida de absorción del pulmón es del orden de 1,5 h. Concentraciones máximas iniciales altas del fármaco pueden conducir a resistencia adaptativa, mientras que un tiempo sustancial con niveles bajos o cerca de la concentración inhibitoria mínima (CIM) eficaz, puede conducir a la selección de fenotipos de resistencia. Se plantea la hipótesis de que mantener el nivel de antiinfeccioso por encima de la CIM durante un periodo de tiempo prolongado (es decir, eliminando niveles valle subterapéuticos) con una formulación de liberación sostenida pulmonar, puede reducir el potencial desarrollo de fenotipos de resistencia. Por lo tanto, un objeto adicional de la presente invención es mantener la relación del área bajo la curva de concentración pulmonar/tiempo a la CIM a las 24 h (es decir, la AUC), no solo a un nivel terapéutico sostenido adecuado, sino por encima de un nivel crítico, para así reducir el potencial para la selección de cepas resistentes.

45 Se supone que solo el fármaco "libre" (no encapsulado) tiene actividad bactericida. Una potencial desventaja de las formulaciones de liberación sostenida liposómicas es que la encapsulación del fármaco en la formulación liposómica disminuye la concentración de fármaco libre que llega a los patógenos pulmonares, fármaco que es necesario para lograr la muerte eficaz de las bacterias inmediatamente después de la administración. Por lo tanto, un objeto adicional de la presente invención es proporcionar una formulación que contiene suficiente fármaco libre, para ser bactericida inmediatamente después de la administración.

50 El documento US20040142026 describe una formulación liposómica de amikacina para la liberación sostenida, administrada por nebulización.

### Resumen de la invención

Un objeto de la presente invención es usar la encapsulación de una composición basada en lípidos para mejorar los efectos terapéuticos de antiinfecciosos administrados a un individuo por vía pulmonar.

55 La presente invención es resultado de darse cuenta de que la administración de una composición farmacéutica que comprende tanto antiinfeccioso libre como encapsulado en liposoma, da como resultado mejor tratamiento de infecciones pulmonares.

5 La presente invención se refiere a un sistema para usar para proporcionar actividad bactericida inmediata y actividad bactericida sostenida cuando se trata o se proporciona profilaxis contra infección pulmonar, en donde el sistema comprende a) una formulación farmacéutica nebulizada que comprende una mezcla de aminoglucósido libre y aminoglucósido encapsulado en liposomas que comprenden una mezcla de vesículas unilaminares y vesículas multilaminares, en donde el componente lipídico de los liposomas consiste en dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y un esteroles, y la cantidad de aminoglucósido libre es suficiente para proporcionar actividad bactericida inmediata, y la cantidad de aminoglucósido encapsulado es suficiente para proporcionar actividad bactericida sostenida, y b) un nebulizador, en donde el aminoglucósido libre se genera por nebulización de aminoglucósido encapsulado en liposomas.

10 La presente invención también se refiere a una formulación farmacéutica en aerosol para usar para proporcionar actividad bactericida inmediata y actividad bactericida sostenida cuando se trata o proporciona profilaxis contra una infección pulmonar en un paciente, en donde la formulación farmacéutica comprende una mezcla nebulizada de aminoglucósido libre y aminoglucósido encapsulado en liposomas, en donde el aminoglucósido libre es generado por nebulización del aminoglucósido encapsulado en liposomas, y en donde los liposomas comprenden una mezcla  
15 de vesículas unilaminares y vesículas multilaminares y el componente lipídico de los liposomas consiste en dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y un esteroles, y la cantidad de aminoglucósido libre es suficiente para proporcionar actividad bactericida.

20 La forma libre del antiinfeccioso está disponible para proporcionar un bolo de actividad antimicrobiana inmediata. La liberación lenta del antiinfeccioso de la composición basada en lípidos después de la administración pulmonar es análoga a la administración continua del antiinfeccioso, proporcionando así niveles sostenidos de antiinfeccioso en los pulmones. Los niveles del AUC sostenidos proporcionan actividad bactericida prolongada entre administraciones. Además, los niveles sostenidos proporcionados por la liberación de antiinfeccioso de la composición basada en lípidos se espera que proporcione mejor protección contra el desarrollo de cepas microbianas resistentes.

25 Las combinaciones de fármaco libre y encapsulado se logran por formulación del fármaco encapsulado que conduce a la absorción rápida en la nebulización.

30 La relación de fármaco libre a encapsulado está contemplada que sea entre aproximadamente 1:100 p:p y aproximadamente 100:1 p:p, y se puede determinar por la concentración inhibitoria mínima del agente infeccioso y las propiedades de liberación sostenida de la formulación. La relación de fármaco libre a encapsulado se puede optimizar para un agente infeccioso dado y la formulación de fármaco basada en objetivos farmacocinéticos conocidos para matar bacterias y prevenir la resistencia. Schentag, J. J., *J. Chemother.* 1999, 11, 426-439.

El sistema mencionado en lo que antecede comprende un antiinfeccioso que es un aminoglucósido. En una realización adicional, el antiinfeccioso es amikacina, gentamicina o tobramicina.

35 La composición basada en lípidos es un liposoma. En una realización adicional, el liposoma comprende una mezcla de vesículas unilaminares y vesículas multilaminares. En una realización adicional, el liposoma comprende un fosfolípido y un esteroles. En una realización adicional, el liposoma comprende una fosfatidilcolina y un esteroles. En una realización adicional, el liposoma comprende dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y un esteroles. En una realización adicional, el liposoma comprende dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y colesterol.

40 En una realización adicional, la presente invención se refiere al sistema mencionado antes en donde el antiinfeccioso es un aminoglucósido y el liposoma comprende DPPC y colesterol. En una realización adicional, el antiinfeccioso es amikacina, el liposoma comprende DPPC y colesterol, y el liposoma comprende una mezcla de vesículas unilaminares y vesículas multilaminares.

45 En una realización adicional, la presente invención se refiere al sistema mencionado antes, en donde la relación en peso del antiinfeccioso libre al antiinfeccioso encapsulado en una composición basada en lípidos es entre aproximadamente 1:100 y aproximadamente 100:1. En una realización adicional, la relación en peso es entre aproximadamente 1:10 y aproximadamente 10:1. En una realización adicional, la relación en peso es entre aproximadamente 1:2 y aproximadamente 2:1.

50 En una realización adicional, el método mencionado antes comprende primero determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un antiinfeccioso para inhibir infecciones pulmonares, y en donde la cantidad de antiinfeccioso libre es al menos 2 veces la CIM, preferiblemente más de 4 veces la CIM y preferiblemente más de 10 veces la CIM del agente antiinfeccioso, donde la CIM se define como la concentración inhibitoria mínima en el revestimiento epitelial del pulmón, o alternativamente la concentración inhibitoria mínima en el tejido sólido del pulmón (dependiendo de la naturaleza de la infección). En una realización adicional, la presente invención se refiere al método mencionado antes, en donde la formulación farmacéutica en aerosol se administra al menos una vez por semana.

55 La composición basada en lípidos es un liposoma. En una realización adicional, el antiinfeccioso encapsulado en lípidos comprende una fosfatidilcolina mezclada con un esteroles. En un aspecto adicional, el esteroles es colesterol. En un aspecto adicional, el antiinfeccioso encapsulado comprende una mezcla de vesículas unilaminares y vesículas multilaminares. En un aspecto adicional, el antiinfeccioso encapsulado en liposoma comprende una fosfatidilcolina

mezclada con colesterol, y en donde el antiinfeccioso encapsulado en liposoma comprende una mezcla de vesículas unilaminares y vesículas multilaminares.

La relación del área bajo la curva de concentración pulmonar/tiempo a la CIM a las 24 h (es decir, la AUC) es mayor que 25, preferiblemente mayor que 100, y preferiblemente mayor que 250.

5 La relación terapéutica de fármaco libre/encapsulado y la dosis nominal requerida se pueden determinar con modelos farmacocinéticos convencionales, una vez que se han establecido la eficacia del suministro pulmonar y la depuración del medicamento con el dispositivo de suministro de aerosol elegido. En un aspecto, la presente invención se refiere a un método de tratamiento de un paciente para una infección pulmonar que comprende un ciclo de tratamiento con el antiinfeccioso encapsulado en la composición basada en lípidos, para potenciar la muerte bacteriana y reducir el desarrollo de resistencia fenotípica, seguido de un ciclo sin tratamiento para reducir el desarrollo de resistencia adaptativa. El régimen de tratamiento se puede determinar mediante investigación clínica. En una realización, el régimen de tratamiento puede ser un tratamiento de ciclo activo de aproximadamente 7, 14, 21 o 30 días, seguido de un ciclo no activo de ausencia de tratamiento durante aproximadamente 7, 14, 21 o 30 días.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para reducir la pérdida de antiinfeccioso encapsulado en composiciones basadas en lípidos tras nebulización, que comprende administrar el antiinfeccioso encapsulado en composiciones basadas en lípidos con antiinfeccioso libre.

20 Los sistemas y métodos de la presente invención son útiles para tratar, por ejemplo, infecciones pulmonares en pacientes con fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquiectasia, neumonía bacteriana y en exacerbaciones bronquiales agudas de bronquitis crónica (ABECB). Además, la tecnología es útil en el tratamiento de infecciones intracelulares incluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, y agentes de bioterrorismo inhalados (p. ej., ántrax y tularemia). La tecnología también se puede usar como un agente profiláctico para tratar infecciones fúngicas oportunistas (p. ej., aspergilosis) en pacientes inmunocomprometidos (p. ej., trasplante de órganos o pacientes con SIDA).

#### Breve descripción de los dibujos

25 La figura 1 representa una gráfica de la concentración pulmonar ( $\mu\text{g/ml}$ ) en función del tiempo después de nebulización de tobramicina no encapsulada con una dosis nominal de 300 mg (TOBI®, Chiron Corp., Emeryville, CA), y amikacina liposómica con una dosis normal de 100 mg. Las concentraciones pulmonares para ambos medicamentos se calculan suponiendo un volumen de distribución de aminoglucósidos en el pulmón de 200 ml. La curva de la tobramicina se determinó por modelización farmacocinética de la curva de concentración plasmática de tobramicina temporal (Tesis Le Brun, 2001).

#### Descripción detallada de la invención

##### Definiciones

35 Por conveniencia, antes de la descripción detallada de la presente invención, se recogen aquí algunos términos usados en la memoria descriptiva, ejemplos y reivindicaciones adjuntas. Estas definiciones deben leerse a la luz del resto de la descripción y entenderlas como el experto en la técnica. Salvo que se defina de otra forma, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que entiende normalmente un experto en la técnica.

40 Los artículos "un" y "una" se usan en la presente memoria para referirse a uno o más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

El término "antibacteriano" está reconocido en la técnica y se refiere a la capacidad de los compuestos de la presente invención para prevenir, inhibir o destruir el crecimiento de microbios bacterias.

45 Los términos "antiinfeccioso" y "agente antiinfeccioso" se usan de forma intercambiable a lo largo de la memoria descriptiva para describir un agente biológicamente activo que puede matar o inhibir el crecimiento de determinados organismos patógenos dañinos, incluyendo, pero no limitado a bacterias, levaduras y hongos, virus, protozoos o parásitos, y que se pueden administrar a organismos vivos, en especial animales tales como mamíferos, en particular seres humanos.

El término "antimicrobiano" está aceptado en la técnica y se refiere a la capacidad de los compuestos de la presente invención de prevenir, inhibir o destruir el crecimiento de microbios tales como bacterias, hongos, protozoos y virus.

50 El término "biodisponible" está aceptado en la técnica y se refiere a una forma de la presente invención que permite que esta, o una parte de la cantidad administrada, sea absorbida por, incorporada en, o esté fisiológicamente disponible de otra forma para un sujeto o paciente al que se le administra.

Los términos "comprende" y "que comprende" se usan en el sentido abierto, inclusivo, que significa que se pueden incluir elementos adicionales.

El término "enfermedad" como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier enfermedad causada por o relacionada con la infección por un organismo.

El término "que incluye" se usa en la presente memoria para significar "que incluye pero no limitado a". "Que incluye" y "que incluye pero no limitado a" se usan de forma intercambiable.

- 5 La expresión "composición basada en lípidos" como se usa en la presente memoria se refiere a composiciones que comprenden principalmente lípidos. Los ejemplos no limitantes de composiciones basadas en lípidos pueden tener la forma de partículas de lípidos revestidas, liposomas, emulsiones, micelas y similares

El término "mamífero" es conocido en la técnica, y los ejemplos de mamíferos incluyen seres humanos, animales primates, bovinos, porcinos, caninos, felinos y roedores (p. ej., ratones y ratas).

- 10 El término "microbio" está aceptado en la técnica y se refiere a un organismo microscópico. En algunas realizaciones el término microbio se aplica a bacterias. En otras realizaciones, el término se refiere a formas patógenas de un organismo microscópico.

Un "paciente", "sujeto" u "hospedante" que se va a tratar por el presente método puede significar un ser humano o animal no humano.

- 15 La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" está aceptado en la técnica y se refiere a sales de adición de ácidos inorgánicos y orgánicos de los compuestos, relativamente no tóxicas, que incluyen, por ejemplo, las contenidas en las composiciones de la presente invención.

- 20 El término "profármaco" está aceptado en la técnica y se pretende que abarque compuestos que, en condiciones fisiológicas, se convierten en los agentes antibacterianos de la presente invención. Un método común para hacer un profármaco es seleccionar restos que se hidrolizan en condiciones fisiológicas para proporcionar el compuesto deseado. En otras realizaciones, el profármaco es convertido por actividad enzimática del animal hospedante o la bacteria objetivo.

El término "tratar" está aceptado en la técnica y se refiere a curar así como a mejorar al menos un síntoma de cualquier afección o enfermedad.

- 25 Lípidos

- Los lípidos usados en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser lípidos sintéticos, semisintéticos o naturales, incluyendo fosfolípidos, tocoferoles, esteroides, ácidos grasos, glucoproteínas tales como albúmina, lípidos con carga negativa y lípidos catiónicos. En términos de fosfolípidos, pueden incluir lípidos tales como fosfatidilcolina de huevo (EPC), fosfatidilglicerol de huevo (EPG), fosfatidilinositol de huevo (EPI), fosfatidilserina de huevo (EPS), fosfatidiletanolamina (EPE), y ácido fosfatídico (EPA); los homólogos de soja, fosfatidilcolina de soja (SPC); SPG, SPS, SPI, SPE y SPA; los homólogos de huevo y soja hidrogenados (p. ej., HEPC, HSPC), otros fosfolípidos compuestos de uniones éster de ácidos grasos en las posiciones 2 y 3 del glicerol que contienen cadenas de 12 a 26 átomos de carbono y diferentes grupos de cabeza en la posición 1 del glicerol, que incluyen colina, glicerol, inositol, serina, etanolamina, así como los correspondientes ácidos fosfatídicos. Las cadenas de estos ácidos grasos pueden ser saturadas o insaturadas, y el fosfolípido puede estar compuesto de ácidos grasos de diferentes longitudes de cadena y diferentes grados de insaturación. En particular, las composiciones de las formulaciones pueden incluir dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), un constituyente principal del tensioactivo de pulmón natural. Otros ejemplos incluyen dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) y dimiristoilfosfatidilglicerol (DMPG), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG), diestearoilfosfatidilcolina (DSPC) y diestearoilfosfatidilglicerol (DSPG), dioleilfosfatidiletanolamina (DOPE) y fosfolípidos mixtos tales como palmitoilestearoilfosfatidilcolina (PSPC) y palmitoilestearoilfosfatidilglicerol (PSPG), y fosfolípidos monoacilados como mono-oleoil-fosfatidiletanolamina (MOPE).

- Los esteroides pueden incluir colesterol, ésteres de colesterol que incluyen hemisuccinato de colesterol, sales de colesterol que incluyen hidrogenosulfato de colesterol y sulfato de colesterol, ergosterol, ésteres de ergosterol que incluyen hemisuccinato de ergosterol, sales de ergosterol que incluyen hidrogenosulfato de ergosterol y sulfato de ergosterol, lanosterol, ésteres de lanosterol que incluyen hemisuccinato de lanosterol, sales de lanosterol que incluyen hidrogenosulfato de lanosterol y sulfato de lanosterol. Los tocoferoles pueden incluir tocoferoles, ésteres de tocoferol que incluyen hemisuccinatos de tocoferol, sales de tocoferoles que incluyen hidrogenosulfatos de tocoferol y sulfatos de tocoferol. La expresión "compuesto de esteroles" incluye esteroides, tocoferoles y similares.

- 50 Los lípidos catiónicos usados pueden incluir sales de amonio de ácidos grasos, fosfolípidos y glicéricos. Los ácidos grasos incluyen ácidos grasos de longitudes de cadena de carbonos de 12 a 26 átomos de carbono, que son saturadas o insaturadas. Algunos ejemplos específicos incluyen: miristilamina, palmitilamina, laurilamina y estearilamina, dilauroiletilfosfolina (DLEP), dimiristoiletilfosfolina (DMEP), dipalmitoiletilfosfolina (DPEP) y diestearoiletilfosfolina (DSEP), cloruro de N-(2,3-di-(9-(Z)-octadeceniloxi)-prop-1-il-N,N,N-trimetilamonio (DOTMA) y 1,2-bis(oleoiloxi)-3-(trimetilamonio)propano (DOTAP).

Los lípidos con carga negativa que se pueden usar incluyen fosfatidilgliceroles (PG), ácidos fosfatídicos (PA), fosfatidilinositoles (PI) y fosfatidilserinas (PS). Los ejemplos incluyen DMPG, DPPG, DSPG, DMPA, DPPA, DSPA, DMPI, DPPI, DSPI, DMPS, DPPS y DSPS.

5 Las fosfatidilcolinas, tales como DPPC, ayudan a la absorción por las células en el pulmón (p. ej., macrófagos alveolares) y ayudan a mantener la liberación del agente bioactivo en el pulmón. Los lípidos con carga negativa tales como PG, PA, PS y PI, además de reducir la agregación de partículas, se cree que tienen una función en las características de liberación sostenida de la formulación de inhalación, así como en el transporte de la formulación a través del pulmón (transcitosis) para la absorción sistémica. Se cree que los compuestos de esteroles afectan a las características de liberación de la formulación.

## 10 Liposomas

Los liposomas son membranas de bicapa lipídica completamente cerrada que contienen un volumen acuoso atrapado. Los liposomas pueden ser vesículas unilaminares (que tienen una sola bicapa de membrana) o vesículas multilaminares (estructuras de tipo cebolla caracterizadas por múltiples bicapas de membrana, cada una separada de la siguiente por una capa acuosa). La bicapa está compuesta de dos monocapas lipídicas que tienen una región de "cola" hidrófoba y una región de "cabeza" hidrófila. La estructura de la bicapa de membrana es tal que las "colas" hidrófobas (no polares) de las monocapas lipídicas se orientan hacia el centro de la bicapa mientras que las "cabezas" hidrófilas se orientan hacia la fase acuosa.

Los liposomas se pueden producir por una variedad de métodos (para una revisión, véase, p. ej., Cullis et al. (1987)). El procedimiento de Bangham (*J. Mol. Biol.* (1965)) produce normalmente vesículas unilaminares (MLV). Lenk et al. (patentes de EE.UU. n° 4.522.803, 5.030.453 y 5.169.637), Fountain et al. (patente de EE.UU. n° 4.588.578) y Cullis et al. (patente de EE.UU. n° 4.975.282) describen métodos para producir liposomas multilaminares que tienen sustancialmente igual distribución de soluto interlaminar en cada uno de sus compartimentos acuosos. Paphadjopoulos et al., patente de EE.UU. n° 4.235.871, describe la preparación de liposomas oligolaminares por evaporación de fase inversa.

25 Las vesículas unilaminares se pueden producir a partir de MLV por una serie de técnicas, por ejemplo, la extrusión de Cullis et al. (patente de EE.UU. n° 5.008.050) y Loughrey et al. (patente de EE.UU. n° 5.059.421)). Se pueden usar ultrasonidos y homogeneización para producir liposomas unilaminares más pequeños a partir de liposomas más grandes (véase, por ejemplo, Paphadjopoulos et al. (1968); Deamer y Uster (1983); y Chapman et al. (1968)).

30 La preparación de liposomas original de Bangham et al. (*J. Mol. Biol.*, 1965, 13:238- 252) implica la suspensión de fosfolípidos en un disolvente orgánico que después se evapora hasta sequedad dejando una película de fosfolípido en el recipiente de reacción. Después, se añade una cantidad adecuada de fase acuosa, la mezcla se deja "hinchar", y los liposomas resultantes que consisten en vesículas multilaminares (MLV) se dispersan por medios mecánicos. Esta preparación proporciona la base para el desarrollo de las vesículas unilaminares pequeñas tratadas con ultrasonidos descritas por Papahadjopoulos et al. (*Biochim. Biophys. Acta.*, 1967, 135:624- 638), y las vesículas unilaminares grandes.

Se pueden usar técnicas para producir vesículas unilaminares grandes (LUV), tales como evaporación en fase inversa, procedimientos de infusión y dilución en detergente, para producir liposomas. Se puede encontrar una revisión de estos y otros métodos para producir liposomas en el texto *Liposomes*, Marc Ostro, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1983, capítulo 1, cuyas partes pertinentes se incorporan en la presente memoria por referencia. Véase, Szoka, Jr. et al., (1980, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 9:467), cuyas partes pertinentes también se incorporan en la presente memoria por referencia.

Otras técnicas que se usan para preparar vesículas incluyen las que forman vesículas por evaporación en fase inversa (REV), Papahadjopoulos et al., patente de EE.UU. n° 4.235.871. Otra clase de liposomas que se pueden usar son los caracterizados porque tienen sustancialmente igual distribución laminar de soluto. Esta clase de liposomas se denominan vesículas plurilaminares estables (SPLV) como se define en la patente de EE.UU. n° 4.522.803 de Lenk, et al. e incluye vesículas monofásicas como se describe en la patente de EE.UU. n° 4.588.578 de Fountain, et al. y vesículas multilaminares congeladas y descongeladas (FATMLV) como se ha descrito antes.

Se ha usado una variedad de esteroides y sus derivados solubles en agua tales como el hemisuccinato de colesterol para formar liposomas; véase específicamente Janoff et al., patente de EE.UU. n° 4.721.612, expedida el 26 de enero, 1988, titulada "Steroidal Liposomes." (Liposomas esteroideos). Mayhew et al., publicación PCT n° WO 85/00968, publicada el 14 de marzo, 1985, describían un método para reducir la toxicidad de fármacos encapsulándolos en liposomas que comprenden alfa-tocoferol y algunos derivados de los mismos. También se ha usado una variedad de tocoferoles y sus derivados solubles en agua para formar liposomas, véase Janoff et al., publicación PCT n° 87/02219, publicada el 23 de abril, 1987, titulada "Alpha Tocopherol-Based Vesicles" (Vesículas basadas en alfa-tocoferoles).

Los liposomas están compuestos de partículas con un diámetro medio de aproximadamente 0,01 micrómetros a aproximadamente 3,0 micrómetros, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 0,2 a 1,0 micrómetros. La propiedad de liberación sostenida del producto liposómico se puede regular por la naturaleza de la membrana

lipídica y por la inclusión de otros excipientes (p. ej., esteroides) en la composición.

#### Agente infeccioso

5 El agente infeccioso incluido en el alcance de la presente invención puede ser una bacteria. Las bacterias se pueden seleccionar de: *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus anthracis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonellosis*, *Yersina pestis*, *Mycobacterium leprae*, *M. africanum*, *M. asiaticum*, *M. avium-intracellulare*, *M. chelonae abscessus*, *M. fallax*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. leprae*, *M. malmoense*, *M. shimoidei*, *M. simiae*, *M. szulgai*, *M. xenopi*, *M. tuberculosis*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella abortus*, *Brucella canis*, *Legionella pneumonophila*, *Francisella tularensis*, *Pneumocystis carinii*, *mycoplasma* y *Burkholderia cepacia*.

10 El agente infeccioso incluido en el alcance de la presente invención puede ser un virus. El virus se puede seleccionar de: hantavirus, virus sincitial respiratorio, virus de influenza y de neumonía vírica.

El agente infeccioso incluido en el alcance de la presente invención puede ser un hongo. Las enfermedades fúngicas que destacan incluyen: aspergilosis, candidiasis diseminada, blastomicosis, coccidioidomicosis, criptococosis, histoplasmosis, mucormicosis y esporotricosis.

#### Antiinfecciosos

15 La expresión agente antiinfeccioso se usa a lo largo de toda la memoria descriptiva para describir un agente biológicamente activo que puede matar o inhibir el crecimiento de determinados organismos patógenos dañinos, incluyendo, pero no limitado a bacterias, levaduras y hongos, virus, protozoos o parásitos, y que se pueden administrar a organismos vivos, en especial animales tales como mamíferos, en particular seres humanos.

20 Los aminoglucósidos que se pueden usar en la invención incluyen, amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomycin, tobramicina y paromomicina.

#### Dosis

25 La dosis de cualquier composición de la presente invención variará dependiendo de los síntomas, edad y peso corporal del paciente, la naturaleza y la gravedad del trastorno que se va a tratar o prevenir, la vía de administración y la forma de la composición objeto. Cualquiera de las presentes formulaciones se puede administrar en una sola dosis o en dosis divididas. Las dosis para las composiciones de la presente invención se pueden determinar fácilmente por técnicas conocidas para los expertos en la técnica o como se enseña en la presente memoria.

30 En algunas realizaciones, la dosis de los presentes compuestos estarán en general en el intervalo de aproximadamente 0,01 ng a aproximadamente 10 g por kg de peso corporal, específicamente en el intervalo de aproximadamente 1 ng a aproximadamente 0,1 g por kg, y más específicamente en el intervalo de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 10 mg por kg.

35 Para cualquier composición particular de la presente invención puede ser necesario identificar una dosis o cantidad eficaz, y cualesquiera posibles efectos en el tiempo de administración de la formulación. Esto se puede realizar por experimentación rutinaria como se describe en la presente memoria, usando uno o más grupos de animales (preferiblemente al menos 5 animales por grupo), o en ensayos humanos, si es adecuado. La eficacia de cualquier composición y método de tratamiento o prevención presentes se puede evaluar administrando la composición y evaluando el efecto de la administración midiendo uno o más índices aplicables, y comparando los valores después de tratamiento de estos índices con los valores de los mismos índices antes de tratamiento.

40 El tiempo exacto de administración y la cantidad de cualquier composición dada particular que dará el tratamiento más eficaz a un paciente dado, dependerá de la actividad, farmacocinética y biodisponibilidad de una composición dada, condiciones fisiológicas del paciente (incluyendo edad, sexo, tipo de enfermedad y fase, condición física general, sensibilidad a una dosis dada y tipo de administración), vía de administración, y similares. Las pautas presentadas en la presente memoria se pueden usar para optimizar el tratamiento, p. ej., determinando el tiempo y/o cantidad de administración óptimos, que no requerirá más que experimentación rutinaria que consiste en la vigilancia del sujeto y el ajuste de la dosis y/o del tiempo.

45 Mientras se está tratando al sujeto, la salud del paciente se puede vigilar midiendo uno o más índices relevantes en momentos predeterminados durante el periodo de tratamiento. El tratamiento, incluyendo la composición, cantidades, tiempos de administración y formulación, se pueden optimizar de acuerdo con los resultados de dicha vigilancia. El paciente se puede volver a evaluar periódicamente para determinar la extensión de la mejora midiendo los mismos parámetros. Los ajustes de la o las cantidades de la composición dada administrada y posiblemente del tiempo de administración, se pueden hacer basándose en estas reevaluaciones.

50 El tratamiento se puede iniciar con dosis más pequeñas que son menores que la dosis óptima del compuesto. Después, la dosis se puede aumentar mediante incrementos pequeños hasta que se logre el efecto terapéutico óptimo.

El uso de las presentes composiciones puede reducir la dosis necesaria para cualquier agente individual contenido

en las composiciones (p. ej., el inhibidor de FabI) porque el inicio y la duración del efecto de los diferentes agentes pueden ser complementarios.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de las presentes composiciones se pueden determinar por procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, p. ej., para determinar la  $DL_{50}$  y la  $DE_{50}$ .

Los datos obtenidos de los ensayos de cultivo celular y estudios animales se pueden usar en la formulación de un intervalo de dosis para usar en seres humanos. La dosis de cualquier composición dada está preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluyen la  $DE_{50}$  con poca o sin toxicidad. La dosis puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma farmacéutica usada y la vía de administración usada. Para composiciones de la presente invención, la dosis terapéuticamente eficaz se puede calcular inicialmente a partir de ensayos en cultivo celular.

#### Formulación farmacéutica

La formulación farmacéutica del antiinfeccioso puede estar compuesta de una dispersión acuosa de liposomas y antiinfeccioso libre, o un polvo deshidratado que contiene liposomas y antiinfeccioso libre. La formulación puede contener excipientes lipídicos para formar los liposomas y sales/tampones para proporcionar la osmolalidad y pH adecuados. Las formulaciones de polvo seco pueden contener excipientes adicionales para prevenir la pérdida del antiinfeccioso encapsulado durante las etapas de secado y molienda potencial necesarias para crear un tamaño de partículas adecuado para la inhalación (es decir, 1-5  $\mu\text{m}$ ). Dichos excipientes se diseñan para aumentar la temperatura de transición vítrea de la formulación de antiinfeccioso. El excipiente farmacéutico puede ser un líquido o carga sólida, diluyente, disolvente o material de encapsulación, implicado en llevar o transportar cualquier composición objeto o componente de la misma de un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo. Cada excipiente debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con la presente composición y sus componentes y no perjudicial para el paciente. Los excipientes adecuados incluyen trehalosa, rafinosa, manitol, sacarosa, leucina, trileucina y cloruro cálcico. Los ejemplos de otros excipientes adecuados incluyen (1) azúcares, tales como lactosa y glucosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes de tamponamiento, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua exenta de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones de tampón fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas usadas en formulaciones farmacéuticas.

#### Dispositivo de inhalación

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar en cualquier dispositivo de dispensación de dosis adaptado para la administración intranasal. El dispositivo debe construirse con el fin de determinar la precisión de la medición óptima y la compatibilidad de sus elementos de construcción, tales como recipiente, válvula y accionador, con la formulación nasal y debe basarse en un sistema de bomba mecánica, p. ej., la de un nebulizador de dosis medida, inhalador de polvo seco, inhalador de niebla fina o un nebulizador. Debido a la dosis grande administrada, los dispositivos preferidos incluyen nebulizadores de chorro (p. ej., PARI LC Star, AKITA), inhaladores de niebla fina (p. ej., PARI e-Flow), e inhaladores de polvo seco basados en cápsulas (p. ej., PH&T Turbospin). Los propulsores adecuados se pueden seleccionar entre gases tales como fluorocarbonos, hidrocarburos, nitrógeno y óxido de dinitrógeno o mezclas de los mismos.

El dispositivo de suministro por inhalación puede ser un nebulizador o un inhalador de dosis medida (MDI), o cualquier otro dispositivo de suministro por inhalación adecuado conocido para el experto en la técnica. El dispositivo puede contener y se puede usar para suministrar una sola dosis de las composiciones de antiinfeccioso o el dispositivo puede contener y se puede usar para suministrar múltiples dosis de las composiciones de la presente invención.

Un dispositivo de suministro por inhalación de tipo nebulizador puede contener las composiciones de la presente invención como una solución, normalmente acuosa, o una suspensión. Para generar la pulverización nebulizada de las composiciones para la inhalación, el dispositivo de suministro de tipo nebulizador puede ser accionado por ultrasonidos, por aire comprimido, por otros gases, de forma electrónica o mecánica. El dispositivo nebulizador ultrasónico normalmente funciona imponiendo una forma de onda que oscila rápidamente sobre la película líquida de la formulación mediante una superficie de vibración electroquímica. A una amplitud dada la forma de onda se vuelve inestable, de modo que desintegra la película de líquidos, y produce pequeñas gotas de la formulación. El dispositivo nebulizador accionado por aire u otro gas funciona basado en que una corriente de gas a alta presión produce una disminución local de la presión que extrae la formulación líquida a la corriente de gases por acción capilar. Esta corriente fina de líquido después es desintegrada por fuerzas de cizalladura. El nebulizador puede ser de diseño portátil y manual, y puede estar equipado con una unidad eléctrica independiente. El dispositivo nebulizador puede



comprender una boquilla que tiene dos canales de salida coincidentes de tamaño de abertura definido a través de los cuales la formulación líquida puede ser acelerada. Esto produce el impacto de las dos corrientes y la atomización de la formulación. El nebulizador puede usar un accionador mecánico para forzar la formulación líquida a través de una boquilla de múltiples orificios de tamaño o tamaños de abertura definidos para producir un aerosol de la formulación para la inhalación. En el diseño de los nebulizadores unidos, se pueden usar envases blíster que contienen unidos de la formulación.

En la presente invención, el nebulizador se puede usar para asegurar que el tamaño de las partículas es óptimo para poner la partícula dentro, por ejemplo, de la membrana pulmonar.

Se puede usar un inhalador de dosis medida (MDI) como el dispositivo de suministro por inhalación para las composiciones de la presente invención. Este dispositivo está presurizado (pMDI) y su estructura básica comprende una válvula dosificadora, un accionador y un recipiente. Se usa un propulsor para descargar la formulación del dispositivo. La composición puede consistir en partículas de un tamaño definido suspendidas en el o los propulsores líquidos presurizados, o la composición puede estar en una solución o suspensión del o de los propulsores líquidos presurizados. Los propulsores usados son principalmente hidrocarburos (HFC) que no dañan la atmósfera tales como 134a y 227. Los clorofluorocarbonos tradicionales tales como CFC-11, 12 y 114 solo se usan cuando es esencial. El dispositivo del sistema de inhalación puede suministrar una sola dosis, p. ej., mediante un envase blíster, o puede tener un diseño de múltiples dosis. El inhalador de dosis medida presurizado del sistema de inhalación puede ser accionado con la respiración para suministrar una dosis precisa de la formulación que contiene lípidos. Para asegurar la precisión de la dosis, el suministro de la formulación se puede programar mediante un microprocesador para que se produzca en un determinado punto del ciclo de inhalación. El MDI puede ser portátil y manual.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

Farmacocinética de la amikacina suministrada tanto como amikacina libre como encapsulada, a voluntarios sanos. La amikacina liposómica nebulizada contiene una mezcla de amikacina encapsulada (aproximadamente, 60%) y libre (aproximadamente, 40%). Después de inhalación en voluntarios sanos, la dosis nominal corregida era 100 mg determinada por gammagrafía. La figura 1 representa la concentración pulmonar de amikacina y TOBI® (administrada 100% libre), basado en la modelización farmacocinética de concentraciones en el suero a lo largo del tiempo. Ambas curvas suponen un volumen de distribución de los aminoglucósidos en el pulmón de 200 ml. Es interesante que los niveles máximos de antiinfeccioso en el pulmón son aproximadamente equivalentes para la dosis de 100 mg de amikacina liposómica, y la dosis de 300 mg de TOBI®. Esto es consecuencia de la rápida depuración de la tobramicina libre del pulmón por absorción en la circulación sistémica con una semivida de aproximadamente 1,5 h. Estos resultados sirven como demostración del mejor direccionamiento pulmonar logrado por la encapsulación liposómica. La presencia de antiinfeccioso libre y encapsulado en la formulación de amikacina se demuestra mediante los perfiles farmacocinéticos observados de los dos componentes. La amikacina libre es absorbida rápidamente en la circulación sistémica (con una semivida similar a TOBI), mientras que el fármaco encapsulado tiene una semivida en el pulmón de aproximadamente 45 h. La amikacina libre está disponible para proporcionar actividad bactericida, mientras que el fármaco encapsulado proporciona niveles sostenidos del fármaco en el pulmón, permitiendo una muerte mejor de las cepas bacterianas resistentes. Las concentraciones medidas en el pulmón para el compartimento liposómico están significativamente por encima de la CIM<sub>50</sub> de 1240 aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*, reduciendo potencialmente el desarrollo de resistencia.

#### Ejemplo 2

Impacto de la amikacina libre en el porcentaje de amikacina encapsulada en liposomas después de nebulización. Las preparaciones liposómicas de amikacina pueden presentar una pérdida significativa del fármaco encapsulado durante la nebulización. Como se detalla en la siguiente tabla 1, se mostró que la presencia de amikacina libre en disolución disminuye sorprendentemente la pérdida de antiinfeccioso del liposoma en aproximadamente cuatro veces. Sin querer estar ligados por ninguna teoría en particular, se plantea la hipótesis de que los liposomas se rompen y vuelven a formar durante la nebulización, perdiendo el antiinfeccioso encapsulado en el proceso. Alternativamente, el antiinfeccioso encapsulado se pierde durante la nebulización debido a que la membrana del liposoma se vuelve propensa a fugas. Cuando hay presente un exceso de antiinfeccioso libre en solución, el antiinfeccioso libre está fácilmente disponible muy cerca del liposoma, y está disponible para ser absorbido de nuevo en el liposoma que se vuelve a formar.

Tabla 1. Efecto de la amikacina libre en la pérdida de amikacina de la amikacina encapsulada en liposoma.

Formulación	% de Amikacina libre (Pre-nebulización)	% Amikacina libre (Post-nebulización)	% Amikacina libre (Debida a la nebulización)
A	3,3 (n = 1)	42,4 ± 3,2 (n = 3)	39,1 ± 3,2 (n = 3)
B	53,6 ± 5,4 (n = 9)	63,3 ± 4,7 (n = 9)	9,8 ± 5,8 (n = 9)

En donde n es el número de mediciones.

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un sistema para usar para proporcionar actividad bactericida inmediata y actividad bactericida sostenida cuando se trata o proporciona profilaxis contra una infección pulmonar, en donde el sistema comprende
- 5 a) una formulación farmacéutica nebulizada que comprende una mezcla de aminoglucósido libre y aminoglucósido encapsulado en liposomas que comprenden una mezcla de vesículas unilaminares y vesículas multilaminares, en donde el componente lipídico de los liposomas consiste en dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y un esteroles, y la cantidad de aminoglucósido libre es suficiente para proporcionar actividad bactericida inmediata, y la cantidad de aminoglucósido encapsulado es suficiente para proporcionar actividad bactericida sostenida,
- 10 y
- b) un nebulizador,
- en donde el aminoglucósido libre se genera por nebulización de aminoglucósido encapsulado en liposomas.
- 2.- El sistema de la reivindicación 1, en donde el aminoglucósido es amikacina, gentamicina, tobramicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, kanamicina o paromomicina.
- 15 3.- El sistema de la reivindicación 2, en donde el aminoglucósido es amikacina.
- 4.- El sistema de cualquier reivindicación precedente, en donde los liposomas tienen un diámetro medio de 0,01 micrómetros a 3,0 micrómetros.
- 5.- El sistema de cualquier reivindicación precedente, en donde los liposomas tienen un diámetro medio de 0,2 a 1,0 micrómetros.
- 20 6.- El sistema de cualquier reivindicación precedente, en donde el esteroles es colesterol.
- 7.- El sistema de cualquier reivindicación precedente, en donde la relación en peso de aminoglucósido libre a aminoglucósido encapsulado es entre 1:100 y 100:1, entre 1:10 y 10:1 o entre 1:2 y 2:1.
- 8.- Una formulación farmacéutica en aerosol para usar para proporcionar actividad bactericida inmediata y actividad bactericida sostenida cuando se trata o proporciona profilaxis contra una infección pulmonar en un paciente, en donde la formulación farmacéutica comprende una mezcla nebulizada de aminoglucósido libre y aminoglucósido encapsulado en liposomas, en donde el aminoglucósido libre se genera por nebulización del aminoglucósido encapsulado en liposomas y en donde los liposomas comprenden una mezcla de vesículas unilaminares y vesículas multilaminares y el componente lipídico de los liposomas consiste en dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y un esteroles, y la cantidad de aminoglucósido libre es suficiente para proporcionar actividad bactericida.
- 25 9.- La formulación farmacéutica en aerosol de la reivindicación 8, en donde la formulación se administra al paciente al menos una vez por semana.
- 10.- La formulación farmacéutica en aerosol de la reivindicación 8 o 9, en donde el paciente tiene enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquiectasia, neumonía bacteriana, exacerbaciones bronquiales agudas de bronquitis crónica (ABECB), *Mycobacterium tuberculosis*, una infección causada por un agente de bioterrorismo inhalado, o una infección fúngica oportunista.
- 35 11.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en donde el aminoglucósido es amikacina, gentamicina, tobramicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, kanamicina o paromomicina.
- 12.- La formulación farmacéutica en aerosol de la reivindicación 11, en donde el aminoglucósido es amikacina.
- 40 13.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-12, en donde los liposomas tienen un diámetro medio de 0,01 micrómetros a 3,0 micrómetros.
- 14.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-13, en donde los liposomas tienen un diámetro medio de 0,2 a 1,0 micrómetros.
- 45 15.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-14, en donde el esteroles es colesterol.
- 16.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-15, en donde la formulación es una solución.
- 17.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-16, en donde la formulación es una suspensión.

- 18.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-17, en donde la relación en peso de aminoglucósido libre a aminoglucósido encapsulado es entre 1:100 y 100:1, entre 1:10 y 10:1 o entre 1:2 y 2:1.
- 5 19.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-18, en donde la infección pulmonar es una infección por *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus anthracis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmenellosis*, *Yersina pestis*, *Mycobacterium leprae*, *M. africanum*, *M asiaticum*, *M. avium-intracellulaire*, *M. chelonae abscessus*, *M. fallax*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. leprae*, *M. malmoense*, *M. shimoidei*, *M. simiae*, *M. szulgai*, *M. xenopi*, *M. tuberculosis*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella abortus*, *Brucella canis*, *Legionella pneumonophilia*, *Francisella tularensis*, *Pneumocystis carinii*, *mycoplasma* o *Burkholderia*.
- 10 20.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-19, en donde el paciente es un paciente de fibrosis quística.
- 15 21.- El sistema de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la infección pulmonar es una infección por *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus anthracis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmenellosis*, *Yersina pestis*, *Mycobacterium leprae*, *M. africanum*, *M. asiaticum*, *M. avium-intracellulaire*, *M. chelonae abscessus*, *M. fallax*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. leprae*, *M. malmoense*, *M. shimoidei*, *M. simiae*, *M. szulgai*, *M. xenopi*, *M. tuberculosis*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella abortus*, *Brucella canis*, *Legionella pneumonophilia*, *Francisella tularensis*, *Pneumocystis carinii*, *mycoplasma* o *Burkholderia cepacia*.
- 20 22.- El sistema de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 o reivindicación 21, en donde el paciente tiene enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquiectasia, neumonía bacteriana, exacerbaciones bronquiales agudas de bronquitis crónica (ABECB), *Mycobacterium tuberculosis*, una infección causada por un agente de bioterrorismo inhalado, o una infección fúngica oportunista.
- 23.- El sistema de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 y 21-22, en donde el paciente es un paciente de fibrosis quística.
- 25 24.- El sistema de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 y 21-23, para usar para reducir el desarrollo de cepas resistentes del agente infeccioso.
- 25.- La formulación farmacéutica en aerosol de una cualquiera de las reivindicaciones 8-20, para usar para reducir el desarrollo de cepas resistentes del agente infeccioso.

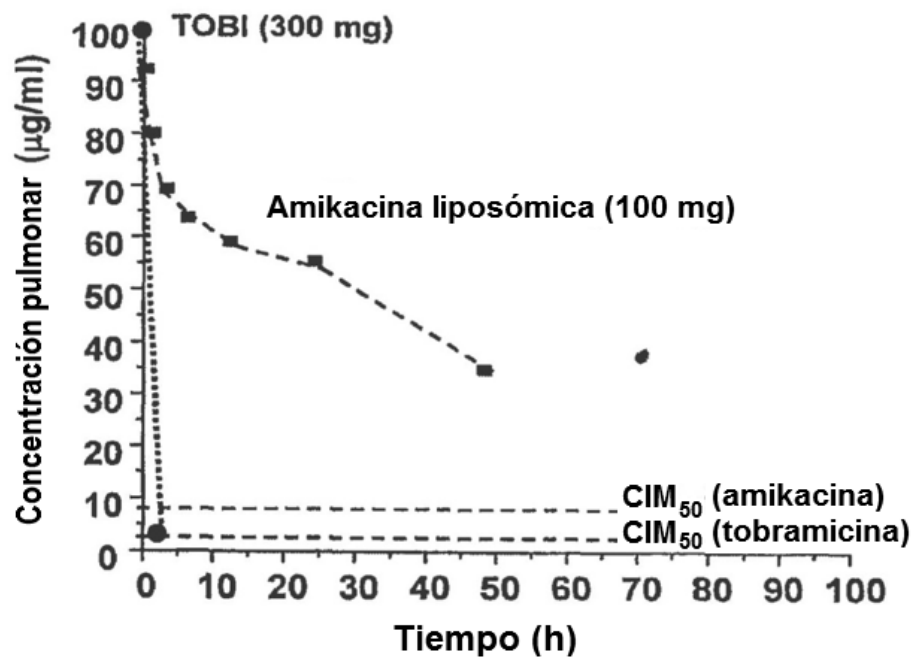


Figura 1