

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 599 313**

51 Int. Cl.:

A61K 31/5383 (2006.01)
A61K 33/14 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01)
A61K 9/12 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2006 PCT/US2006/019351**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.11.2006 WO06125132**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2006 E 06760146 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.08.2016 EP 1901749**

54 Título: **Fluoroquinolonas en aerosol y sus usos**

30 Prioridad:

18.05.2005 US 682530 P
01.07.2005 US 696160 P
13.02.2006 US 773300 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.02.2017

73 Titular/es:

HORIZON ORPHAN LLC (100.0%)
150 South Saunders Road
Lake Forest, IL 60045, US

72 Inventor/es:

SURBER, MARK W.;
BOSTIAN, KEITH A.;
LOMOVSKAYA, OLGA;
GRIFFITH, DAVID C. y
DUDLEY, MICHAEL N.

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 599 313 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

Fluoroquinolonas en aerosol y sus usos

5 Solicitudes relacionadas

Antecedentes de la invención

10 Descripción de la técnica relacionada

15 Los antibióticos han sido herramientas efectivas en el tratamiento de enfermedades infecciosas durante el último medio siglo. Desde el desarrollo de la terapia antimicrobiana a finales de los 1980, la mayoría de las infecciones bacterianas presentes en los pacientes en los países desarrollados podrían controlarse a menos que la infección ocurra en un órgano o medio ambiente donde los antibióticos fueran ineficaces o difíciles de suministrar, tales como las infecciones bacterianas del sistema circulatorio en pacientes con sepsis o infecciones bacterianas de los pulmones en la fibrosis quística. Sin embargo, incluso en las infecciones ordinarias, en respuesta a la presión del uso de antimicrobianos, se han generalizado múltiples mecanismos de resistencia y amenazan la utilidad clínica incluso de la terapia antibacteriana más agresiva. El aumento de cepas antimicrobianas resistentes ha sido particularmente común en los principales hospitales y centros de cuidado. Las consecuencias del aumento de cepas resistentes incluyen mayor morbilidad y mortalidad, la hospitalización más prolongada del paciente, y un aumento en los costos de tratamiento.

25 Las bacterias han desarrollado varios mecanismos diferentes para superar la acción de los antimicrobianos. Estos mecanismos de resistencia pueden ser específicos para una molécula o una familia de antimicrobianos, o pueden ser no específicos e involucrarse en la resistencia a los antimicrobianos no relacionados. Varios mecanismos de resistencia pueden existir en una única cepa bacteriana, y estos mecanismos pueden actuar de forma independiente o pueden actuar de forma sinérgica para superar la acción de un antimicrobiano o una combinación de antimicrobianos. Mecanismos específicos incluyen la degradación del fármaco, la inactivación del fármaco por modificación enzimática, y alteración del objetivo del fármaco. Existen, sin embargo, mecanismos más generales de resistencia a los fármacos, en los que se evita o reduce el acceso del antimicrobiano al objetivo mediante la disminución del transporte del antimicrobiano en la célula o mediante el aumento del eflujo de fármaco a partir de la célula al medio exterior. Ambos mecanismos pueden reducir la concentración del fármaco en el sitio objetivo y permitir la supervivencia bacteriana en presencia de uno o más antimicrobianos que de cualquier otra forma podrían inhibir o destruir las células bacterianas. Algunas bacterias utilizan ambos mecanismos, combinando una baja permeabilidad de la pared celular (que incluye las membranas) con un eflujo activo de los antimicrobianos.

35 El documento de patente WO0218345 describe ciertos ácidos 7-amino sustituido-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolina-3-carboxílicos y sales farmacéuticamente aceptables o ésteres de estos que tienen una porción potenciadora de la solubilidad en las posiciones 1 y/o 7 o profármacos de estos, y los usos de los compuestos en el tratamiento de las infecciones bacterianas. Se declaran los compuestos que sean adecuados para el suministro por inhalación para el tratamiento de infecciones pulmonares.

40 Breve descripción de la invención

45 De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una solución de una fluoroquinolona y un catión divalente o trivalente, en donde la fluoroquinolona es levofloxacina u ofloxacina.

Además se proporciona un aerosol de una solución que comprende una fluoroquinolona y un catión divalente o trivalente, en donde la fluoroquinolona es levofloxacina u ofloxacina.

50 Además se proporciona un contenedor de un solo uso estéril, que comprende la composición farmacéutica.

Además se proporciona un kit que comprende una composición farmacéutica que comprende una solución de la levofloxacina u ofloxacina y un catión divalente en un contenedor estéril, en donde la solución de la levofloxacina u ofloxacina tiene una osmolalidad mayor de aproximadamente 150 mOsmol/kg, y un nebulizador adaptado para aerosolizar la solución concentrada de la levofloxacina u ofloxacina para el suministro a un tracto respiratorio inferior a través de la inhalación oral.

60 Además se proporciona el uso de la composición farmacéutica en la preparación de un medicamento, preferentemente un aerosol, para tratar: (i) una infección pulmonar o fibrosis quística, preferentemente fibrosis quística; o (ii) neumonía, una enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o sinusitis.

65 Además se proporciona el uso de la composición farmacéutica en la preparación de un aerosol para tratar o prevenir una infección microbiana en un paciente con una concentración en un pulmón del paciente de al menos 32 µg/ml de la levofloxacina u ofloxacina, preferentemente una concentración en el pulmón de al menos 128 µg/ml de la levofloxacina u ofloxacina, más preferido una concentración en el pulmón de al menos 512 µg/ml de la levofloxacina u ofloxacina, incluso más preferido una concentración en el pulmón de 800 µg/mL a 1600 µg/mL de la levofloxacina u ofloxacina.

Además se proporciona un método para enmascarar el sabor de una fluoroquinolona seleccionada de la levofloxacin u ofloxacin, que comprende acomplejar la fluoroquinolona con un catión divalente o trivalente.

5 Varias modalidades proporcionan composiciones y métodos para la actividad antimicrobiana óptima para el tratamiento de las infecciones pulmonares y del tracto respiratorio en sujetos humanos y/o veterinarios usando la administración en aerosol rápida, a corto plazo, y a través del suministro de la exposición del fármaco a alta concentración directamente al tejido afectado. Específicamente, en algunas modalidades, las dosis concentradas de agentes a partir de la clase de antibiótico fluoroquinolona se suministran para producir concentraciones máximas del fármaco activo en los compartimentos respiratorio, pulmonar, y otros tópicos no orales, que incluyen, pero no se limitan a la piel, recto, vagina, uretra, vejiga urinaria, ojo y oído. Debido a que se conocen diferentes productos farmacéuticos que producen diferentes efectos antimicrobianos en dependencia del perfil de dosis, forma, concentración y suministro, algunas modalidades proporcionan parámetros de formulación y suministro específicos que producen resultados antimicrobianos que son terapéuticamente significativos. La invención incluye, pero no se limita a, antibióticos de fluoroquinolona específicos, tales como levofloxacin, formulados para permitir la administración en aerosol reuniendo concentraciones específicas y criterios antimicrobianos necesarios para tratar a pacientes con distintas infecciones bacterianas. Estas formulaciones y métodos son útiles con los dispositivos de inhalación disponibles en el mercado para una o más oportunidades de productos terapéuticos en aerosol.

20 La administración en aerosol directamente a los compartimentos nasal, seno, tracto respiratorio y pulmonar a través de inhalación intranasal u oral permite el suministro de fármacos de alta concentración a un sitio de la infección respiratoria con disminución del riesgo de toxicidad extra-respiratoria asociado con las rutas no respiratorias de suministro de fármacos. Además, la administración directa en el sitio de infección permite muy altos niveles de fármaco locales, una propiedad que permite la "administración rápida, alta concentración, exposición local" eliminando el efecto especial a esta clase de antibiótico. En consecuencia, debido a que el efecto de la destrucción microbiana de un compuesto antibiótico en particular y la composición terapéutica varía en dependencia de los parámetros de formulación y suministro, pueden desarrollarse nuevas composiciones y métodos de suministro para los compuestos del fármaco existente que se reformulan y administran a través de nuevas técnicas de suministro existentes. Otras infecciones tópicas pueden beneficiarse además, del descubrimiento a través de la exposición directa de la fluoroquinolona de alta concentración, en la piel infectada, recto, vagina, uretra, vejiga urinaria, ojo y oído.

30 Los miembros de la clase de fármaco de fluoroquinolona exhiben propiedades farmacológicas únicas, que incluyen la biodisponibilidad (F), tiempo de absorción medio (MAT) de los pulmones, concentraciones de fármaco máxima en el fluido del revestimiento epitelial, fluido de lavado bronquial, esputo y/o tejido pulmonar (C_{máx}) después de la administración de aerosol, tiempo de retención pulmonar, área bajo la curva (AUC), concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del antibiótico requeridas para la actividad antibacteriana, la relación AUC/CMI, y seguridad local y sistémica. Específico de la invención está el uso de la administración rápida en aerosol, a corto plazo, lo que suministra alta concentración de exposición al fármaco directamente en el tejido afectado (ELF, esputo, BAL, tejido) a través del suministro del aerosol para el tratamiento de la infección bacteriana en animales y seres humanos.

40 Además de los requisitos clínicos y farmacológicos presentes en cualquier composición destinada para la administración terapéutica, se deben considerar también, muchos factores fisicoquímicos únicos para un compuesto farmacéutico. Estos incluyen, pero no se limitan a la solubilidad acuosa, viscosidad, coeficiente de partición (LogP), estabilidad prevista en varias formulaciones, osmolalidad, tensión superficial, pH, pK_a, pK_b, velocidad de disolución, permeabilidad del esputo, unión/inactivación del esputo, sabor, irritabilidad de la garganta y tolerancia aguda.

45 Otros factores a considerar al diseñar la forma del producto incluyen la química física de la fluoroquinolona y la actividad antibacteriana, indicación de la enfermedad, aceptación clínica, y conformidad del paciente.

50 Combinado con la forma del producto está la consideración del empaque. Mediante el ejemplo no limitante, las consideraciones para empaquetar incluyen la estabilidad intrínseca del producto, la necesidad de liofilización que proporciona estabilidad, selección de dispositivo (por ejemplo, nebulizador líquido, inhaladores de polvo seco, inhalador de dosis medida), y forma de empaque (por ejemplo, formulación líquida simple o líquida compleja en un frasco en forma de líquido o liofilizado que se disuelve antes de o después de la inserción en el dispositivo; las formulaciones complejas en suspensión en un frasco ya sea un líquido o liofilizado con o sin un componente de sal/excipientes soluble que se disuelve antes de o después de la inserción en el dispositivo, o en el empaque por separado de los componentes líquidos y sólidos; las formulaciones de polvo seco en un frasco, paquete de cápsula o blíster, y otras formulaciones empacadas como agentes sólidos de baja solubilidad o fácilmente solubles en contenedores separados solos o junto con agentes sólidos fácilmente solubles o de baja solubilidad. Cualquier agente empacado por separado, será fabricado para mezclarse antes de o después de la inserción en el dispositivo de suministro).

60 En algunos aspectos, la presente invención se refiere al aerosol y el suministro tópico de antimicrobianos de la fluoroquinolona, tales como levofloxacin. La levofloxacin tiene características de solubilidad favorables que permiten la dosificación de niveles de fluoroquinolona clínicamente deseables por aerosol (por ejemplo, a través de la nebulización de líquido, dispersión de polvo seco o administración de dosis medida) o de forma tópica (por ejemplo, suspensión acuosa, preparación oleosa o similares o como un goteo, pulverización, supositorio, ungüento, o una pomada o similares) y puede usarse en métodos para el tratamiento agudo o profiláctico de un vertebrado infectado, por

ejemplo, una infección bacteriana, o un sujeto en riesgo de una infección. Otros antimicrobianos de fluoroquinolona incluyen la ofloxacin.

5 Se describe un método para tratar una infección bacteriana en un sujeto usando levofloxacin en aerosol concentrada que se administra a un sujeto infectado con una bacteria patógena en los pulmones.

10 El método terapéutico puede incluir además, una etapa de diagnóstico, tal como la identificación de un paciente infectado con una bacteria patogénica particular, o una bacteria resistente. En algunas modalidades, el método incluye además, identificar un paciente que se coloniza con una bacteria que es capaz de desarrollar resistencia a los antimicrobianos de la fluoroquinolona. En algunas modalidades, la cantidad suministrada de la levofloxacin en aerosol es suficiente para superar la resistencia o prevenir el desarrollo de resistencia a la levofloxacin. En una modalidad, la CMI del compuesto antibacteriano de la fluoroquinolona para el microbio es mayor que aproximadamente 2 ug/ml.

15 En otra modalidad, la cantidad suministrada de la levofloxacin en aerosol es suficiente para superar la resistencia o prevenir además la resistencia de un organismo que presenta una CMI del compuesto antibacteriano de la fluoroquinolona que es mayor que aproximadamente 4 ug/ml.

20 En otra modalidad, la cantidad suministrada de fluoroquinolona en aerosol es suficiente para superar la resistencia o prevenir además la resistencia de un organismo que presenta una CMI del compuesto antibacteriano de la fluoroquinolona que es mayor de aproximadamente 8 ug/ml.

25 En otra modalidad, la cantidad suministrada de fluoroquinolona en aerosol es suficiente para superar la resistencia o prevenir además la resistencia de un organismo que presenta una CMI del compuesto antibacteriano de la fluoroquinolona que es mayor de aproximadamente 16 ug/ml.

En otra modalidad, la cantidad suministrada de fluoroquinolona en aerosol es suficiente para superar la resistencia o prevenir además la resistencia de un organismo que presenta una CMI del compuesto antibacteriano de la fluoroquinolona que es mayor de aproximadamente 32 ug/ml.

30 Se describe además, un método para el tratamiento profiláctico de un sujeto, que incluye administrar a un sujeto, susceptible a la infección microbiana o un portador crónico de una infección microbiana asintomática o poco sintomática, un antimicrobiano de la fluoroquinolona para lograr una concentración mínima inhibitoria de los antimicrobianos en un sitio de infección potencial o actual. En una modalidad, el método comprende además, identificar un sujeto como un sujeto en riesgo de una infección bacteriana o en riesgo de una exacerbación de una infección.

35 Se describe además, un método para el tratamiento agudo o profiláctico de un paciente a través de la administración de la fluoroquinolona en aerosol para producir y mantener las concentraciones umbrales del fármaco en el pulmón, que pueden medirse como niveles de fármaco en el fluido del revestimiento epitelial (ELF), esputo, tejido pulmonar o fluido de lavado bronquial (BAL). Una modalidad incluye el uso de la administración rápida en aerosol, a corto plazo, que suministra alta concentración de exposición al fármaco directamente en el tejido afectado para el tratamiento de infecciones bacterianas en animales y seres humanos.

40 Se describe además, un método para tratar una infección microbiana en un sujeto, que incluye administrar a un sujeto infectado con un microbio, un antimicrobiano de la fluoroquinolona para lograr una concentración mínima inhibitoria de los antimicrobianos en un sitio de la infección. En una modalidad, el método comprende además, identificar al sujeto como infectado por un microbio que es resistente a un agente antimicrobiano.

45 Se describe además un método para el tratamiento agudo o profiláctico de un paciente a través de la administración tópica no oral o no nasal de la fluoroquinolona para producir y mantener las concentraciones umbrales del fármaco en el sitio de la infección o en riesgo de infección. Una modalidad incluye el uso de la administración rápida en aerosol, a corto plazo, que suministra alta concentración de exposición al fármaco directamente en el tejido afectado para el tratamiento o la prevención de las infecciones bacterianas en la piel, rectal, vaginal, uretral, ocular, y los tejidos auriculares.

50 Se describe además, un método para administrar un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona por inhalación, en donde el aerosol líquido o polvo seco inhalado tiene un tamaño medio de partícula de entre aproximadamente 1 micra a 10 micras de diámetro aerodinámico mediano de masa y una desviación estándar geométrica del tamaño de partícula de menos que o igual a aproximadamente 3 micras. En otra modalidad, el tamaño de partícula es de 2 micras a aproximadamente 5 micras de diámetro aerodinámico mediano de masa y una desviación estándar geométrica del tamaño de partícula de menos de o igual a aproximadamente 2 micras. En una modalidad, la desviación estándar geométrica del tamaño de partícula es menos de o igual a aproximadamente 1,8 micras.

55 En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, la concentración mínima inhibitoria antimicrobiana de la fluoroquinolona permanece en el sitio de la infección durante al menos un período de aproximadamente 5 minutos, al menos aproximadamente un período de 10 min, al menos aproximadamente un período de 20 min, al menos aproximadamente un período de 30 min, al menos aproximadamente un período de 1 hora, período de 2 horas, al

menos aproximadamente un período de 4 horas o de otros valores de tiempo en el intervalo del cuarto de hora. La concentración mínima inhibitoria (CMI) efectiva de antimicrobiano de la fluoroquinolona es suficiente para causar un efecto terapéutico y el efecto puede localizarse en el sitio de infección. En algunas modalidades, una o más administraciones de la levofloxacin logran una concentración de la fluoroquinolona en ELF, BAL, y/o esputo de al menos 1 vez a 5000 veces la CMI de los organismos infectantes o potencialmente infectantes, que incluyen todos los valores enteros en el mismo, tal como 2 veces, 4 veces, 8 veces, 16 veces, 32 veces, 64 veces, 128 veces, 256 veces, 512 veces, 1028 veces, 2056 veces, y 4112 veces las CMI microbianas.

En algunas modalidades, tal como un sitio pulmonar, el antimicrobiano de la fluoroquinolona se administra en una o más administraciones para lograr una dosis respirable suministrada diaria de al menos aproximadamente 5 mg a aproximadamente 50 mg, que incluyen todos los valores enteros en la misma tal como 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 y 45 miligramos. Del mismo modo, el agente antimicrobiano de la fluoroquinolona se administra en una o más administraciones para lograr una dosis respirable suministrada diaria de al menos aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg que incluyen todos los valores enteros en la misma, tales como 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, y 95 mg. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, el antimicrobiano de la fluoroquinolona se administra en una o más administraciones para lograr una dosis diaria respirable suministrada de hasta 150 mg que incluyen todos los valores enteros en la misma, tales como 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140 y 145 mg. El antimicrobiano de la fluoroquinolona se administra en la dosis respirable suministrada descrita en menos de 20 minutos, menos de 10 minutos, menos de 7 minutos, menos de 5 minutos, en menos de 3 minutos y en menos de 2 minutos. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, el agente antimicrobiano es preferentemente la levofloxacin.

En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, la bacteria es una bacteria gram-negativa tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas acidovorans*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Aeromonas hydrophilia*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Francisella tularensis*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia intermedia*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus haemolyticus*, *Haemophilus parahaemolyticus*, *Haemophilus ducreyi*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Branhamella catarrhalis*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Borrelia burgdorferi*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Kingella*, *Moraxella*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides 3452A* homology group, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides ovalus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides eggerthii*, y *Bacteroides splanchnicus*. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, la bacteria es una bacteria anaerobia gramnegativa, mediante el ejemplo no limitante, estas incluyen *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides distasonis*, grupo homología *Bacteroides 3452A*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides ovalus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides eggerthii*, y *Bacteroides splanchnicus*. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, la bacteria es una bacteria grampositiva, mediante el ejemplo no limitante, esta incluye: *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus milleri*; *Streptococcus* (Grupo G); *Streptococcus* (Grupo C/F); *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, y *Staphylococcus saccharolyticus*. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, la bacteria es una bacteria Grampositiva anaerobia, mediante el ejemplo no limitante, estas incluyen *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, y *Clostridium botulinum*. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, la bacteria es una bacteria ácido resistente, mediante el ejemplo no limitante, estas incluyen *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, y *Mycobacterium leprae*. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, la bacteria es una bacteria atípica, mediante el ejemplo no limitante, estas incluyen *Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*.

En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, el sujeto es un ser humano. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, el sujeto es un ser humano con fibrosis quística. En algunas modalidades de los métodos anteriormente descritos, el sujeto es un ser humano con neumonía, una enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o sinusitis, o un ser humano ventilado mecánicamente.

En otra modalidad, se proporciona una composición farmacéutica que incluye una formulación antimicrobiana de la fluoroquinolona líquida simple (por ejemplo, la fluoroquinolona soluble con excipientes no encapsulados solubles en agua) como se describió anteriormente que tiene una osmolalidad de aproximadamente 200 mOsmol/kg a aproximadamente 1250 mOsmol/kg. En una de tales modalidades, la solución tiene una concentración de ion permeante de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 300 mM. En una modalidad, la osmolalidad es de aproximadamente 250 mOsmol/kg a aproximadamente 1050 mOsmol/kg. En una modalidad, la osmolalidad es preferentemente de

aproximadamente 350 mOsmol/kg y aproximadamente 750 mOsmol/kg y con preferencia superlativa aproximadamente de 300 mOsmol/kg.

5 En otra modalidad, se proporciona una composición farmacéutica que incluye una formulación antimicrobiana de la fluoroquinolona líquida simple que tiene una concentración de ion permeante entre aproximadamente 30 mM a aproximadamente 300 mM y preferentemente entre aproximadamente 50 mM a 200 mM. En una modalidad de este tipo, uno o más iones permeantes en la composición se seleccionan del grupo que consiste en cloruro y bromuro.

10 En otra modalidad, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un agente enmascarador del sabor. Mediante ejemplo no limitante, un agente enmascarador del sabor puede incluir un azúcar, un catión divalente o trivalente que forma complejos con una fluoroquinolona, osmolalidad optimizada, y/o una concentración de ion permeante optimizada.

15 En otra modalidad, se proporciona un sistema para administrar un antimicrobiano de la fluoroquinolona que incluye un contenedor que comprende una solución de un antimicrobiano de la fluoroquinolona y un nebulizador físicamente acoplado o coempaquetado con el contenedor y adaptado para producir un aerosol de la solución que tiene un tamaño de partícula de aproximadamente 2 micras a aproximadamente 5 micras de diámetro aerodinámico mediano de masa y una desviación estándar geométrica de tamaño de partícula de menos de o igual a aproximadamente 2,5 micras de diámetro aerodinámico mediano de masa. En una modalidad, la desviación estándar geométrica del tamaño de partícula es menos de o igual a aproximadamente 2,0 micras. En una modalidad, la desviación estándar geométrica del tamaño de partícula es menos de o igual a aproximadamente 1,8 micras.

25 En otra modalidad, se proporciona un kit que incluye un contenedor que comprende una formulación farmacéutica que comprende un agente antimicrobiano de la quinolona y un aerosolizador adaptado para aerosolizar la formulación farmacéutica y suministrarla al tracto respiratorio inferior y el compartimento pulmonar después de la administración intraoral.

30 En otra modalidad, se proporciona un kit que incluye un contenedor que comprende una formulación farmacéutica que comprende un agente antimicrobiano de la quinolona y un aerosolizador adaptado para aerosolizar la formulación farmacéutica y suministrarla a la cavidad nasal después de la administración intranasal.

Debe entenderse que tanto la descripción general anterior como la descripción detallada siguiente son sólo ilustrativas y explicativas y no son restrictivas de la invención reivindicada.

35 Descripción de las figuras

La Figura 1 es un gráfico que muestra la dosis: Relación CMI de las fluoroquinolonas y otros antibióticos para destruir las bacterias.

40 La Figura 2 es un gráfico que muestra las concentraciones en suero de la ciprofloxacina después de la dosificación oral tanto en pacientes CF como en los controles sanos.

La Figura 3 es un gráfico que muestra las concentraciones de la ciprofloxacina en el esputo y suero después de la dosificación oral.

45 La Figura 4A es un gráfico que muestra que la destrucción en el tiempo de la levofloxacina repercute sobre la fase logarítmica de las células PAM1020.

La Figura 4B es un gráfico que muestra que la destrucción en el tiempo de la levofloxacina repercute sobre la fase logarítmica de las células PAM1032.

La Figura 5A es un gráfico que muestra que la destrucción en el tiempo de Levofloxacina repercute sobre la fase estacionaria de las células PAM1020.

50 La Figura 5B es un gráfico que muestra que la destrucción en el tiempo de Levofloxacina repercute sobre la fase estacionaria de las células PAM1032.

La Figura 6A es un gráfico que muestra el re-crecimiento de PAM 1020 después de una exposición con Levofloxacina por 10 minutos.

La Figura 6B es un gráfico que muestra el re-crecimiento de PAM 1020 después de una exposición con Levofloxacina por 160 minutos.

55 La Figura 6C es un gráfico que muestra el re-crecimiento de PAM 1032 después de una exposición con Levofloxacina por 10 minutos.

La Figura 6D es un gráfico que muestra el re-crecimiento de PAM 1032 después de una exposición con Levofloxacina por 160 minutos.

60 La Figura 7A es un gráfico que muestra que la destrucción en el tiempo de la Levofloxacina repercute sobre la fase logarítmica tardía de las células PAM1020 bajo condiciones limitantes de oxígeno.

La Figura 7B es un gráfico que muestra que la destrucción en el tiempo de la Levofloxacina repercute sobre la fase logarítmica tardía de las células PAM1032 bajo condiciones limitantes de oxígeno.

La Figura 8A es un gráfico que muestra la cinética de destrucción de la Levofloxacina de PAM1032 en caldo Mueller-Hinton (MHB).

65 La Figura 8B es un gráfico que muestra la cinética de destrucción de la Levofloxacina de PAM1032 en el esputo de fibrosis quística.

La Figura 9 es un gráfico que muestra que la destrucción de la Levofloxacin afecta las biopelículas en *Pseudomonas*.
La Figura 10 es un gráfico que muestra los efectos bactericidas de la Levofloxacin con una $C_{m\acute{a}x}$ de 1000 $\mu\text{g/ml}$ y una vida media de 10 minutos en un modelo de fibra hueca.

La Figura 11 es un gráfico que muestra los efectos bactericidas de la Levofloxacin con una $C_{m\acute{a}x}$ de 600 $\mu\text{g/ml}$ y una vida media de 10 minutos en un modelo de fibra hueca.

La Figura 12 es un gráfico que muestra el perfil de solubilidad de pH de la Levofloxacin por titulaci3n con 3cido.

La Figura 13 es un gráfico que mide pH, mientras que titula la Levofloxacin con HCl.

La Figura 14 es un gráfico que muestra el $V_t[\text{OH}]$ vs. V_t de la Levofloxacin.

La Figura 15 es un gráfico que mide pH, mientras que titula la Levofloxacin con NaOH.

La Figura 16 es un gráfico que mide dpH/dV vs volumen de titulante NaOH (V_t) para la titulaci3n de la Levofloxacin.

La Figura 17 es un gráfico que mide la absorbancia de una soluci3n de la Levofloxacin a 257 nm vs pH.

La Figura 18 es un gráfico que muestra la complejaci3n de la Levofloxacin con cationes divalentes y trivalentes.

La Figura 19 es un gráfico que muestra la titulaci3n doble de la complejaci3n de la Levofloxacin con Mg^{2+} .

La Figura 20 es un gráfico que muestra la titulaci3n doble de la complejaci3n de la Levofloxacin con Fe^{2+} .

La Figura 21 es un gráfico que muestra la titulaci3n doble de la complejaci3n de la Levofloxacin con Ca^{2+} .

La Figura 22 es un gráfico que muestra la titulaci3n doble de la complejaci3n de la Levofloxacin con Zn^{2+} .

La Figura 23 es un gráfico que muestra la Levofloxacin acomplejada con Ca^{2+} vs. Levofloxacin libre.

La Figura 24 es un gráfico que muestra la Levofloxacin acomplejada con Mg^{2+} vs. Levofloxacin libre.

La Figura 25 es un gráfico que muestra la Levofloxacin acomplejada con Fe^{2+} vs. Levofloxacin libre.

La Figura 26 es un gráfico que muestra la Levofloxacin acomplejada con Zn^{2+} vs. Levofloxacin libre.

La Figura 27 es un gráfico que muestra la solubilidad de la Levofloxacin en presencia de Mg^{2+} .

La Figura 28 es un gráfico que muestra la solubilidad de la Levofloxacin en presencia de Mg^{2+} a una fuerza i3nica constante.

La Figura 29 es un gráfico que muestra la complejaci3n de la Levofloxacin con Fe^{2+} , medida por la espectrofluorometr3a.

La Figura 30 es un gráfico que muestra la complejaci3n de la Levofloxacin con Zn^{2+} medida por la espectrofluorometr3a.

Descripci3n Detallada

Muchos de los problemas asociados con pat3genos resistentes a los antimicrobianos pueden aliviarse si la concentraci3n del antimicrobiano puede aumentarse de forma segura en el sitio de la infecci3n. Por ejemplo, las infecciones pulmonares pueden tratarse mediante la administraci3n directamente del agente antimicrobiano, a altas concentraciones directamente al sitio de la infecci3n, sin incurrir en grandes concentraciones sist3micas del antimicrobiano. En consecuencia, algunas modalidades descritas en la presente descripci3n son m3todos mejorados para suministrar composiciones de f3rmacos para tratar infecciones bacterianas pulmonares. M3s espec3ficamente, como se describe en la presente descripci3n, se ha descubierto que la levofloxacin en aerosol y otras fluoroquinolonas pueden suministrarse de forma segura mediante la inhalaci3n a niveles suficientes para destruir las infecciones bacterianas sensibles, para disminuir la frecuencia de la resistencia antimicrobiana y para aumentar la eficacia contra infecciones pulmonares resistentes.

Definiciones

El t3rmino "administraci3n" o "administrar" se refieren a un m3todo para dar una dosificaci3n de una composici3n farmac3utica antimicrobiana a un vertebrado. El m3todo preferido de administraci3n puede variar en dependencia de diversos factores, por ejemplo, los componentes de la composici3n farmac3utica, el sitio de la infecci3n bacteriana potencial o real, el microbio implicado, y la gravedad de una infecci3n microbiana real.

Un "portador" o "excipiente" es un compuesto o material usado para facilitar la administraci3n del compuesto, por ejemplo, para aumentar la solubilidad del compuesto. Los portadores s3lidos incluyen, por ejemplo, almid3n, lactosa, fosfato dic3lcico, sacarosa y caol3n. Los portadores l3quidos incluyen, por ejemplo, agua est3ril, soluci3n salina, tampones, tensioactivos no i3nicos y aceites comestibles tales como aceite, aceites de cacahuete y de s3samo. Adem3s, pueden incluirse diversos adyuvantes, tales como los usados com3nmente en la t3cnica. Estos y otros tales compuestos se describen en la literatura, por ejemplo, en el 3ndice de Merck, Merck & Company, Rahway, Nueva Jersey. Se describen consideraciones para la inclusi3n de diversos componentes en las composiciones farmac3uticas, por ejemplo, en Gilman y otros. (Eds). (1990); Goodman y Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8va Ed., Pergamon Press.

Un "diagn3stico" como se usa en la presente descripci3n es un compuesto, m3todo, sistema o dispositivo que ayuda en la identificaci3n y caracterizaci3n de un estado de salud o enfermedad. El diagn3stico puede usarse en ensayos est3ndar como se conoce en la t3cnica.

El t3rmino "mam3fero" se usa en su sentido biol3gico habitual. Por lo tanto, se incluyen espec3ficamente los seres humanos, ganado vacuno, caballos, perros, y gatos, pero adem3s se incluyen muchas otras especies.

El t3rmino "infecci3n microbiana" se refiere a la proliferaci3n no deseada o la presencia de invasi3n de microbios

patógenos en un organismo huésped. Esto incluye el crecimiento excesivo de microbios que normalmente están presentes en o sobre el cuerpo de un mamífero u otro organismo. Más generalmente, una infección microbiana puede ser cualquier situación en la que la presencia de una población(es) microbiana(s) es perjudicial para un mamífero huésped. Por lo tanto, existe una infección microbiana cuando un número excesivo de una población microbiana está presente en o sobre el cuerpo de un mamífero, o cuando los efectos de la presencia de una población(es) microbiana(s) dañan las células u otros tejidos de un mamífero.

El término "portador farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de absorción retardada y similares. El uso de tales medios y agentes para las sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. Ingredientes activos suplementarios pueden además incorporarse en las composiciones.

El término "sal" o "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales que retienen las propiedades y la efectividad biológica de los compuestos de esta invención, y que no sean biológicamente o de cualquier otra manera indeseables. En muchos casos, los compuestos de esta invención son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos. Las sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables pueden formarse con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos a partir de los que pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares. Los ácidos orgánicos a partir de los que pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, el ácido acético, ácido propiónico, ácido naftoico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido pamoico (embónico), ácido esteárico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucoheptónico, ácido glucurónico, ácido láctico, ácido lactobioico, ácido tartárico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, y similares. Las sales de adición básica farmacéuticamente aceptables pueden formarse con bases inorgánicas y orgánicas. Las bases inorgánicas a partir de las que pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio, y similares; son particularmente preferidas las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las bases orgánicas a partir de las que pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias, y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico, y similares, específicamente tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, histidina, arginina, lisina, benetamina, N-metil-glucamina, y etanolamina. Otros ácidos incluyen ácido dodecilsulfúrico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, y sacarina.

"Solvato" se refiere al compuesto formado por la interacción de un disolvente y antimicrobiano de la fluoroquinolona, un metabolito, o sal de este. Los solvatos adecuados son solvatos farmacéuticamente aceptables, que incluyen los hidratos.

En el contexto de la respuesta de un microbio, tal como una bacteria, a un agente antimicrobiano, el término "susceptibilidad" se refiere a la sensibilidad del microbio para la presencia del agente antimicrobiano. De esta manera, aumentar la susceptibilidad significa que el microbio será inhibido por una menor concentración del agente antimicrobiano en el medio que rodea a las células microbianas. Esto es equivalente a decir que el microbio es más sensible al agente antimicrobiano. En la mayoría de los casos se habrá reducido la concentración mínima inhibitoria (CMI) de dicho agente antimicrobiano.

Por "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad farmacéuticamente efectiva" se entiende un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona, como se describe para esta invención, que tiene un efecto terapéutico. Las dosis del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona que son útiles en el tratamiento son cantidades terapéuticamente efectivas. Por lo tanto, como se usa en la presente descripción una cantidad terapéuticamente efectiva significa aquellas cantidades del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona que producen el efecto terapéutico deseado, como se juzga por los resultados de los ensayos clínicos y/o estudios de infección en el modelo animal. En modalidades particulares, el agente antimicrobiano de la fluoroquinolona se administra en una dosis pre-determinada, y por lo tanto, una cantidad terapéuticamente efectiva puede ser una cantidad de dosis administrada. Esta cantidad y la cantidad del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona pueden determinarse rutinariamente por un experto en la técnica, y variarán, en dependencia de varios factores, tales como la cepa microbiana particularmente implicada. Esta cantidad puede depender además de la altura, peso, sexo, edad e historia clínica del paciente. Para los tratamientos profilácticos, una cantidad terapéuticamente efectiva es aquella cantidad que puede ser efectiva para prevenir una infección microbiana.

Un "efecto terapéutico" alivia, en cierta medida, uno o más de los síntomas de la infección, e incluye la curación de una infección. "Curación" significa que los síntomas de la infección activa se eliminan, incluyendo la eliminación total o sustancial de los miembros excesivos de microbios viables de los implicados en la infección a un punto en o por debajo del umbral de detección por mediciones tradicionales. Sin embargo, pueden existir ciertos efectos a largo plazo o permanentes de la infección, incluso después de que se obtiene una curación (tal como el daño tisular extenso). Como se usa en la presente descripción, un "efecto terapéutico" se define como una reducción estadísticamente significativa

de la carga bacteriana en un huésped, aparición de resistencia, o mejora en los síntomas de infección, medido por resultados clínicos en seres humanos o estudios con animales.

5 "Trata", "tratamiento" o "tratar", como se usa en la presente descripción se refiere a administrar una composición farmacéutica para propósitos profilácticos y/o terapéuticos. El término "tratamiento profiláctico" se refiere a tratar un paciente que todavía no está infectado, pero que es susceptible a, o de cualquier otra forma está en riesgo de una infección en particular. El término "tratamiento terapéutico" se refiere a administrar tratamiento a un paciente que ya sufre de una infección. Por lo tanto, en modalidades preferidas, tratar es la administración a un mamífero (ya sea con propósitos terapéuticos o profilácticos) de cantidades terapéuticamente efectivas de un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona.

10 La farmacocinética (PK) se refiere a la evolución en el tiempo de la concentración de antimicrobiano en el cuerpo. La farmacodinámica (PD) se refiere a la relación entre la farmacocinética y la eficacia antimicrobiana *in vivo*. Los parámetros PK/PD correlacionan la exposición a los antimicrobianos con la actividad antimicrobiana. La velocidad de destrucción por el antimicrobiano es dependiente del modo de acción del antimicrobiano y se determina ya sea por el tiempo necesario para destruir (dependiente del tiempo) o el efecto de aumentar las concentraciones (dependiente de la concentración). En consecuencia, para predecir la eficacia terapéutica de los antimicrobianos con diversos mecanismos de acción diferentes pueden usarse los parámetros PK/PD.

15 La "relación AUC/CMI" es un ejemplo de un parámetro PK/PD. AUC se define como el área bajo la curva de concentración de la infección en el sitio de la infección o plasma en el tiempo de un agente antimicrobiano *in vivo* (en animal o ser humano). La relación AUC/CMI se determina dividiendo las AUC de 24 horas de un antimicrobiano individual por la CMI para el mismo antimicrobiano determinada *in vitro*. La actividad de los antimicrobianos con la destrucción dependiente de la dosis (tal como las fluoroquinolonas) es bien predicho por la magnitud de la relación AUC/CMI.

20 La relación "C_{máx}:CMI" es otro parámetro PK:PD. Describe la concentración máxima del fármaco en el plasma o tejido con relación a la CMI. Las fluoroquinolonas y aminoglicósidos son ejemplos donde la C_{máx}:CMI pueden predecir la destrucción bacteriana *in vivo* donde se puede suprimir la resistencia.

25 "Tiempo por encima de CMI" (T>CMI) es otro parámetro PK/PD. Se expresa un porcentaje de un intervalo de dosificación en el que el nivel en el plasma o sitio de la infección excede la CMI. La actividad de los antimicrobianos con la destrucción dependiente del tiempo (tales como los betalactámicos o oxazolidinonas) es bien predecible por la magnitud de la relación T>CMI.

30 El término "intervalo de dosificación" se refiere al tiempo entre las administraciones de las dos dosis secuenciales de un producto farmacéutico durante los regímenes de dosificación múltiple. Por ejemplo, en el caso de la ciprofloxacina, que se administra dos veces al día (régimen tradicional de 400 mg dos veces por día) y la levofloxacina, que se administra una vez al día (500 mg o 750 mg cada día), los intervalos de dosificación son 12 horas y 24 horas, respectivamente.

35 Como se usa en la presente descripción, el "período máximo" de una concentración del producto farmacéutico *in vivo* se define como el tiempo del intervalo de la dosificación farmacéutica cuando la concentración farmacéutica es no menos del 50 % de su máxima concentración en plasma o en el sitio de la infección. En algunas modalidades, "período máximo" se usa para describir un intervalo de dosificación antimicrobiana.

40 La "dosis respirable suministrada" es la cantidad de fármaco inhalado durante la fase inspiratoria del simulador de la respiración que es igual a o menos de 5 micras usando un simulador programado para el patrón del Estándar Europeo de 15 respiraciones por minuto, con una relación inspiración a espiración de 1:1.

50 Ventajas del suministro de la Fluoroquinolona inhalada en aerosol y de uso tópico (No Oral)

La velocidad de destrucción del antibiótico es dependiente del modo de acción del antibiótico y se determina ya sea por el tiempo necesario para que el antibiótico destruya (dependiente del tiempo) o el efecto de aumentar la concentración de antibiótico (dependiente de la concentración). Las fluoroquinolonas se caracterizan por, la actividad de destrucción dependiente de la concentración donde un efecto terapéutico requiere una alta concentración máxima local por encima de las CMI del patógeno infectante.

55 La eficacia de la fluoroquinolona en los seres humanos, animales y modelos de infección *in vitro* se vincula a la relación AUC:CMI y la relación C_{máx}:CMI. Dada la incertidumbre anterior de la farmacocinética de las fluoroquinolonas en el tejido pulmonar, se han realizado una serie de estudios *in vitro* para determinar si altas dosis de la levofloxacina con vidas medias muy cortas (como se predice a partir de un modelo PK de rata y de ser humano) resultan en la destrucción bacteriana superior a la observada en las afecciones con tiempos de residencia más prolongados. En estos estudios, las concentraciones de la Levofloxacina que fueron 0,018 veces - 1024 veces la CMI se evaluaron en una curva estándar de destrucción y en el ensayo de fibra hueca *in vitro*. En ambos estudios, altas concentraciones de la levofloxacina fueron rápidamente bactericidas y alcanzaron su máximo nivel para destruir en 10-20 minutos. Este nivel de destrucción se mantuvo si la levofloxacina se mantuvo a ese nivel o dando una vida media de 10 minutos. En consecuencia, las

dosis altas y el suministro rápido de la levofloxacin especialmente formulada, tal como una dosis de la Levofloxacin respirable depositada en aerosol de 20-50 mg suministrada rápidamente (que producirá concentraciones ELF iniciales de 800 - 1600 ug/ml) es rápidamente bactericida para los organismos susceptibles y organismos resistentes con las CMI hasta 32 ug/ml. Se espera que estas propiedades antimicrobianas únicas de las fluoroquinolonas además se trasladarán a las administraciones tópicas, que incluyen, pero no se limitan a las infecciones o la profilaxis de la piel, ojo, oído, recto, vagina o tracto urinario.

Para medir la eficacia de diferentes modelos de suministro, las formulaciones de la levofloxacin que mejoran la conformación de AUC se prepararon y midieron *in vivo* en comparación con las formulaciones de la Levofloxacin que no mejoran la conformación de AUC y otros antibióticos usando tanto la PK de rata como la eficacia de ratón después de la administración intratraqueal. Como se demostró previamente en un sistema de rata, hubo diferencias entre los fármacos en la farmacocinética pulmonar, con algunos agentes que muestran AUC inferiores (por ejemplo, la levofloxacin), mientras que otros como gemifloxacin o tobramicina muestran mayores concentraciones resultantes a partir del aclaramiento pulmonar más lento. Los estudios en un modelo de infección de ratón de dosis única con dosis de aerosol han mostrado una eficacia variable entre los compuestos. Refiriéndose a la Figura 1, el análisis de los datos dividiendo la dosis en aerosol por la CMI indicaron una fuerte correlación entre la relación dosis:CMI y la actividad bactericida ($R^2 = 0,89$). Estos datos sugieren que la actividad bactericida inicial en este modelo no se afecta por el aclaramiento pulmonar del fármaco. Aunque los aclaramientos pulmonares no se han estimado en ratones, puede esperarse que se degrade la relación de la transformación de la dosis para AUC usando los valores escalados de rata. Por lo tanto, estos datos sugieren que la optimización del perfil de AUC de la Levofloxacin puede no ser necesario para la levofloxacin en aerosol que es efectiva en el tratamiento de las vías respiratorias y las infecciones pulmonares.

Investigaciones recientes con las fluoroquinolonas resultaron en el desarrollo del concepto de una "ventana de selección de mutante" (MSW) para la resistencia bacteriana que surge durante la terapia. Este concepto ayuda a identificar un intervalo de concentración donde los mutantes se seleccionan más frecuentemente *in vitro* e *in vivo*. El límite inferior de la ventana es la concentración más baja que destruye la mayoría de células que infectan (aproximadamente por la CMI), mientras que el límite superior de la ventana es la concentración de fármaco que bloquea el crecimiento de al menos el mutante susceptible de la primera etapa. Por encima de la concentración límite superior el crecimiento de las bacterias que infectan requiere la presencia de al menos dos mutaciones de resistencia. Este límite superior designa la concentración preventiva de mutante (MPC). Los valores de MPC varían en dependencia de las bacterias y las fluoroquinolonas, y pueden ser de 10 a 20 veces más elevados que la CMI. Varios estudios de modelaje han demostrado que mientras más la concentración del fármaco excede la MPC en el sitio de la infección, el tratamiento será más efectivo para prevenir el desarrollo de la resistencia. Por el contrario, mientras más la concentración de antibiótico permanezca dentro de la MSW, mayor es la probabilidad de seleccionar mutantes resistentes. Es importante destacar que, el régimen de dosificación actualmente aprobado para la levofloxacin oral o intravenosa ha colocado este antibiótico en la MSW para más del 20 % del intervalo de dosificación de patógenos tales como *P. aeruginosa* (*Pa*) y *S. pneumonia*. En consecuencia, se informó un alto nivel de resistencia a la levofloxacin para ambos agentes patógenos.

Por lo tanto, en una modalidad, se aumenta la concentración de la Levofloxacin en el sitio de la infección suministrándola directamente al pulmón usando la terapia de inhalación, lo que disminuye de ese modo, la cantidad de tiempo que la Levofloxacin está en la MSW. Un enfoque terapéutico de ese tipo logra una cobertura más amplia de los patógenos (que incluyen cepas resistentes a la levofloxacin), impide además el desarrollo de resistencia, y resulta en trayectos más cortos de la terapia con la levofloxacin.

Farmacocinética de las fluoroquinolonas administradas por vía oral en Poblaciones sin CF y con CF

Concentraciones de esputo en pacientes con CF

La farmacocinética de la ciprofloxacina ha sido ampliamente estudiada en pacientes con CF después de la administración oral. De hecho, se ha demostrado que el perfil PK sérico de la ciprofloxacina es muy similar en pacientes con CF con relación a voluntarios sanos (Figura 2).

Además, el perfil de esputo vs tiempo de la ciprofloxacina es muy similar a su perfil en suero después de la administración oral (Figura 3). Después de una dosis oral de 750 mg, las concentraciones máximas de ~4,2 ug/ml y ~3,5 ug/ml se lograron para suero y esputo, respectivamente. Las concentraciones de fármaco en suero y esputo alcanzaron un máximo a las 1,5 y 4 horas, respectivamente. Mientras la cantidad total de la ciprofloxacina en el esputo es alta con relación a las concentraciones en el suero, las concentraciones absolutas son bajas en relación con las CMI de los organismos objetivo, tal como *Pa*. Este dato es constante con un resultado clínico pobre debido al desarrollo de resistencia a estas bajas concentraciones de fármacos.

Aunque los datos de la farmacocinética intrapulmonar de la Levofloxacin en la fibrosis quística no están disponibles, los datos sobre la ofloxacin estrechamente relacionada se publicaron en los años 1980 y 1990. La ofloxacin se compone de una mezcla racémica de dextro (microbiológicamente inactiva) y levo-rotatorio (levofloxacin-microbiológicamente activa). Los estudios demostraron que las propiedades farmacocinéticas de los 2 componentes son similares. En

estudios comparativos con la ciprofloxacina, la ofloxacina tuvo una vida media más larga y una mayor distribución en el esputo (79 % vs 21 %) que la ciprofloxacina.

Fluido del revestimiento epitelial pulmonar

5 El más reciente énfasis en el uso y desarrollo de las fluoroquinolonas en infecciones grampositivas adquiridas en la comunidad se ha centrado en los estudios farmacocinéticos intrapulmonar en el fluido del revestimiento epitelial pulmonar (ELF). Aunque la relevancia de la distribución del fármaco en este fluido no está claro en el contexto de la fibrosis quística, se pueden obtener aclaraciones de la farmacología del fármaco a partir de estos estudios. La levofloxacina penetra bien en los tejidos del pulmón. Las concentraciones en los tejidos del pulmón son generalmente de 2 a 5 veces mayores que las concentraciones plasmáticas. Varios estudios recientes (que se resumen en la Tabla 1) demostraron que las concentraciones de la Levofloxacina en el ELF de sujetos sanos después de una dosis oral de 750 mg alcanzan una concentración máxima alrededor de 20 µg/mL. Se esperan concentraciones máximas similares en el esputo de pacientes con CF después de la administración oral o IV de 750 mg de la Levofloxacina. Por el contrario, la ciprofloxacina penetra los tejidos del pulmón mucho menos eficiente que la levofloxacina. Basado en los estudios de la ventana de selección de mutante (MSW), estos niveles del fármaco de la fluoroquinolona en el ELF son insuficientes para lograr la concentración requerida para la prevención del mutante que es de 10 a 20 veces la CMI para el organismo infectante.

20 Tabla 1. Concentración de la levofloxacina en el Fluido del Revestimiento Epitelial en el Hombre.

Fármaco	Dosis	Ruta	Concentración del fármaco ELF (µg/ml)						
			0,5 hr	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	12 hr	24 hr
Levofloxacina	500 mg	IV				11		2,5	1.24
Levofloxacina	500 mg	oral				9,9		6,5	0,7
Levofloxacina	500 mg	oral				9,94		6,46	0,7
Levofloxacina	500 mg	oral	4,74	10,8	9	10,9	9.6		
Levofloxacina	750 mg	IV				12,94		6,04	1,73
Levofloxacina	750 mg	oral				22,1		9,2	1,5
Levofloxacina	750 mg	oral				22,13		9,19	1,55
ciprofloxacina	500 mg	oral				1,9		0,4	

40 Quinolonas

Ejemplos no limitantes de quinolonas como se describe en la presente descripción incluyen amifloxacina, cinoxacina, ciprofloxacina, enoxacina, fleroxacina, flumequina, lomefloxacina, ácido nalidíxico, norfloxacina, ofloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, ácido oxolínico, pefloxacina, rosoxacina, temafloxacina, tosufloxacina, esparfloxacina, clinafloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina; gemifloxacina; garenoxacina; olamufloxacina, clinofloxacina, trovafloxacina, balofloxacina, prulifloxacina, moxifloxacina, gemifloxacina, rufloxacina, sitafloxacina (Sato, K, y otros, 1992, Antimicrob Agents Chemother. 37:1491-98, que se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad), marbofloxacina, orbifloxacina, sarafloxacina, danofloxacina, difloxacina, enrofloxacina, TG-873870, DX-619, DW-276, ABT-492, DV-7751a, (Tanaka, M, y otros, 1992, Antimicrob. Agents Chemother. 37:2212-18), y F-1061 (Kurosaka y otros, Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 43^a:Chicago, que se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad).

Métodos de Tratamiento o Profilaxis

55 En algunas modalidades, se describe un método para tratar una infección microbiana en un animal, que incluye específicamente un mamífero, tratando un animal que sufre una infección de este tipo con un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona. En algunas modalidades, los antimicrobianos de la fluoroquinolona pueden administrarse después de la formación e inhalación de aerosol. Por lo tanto, este método de tratamiento es especialmente adecuado para el tratamiento de infecciones pulmonares que implican cepas microbianas que son difíciles de tratar con un agente antimicrobiano suministrado de forma parenteral debido a la necesidad de niveles altos de dosis parenterales (que pueden causar efectos secundarios no deseados), o debido a la falta de agentes antimicrobianos clínicamente eficaces. En una modalidad de este tipo, este método se puede usar para administrar un antimicrobiano de la fluoroquinolona directamente al sitio de infección. Un método de este tipo puede reducir la exposición sistémica y maximiza la cantidad de agente antimicrobiano en el sitio de la infección microbiana. Este método además es adecuado para tratar infecciones que implican los microbios que son susceptibles a los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona como una forma de reducir la frecuencia de la selección de los microbios resistentes. Este método es adecuado además para

5 tratar las infecciones que implican los microbios que son de cualquier otra forma resistentes a los antimicrobianos de la fluoroquinolona como una manera de aumentar la cantidad de antimicrobiano en el sitio de la infección microbiana. Un sujeto puede identificarse como infectado con bacterias que son capaces de desarrollar resistencia mediante el diagnóstico del sujeto que tiene síntomas que son característicos de una infección bacteriana con una especie de bacterias conocidas que tiene cepas resistentes o una con una bacteria que es un miembro del grupo que se conoce que tienen cepas resistentes. Alternativamente, las bacterias pueden cultivarse e identificarse como una especie conocida que tiene cepas resistentes o una bacteria que es un miembro del grupo que se conoce que tiene cepas resistentes.

10 En algunas modalidades, el agente antimicrobiano de la fluoroquinolona en aerosol se administra a un nivel suficiente para vencer la aparición de la resistencia en bacterias o aumentar la eficiencia de eliminación de manera que la resistencia no tiene la oportunidad de desarrollarse.

15 En algunas modalidades, la terapia con la fluoroquinolona en aerosol puede administrarse como un tratamiento o profilaxis en combinación o alternando la secuencia terapéutica con otros antibióticos en aerosol, orales o parenterales. Mediante ejemplo no limitante, esto puede incluir tobramicina en aerosol y/u otro aminoglucósido, aztreonam en aerosol y/u otro beta o mono-bactamo, ciprofloxacina en aerosol y/u otras fluoroquinolonas, azitromicina en aerosol y/u otros macrólidos o cetólidos, tetraciclina y/u otras tetraciclinas, quinupristina y/u otras estreptograminas, linezolidina y/u otras oxazolidinonas, vancomicina y/u otros glicopéptidos, y cloranfenicol y/u otros fenicoles, y colisitina y/u otras polimixinas.

20 Composiciones farmacéuticas

25 Para propósitos del método descrito en la presente descripción, un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona puede administrarse usando un inhalador. En algunas modalidades, un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona descrito en la presente descripción se produce como una composición farmacéutica adecuada para la formación de aerosoles, buen sabor, estabilidad en almacenamiento y seguridad y tolerancia del paciente.

30 En algunas modalidades, el contenido de la isoforma de la fluoroquinolona fabricada se puede optimizar para la tolerancia, actividad antimicrobiana y estabilidad.

Administración

35 Los antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción pueden administrarse en una dosificación terapéuticamente efectiva, por ejemplo, una dosificación suficiente para proporcionar tratamiento para los estados de enfermedad descritos anteriormente. Mientras los niveles de dosificación óptimos de los seres humanos aún no se han determinado para la administración en aerosol, generalmente, una dosis de aerosol diaria de la levofloxacina (y para la mayoría de los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción) es de aproximadamente 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal, preferentemente de aproximadamente 0,20 a 5,0 mg/kg de peso corporal, y con preferencia superlativa aproximadamente 0,4 a 4,0 mg/kg de peso corporal. Así, para la administración a una persona de 70 kg, el intervalo de dosificación sería de aproximadamente de 7,0 a 700,0 mg por día, preferentemente aproximadamente 14,0 a 350,0 mg por día, y con preferencia superlativa aproximadamente 28,0 a 280,0 mg por día. La cantidad de compuesto activo administrado, por supuesto, será dependiente del estado de la enfermedad y el sujeto que se está tratando, la gravedad de la afección, la forma y programa de administración, y la opinión del médico que prescribe; por ejemplo, un intervalo de dosis probable para la administración en aerosol de la levofloxacina sería de aproximadamente 20 a 400 mg por día.

50 La administración de los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción o las sales farmacéuticamente aceptables de éstos puede ser a través de cualquiera de los modos aceptados de administración para agentes que sirven utilidades similares, que incluyen, pero no se limitan a, inhalación de aerosol.

55 Las composiciones farmacéuticamente aceptables incluyen, formas de dosificación sólidas, semisólidas, líquidas y aerosol, tales como, por ejemplo, polvos, líquidos, suspensiones, complejos, liposomas, partículas, o similares. Preferentemente, las composiciones se proporcionan en formas de dosificación unitaria adecuadas para la administración única de una dosis precisa. La forma de dosificación unitaria además puede montarse y empacarse al unísono para proporcionar a un paciente con un suministro semanal o mensual y además pueden incorporarse otros compuestos tales como solución salina, agentes de enmascaramiento, excipientes farmacéuticos, y otros ingredientes activos o portadores.

60 El agente antimicrobiano de la fluoroquinolona puede administrarse ya sea solo o más típicamente en combinación con un portador farmacéutico convencional, excipiente o similares (por ejemplo, manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina, talco, celulosa, croscarmelosa de sodio, glucosa, gelatina, sacarosa, carbonato de magnesio, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, lactosa, sacarosa, glucosa y similares). Si se desea, la composición farmacéutica además puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes solubilizantes, agentes tamponantes del pH y similares (por ejemplo, acetato de sodio, citrato de sodio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitán, acetato de trietanolamina, oleato de trietanolamina, y similares). Generalmente, en dependencia del modo de administración

pretendido, la formulación farmacéutica contendrá aproximadamente 0,005 % a 95 %, preferentemente aproximadamente 0,5 % a 50 % en peso de un compuesto de la invención. Los métodos verdaderos para preparar esas formas de dosificación se conocen, o resultarán evidentes, para aquellos con experiencia en esta técnica; por ejemplo, ver Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania.

5 En una modalidad preferida, las composiciones tomarán la forma de una forma de dosificación unitaria, tal como un frasco que contiene un líquido, sólido que se suspende, polvo seco, liofilizado, u otra composición y así la composición puede contener, junto con el ingrediente activo, un diluyente tal como lactosa, sacarosa, fosfato dicálcico, o similares; un lubricante tal como estearato de magnesio o similares; y un aglutinante tal como almidón, goma de acacia, polivinilpirrolidona, gelatina, celulosa, derivados de celulosa o similares.

15 Las composiciones líquidas farmacéuticamente administrables pueden prepararse, por ejemplo, al disolver, dispersar, etc. un compuesto activo como se definió anteriormente y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un portador, (por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, glicoles, etanol, o similares) para formar una solución o suspensión. Las soluciones que están en aerosol pueden prepararse en formas convencionales, ya sea como soluciones líquidas o suspensiones, como emulsiones, o en formas sólidas adecuadas para la disolución o suspensión en el líquido antes de la producción en aerosol e inhalación. El porcentaje de compuesto activo contenido en tales composiciones de aerosoles es altamente dependiente de la naturaleza específica de este, así como de la actividad del compuesto y las necesidades del sujeto. Sin embargo, los porcentajes de ingrediente activo de 0,01 % a 90 % en solución pueden emplearse, y serán mayores si la composición es un sólido que posteriormente se diluirá a los porcentajes anteriores. En algunas modalidades, la composición comprenderá 1,0 % -50,0 % del agente activo en solución.

25 Las formulaciones de fluoroquinolona pueden separarse en dos grupos; los de formulación simple y formulaciones complejas que proporcionan propiedades de enmascaramiento del sabor, mejora de la tolerancia y/o una formulación que mejora el perfil de AUC. Las formulaciones simples pueden separarse adicionalmente en tres grupos. 1. Las formulaciones simples pueden incluir formulaciones líquidas a base de agua para la nebulización. Mediante ejemplo no limitante, las formulaciones líquidas a base de agua pueden consistir en la fluoroquinolona sola o con excipientes solubles en agua no encapsulados. 2. Las formulaciones simples además pueden incluir las formulaciones líquidas a base de orgánicos para la nebulización o inhalador de dosis medida. Mediante ejemplo no limitante, las formulaciones líquidas a base de orgánicos puede consistir en fluoroquinolona o excipientes solubles orgánicos no encapsulados. 3. Las formulaciones simples además pueden incluir formulaciones de polvo seco para la administración con un inhalador de polvo seco. Mediante ejemplo no limitante, las formulaciones de polvo seco pueden consistir en la fluoroquinolona sola o ya sea con excipientes no encapsulados solubles en agua o soluble en orgánicos con o sin un agente de mezcla tal como lactosa. Las formulaciones complejas pueden separarse además en cinco grupos. 1. Las formulaciones complejas pueden incluir formulaciones líquidas a base de agua para la nebulización. Mediante ejemplo no limitante, las formulaciones complejas líquidas a base de agua pueden consistir en la fluoroquinolona encapsulada o acomplejada con excipientes solubles en agua tales como lípidos, liposomas, ciclodextrinas, microencapsulaciones, y emulsiones. 2. Las formulaciones complejas además pueden incluir formulaciones líquidas a base de orgánicos para la nebulización o inhalador de dosis medida. Mediante ejemplo no limitante, las formulaciones complejas líquidas a base de orgánicos pueden consistir en la fluoroquinolona encapsulada o acomplejada con excipientes orgánicos solubles tales como lípidos, microencapsulaciones, y emulsiones a base de agua en fase inversa. 3. Las formulaciones complejas además pueden incluir formulaciones líquidas a base de agua, de baja solubilidad para la nebulización. Mediante ejemplo no limitante, las formulaciones complejas líquidas a base de agua de baja solubilidad, pueden consistir en la fluoroquinolona sola como una nanosuspensión estable, poco soluble en agua o en complejos con excipiente cocristal/coprecipitado, o mezclas con lípidos de baja solubilidad, tales como nanosuspensiones de lípidos. 4. Las formulaciones complejas además pueden incluir formulaciones líquidas a base de orgánicos de baja solubilidad, para la nebulización o inhalador de dosis medida. Mediante ejemplo no limitante, las formulaciones complejas líquidas a base de orgánicos de baja solubilidad, pueden consistir en la fluoroquinolona sola como una nanosuspensión estable, poco soluble en orgánico o en complejos de excipientes cocristal/coprecipitado, o mezclas con lípidos de baja solubilidad, tales como nanosuspensiones de lípidos. 5. Las formulaciones complejas además pueden incluir formulaciones de polvo seco para la administración usando un inhalador de polvo seco. Mediante ejemplo no limitante, las formulaciones complejas de polvo seco pueden consistir en la fluoroquinolona en complejo o mezcla seca de cocristal/coprecipitado/pulverización con excipientes poco soluble en agua/sales en forma de polvo seco con o sin un agente mezclante tal como lactosa. Los métodos específicos para la preparación de la formulación simple y compleja se describen en la presente descripción.

Suministro en Aerosol

60 Los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona como se describe en la presente descripción, preferentemente se administran directamente como un aerosol a un sitio de la infección en el tracto respiratorio. En algunas modalidades, el suministro en aerosol se usa para tratar una infección en los pulmones, tales como una infección pulmonar por Pseudomonas.

65 Existen varias tecnologías de dispositivos para suministrar ya sea productos en aerosol líquido o polvo seco. Las formulaciones de polvo seco generalmente requieren menos tiempo para la administración del fármaco, aunque

5 esfuerzos más largos y más costosos para el desarrollo. Por el contrario, las formulaciones líquidas han sufrido históricamente tiempos más largos de administración, aunque tienen la ventaja de los esfuerzos más cortos y menos costosos para el desarrollo. Los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción en el intervalo de la solubilidad, son generalmente estables y tienen una variedad de sabores. En modalidades de este tipo, la fluoroquinolona antimicrobiana levofloxacina es soluble en agua a pH neutro, es estable en solución acuosa y se ha limitado a ningún sabor.

10 En consecuencia, en una modalidad, una formulación particular del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona descrito en la presente descripción se combina con un dispositivo de aerosolización particularmente para proporcionar un aerosol para inhalación que se optimiza para la deposición máxima del fármaco en un sitio de la infección y tolerancia máxima. Los factores que pueden optimizarse incluyen la formulación en solución o de partículas sólidas, velocidad de suministro, y tamaño de partícula y distribución producida por el dispositivo de aerosolización.

15 Tamaño de partícula y distribución

20 Generalmente, las partículas inhaladas están sujetas a la deposición por uno de dos mecanismos: impactación, que generalmente predomina para las partículas más grandes, y sedimentación, que es frecuente para las partículas más pequeñas. La impactación se produce cuando el impulso de una partícula inhalada es suficientemente grande que la partícula no sigue la corriente de aire y se encuentra con una superficie fisiológica. Por el contrario, la sedimentación se produce principalmente en el pulmón profundo cuando partículas muy pequeñas que han viajado con la corriente de aire inhalada se encuentran con superficies fisiológicas como resultado de la difusión aleatoria dentro de la corriente de aire.

25 Para la administración pulmonar, las vías respiratorias superiores se evitan a favor de las vías respiratorias medias e inferiores. El suministro de fármacos pulmonares puede realizarse por inhalación de un aerosol a través de la boca y la garganta. Las partículas que tienen un diámetro aerodinámico mediano de masa (MMAD) de más de aproximadamente 5 micras generalmente no alcanzan el pulmón; en cambio, tienden a impactar en la parte posterior de la garganta y son tragadas y posiblemente absorbidas por vía oral. Las partículas que tienen diámetros de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 micras son lo suficientemente pequeñas para alcanzar la región pulmonar superior a la media (vías respiratorias de conducción), pero son demasiado grandes para alcanzar los alvéolos. Las partículas más pequeñas, es decir, aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2 micras, son capaces de alcanzar la región alveolar. Las partículas que tienen diámetros menores de aproximadamente 0,5 micras pueden depositarse además en la región alveolar por sedimentación, aunque las partículas muy pequeñas pueden exhalarse. Las medidas de tamaño de partícula pueden referirse como diámetro medio volumétrico (VMD), diámetro medio de masa (MMD), o MMAD. Estas mediciones pueden hacerse por impactación (MMD y MMAD) o por láser (VMD). Para partículas líquidas, VMD, MMD y MMAD pueden ser las mismas si se mantienen las condiciones ambientales, por ejemplo, humedad estándar. Sin embargo, si la humedad no se mantiene, las determinaciones por MMD y MMAD serán más pequeñas que por VMD debido a la deshidratación durante las mediciones del impactador. Para los propósitos de esta descripción, las mediciones por VMD, MMD y MMAD se consideran que sean en condiciones estándar, de manera que las descripciones por VMD, MMD y MMAD serán comparables. Similarmente, las determinaciones del tamaño de las partículas de polvo seco por MMD y MMAD se consideran además comparables.

45 En algunas modalidades, el tamaño de partícula del aerosol se optimiza para maximizar la deposición de agente antimicrobiano de la fluoroquinolona en el sitio de la infección y para maximizar la tolerancia. El tamaño de partícula del aerosol puede expresarse en términos del diámetro aerodinámico mediano de masa (MMAD). Las partículas grandes (por ejemplo, MMAD >5 μm) pueden depositarse en las vías respiratorias superiores debido a que son demasiado grandes para navegar por la curvatura de las vías respiratorias superiores. Las partículas pequeñas (por ejemplo, MMAD < 2 μm) pueden depositarse mal en las vías respiratorias inferiores y así se convierten en exhalado, proporcionando la oportunidad adicional para la deposición en las vías respiratorias superiores. Por lo tanto, la intolerancia (por ejemplo, tos y broncoespasmo) puede producirse a partir de la deposición en las vías respiratorias superiores tanto por la impactación de la inhalación de las partículas grandes como por la sedimentación de las partículas pequeñas durante la inhalación repetida y la espiración. Por lo tanto, en una modalidad, se usa un tamaño óptimo de partículas (por ejemplo, MMAD = 2-5 μm) para maximizar la deposición en un sitio de la infección del pulmón medio y para reducir al mínimo la intolerancia asociada con la deposición en la vía respiratoria superior. Además, la generación de un tamaño de partícula definido con la desviación estándar geométrica limitada (GSD) puede optimizar la deposición y la tolerancia. La GSD estrecha limita el número de partículas fuera del intervalo de tamaño del MMAD deseado. En una modalidad, se proporciona un aerosol que contiene uno o más compuestos descritos en la presente descripción que tiene un MMAD de aproximadamente 2 micras a aproximadamente 5 micras con una GSD de menos de o igual a aproximadamente 2,5 micras. En otra modalidad, se proporciona un aerosol que tiene un MMAD de aproximadamente 2,8 micras a aproximadamente 4,3 micras con una GSD menos de o igual a 2 micras. En otra modalidad, se proporciona un aerosol que tiene un MMAD de aproximadamente 2,5 micras a aproximadamente 4,5 micras con una GSD menos de o igual a 1,8 micras.

65 Los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción destinados para el suministro respiratorio (ya sea para la distribución sistémica o local) pueden administrarse como formulaciones acuosas, como suspensiones o soluciones en los propelentes de hidrocarburos halogenados, o como polvos secos. Las formulaciones acuosas pueden ser en aerosol mediante nebulizadores líquidos que emplean ya sea atomización hidráulica o

ultrasónica. Los sistemas basados en propelente pueden usar inhaladores de dosis medida presurizados (pMDI) adecuados. Los polvos secos pueden usar dispositivos inhaladores de polvo seco (DPI), que son capaces de dispersar la sustancia farmacológica de forma efectiva. Un tamaño de partícula deseado y la distribución pueden obtenerse mediante la elección de un dispositivo adecuado.

5

Nebulizador líquido

En una modalidad, se selecciona un nebulizador sobre la base de permitir la formación de un aerosol de un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona descrito en la presente descripción que tiene un MMAD predominantemente entre aproximadamente 2 a aproximadamente 5 micras. En una modalidad, la cantidad suministrada del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona proporciona un efecto terapéutico para las infecciones respiratorias.

10

Anteriormente, dos tipos de nebulizadores de chorro y ultrasónico, han demostrado ser capaces de producir y suministrar partículas de aerosol que tienen tamaños entre 2 y 4 μm . Estos tamaños de partícula han mostrado ser óptimos para el tratamiento de la infección bacteriana pulmonar causada por las bacterias gramnegativas tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, especies de *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos. Sin embargo, a menos que se use una solución especialmente formulada, estos nebulizadores típicamente necesitan grandes volúmenes para administrar una cantidad suficiente de fármaco para obtener un efecto terapéutico. Un nebulizador de chorro utiliza la ruptura de la presión de aire de una solución acuosa en gotitas de aerosol. Un nebulizador ultrasónico utiliza el cizallamiento de la solución acuosa mediante un cristal piezoeléctrico. Típicamente, sin embargo, los nebulizadores de chorro son sólo aproximadamente 10 % eficiente en las afecciones clínicas, mientras que el nebulizador ultrasónico es sólo aproximadamente 5 % eficiente. La cantidad de producto farmacéutico depositado y absorbido en los pulmones es por lo tanto, una fracción del 10 % a pesar de las grandes cantidades del fármaco colocado en el nebulizador.

15

20

25

En consecuencia, en una modalidad, un nebulizador de malla vibratoria se usa para suministrar un aerosol del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona descrito en la presente descripción. Un nebulizador de malla vibratoria consiste en un contenedor de almacenamiento líquido en contacto con el fluido, con un diafragma y válvulas de inhalación y exhalación. En una modalidad, se coloca aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona en el contenedor de almacenamiento y el generador de aerosol se dedica a la producción de aerosol atomizado de tamaños de partículas selectivamente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5 μm .

30

Mediante ejemplo no limitante, un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona descrito en la presente descripción se coloca en un inhalador de nebulización líquida y se prepara en dosificaciones para suministrar de aproximadamente 7 a aproximadamente 700 mg a partir de una solución de dosificación de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml, preferentemente de aproximadamente 14 a aproximadamente 350 mg en aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml y con preferencia superlativa de aproximadamente 28 a aproximadamente 280 mg en aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml siendo producidas con tamaños de partículas MMAD entre aproximadamente 2 a aproximadamente 5 μm .

35

40

Mediante ejemplo no limitante, un antimicrobiano de la fluoroquinolona nebulizado puede administrarse en la dosis respirable suministrada descrita en menos de aproximadamente 20 min, preferentemente menos de aproximadamente 10 min, con mayor preferencia menos de aproximadamente 7 min, con mayor preferencia menos de aproximadamente 5 min, con mayor preferencia menos de aproximadamente 3 min, y en algunos casos con preferencia superlativa que menos de aproximadamente 2 min.

45

Mediante ejemplo no limitante, en otras circunstancias, un antimicrobiano de la fluoroquinolona nebulizada puede lograr una mejor tolerancia y/o exhibir una característica que mejora el perfil de AUC cuando se administra durante períodos más largos de tiempo. En estas condiciones, la dosis respirable suministrada descrita en más de aproximadamente 2 min, preferentemente más de aproximadamente 3 min, con mayor preferencia más de aproximadamente 5 min, con mayor preferencia más de aproximadamente 7 min, con mayor preferencia más de aproximadamente 10 min, y en algunos casos con preferencia superlativa de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 min.

50

55

Para los sistemas acuosos y otros líquidos no presurizados, una variedad de nebulizadores (que incluyen nebulizadores de pequeños volumen) están disponibles para aerosolizar las formulaciones. Los nebulizadores accionados por compresor incorporan tecnología de chorro y usan aire comprimido para generar el aerosol líquido. Tales dispositivos están disponibles comercialmente de, por ejemplo, Healthdyne Technologies, Inc.; Invacare, Inc.; Mountain Medical Equipment, Inc.; Pari Respiratory, Inc.; Mada Medical, Inc.; Puritan-Bennet; Schuco, Inc., DeVilbiss Health Care, Inc.; y Hospitak, Inc. Los nebulizadores ultrasónicos dependen de la energía mecánica en forma de vibración de un cristal piezoeléctrico para generar gotitas respirables de líquido y están disponibles comercialmente de, por ejemplo, Omron Healthcare, Inc. y DeVilbiss Health Care, Inc. Los nebulizadores de malla vibratoria dependen de ya sea pulsos piezoeléctricos o mecánicos para generar gotitas de líquido respirables. Otros ejemplos de nebulizadores para usar con agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción se describen en las patentes de los Estados Unidos núms. 4,268,460; 4,253,468; 4,046,146; 3,826,255; 4,649,911; 4,510,929; 4,624,251; 5,164,740;

60

65

5,586,550; 5,758,637; 6,644,304; 6,338,443; 5,906,202; 5,934,272; 5,960,792; 5,971,951; 6,070,575; 6,192,876; 6,230,706; 6,349,719; 6,367,470; 6,543,442; 6,584,971; 6,601,581; 4,263,907; 5,709,202; 5,823,179; 6,192,876; 6,644,304; 5,549,102; 6,083,922; 6,161,536; 6,264,922; 6,557,549; y 6,612,303 las que se incorporan en la presente descripción como referencia en su totalidad. Los ejemplos comerciales de nebulizadores que pueden usarse con los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción incluyen Respigard II®, Aeroneb®, Aeroneb® Pro, y Aeroneb® Go producidos por Aerogen; AERx® y AERx Essence™ producidos por Aradigm; Porta-Neb®, Freeway Freedom™, Sidestream, Ventstream y I-neb producidos por Respironics, Inc.; y PARI LC-Plus®, PARI LC-Star®, y e-Flow^{7m} producidos por PARI, GmbH. Para no limitante adicional ver la patente de los Estados Unidos núm. 6,196,219.

En algunas modalidades, la solución de fármaco se forma antes de usar el nebulizador por un paciente. En otras modalidades, el fármaco se almacena en el nebulizador en forma sólida. En este caso, se mezcla la solución tras la activación del nebulizador, tal como se describe en la patente de los Estados Unidos núm. 6,427,682 y el documento de la publicación PCT núm. WO 03/035030. En estos nebulizadores, el fármaco sólido, opcionalmente se combina con excipientes para formar una composición sólida, se almacena en un compartimento separado de un disolvente líquido.

El disolvente líquido es capaz de disolver la composición sólida para formar una composición líquida, que puede ser en aerosol e inhalarse. Tal capacidad es, entre otros factores, una función de la cantidad seleccionada y, potencialmente, la composición del líquido. Para permitir la manipulación fácil y la dosificación reproducible, el líquido acuoso estéril puede ser capaz de disolver la composición sólida dentro de un corto período de tiempo, posiblemente bajo agitación suave. En algunas modalidades, el líquido final está listo para usarse después de no más de aproximadamente 30 segundos. En algunos casos, la composición sólida se disuelve dentro de aproximadamente 20 segundos, y ventajosamente, dentro de aproximadamente 10 segundos. Como se usa en la presente, los términos "disuelve(n)", "disolver", y "disolución" se refiere a la desintegración de la composición sólida y la liberación, es decir, la disolución, del compuesto activo. Como resultado de disolver la composición sólida con el disolvente líquido, se forma una composición líquida en la que el compuesto activo está contenido en el estado disuelto. Como se usa en la presente descripción, el compuesto activo está en estado disuelto cuando se disuelven al menos aproximadamente 90 % en peso, y con mayor preferencia cuando se disuelven al menos aproximadamente 95 % en peso.

Con respecto al diseño básico del nebulizador separado en compartimentos, este depende principalmente de la aplicación específica si es más útil acomodar el líquido acuoso y la composición sólida dentro de las cámaras separadas del mismo contenedor o empaque primario, o si deben proporcionarse en contenedores separados. Si se usan contenedores separados, estos se proporcionan como un conjunto dentro del mismo empaque secundario. El uso de contenedores separados es especialmente preferido para nebulizadores que contienen dos o más dosis de compuesto activo. No hay límite en el número total de contenedores proporcionados en un kit multidosis. En una modalidad, la composición sólida se proporciona como dosis unitaria dentro de contenedores múltiples o dentro de múltiples cámaras de un contenedor, mientras que el disolvente líquido se proporciona dentro de una cámara o contenedor. En este caso, un diseño favorable proporciona el líquido en un dispensador de dosis medida, que puede consistir en un frasco de vidrio o plástico cerrado con un dispositivo dispensador, tal como una bomba mecánica para medir el líquido. Por ejemplo, una activación del mecanismo de bombeo puede dispensar la cantidad exacta de líquido para disolver una dosis unitaria de la composición sólida.

En otra modalidad para nebulizadores de compartimentos separados y dosis múltiples, tanto la composición sólida como el disolvente líquido se proporcionan como dosis unitarias coincidentes dentro de contenedores múltiples o dentro de múltiples cámaras de un contenedor. Por ejemplo, los contenedores de dos cámaras se pueden usar para mantener una unidad de la composición sólida en una de las cámaras y una unidad de líquido en la otra. Como se utiliza en la presente, una unidad se define mediante la cantidad de fármaco presente en la composición sólida, que es una dosis unitaria. Tales contenedores de dos cámaras pueden, sin embargo, usarse también ventajosamente para los nebulizadores que sólo contienen una dosis única del fármaco.

En una modalidad de un nebulizador de compartimentos separados, se usa un envase tipo ampolla que tiene dos ampollas, las ampollas representan las cámaras que contienen la composición sólida y el disolvente líquido en cantidades coincidentes para preparar una dosis unitaria de la composición líquida final. Como se utiliza en la presente, un envase tipo ampolla representa una unidad de envase primario termoformado o formado por presión, que comprende con mayor probabilidad un material polimérico para el envasado que incluye opcionalmente una lámina de metal, tal como aluminio. El envase tipo ampolla puede conformarse para permitir la dispensación fácil de los contenidos. Por ejemplo, un lado del envase puede estrecharse o puede tener una porción o región cónica a través de la cual el contenido se dispensa en otro vaso después que se abre el envase tipo ampolla en el terminal cónico. El terminal cónico puede representar una punta.

En algunas modalidades, las dos cámaras del envase tipo ampolla se conectan mediante un canal, el canal que se adapta para direccionar el fluido desde la ampolla que contiene el disolvente líquido hasta la ampolla que contiene la composición sólida. Durante el almacenamiento, el canal se cierra con un sello. En este sentido, un sello es cualquier estructura que evita el contacto del disolvente líquido con la composición sólida. El sello preferentemente es rompible o desmontable; romper o eliminar el sello cuando el nebulizador se debe usar permitirá al disolvente líquido entrar en la otra cámara y disolver la composición sólida. El proceso de disolución puede mejorarse mediante la agitación del

envase tipo ampolla. Por lo tanto, se obtiene la composición líquida final para la inhalación, el líquido se presentará en una o ambas cámaras del envase conectado por el canal, en dependencia de cómo se agarre el envase.

5 De acuerdo con otra modalidad, una de las cámaras, preferentemente la que se cierra en la porción cónica del envase tipo ampolla, se comunica con un segundo canal, el canal que se extiende desde la cámara hasta la posición distal de la porción cónica. Durante el almacenamiento, este segundo canal no se comunica con la salida del envase sino que se cierra de una manera hermética. Opcionalmente, el terminal distal del segundo canal se cierra por una tapa o cierre rompible o desmontable, que puede ser, por ejemplo, una tapa de rosca, una tapa que se rompe o una tapa de corte.

10 En una modalidad, se usa un frasco o contenedor que tiene dos compartimentos, el compartimento que representa las cámaras para contener la composición sólida y el disolvente líquido en cantidades coincidentes para preparar una dosis unitaria de la composición líquida final. La composición líquida y un segundo disolvente líquido pueden contenerse en cantidades coincidentes para preparar una dosis unitaria de la composición líquida final (mediante ejemplo no limitante en los casos donde, dos excipientes solubles o la fluoroquinolona y un excipiente son inestables para el
15 almacenamiento, aún se desea en la misma mezcla para la administración.

En algunas modalidades, los dos compartimentos se separan físicamente pero están en comunicación de fluido tal como cuando el frasco o contenedor se conectan mediante un canal o barrera rompible, siendo adaptado el canal o barrera rompible para direccionar el fluido entre los dos compartimentos permitiendo mezclar antes de la administración.
20 Durante el almacenamiento, el canal se cierra con un sello o barrera rompible intacta. En este sentido, un sello es cualquier estructura que evita mezclar los contenidos en los dos compartimentos. El sello preferentemente, es rompible o desmontable; romper o desmontar el sello cuando el nebulizador se debe usar permitirá al disolvente líquido entrar en la otra cámara y disolver la composición sólida o permitir la mezcla en el caso de dos líquidos. El proceso de mezcla o disolución puede mejorarse mediante la agitación del contenedor. Por lo tanto, la composición líquida final para la
25 inhalación se obtiene, el líquido que está presente en una o ambas cámaras del envase se conecta por el canal o barrera rompible, en dependencia de cómo se agarre el envase.

La composición sólida en sí, puede proporcionarse en diversos tipos de diferentes formas de dosificación, en dependencia de las propiedades físico-químicas del fármaco, la tasa de disolución deseada, consideraciones del costo, y otros criterios. En una de las modalidades, la composición sólida es una unidad única. Esto implica que una dosis unitaria del fármaco está comprendida en una única forma o artículo sólido, físicamente conformado. En otras palabras, la composición sólida es coherente, a diferencia de lo que es una forma múltiple de dosificación unitaria, en la que las unidades son incoherentes.
30

35 Ejemplos de unidades únicas que pueden usarse para la composición sólida incluyen tabletas, tales como tabletas comprimidas, unidades tipo película, unidades tipo lámina, obleas, unidades de matriz liofilizada, y similares. En una modalidad preferida, la composición sólida es una forma liofilizada altamente porosa. Tales liofilizados, algunas veces denominados también obleas o tabletas liofilizadas, son particularmente útiles por su rápida desintegración, que permite también la rápida disolución del compuesto activo.
40

Por otra parte, para algunas aplicaciones la composición sólida puede formarse además como una forma múltiple de dosificación unitaria como se definió anteriormente. Ejemplos de unidades múltiples son los polvos, gránulos, micropartículas, bolillas, perlas, polvos liofilizados, y similares. En una modalidad, la composición sólida es un polvo liofilizado. Tal sistema disperso liofilizado comprende una multitud de partículas de polvo, y debido al proceso de liofilización usado en la formación del polvo, cada partícula tiene una microestructura porosa irregular, a través de la cual el polvo es capaz de absorber agua muy rápidamente, lo que resulta en la rápida disolución.
45

Otro tipo de sistema de múltiples partículas que es capaz de alcanzar también una rápida disolución del fármaco es la de los polvos, gránulos o bolillas de excipientes solubles en agua que están recubiertos con el fármaco, por lo que el fármaco se ubica en la superficie exterior de las partículas individuales. En este tipo de sistema, el excipiente de bajo peso molecular soluble en agua que es útil para la preparación de los núcleos de dichas partículas revestidas, que pueden ser posteriormente recubiertas con una composición de recubrimiento que comprende el fármaco y, preferiblemente, uno o más adicionales excipientes, tales como un aglutinante, un ex poro, un sacárido, un alcohol de azúcar, un polímero formador de película, un plastificante, u otros excipientes usados en composiciones de revestimiento farmacéuticas.
50
55

En otra modalidad, la composición sólida se asemeja a una capa de recubrimiento que está recubierta en múltiples unidades de material insoluble. Ejemplos de unidades insolubles incluyen perlas de vidrio, polímeros, metales, y sales minerales. Una vez más, el efecto deseado es principalmente rápida desintegración de la capa de recubrimiento y la disolución del fármaco rápida, que se consigue proporcionando la composición sólida en una forma física que tiene una particularmente alta relación de superficie a volumen. Típicamente, la composición de recubrimiento, además del fármaco y el excipiente de bajo peso molecular soluble en agua, comprenderá uno o más excipientes, tales como los mencionados anteriormente para el recubrimiento de partículas solubles, o cualquier otro excipiente conocido por ser útil en las composiciones de recubrimiento de los productos farmacéuticos.
60
65

Para lograr los efectos deseados, puede ser útil incorporar más de un excipiente de bajo peso molecular soluble en

agua en la composición sólida. Por ejemplo, un excipiente puede seleccionarse por su portador de fármaco y capacidad diluyente, mientras que otro excipiente puede seleccionarse para ajustar el pH. Si la composición líquida final necesita ser regulada, pueden seleccionarse dos excipientes que juntos forman un sistema tampón.

5 En una modalidad, el líquido que se usa en un nebulizador de compartimento separado es un líquido acuoso, que en la presente descripción se define como un líquido cuyo mayor componente es el agua. El líquido no necesariamente consiste de agua solamente; sin embargo, en una modalidad, es agua purificada. En otra modalidad, el líquido contiene otros componentes o sustancias, preferentemente otros componentes líquidos, pero posiblemente también, sólidos disueltos. Los componentes líquidos diferentes del agua que pueden ser útiles incluyen propilenglicol, glicerol y polietilenglicol. Una de las razones para incorporar un componente sólido como soluto es que un compuesto de este tipo es deseable en la composición líquida final, pero es incompatible con la composición sólida o con un componente de esta, tal como el ingrediente activo.

15 Otra característica deseable para el disolvente líquido es que es estéril. Un líquido acuoso puede estar sujeto al riesgo de la contaminación microbiológica y crecimiento considerable si no se tomaron las medidas para garantizar la esterilidad. Para proporcionar un líquido sustancialmente estéril, una cantidad efectiva de un agente antimicrobiano o conservante aceptable puede incorporarse o el líquido puede esterilizarse antes de proporcionarlo y para sellarlo con un sello hermético. En una modalidad, el líquido es un líquido estéril libre de conservantes y se proporciona en un contenedor hermético apropiado. Sin embargo, de conformidad con otra modalidad en la que el nebulizador contiene múltiples dosis del compuesto activo, el líquido puede suministrarse en un contenedor de dosis múltiple, tal como a dispensador de dosis medida, y puede requerir un conservante para evitar la contaminación microbiana después del primer uso.

25 Inhalador de dosis medida (MDI)

Un inhalador impulsado por propulsor (pMDI) suministra una dosis medida de la medicina después de cada ejecución. La medicina se formula como una suspensión o solución de una sustancia fármaco en un propulsor adecuado tal como un hidrocarburo halogenado. Los pMDI se describen en, por ejemplo, Newman, S. P., *Aerosols and the Lung*, Clarke y otros, eds., págs. 197-224 (Butterworths, Londres, Inglaterra, 1984).

30 En algunas modalidades, el tamaño de partícula de la sustancia fármaco en un MDI puede seleccionarse óptimamente. En algunas modalidades, las partículas del ingrediente activo tienen diámetros de menos de aproximadamente 50 micras. En algunas modalidades, las partículas tienen diámetros de menos de aproximadamente 10 micras. En algunas modalidades, las partículas tienen diámetros de aproximadamente 1 micra a aproximadamente 5 micras. En algunas modalidades, las partículas tienen diámetros de menos de aproximadamente 1 micra. En una modalidad ventajosa, las partículas tienen diámetros de aproximadamente 2 micras a aproximadamente 5 micras.

40 Los propulsores para el uso con los MDI pueden ser cualquiera de los propulsores conocidos en la técnica. Ejemplos de propulsores incluyen los clorofluorocarbonos (CFCs) tales como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, y diclorotetrafluoroetano; hidrofluoroalcanos (HFA); y dióxido de carbono. Puede ser ventajoso usar los HFA en lugar de los CFC debido a las preocupaciones ambientales asociadas con el uso de los CFC. Ejemplos de preparaciones de aerosol medicinal que contienen los HFA se presentan en las patentes de los Estados Unidos núms. 6,585,958; 2,868,691 y 3,014,844. En algunas modalidades, un codisolvente se mezcla con el propulsor para facilitar la disolución o suspensión de la sustancia fármaco.

45 En algunas modalidades, el propulsor y el ingrediente activo están contenidos en contenedores separados, tal como se describe en la patente de los Estados Unidos núm. 4,534,345.

50 En algunas modalidades, el MDI usado en la presente descripción se activa por un paciente empujando una palanca, un botón, u otro accionador. En otras modalidades, con el suministro de aerosol se activa el aliento tal que, inicialmente, después de armar la unidad, el compuesto activo en aerosol se libera una vez que el paciente comienza a inhalar, tal como se describe en las patentes de los Estados Unidos núms. 6,672,304; 5,404,871; 5,347,998; 5,284,133; 5,217,004; 5,119,806; 5,060,643; 4,664,107; 4,648,393; 3,789,843; 3,732,864; 3,636,949; 3,598,294; 3,565,070; 3,456,646; 3,456,645; y 3,456,644. Tal sistema permite que más del compuesto activo entre en los pulmones del paciente. Otro mecanismo que ayuda a un paciente a tomar una dosis adecuada con el ingrediente activo puede incluir un mecanismo de válvula que le permite a un paciente usar más de un aliento para inhalar el fármaco, tal como se describe en las patentes de los Estados Unidos núms. 4,470,412 y 5,385,140.

60 Ejemplos adicionales de los MDI conocidos en la técnica y adecuados para el uso en la presente descripción incluyen las patentes de los Estados Unidos núms. 6,435,177; 6,585,958; 5,642,730; 6,223,746; 4,955,371; 5,404,871; 5,364,838; y 6,523,536.

Formulaciones de solución/dispersión

65 Se describe además, las formulaciones acuosas que contienen partículas del fármaco solubles o nanopartículas. Para las formulaciones acuosas en aerosol, el fármaco puede presentarse a una concentración de aproximadamente 1

mg/mL hasta aproximadamente 700 mg/mL. Tales formulaciones proporcionan el suministro efectivo en las áreas apropiadas del pulmón, con la formulación de aerosol más concentrada que tiene la ventaja adicional de permitir que se suministren largas cantidades de la sustancia fármaco al pulmón en un periodo de tiempo muy corto. En una modalidad, se optimiza una formulación para proporcionar una formulación bien tolerada. En consecuencia, en una modalidad, los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción se formulan para tener un buen sabor, pH de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7, osmolaridad de aproximadamente 200 a aproximadamente 1250 mOsmol/kg, concentración del ión permeante de aproximadamente 30 a aproximadamente 300 mM.

En una modalidad, la solución o diluyente usada para la preparación de formulaciones en aerosol tiene un intervalo de pH de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5, de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7,0. Este intervalo de pH mejora la tolerancia. Cuando el aerosol es bien ácido o básico, puede causar tos y broncoespasmo. Aunque el intervalo de seguridad de pH es relativo algunos pacientes pueden tolerar un aerosol ligeramente ácido, mientras que otros experimentarán broncoespasmo. Cualquier aerosol con un pH de menos de aproximadamente 4,5 típicamente induce el broncoespasmo. Aerosoles con un pH de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 5,5 causará ocasionalmente el broncoespasmo. Cualquier aerosol que tiene el pH mayor que aproximadamente 7,5 puede tener baja tolerancia debido a que los tejidos corporales generalmente, son incapaces de regular aerosoles alcalinos. Los aerosoles con pH controlado por debajo de aproximadamente de 4,5 y por encima aproximadamente de 7,5 típicamente resultan en la irritación pulmonar acompañado por el brocoespasmo severo, tos, y reacciones inflamatorias. Por estas razones, así como para la prevención del broncoespasmo, tos o inflamación en los pacientes, el pH óptimo para la formulación en aerosol se determinó que era de entre aproximadamente pH 5,5 a aproximadamente pH 7,0. Consecuentemente, en una modalidad, las formulaciones en aerosol para su uso como descrito en la presente descripción se ajustan a pH entre aproximadamente 4,5 y aproximadamente 7,5 con el intervalo de pH preferido de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7,5. Con la máxima preferencia el intervalo de pH es de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7,5.

Mediante ejemplo no limitante, las composiciones pueden incluir también un tampón o un agente de ajuste de pH, típicamente una sal preparada de un ácido o base orgánica. Tampones representativos incluyen sales de ácidos orgánicos del ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético, o tampones de ácido ftálico, Tris, trometamina, hidrocloreuro, o fosfato.

Muchos pacientes han aumentado la sensibilidad a diversos gustos químicos, incluyendo sensaciones a lo amargo, sal, dulces, metálicos. Mediante el ejemplo no limitante de enmascaramiento del sabor se puede lograr crear productos fármacos bien tolerados a través de la adición de excipientes enmascaradores del sabor, la osmolaridad ajustada, y los edulcorantes.

Muchos pacientes han aumentado la sensibilidad a diversos agentes químicos y tienen una alta incidencia de broncoespasmo, asma u otros incidentes de tos. Sus vías respiratorias son particularmente sensibles a las condiciones hipotónicas o hipertónicas y ácidas o alcalinas y a la presencia de cualquier ion permeable, tal como cloruro. Cualquier desequilibrio en estas condiciones o una presencia de cloruro por encima de cierto valor conduce a eventos broncoespásmicos o inflamatorios y/o tos que perjudican en gran medida el tratamiento con formulaciones inhalables. Estas dos condiciones impiden la entrega eficiente de los medicamentos en aerosol en el espacio endobronquial.

En algunas modalidades, la osmolalidad de las soluciones acuosas del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona descritas en la presente descripción se ajustan proporcionando excipientes. En algunos casos, se necesita una cierta cantidad de cloruro u otro anión para el suministro exitoso y eficaz del antibiótico en aerosol. Sin embargo, se ha descubierto que tales cantidades son inferiores a las cantidades proporcionadas y típicamente usadas en los aerosoles de otros compuestos.

El broncoespasmo o reflejos de la tos no responden a la misma osmolalidad del diluyente para la aerosolización. Sin embargo, pueden suficientemente controlarse y/o suprimirse cuando la osmolalidad del diluyente está en un cierto intervalo. Una solución preferida para la aerosolización de compuestos terapéuticos que es segura y tolerada tiene una osmolalidad total de aproximadamente 200 a aproximadamente 1250 mOsmol/kg con un intervalo de concentración de cloruro de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 300 mM y preferentemente de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 150 mM. Esta osmolalidad controla el broncoespasmo, la concentración de cloruro, tal como un anión permeante, controla la tos. Debido a que ambos iones son permeantes, tanto los iones bromuro como yoduro pueden ser sustituidos por cloruro. Además, el bicarbonato puede sustituirse por el ion cloruro.

Mediante ejemplo no limitante, la formulación para un agente antimicrobiano de la fluoroquinolona en aerosol puede comprender de aproximadamente 7 a aproximadamente 700 mg, preferentemente de aproximadamente 14 a aproximadamente 300 mg, o con preferencia superlativa de aproximadamente 28 a aproximadamente 280 mg de agente antimicrobiano de la fluoroquinolona por aproximadamente 1 a aproximadamente 5ml de salina diluida (entre 1/10 a 1/1 de salina normal). En consecuencia, la concentración de una solución de la levofloxacina puede ser mayor que aproximadamente 25mg/ml, mayor que aproximadamente 35 mg/ml y preferentemente, es mayor que aproximadamente 40 mg/ml, y es tan alta o mayor que 50/ml.

En una modalidad, la osmolalidad de la solución es de aproximadamente 100 mOsmol/kg a aproximadamente 600

mOsmol/kg. En diversas otras modalidades, la osmolalidad de la solución es de aproximadamente 2000 mOsmol/kg a aproximadamente 1250 mOsmol/kg; de aproximadamente 250 mOsmol/kg a aproximadamente 1050 mOsmol/kg; y de aproximadamente 350 mOsmol/kg a aproximadamente 750 mOsmol/kg.

5 En unas modalidades, la concentración del ión permeante es de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 400 mM. En diversas otras modalidades, la concentración del ión permeante es de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 300 mM; de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 200 mM; y de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 150 mM.

10 Modificadores de superficie

Los agentes antimicrobianos de la fluoroquinolona descritos en la presente descripción pueden prepararse en una composición farmacéutica con modificadores de superficie adecuados que pueden seleccionarse a partir de los excipientes farmacéuticos orgánicos e inorgánicos conocidos. Tales excipientes incluyen oligómeros de bajo peso molecular, polímeros, tensioactivos y productos naturales. Los modificadores de superficie preferidos incluyen tensioactivos iónicos y no iónicos. Dos o más modificadores de superficie pueden usarse en combinación.

Ejemplos representativos de modificadores de superficie incluyen el cloruro de cetil piridinio, gelatina, caseína, lecitina (fosfátidos), dextrana, glicerol, goma de acacia, colesterol, tragacanto, ácido esteárico, cloruro de benzalconio, estearato de calcio, monoestearato de glicerol, alcohol cetosteárico, cera emulsionante de cetomacrogol, ésteres de sorbitán, ésteres de alquilpolioxietileno, (por ejemplo ésteres de macrogol tal comocetomacrogol 1000), derivados de aceite de ricino polioxietileno, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno (por ejemplo, el disponible en el mercado Tweens.RTM, tal como por ejemplo, Tween 20.RTM, y Tween 80.RTM, (ICI Specialty Chemicals)); polietilenglicoles (por ejemplo, Carbowax 3350.RTM, y 1450.RTM., y Carbopol 934.RTM, (Union Carbide)), bromuro de dodecil trimetil amonio, polioxietileneestearatos, dióxido de silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, hidroxipropil celulosa (HPC, HPC-SL, y HPC-L), hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, silicato de magnesio y aluminio, trietanolamina, alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), polímero 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenol con óxido de etileno y formaldehído (se conoce además como tiloxapol, superión, y tritón), poloxámeros (por ejemplo, Plurónicos F68.RTM, y F108.RTM., que son copolímeros en bloque del óxido de etileno y óxido de propileno); poloxaminas (por ejemplo, Tetronic 908.RTM., conocido además como Poloxamina 908.RTM., que es un copolímero en bloque tetrafuncional derivado de la adición secuencial del óxido de propileno y el óxido de etileno al etilendiamina (BASF Wyandotte Corporation, Parsippany, Nueva Jersey); un fosfolípido cargado, tal como fosfatidilglicerol dimiristoilo, dioctilsulfosuccinato (DOSS); Tetronic 1508.RTM; (T-1508) (BASF Wyandotte Corporation), dialquilestéres de sodio del ácido sulfosuccínico (por ejemplo, Aerosol OT.RTM., que es un dioctilestér de sodio del ácido sulfosuccínico (American Cyanamid)); Duponol P.RTM., que es un lauril sulfato de sodio (DuPont); Tritons X-200.RTM., que es un poliéter de alquil arilsulfonato (Rohm and Haas); Crodestas F-110.RTM., que es una mezcla de estearato de sacarosa y diestearato de sacarosa (Croda Inc.); p-isononilfenoxipoli(glicidol), conocido además como Olinlog.RTM, o Surfactant 10-G.RTM, (Olin Chemicals, Stamford, Conn.); Crodestas SL-40.RTM, (Croda, Inc.); y SA9OHCO, que es C.sub.18 H.sub.37 CH.sub.2 (CON(CH.sub.3)-CH.sub.2 (CHOH).sub.4 (CH.sub.2 OH).sub.2 (Eastman Kodak Co.); decanoil-N-metilglucamida; n-decil .beta.-D-glucopiranosido; n-decil .beta.-D-maltopiranosido; n-dodecil .beta.-D-glucopiranosido; n-dodecil .beta.-D-maltósido; heptanoil-N-metilglucamida; n-heptil-.beta.-D-glucopiranosido; n-heptil .beta.-D-tiogluconósido; n-hexil .beta.-D-glucopiranosido; nonanoil-N-metilglucamida; n-noil .beta.-D-glucopiranosido; octanoil-N-metilglucamida; n-octil-.beta.-D-glucopiranosido; octil .beta.-D-tiogluconósido; y similares. El tiloxapol es un modificador de superficie particularmente preferido para el suministro pulmonar o intranasal de esteroides, más aún para las terapias de nebulización.

Ejemplos de tensioactivos para su uso en las soluciones descritas en la presente descripción incluyen, pero sin limitarse a, lauril éter sulfato de amonio, óxido de cetamina, cloruro de cetrimonio, alcohol cetílico, miristato de cetilo, palmitato de cetilo, DEA cocamida, cocamidopropil betaína, óxido de cocamidopropilamina, MEA cocamida, DEA lauril sulfato, amida de ácido diestearilftálico, cloruro de dicetil dimetil amonio, dipalmitoiletil hidroxetilmonio, lauril éter sulfosuccinato de disodio, ácido di(hidrogenado) seoftálico, dilaurato de glicerilo, diestearato de glicerilo, oleato de glicerilo, estearato de glicerilo, isopropilo de miristato nf, palmitato de isopropilo nf, DEA lauramida, MEA lauramida, óxido de lauramida, óxido de miristamina, isononanoato de octilo, palmitato de octilo, neopentanoato de octilododecilo, cloruro de olealconio, estearato de PEG-2, gliceril caprilato/caprato PEG-32, gliceril estearato PEG-32, PEG-4 y PEG- 150 diestearato de estearato y, PEG-4 a PEG-150 y laurato de dilaurato, oleato & dioleato de PEG-4 a PEG-150, gliceril cocoato PEG-7 , cera de abejas PEG-8, estearato de propilenglicol, sulfonato sódico de olefina C14-16, lauril-sulfoacetato de sodio, lauril sulfato de sodio, sulfato de tridecileter de sodio, cloruro de estearalconio, óxido de estearamida, sulfonato de TEA-dodecilbenceno, TEA laurilsulfato

La mayoría de estos modificadores de superficie son conocidos excipientes farmacéuticos y se describen en detalle en el Handbook of Pharmaceutical Excipients, publicado conjuntamente por la Asociación Farmacéutica Americana y la Sociedad Farmacéutica de Gran Bretaña (The Pharmaceutical Press, 1986). Los modificadores de superficie están disponibles en el mercado y/o pueden prepararse mediante técnicas conocidas en la técnica. La cantidad relativa de fármaco y modificador de superficie puede variar ampliamente y la cantidad óptima del modificador de superficie puede depender, por ejemplo, del fármaco en particular y el modificador de superficie seleccionado, la concentración micelar

crítica del modificador de superficie si forma micelas, el equilibrio hidrófilo -lipofílico (HLB) del modificador de superficie, el punto de fusión del modificador de superficie, la solubilidad en agua del modificador de superficie y/o fármacos, la tensión superficial de las soluciones acuosas del modificador de superficie, etc.

5 En la presente invención, la relación óptima del fármaco para el modificador de superficie es de ~0,1 % a ~99,9 % del agente antimicrobiano de la fluoroquinolona, con mayor preferencia de aproximadamente 10 % a aproximadamente 90 %.

10 Proteínas/Aminoácidos

10

Los excipientes de proteínas pueden incluir albúminas tales como albúmina sérica humana (HSA), albúmina humana recombinante (rHA), gelatina, caseína, hemoglobina, y similares. Los aminoácidos adecuados (fuera de los dileucilpéptidos de la invención), que pueden funcionar también con una capacidad reguladora, incluyen alanina, glicina, arginina, betaína, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartamo, tirosina, triptófano, y similares. Se prefieren aminoácidos y polipéptidos que funcionan como agentes dispersantes. Los aminoácidos incluidos en esta categoría incluyen aminoácidos hidrófobos tales como leucina, valina, isoleucina, triptófano, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, histidina, y prolina. Los excipientes peptídicos que mejoran la capacidad de dispersión incluyen dímeros, trímeros, tetrámeros, y pentámeros que comprenden uno o más componentes de los aminoácidos hidrófobos tales como los descritos anteriormente.

15

20

Carbohidratos

25

Mediante ejemplo no limitante, los excipientes de carbohidratos pueden incluir monosacáridos tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa, y similares; disacáridos, tales como lactosa, sacarosa, trehalosa, celobiosa, y similares; polisacáridos, tales como rafinosa, melezitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones, y similares; y alditos, tales como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, sorbitol xilitol (glucitol), piranosil sorbitol, mioinositol, isomalta, trehalosa, y similares.

30

Polímeros

35

Mediante ejemplo no limitante, las composiciones pueden incluir también excipientes/aditivos poliméricos, por ejemplo, polivinilpirrolidonas, celulosas derivatizadas tales como hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, e hidroxipropilmetilcelulosa, Ficolls (un azúcar polimérico), hidroxietilalmidón, dextratos (mediante el ejemplo no limitante, las ciclodextrinas puede incluir, 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina, 2-hidroxipropil-gamma-ciclodextrina, beta-ciclodextrina aleatoriamente metilada, dimetil-alfa-ciclodextrina, dimetil-beta-ciclodextrina, maltosil-alfa-ciclodextrina, glucosil-1-alfa-ciclodextrina, glucosil -2-alfa-ciclodextrina, alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina, gamma-ciclodextrina y sulfobutiléter-beta-ciclodextrina), polietilenglicoles, y pectina pueden usarse también.

40

Enmascaramiento del sabor, sabor, otros

45

Mediante ejemplo no limitante, las composiciones pueden incluir además agentes saborizantes, agentes enmascaradores del sabor, sales inorgánicas (por ejemplo, cloruro de sodio), agentes antimicrobianos (por ejemplo, cloruro de benzalconio), edulcorantes, antioxidantes, agentes antiestáticos, tensioactivos (por ejemplo, polysorbatos tales como "TWEEN 20" y "TWEEN 80"), estéres de sorbitán, sacarina, ciclodextrinas, lípidos (por ejemplo, fosfolípidos tales como lecitina y otros fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas), ácidos grasos y estéres grasos, esteroides (por ejemplo, colesterol), y agentes quelantes (por ejemplo, EDTA, zinc y otros tales como cationes adecuados). Otros excipientes y/o aditivos farmacéuticos adecuados para su uso en las composiciones de conformidad con la invención se enumeran en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19.sup.na ed., Williams & Williams, (1995), y en "Physician's Desk Reference", 52.sup.da ed., Medical Economics, Montvale, Nueva Jersey (1998).

50

55

60

65

Mediante ejemplo no limitante, las clases de agentes enmascaradores del sabor para la formulación de fluoroquinolona incluyen la adición de saborizantes, edulcorantes, and otras estrategias diversas de recubrimiento. Mediante ejemplos no limitantes, pueden elegirse a partir de azúcares tales como sacarosa, dextrosa y lactosa), ácidos carboxílicos, sales, tales como magnesio y calcio (enmascaramiento del sabor de la fluoroquinolona a base de quelación o no específica), mentol, aminoácidos o derivados de aminoácidos tales como arginina, lisina, glutamato monosódico, y aceites de sabor sintético y saborizantes aromáticos y/o aceites naturales, extractos de plantas, hojas, flores, frutos, etc., y sus combinaciones. Estos pueden incluir aceites de canela, aceite de gaulteria, aceites de menta, aceite de clavo, aceite de laurel, aceite de anís, eucalipto, vainilla, aceite de cítricos, tales como aceite de limón, aceite de naranja, aceite de uva y pomelo, esencias de frutas que incluyen manzana, melocotón, pera, fresa, frambuesa, cereza, ciruela, piña, albaricoque, etc. Edulcorantes adicionales incluyen sacarosa, dextrosa, aspartamo (Nutrasweet®), acesulfamo-K, sucralosa y sacarina, ácidos orgánicos (mediante ejemplo no limitante ácido cítrico y ácido aspártico) . Tales sabores pueden presentarse en aproximadamente 0,05 a aproximadamente 4 porcentaje. Otro enfoque para mejorar o enmascarar el sabor desagradable de los fármacos inhalados es disminuir la solubilidad de los fármacos, por ejemplo, los medicamentos deben disolverse para interactuar con los receptores del sabor. Por lo tanto, suministrar las formas sólidas del fármaco puede evitar la respuesta del sabor afectado y adquirir el sabor mejorado deseado. Los métodos no limitantes para disminuir la solubilidad de las fluoroquinolonas se describen en este documento, por ejemplo, las formas

salinas de la levofloxacin o gemifloxacin con ácido xinafoico, ácido oleico, ácido esteárico y ácido pamoico. Los agentes adicionales co-precipitantes incluyen las dihidropiridinas y un polímero tal como la polivinilpirrolidona. Por otra parte, el enmascaramiento del sabor puede llevarse a cabo mediante la creación de vesículas lipofílicas. Agentes de revestimiento o de encapsulación adicionales incluyen dextratos (mediante ejemplo no limitante, las ciclodextrinas pueden incluir, 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrina, 2-hidroxiopropil-gamma-ciclodextrina, beta-ciclodextrina aleatoriamente metilada, dimetil-alfa-ciclodextrina, dimetil-beta- ciclodextrina, maltosil-alfa-ciclodextrina, glucosil-1-alfa-ciclodextrina, glucosil-2-alfa-ciclodextrina, alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina, gamma-ciclodextrina y sulfobutiléter-beta-ciclodextrina), celulosas modificadas tales como etil celulosa, alcoholes metilcelulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, polialquilenglicoles, óxidos de polialquileño, azúcares y alcoholes de azúcares, ceras, lacas, acrílicos y sus mezclas. Mediante ejemplo no limitante, otros métodos para suministrar formas no disueltas de las fluoroquinolonas administran el fármaco solo o en formulación simple que no afecta la solubilidad, como una formulación de micronizado cristalino, en polvo seco, secada por aspersión, y de nanosuspensión. Sin embargo, un método alternativo es incluir agentes modificadores del sabor. Estos incluyen sustancias enmascaradoras del sabor que se mezclan con, revestido sobre o combinados de cualquier otra forma con el medicamento activo de la fluoroquinolona. Sin embargo, esta adición puede servir también, para mejorar el sabor de otra adición del producto de fármaco elegido, por ejemplo, un agente mucolítico. Ejemplos no limitantes de tales sustancias incluyen los fosfolípidos ácidos, lisofosfolípido, polietilenglicol succinato de tocoferol y ácido embónico (pamoato). Muchos de estos agentes pueden usarse solos o en combinación con las fluoroquinolonas para la administración en aerosol.

20 Agentes mucolíticos

Los métodos para producir las formulaciones que combinan agentes para reducir la viscosidad del esputo durante el tratamiento con una fluoroquinolona en aerosol incluyen lo siguiente. Estos agentes pueden prepararse en combinación fija o administrarse en sucesión con la terapia de la fluoroquinolona en aerosol.

El agente más comúnmente prescrito es la N-acetilcisteína (NAC), que despolimeriza el moco in vitro rompiendo los puentes disulfuro entre las macromoléculas. Se supone que tal reducción de la tenacidad del esputo facilita su eliminación del tracto respiratorio. Además, la NAC puede actuar como un eliminador de radicales de oxígeno. La NAC puede tomarse ya sea por vía oral o mediante inhalación. Las diferencias entre estos dos métodos de administración no se han estudiado formalmente. Después de la administración oral, NAC se reduce a cisteína, un precursor del glutatión antioxidante, en el hígado e intestino. Las propiedades antioxidantes pueden ser útiles en la prevención del deterioro de la función pulmonar en la fibrosis quística (CF). La NAC nebulizada se prescribe comúnmente para pacientes con CF, particularmente, en Europa continental, para mejorar la expectoración del esputo mediante la reducción de su tenacidad. El objetivo final de este es ralentizar el declive de la función pulmonar en la CF.

L-lisina-N-acetilcisteinato (ACC) o Nacistelina (NAL) es un nuevo agente mucoactivo que posee propiedades mucolíticas, antioxidantes, y anti-inflamatorias. Químicamente, es una sal de ACC. Este fármaco parece presentar una actividad superior a su molécula ACC parental debido a una actividad mucolítica sinérgica de L-lisina y ACC. Además, su pH casi neutro (6,2) permite su administración en los pulmones con una muy baja incidencia de broncoespasmo, que no es el caso de la ACC ácida (pH 2,2). La NAL es difícil de formular en una forma inhalada porque la dosis pulmonar requerida es muy alta (aproximadamente 2 mg) y el fármaco micronizado es adherente y cohesiva y es por lo tanto, problemática para producir una formulación redispersable. La NAL se desarrolló por primera vez como un inhalador de dosis medida (MDI) que contiene el clorofluorocarbono (CFC) porque esta forma fue la más fácil y rápida de desarrollar para comenzar los estudios preclínicos y los primeros estudios clínicos. El MDI de NAL suministra 2 mg por bocanada, del cual aproximadamente 10 % fue capaz de llegar a los pulmones en voluntarios sanos. Uno de los principales inconvenientes de esta formulación fue la conformidad del paciente debido a que un máximo de 12 bocanadas fueron necesarias para obtener la dosis requerida. Adicionalmente, la eliminación progresiva de los gases de CFC de los productos medicinales combinados con los problemas de coordinación, satisfizo una gran proporción de la población de pacientes (12) dando lugar al desarrollo de una nueva forma galénica de NAL. Una formulación de inhalador de polvo seco (DPI) se seleccionó para resolver los problemas de conformidad con los MDI y combinarla con una forma óptima, reproducible, y cómoda para administrar el fármaco a la más amplia población de pacientes posible, incluyendo niños pequeños.

La formulación DPI de la NAL implicó el uso de una lactosa no convencional (normalmente reservada para la compresión directa de tabletas), a saber, una β -lactosa anhídrido (RD) secada con rodillo. Cuando se ensayó in vitro con un dispositivo DPI monodosis, esta formulación en polvo produce una fracción de partículas finas (FPF) de al menos 30 % de la dosis nominal, es decir, tres veces más alta que con los MDI. Este enfoque puede usarse en combinación con un antibiótico de fluoroquinolona, ya sea para la coadministración o la administración de la terapia de antibióticos con combinación fija.

Además de la actividad mucolítica, la actividad excesiva de la elastasa de neutrófilos dentro de las vías respiratorias de los pacientes con fibrosis quística (CF) resulta en daño pulmonar progresivo. La ruptura de los enlaces disulfuro de la elastasa por agentes reductores puede modificar su actividad enzimática. Tres sistemas reductores ditiol de origen natural se examinaron para sus efectos sobre la actividad de la elastasa: 1) El sistema de la tioredoxina de *Escherichia coli* (Trx), 2) la tioredoxina recombinante humana (rhTrx), y 3) el ácido dihidrolipoico (DHLLA). Los sistemas Trx consisten de Trx, Trx reductasa, y NADPH. Como se muestra mediante el ensayo espectrofotométrico de la actividad de

la elastasa, los dos sistemas de Trx y el DHLA inhibieron la elastasa de neutrófilos humana purificada, así como la actividad elastolítica presente en la fase soluble (sol) del esputo de CF. La eliminación de cualquiera de los tres constituyentes del sistema Trx impidió la inhibición. En comparación con los monotoles N-acetilcisteína y glutatión reducido, los ditioles muestran una mayor inhibición de la elastasa. Para simplificar la Trx como una herramienta de investigación, se sintetizó una forma reducida estable de rhTrx y se usó como un solo componente. La rhTrx reducida inhibe la elastasa purificada y la elastasa sol de esputo de CF sin NADPH o Trx reductasa. Debido a que la Trx y el DHLA tienen efectos mucolíticos, se investigó los cambios en la actividad de la elastasa después del tratamiento mucolítico. El esputo de CF sin procesar se trató directamente con la rhTrx reducida, el sistema Trx, DHLA, o DNasa. El sistema de Trx y el DHLA no aumentó la actividad de la elastasa, mientras que el tratamiento con la rhTrx reducida aumentó la actividad de la elastasa sol en 60 %. A diferencia, la actividad de la elastasa aumentó en 190 % después del tratamiento con DNasa. La capacidad de la Trx y el DHLA para limitar la actividad de la elastasa combinado con sus efectos mucolíticos hace de estos compuestos terapias potenciales para la CF.

Además, los conjuntos de F-actina y ADN presentes en el esputo de los pacientes con fibrosis quística (CF), pero ausentes del fluido normal de las vías respiratorias contribuyen a las propiedades viscoelásticas alteradas del esputo que inhiben el aclaramiento del fluido de la vía aérea infectada y exacerban la patología de CF. Un enfoque para alterar estas propiedades adversas es eliminar estos agregados filamentosos usando DNasa para despolimerizar enzimáticamente el ADN para constituir monómeros y gelsolina que cortan la F-actina en fragmentos pequeños. Las altas densidades de carga superficial negativa en el ADN y F-actina sugieren que los conjuntos de estos filamentos, que sólo exhiben una fuerte repulsión electrostática, pueden estabilizarse con cationes multivalentes tales como histonas, péptidos antimicrobianos, y otras moléculas de carga positiva que prevalecen en el fluido de las vías respiratorias. Además, de hecho, se ha observado que los conjuntos de ADN o F-actina formados después de la adición de la histona H1 o la lisozima se disuelven de manera eficiente por aniones multivalentes solubles, tales como aspartato o glutamato polimérico. La adición del poliaspartato o poliglutamato dispersa también los conjuntos que contienen ADN y actina en el esputo de CF y disminuye el módulo de elasticidad de estas muestras a niveles comparables a los obtenidos después del tratamiento con DNasa I o gelsolina. La adición del ácido poliaspártico aumentó también la actividad DNasa cuando se añadió a las muestras que contienen conjuntos de ADN formados con la histona H1. Cuando añadido al esputo de CF, el ácido poliaspártico redujo significativamente el crecimiento de las bacterias, lo que sugiere la activación de factores antibacterianos endógenos. Estos resultados sugieren que los aniones multivalentes solubles tienen potencial solos o en combinación con otros agentes mucolíticos para disociar selectivamente los grandes conjuntos de biopolímeros cargados que se forman en el esputo de CF.

Por lo tanto, la NAC, la heparina no fraccionada, el glutatión reducido, los ditioles, la Trx, el DHLA, otros monotoles, la ADNasa, la dornasa alfa, las formulaciones hipertónicas (por ejemplo, osmolalidades mayores que aproximadamente 350 mOsmol/kg), los aniones multivalentes tales como aspartato o glutamato polimérico, glicosidasas y otros ejemplos mencionados anteriormente se pueden combinar con antibióticos de la fluoroquinolona y otros agentes mucolíticos para la administración en aerosol para mejorar la actividad antibacteriana a través de una mejor distribución de la reducción de la viscosidad del esputo, y un mejor resultado clínico mediante la mejora de la función pulmonar (de movilidad de esputo y depuración mucociliar mejorada) y la disminuir el daño del tejido pulmonar de la respuesta inflamatoria inmune.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos sirven para describir más completamente la manera de usar la invención anteriormente descrita, así como para exponer los mejores modos contemplados para llevar a cabo diversos aspectos de la invención. Los ejemplos de conformidad con la invención son aquellos que caen dentro del alcance de las reivindicaciones en la presente descripción.

Ejemplo de Referencia 1 - alta concentración local con corta duración de la exposición de la fluoroquinolona en aerosol.

La administración en aerosol de las fluoroquinolonas tal como la levofloxacina produce altas concentraciones en el fluido de revestimiento epitelial (ELF) de ratas y seres humanos. Sin embargo, esta dosis se ha observado que disminuye rápidamente después de la administración.

Para determinar si las altas concentraciones de la levofloxacina, de corta duración, pueden ser eficaces en el tratamiento de *P. aeruginosa* (PA), se realizaron estudios para medir su actividad bactericida sobre varias cepas de este organismo que se cultivaron en diferentes condiciones. Se eligieron sobre la base de lo que se conoce aproximadamente de las condiciones y el crecimiento de la PA en una fibrosis quística (CF) de pulmón. Cuatro cepas isogénicas de *P. aeruginosa* se usaron para estos experimentos (Tabla 2).

Tabla 2. Cepas de PA usadas en los experimentos de destrucción

Cepa	Genotipo	CMI de la levofloxacina (ug/ml)
PAM1020	Tipo silvestre	0.25
PAM1032	<i>nalB</i>	1

PAM1020 es la cepa de tipo silvestre parental, PAM1032 contiene la mutación *nalB* que resulta en una resistencia aumentada a la levofloxacina debido a la sobreexpresión de la bomba de eflujo MexAB-OprM que puede extrudir la levofloxacina fuera de las células.

5

Experimento 1. Actividad de la levofloxacina contra las células crecidas exponencialmente.

Métodos

10

Preparación del inóculo

Las cepas se cultivaron aeróbicamente durante la noche en caldo de Mueller-Hinton (MHB) a 35° C. A continuación, se diluyeron 1:1000 en 100 ml de MHB fresco y se cultivaron a $DO_{600} \sim 0,3$ hasta alcanzar la UFC/ml $\sim 10^8$. 10 ml de este cultivo se trasladó a frascos de 50 ml, conteniendo cada uno 10 ml de caldo de MHB pre-calentado con concentraciones apropiadas de la levofloxacina (2X, en comparación con las concentraciones de exposición).

15

Exposición

20

Todas las cepas se trataron durante 10 min., 20 min., 40 min., 80 min. y 160 minutos. Las siguientes concentraciones de la levofloxacina (ug/ml) se usaron para la exposición de PAM1020 y PAM1032: 16, 32, 64, 128 y 256. Todas las cepas se trataron a cada concentración durante 10 min., 20 min., 40 min., 80 min. y 160 minutos.

Determinación del número de células viables

25

En los intervalos de tiempo apropiados, 1 ml de cada cultivo expuesto se centrifugó durante 2 minutos, el sedimento se lavó dos veces con 1 ml de MHB libre de fármacos, y se re-suspendió en 1 ml de MHB. El número de células viables se enumeraron mediante siembra de muestras diluidas en serie (por duplicado) en placas MHB mediante el método de plaqueo de la gota (10 ul). El límite de detección fue de 100 UFC/ml. La destrucción se presenta como el log de la reducción calculada con relación al recuento celular en el momento de inicio de la exposición a antibióticos. Concentraciones relativas de antibiótico (con relación a la CMI de las cepas correspondientes). El número de células al inicio de la exposición a los antibióticos se muestran en la Tabla 3.

30

Tabla 3. Número de bacterias en el momento de la exposición bacteriana inicial.

35

Cepa	UFC/ml
PAM1020	4,03E+07
PAM1032	5,60E+07

40

Resultados

Para la cepa más susceptible, PAM1020, se logró la destrucción máxima (disminución 5,5 log en los recuentos de células viables) después de la incubación durante 10 minutos con la concentración de la levofloxacina correspondiente a la CMI de 256 veces (64 ug/ml probado). 5-logs de destrucción ya se lograron con la concentración más baja probada (16 ug/ml o CMI de 64 veces) (Figura 4A). Para la cepa PAM1032, siempre que se alcanzó la concentración por encima de 128 veces la CMI (128 ug/ml), 10 minutos de la exposición fue suficiente para dar lugar a la máxima destrucción (más de 5 logs). En exposiciones de corta duración (10 o 20 minutos), se observó menos destrucción a concentraciones por debajo de 128 veces las CMI. En tiempos de exposición más largos, la concentración que corresponde a las CMI de 16 veces y por encima resultaron en la destrucción máxima similar (Figura 4B). Estos resultados indican que las células en fase logarítmica de *P. aeruginosa* se eliminan eficientemente después de exposiciones de corta duración a altas concentraciones de la levofloxacina.

45

50

Experimento 2. Actividad de la levofloxacina contra células en fase estacionaria

55

Métodos

Preparación del inóculo

60

Las cepas se cultivaron aeróbicamente durante la noche en caldo de Mueller-Hinton (MHB) a 35° C (350 ml total). El medio agotado se obtuvo después de la centrifugación de los cultivos de una noche y se filtró el sobrenadante. Los cultivos se diluyeron a $OD=0,3$ en medio agotado. El mismo medio también se usó para preparar las concentraciones de antibiótico (el mismo que en el Experimento 1).

65

Exposición

Las concentraciones de antibiótico, el tiempo de exposición, como la determinación de los recuentos de células viables fueron los mismos que en el Experimento 1.

5 Resultados

El número de células al inicio de la exposición a antibióticos se muestra en la Tabla 4.

10 Tabla 4. Números de bacterias en el momento de la exposición bacteriana inicial.

Cepa	UFC/ml
PAM1020	8,0E+08
PAM1032	8,50E+08

15

Para las células de PAM1020 en fase estacionaria, se observó la máxima destrucción en la concentración más baja que corresponde a 64 veces por encima de la CMI (16 ug/ml) y la duración más corta de la exposición, 10 minutos (Figura 5A). Sin embargo, PAM1032 demostró una evidente destrucción dosis-dependiente con la destrucción máxima (4 logs) a concentraciones 64 de CMI en un tiempo de exposición corto. La ampliación de los tiempos de exposición no resultó en mayor grado de destrucción. Sin embargo, se requirieron concentraciones más bajas de fármacos para lograr la misma destrucción en tiempos de exposición mayores (Figura 5B).

20

25 A continuación, se comparó el re-crecimiento del PAM1020 y PAM1032 ya sea después de 10 minutos o 160 minutos del tratamiento con diversas concentraciones de la levofloxacin. Después de los tratamientos correspondientes, las células se lavaron dos veces con medio libre de antibiótico. 150 µl de células se colocaron en la placa de 96 pocillos y el crecimiento se monitorizó continuamente a A₆₆₀ usando SpectraMax (Molecular Devices). Los resultados se muestran en las Figuras 6A-6D.

30

Los resultados demuestran que se observó el re-crecimiento de ambas cepas en aproximadamente al mismo tiempo cuando las células se trataron con altas concentraciones de la levofloxacin durante 10 minutos o 160 minutos. Estos resultados apoyan aún más la eficiencia del tratamiento de corta duración con altas concentraciones de la levofloxacin.

35

Experimento 3. Actividad de la levofloxacin contra las células cultivadas bajo condiciones limitantes de oxígeno

Métodos

Preparación del inóculo

40

Los cultivos durante la noche se cultivaron aeróbicamente durante la noche en caldo Mueller-Hinton y diluyeron después, 1: 10000 en MHB llenando los frascos de crecimiento hasta la parte superior. Los cultivos se desarrollaron sin agitación a DO~0,3 a 37°C. En estas condiciones se requirió un promedio de -20 horas para alcanzar una DO=0,3 en comparación con ~5 horas bajo condiciones de aireación (50 ml de medio en frascos de 250 ml, agitación vigorosa). Después del análisis, se constató que una DO=0,3 se corresponde a una fase logarítmica tardía de crecimiento. Además de la aireación disminuida, la concentración de antibiótico, el tiempo de exposición, y la determinación de los recuentos de células viables fueron los mismos que en los Experimentos 1 y 2.

45

Resultados

50

El número de células al inicio de la exposición a los antibióticos se muestran en la Tabla 5.

55 Tabla 5. Número de bacterias en el momento de la exposición bacteriana inicial.

Cepa	UFC/ml
PAM1020	7,5E+07
PAM1032	8,5E+07

60

En el caso de PAM1020 cerca del máximo destrucción (4 logs vs 4,5 logs observados bajo aireación normal) se logró después de la exposición con la concentración más baja de la levofloxacin para la duración más corta de tiempo (10 minutos) (Figura 7A). En el caso de PAM1032 se observó la destrucción dependiente de la dosis durante 10 minutos o 20 minutos de exposición con la mayor destrucción observada en concentraciones correspondientes a 128 a 256 veces la CMI. Se observó destrucción ligeramente más fuerte (menos de 1 log de diferencia) durante intervalos de exposición

65

más largos (Figura 7B). Estos datos indican que bajo condiciones de limitación de oxígeno las células que se encuentran en la fase de crecimiento logarítmica tardía se destruyen eficientemente después de la exposición de corta duración con altas concentraciones de la levofloxacin.

5 Experimento 4. Actividad de la levofloxacin contra PAM1032 en esputo de CF.

Métodos

10 Las células de la cepa PAM1032 (MIC = 1 ug/ml) se cultivaron hasta DO=1 (fase tardía exponencial/estacionaria temprana del crecimiento) en MHB y después, concentradas 10 veces en MHB 10 veces concentrado. 10 ul de células se añadieron después a 90 ul de esputo o de agua en placas de 96 pocillos de fondo redondo, restaurándose el MHB a su concentración original. Las placas de cuantificación se pre-calentaron durante 5 minutos a 37°C y diferentes concentraciones de la levofloxacin (512 ug/ml, 128 ug/ml, 32 ug/ml, 8 ug/ml, 2 ug/ml, y 0,5 ug/ml) se agregaron. En los momentos apropiados, 10 ul de cada cultivo tratamiento se diluyó 100 veces en MHB para minimizar el arrastre de la levofloxacin. Los números de células viables se enumeraron mediante siembra de muestras diluidas en serie en placas de MHB por el método de plaqueo por gota (10 ul). El límite de detección fue de 10⁴ UFC/ml. La destrucción se presenta como el porcentaje del inóculo de partida que sobrevivió después del tratamiento con la levofloxacin. Los resultados se muestran en las Figuras 8A y 8B.

20 Resultados

Los resultados indican que mientras que el esputo afectada ligeramente el grado de destrucción por la levofloxacin, todavía se observó la destrucción rápida y extensa (hasta cinco órdenes de magnitud) por la levofloxacin en el esputo después del tratamiento de corta duración a altas concentraciones de antibiótico.

25

Experimento 4. Actividad de la levofloxacin contra las biopelículas de las colonias de PAM1032.

Métodos

30 Preparación de la biopelícula

Las biopelículas de colonias se cultivan en filtros de membrana de policarbonato (diámetro, 25 mm; Poretics, Livermore, California) que descansan sobre las placas de MHB. El cultivo toda la noche de PAM1032 se diluyó a DO=0,3, y después se diluyó 1:100 en MHB fresco. 5 ul de este cultivo se punteó sobre el filtro de membrana. Las bacterias se incubaron a 37°C durante 48 horas (maduración de las biopelículas).

35

Exposición

40 Después de filtros de crecimiento se colocaron en los tubos que contenían 3 ml de solución salina o solución salina y levofloxacin a 128 ug/ml y 1024 ug/ml. Cada tubo se trató durante 10 minutos y 80 minutos. Aproximadamente 5 minutos antes de transcurrido el tiempo de incubación, los tubos se agitaron con vórtice vigorosamente (A) o se sonicaron con ultrasonidos y agitación con vórtice (B) para separar las células. 1 ml de cada cultivo de exposición se centrifugó durante 2 minutos, el sedimento se lavó dos veces con 1 ml de MHB libre de fármaco, y se resuspendió en 1 ml de MHB. El número de células viables se enumeraron mediante siembra de muestras diluidas en serie (por duplicado) en placas MHB mediante el método de plaqueo de la gota (10 ul). Los resultados se muestran en la Figura 9.

45

Resultados

50 Los datos demuestran que se obtiene la destrucción máxima (~2 logs) después de 10 min con la concentración más baja de la levofloxacin probada (CMI 128-veces). Ninguna destrucción adicional se observó en la concentración más alta levofloxacin. Estos datos indican que las biopelículas de las colonias son más resistentes a la destrucción en comparación con células en fase logarítmica o estacionaria. Sin embargo, el máximo de actividad bactericida observado contra las biopelículas (99 % en estas condiciones) se logró después de 10 minutos de exposición de la levofloxacin.

55 Experimento 5. Administración rápida en aerosol, a corto plazo simulada,

Entregando alta concentración de exposición al fármaco en el modelo farmacodinámico in vitro.

60 Los modelos farmacodinámicos de infección in vitro permiten la exposición de un inóculo bacteriano en crecimiento a los cambios de concentraciones de fármaco como puede ocurrir in vivo. La fuerza de este enfoque es que la concentración en suero vs. el perfil de tiempo de un fármaco en el hombre puede simularse en el laboratorio in vitro para determinar el perfil de exposición óptima (es decir, la dosis y el intervalo de dosificación) para un fármaco y patógeno objetivo.

60

65 El siguiente informe describe los experimentos diseñados para determinar la C_{máx} y AUC que proporcionará un máximo de efectos bactericidas después de una dosis de aerosol de una fluoroquinolona.

Materiales y Métodos

Modelo farmacodinámico de infección in vitro

5 El modelo farmacodinámico in vitro consiste en un compartimiento central (compartimiento análogo de "suero") y periférico ("extravasacular"). Los compartimientos periféricos consisten en unidades capilares artificiales (Unisyn, Hopkinton, Massachusetts) dispuestas en serie con el compartimiento central. Cada unidad capilar tiene un conjunto de pequeñas fibras semipermeables con una retención de tamaño molecular de cerca de 10.000 PM para permitir el paso de nutrientes pero no de las bacterias. Todo el sistema está configurado en una incubadora de calor seco ajustada a 10 37°C.

Tanto el compartimiento central como el periférico se llenaron con caldo de Mueller-Hinton. Cada compartimiento periférico (unidad capilar y tubo) contuvieron cerca de 23 ml de medio de crecimiento.

15 Las bacterias se introdujeron en la cámara periférica del modelo y se dejaron crecer durante 2 horas antes de la primera "dosis" de fármaco. La dosis de los fármacos se administró en el compartimiento central y se bombearon a las cámaras periféricas por una bomba peristáltica. Las concentraciones en el modelo se redujeron de acuerdo con el primer orden de eliminación (vida media) mediante la dilución del compartimiento central con medio libre de fármacos introducido por una bomba peristáltica adicional ajustada al aclaramiento deseado.

20 Las muestras (0,3 ml) se recogieron de los compartimientos periféricos a diversos intervalos para la determinación de las concentraciones de bacterias y fármaco. Se recogieron muestras de los compartimientos periféricos y se ensayaron para las concentraciones de fármaco por HPLC.

25 Cepas bacterianas de prueba

Pseudomonas aeruginosa PAM1032 y PAM1582. Las CMI de estas cepas para levofloxacina fueron 1,0 y 32 ug/ml, respectivamente.

30 Preparación del inóculo

Cepas se cultivaron aeróbicamente durante la noche en caldo de Mueller-Hinton (MHB) a 35°C y se subcultivaron en MHB fresco y se reincubaron a 35°C durante 2 horas. Después de 2 horas, el inóculo se diluyó adicionalmente 1:1000 hasta una concentración final de aprox. $1,0 \times 10^6$ UFC/ml. De la dilución resultante, se inyectaron 2,3 ml en cada cámara periférica de los biorreactores de fibra hueca (Unisyn, Hopkinton, Massachusetts).

Farmacocinéticas

40 La vida media de la levofloxacina se ajustó para ser de 10 minutos siendo equivalente a la observada después de la administración de la levofloxacina en aerosol al compartimiento pulmonar del hombre. La $C_{m\acute{a}x}$ objetivo fue 1000 y 600 ug/ml en dos experimentos.

Resultados

45 Como objetivo, el modelo mostró una vida media de la levofloxacina de 10 minutos y la $C_{m\acute{a}x}$ de 1000 ug/ml para el Experimento 5. En comparación, el Experimento 6 se modificó para conseguir la misma vida media como Experimento 5, pero con una $C_{m\acute{a}x}$ objetivo de 600 μ g/ml.

50 Los efectos bactericidas de estos dos regímenes se correlacionaron con la $C_{m\acute{a}x}$. En el Experimento 5 con una $C_{m\acute{a}x}$ de 1000 ug/ml, se observó el máximo efecto bactericida como una reducción de 5 log en los recuentos bacterianos dentro de los 10 minutos con PAM1032 y una reducción de 4 log en los recuentos bacterianos dentro de los 20 minutos con PAM1582 y ningún re-crecimiento observado durante las 2 horas restantes del experimento (Figura 10). Por el contrario, mientras que la $C_{m\acute{a}x}$ de 600 ug/ml usada en el Experimento 6 mantuvo la reducción de 5 log en los recuentos bacterianos para PAM1032, aunque teniendo 30 minutos en lugar de los 10 min observados en el Experimento 1, sólo una reducción de 3 log en los recuentos bacterianos se observó para la PAM1582 después de 45 min (Figura 11). Además, la PAM1582 exhibió un re-crecimiento inicial antes de las 2 horas finales de la ventana experimental.

Conclusiones

60 La levofloxacina puede producir una reducción bacteriana de hasta el 99,9999 % con una $C_{m\acute{a}x}$ tanto de 600 como de 1000 ug/ml frente a una cepa con una CMI de 1 ug/ml. Sin embargo, la actividad bactericida máxima requiere 3X más tiempo a una $C_{m\acute{a}x}$ de 600 ug/ml. La levofloxacina puede producir además, una reducción bacteriana de hasta el 99,99 % con una $C_{m\acute{a}x}$ de 600 ug/ml frente a una cepa con una CMI de 32ug/ml. Sin embargo, el tiempo para alcanzar el efecto máximo es de 45 minutos. Por el contrario, la levofloxacina puede producir hasta 99,999 % de la reducción bacteriana de esta cepa resistente con una $C_{m\acute{a}x}$ de 1000 ug/ml y el tiempo para un efecto máximo se reduce a 20

minutos. A partir de estos resultados, exposiciones muy altas, pero de corta duración de la levofloxacina producen la destrucción bacteriana rápida y sostenida, tanto en modelos de fibra hueca como de frascos. En conjunto, los resultados anteriores indican que el logro de un 800 ug/ml de la levofloxacina inicial u otra concentración de la fluoroquinolona en esputo o ELF humano es suficiente para lograr que el antibiótico anterior repercuta sobre la población MIC99 como se representa por PAM1582 (CMI de 32 ug/ml).

Ejemplo 2 - Determinación de las propiedades de los aerosoles de las fluoroquinolonas antibacterianas.

Introducción

Objetivo. El propósito de estos estudios fue evaluar la capacidad de formular y entregar por nebulización una variedad de fluoroquinolonas para el tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares mediante la administración en aerosol. Las fluoroquinolonas evaluadas se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Fluoroquinolonas Probadas.

Fluoroquinolona	Sp CMI ₉₀ (ug/mL)	MSSA CMI ₉₀ (ug/mL)	MRSA CMI ₉₀ (ug/mL)	Pa CMI ₉₀ (ug/mL)	estado de aprobación
Ciprofloxacina*	2	1	64	8	aprobado
Gemifloxacina*	0,06	0,06	2	8	aprobado
Levofloxacina	2	0,5	16	8	aprobado
Marbofloxacina*	2	2	ND	8	Veterinario
Gatifloxacina*	0,5	0,125	4	16	aprobado
Ofloxacina	2	1	>32	16	aprobado
Tosufloxacina*	0,5	0,125	>16	16	Japón
Lomefloxacina*	16	2	>32	32	aprobado
Moxifloxacina*	0,25	0,125	2	32	aprobado
Esparfloxacina*	0,5	0,125	16	32	retirado
Orbifloxacina*	2	2	ND	>32	Veterinario
Pefloxacina*	32	2	>32	>32	Europa
Trovafloxacina*	0,25	0,06	8	>32	retirado
*(descrito pero no reivindicado)					

Estas fluoroquinolonas se eligieron basadas en su disponibilidad, estado de aprobación y propiedades antimicrobianas. Todas las fluoroquinolonas probadas están ya sea aprobadas en la actualidad en los Estados Unidos o se aprobaron pero después se retiraron debido a diversas reacciones adversas. Además, varias fluoroquinolonas, que están en uso para aplicaciones veterinarias, se han evaluado también. Entre los patógenos bacterianos responsables de las infecciones del tracto respiratorio, *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) y *Staphylococcus aureus* metilina-resistente (MRSA) son los más intratables al tratamiento con fluoroquinolonas. *Streptococcus pneumonia* (Sp) es probablemente el más importante patógeno responsable de infecciones de las vías respiratorias y numerosos informes demuestran altas tasas de resistencia a las fluoroquinolonas en estas bacterias. La CMI₉₀ para Pa se encuentra en el intervalo de 4 ug/ml a 32 ug/ml y de 2 ug/ml a >32 ug/ml para Pa y MRSA, respectivamente. La ciprofloxacina, levofloxacina, gemifloxacina y gatifloxacina vs gemifloxacina y moxifloxacina son los más potentes contra Pa y MRSA, respectivamente.

La Tabla 7 contiene una lista de las fluoroquinolonas adicionales (descritas pero no reivindicadas) para la evaluación potencial. Los compuestos más interesantes microbiológicamente en la lista son clinafloxacina y olamfloxacina, que se suspendió debido a las reacciones adversas, y sitofloxacina, que se encuentra en fase III de los ensayos clínicos.

Tabla 7. Fluoroquinolonas para la evaluación potencial.

Fluoroquinolona	Sp CMI ₉₀ (ug/mL)	Sa CMI ₉₀ (ug/mL)	MRSA CMI ₉₀ (ug/mL)	Pa CMI ₉₀ (ug/mL)	Estado de mercado
Clinafloxacin	0,06	0,06	2	4	descontinuado
Sitafloxacin	0,06	0,125	4	8	fase III
Olamufloxacin	0,06	1	2	16	descontinuado
Norfloxacin	16	1	>4	16	aprobado
Prulifloxacin	1	0,25	32	16	Fase III
Danofloxacin	NA	0,125	NA	>16	Veterinario
Enrofloxacin	1	0,125	8	>16	Veterinario
Sarafloxacin	NA	0,25	>16	>16	Veterinario
Balofloxacin	0,5	0,25	8	32	Corea
Fleroxacin	8	1	>4	32	Europa
Difloxacin	2	0,5	NA	32	Veterinario
Rufloxacin	32	2	64	32	Europa, China
Enoxacin	16	1	>4	>32	retirado
Garenoxacin	0,06	0,06	8	>32	Fase III
Grepafloxacin	0,5	0,125	32	>32	retirado
Pazufloxacin	4	0,5	>16	>32	Japón

Las fluoroquinolonas en estas dos tablas representan un campo de opciones para un candidato de la fluoroquinolona en aerosol. Varios fluoroquinolonas potentes como DX-619 y DW-286, que están en las primeras etapas de desarrollo clínico, pueden ser de interés también para estudios futuros.

Las consideraciones físico-químicas específicas para la nebulización incluyen la solubilidad acuosa, la viscosidad y la tensión superficial. La solubilidad acuosa del fármaco debe ser ventajosamente suficiente para cumplir o exceder los requerimientos mínimos de dosificación. La concentración de carga de fármaco afecta además, el tiempo de suministro. Los tiempos de suministro más largos pueden ser comercialmente inaceptables o conducir a una escasa conformidad del paciente. Aunque los tiempos de suministro más largos pueden, en efecto, modificar el perfil de AUC, mediante ejemplo no limitativo, se ha descubierto que el dispositivo de PARI eFlow para administrar 4 ml de la levofloxacin acuosa en menos de 5 min. Además, usando un dispositivo eficiente de este tipo, la alta concentración de la levofloxacin puede ser capaz de suministrar las dosis efectivas descritas la presente invención en un marco de tiempo que permite además la administración rápida, los requerimientos de la concentración de fármaco alta necesarios para la terapia óptima de la fluoroquinolona.

En el caso de las fluoroquinolonas, el pH afecta directamente a la solubilidad. En general, la solubilidad disminuye significativamente con el aumento de pH en el intervalo de 1,5 a 6,5. Debido a que el pH afecta además la tolerancia del paciente (ver más abajo), la elección óptima de la fluoroquinolona para el suministro pulmonar a través de aerosol tiene ciertos niveles de solubilidad y pH.

Para el propósito de este estudio de factibilidad, la solubilidad objetivo se fijó en 10 mg/ml o a un pH mayor de 4,5 o más, basado en los cálculos de dosis terapéutica y de las métricas de suministro para los nebulizadores disponibles. Para superar la concentración preventiva del mutante (MPC), la concentración pico de la fluoroquinolona después de la administración en aerosol alcanza ventajosamente de aproximadamente 100 ug/ml a aproximadamente 1000 ug/ml en el sitio de la infección, en espera de la CMI del organismo infectante. Sobre la base de estas consideraciones, la dosis mínima para estar en este intervalo terapéuticamente relevante se prevé que sea al menos aproximadamente 30-40 mg de Dosis respirable suministrada (RDD). Dada la vida media relativa de la levofloxacin en el pulmón humano, la realización práctica de esta dosis por nebulización se puede obtener con una dosis de carga de al menos aproximadamente 100 mg en un volumen de aproximadamente 2 mL (aproximadamente 50 mg/mL) en un dispositivo de alta eficiencia de malla vibratoria que funciona a su máxima eficiencia de desempeño suministrando esta dosis en menos de 4 minutos. Un nebulizador ultrasónico o a chorro estándar puede requerir una dosis de carga de al menos aproximadamente 400 mg en un volumen de aproximadamente 5 mL (aproximadamente 80 mg/mL). Sin embargo, la velocidad de administración por estos dispositivos menos eficientes puede no ser suficiente para lograr una alta

concentración local con la exposición de corta duración. Dosis eficaces similares se pueden lograr también mediante la administración de la levofloxacin como un polvo seco, donde las propiedades de solubilidad rápida de la levofloxacin pueden permitir una rápida disolución que resulta en estas concentraciones deseadas del fármaco soluble. Sin embargo, pueden ser deseables concentraciones alternativas o la alteración del perfil de forma AUC de la fluoroquinolona.

Alternativamente, aunque la solubilidad acuosa es importante, es razonable predecir una formulación que utiliza la tecnología de partículas o formación de complejos para permitir la nebulización de fluoroquinolonas menos solubles. Desafortunadamente, las formulaciones más complejas aumentan tanto la complejidad como el costo de desarrollo de fármacos, y en el caso de los nebulizadores ultrasónicos y de chorro, provocan una reducción significativa en la eficiencia del suministro, y limitan la capacidad de introducir otros elementos de diseño en un producto final de fármacos.

Adicionalmente a la solubilidad del fármaco, para los dispositivos de nebulización de malla vibratoria es sensible también la tensión superficial de la formulación del fármaco. Por lo tanto, en una modalidad, la tensión superficial se ajusta durante la formulación mediante la modificación de la concentración del fármaco, la concentración de excipiente y/o la adición del tensioactivo.

Además de los factores que afectan a la nebulización eficiente, otros factores pueden ser considerados para la tolerancia y conformidad del paciente. Mediante ejemplo no limitante, estos factores pueden incluir la osmolalidad, pH y sabor. La osmolalidad afecta a la tolerancia aguda en el tracto respiratorio y puede optimizarse para la mayoría de los fármacos durante la formulación. Similarmente, el pH de un aerosol contribuye además a la tolerancia, sin embargo, sólo negativamente cuando el pH de la formulación es menor que 4,5. Por lo tanto, debido a que el pH contribuye directamente a la solubilidad de la fluoroquinolona, las fluoroquinolonas que requieren un pH menor de 4,5 para la solubilidad es probable que sean pobremente toleradas. Por último, el sabor de las fluoroquinolonas puede afectar a la mejor conformidad del paciente. Las fluoroquinolonas se conocen generalmente por asociarse con un sabor desagradable, a veces muy intenso. Si bien existen tecnologías disponibles que pueden enmascarar el mal sabor de los fármacos, estas tecnologías aumentan la complejidad y costo de desarrollo, y no pueden ser totalmente eficaces en el caso de las fluoroquinolonas. Por lo tanto, similar al pH, el sabor puede considerarse para identificar una fluoroquinolona adecuada para la nebulización.

Preparación y caracterización de las soluciones de prueba

Los antibióticos se adquirieron de varias fuentes, como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Preparación de soluciones de prueba de la fluoroquinolona (descrito, pero no reivindicado).

No.	Fluoro-quinolona	Fuente ^a	Pureza ^b	Cantidad	Volume H ₂ O	Conc. Final.
1	Gatifloxacin	LKT	99,6	8,7 mg	0,87 mL	10 mg/mL
2	Gemifloxacin	LG	99,6	9,5 mg	0,95 mL	10 mg/mL
3	Levofloxacin	LKT	99,2	10,3 mg	1,03 mL	10 mg/L
4	Moxifloxacin	LKT	99,5	12,5 mg	1,25 mL	10 mg/mL
5	Ciprofloxacin	LKT	99,3	19,5 mg	1,95 mL	10 mg/mL
6	Ofloxacin	LKT	99,1	11,7 mg	1,17 mL	10 mg/mL
7	Lomefloxacin	MPI	NA	17,0 mg	1,70 mL	10 mg/mL
8	Marbofloxacin	Vetoquino	NA	4,8 mg	0,48 mL	10 mg/mL
9	Orbifloxacin	MPI	NA	4,2 mg	0,42 mL	10 mg/mL
10	Pefloxacin	MPI	NA	15,0 mg	1,50 mL	10 mg/mL
11	Esparfloxacin	MPI	NA	14,5 mg	1,45 mL	10 mg/mL
12	Tosufloxacin	MPI	NA	15,2 mg	1,52 mL	10 mg/mL
13	Trovafloxacin	MPI	NA	2,0 mg	0,2 mL	10 mg/mL

a. LKT: LKT Laboratories. LG: LG Chem. NA Fuente no disponible.
b. Pureza del material probado. Descrito como GMP o en porcentaje de API.
c. 25 mg/ml de solución.

Una muestra de 2-20 mg de cada antibiótico se pesó en tubos de plástico estériles y se completó con un volumen de agua estéril para obtener una solución o suspensión del antibiótico de 10 mg/mL. Las muestras se incubaron durante aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente con mezclado ocasional, antes de su posterior manipulación.

5 Después del período de incubación, se observaron las soluciones de antibióticos para su apariencia visible, con resultados como se muestra en la Tabla 9.

10 Cinco de las fluoroquinolonas probadas estuvieron visiblemente solubles, y, o bien sin color, o con una sombra de color amarillo. Ocho fueron visiblemente insolubles, con apariencias nubosas (partículas finas), opacas (partícula densa de fina a media), o turbias (suspensión de partículas gruesa, grandes), en todos los casos con un sedimento visible. El pH de estas soluciones iniciales se determinaron, y el intervalo estuvo de 3,5 a 7,0. Las soluciones insolubles se titularon con HCl 1 N hasta el punto de solubilidad visible, y se determinó el pH de la solución solubilizada. En tres casos, marbofloxacin, esparfloxacin y tosufloxacin, la solubilidad no se alcanzó con el pH 1,5, y se detuvo además la adición de ácido. Con excepción de la ofloxacin, el pH de estas soluciones valoradas estuvo en el intervalo de 1,5 a 3,0.

Tabla 9. Características de la solución fluoroquinolona (descritas, pero no reivindicadas).

No.	Fluoroquinolona	Solución inicial		Después del ajuste de pH		
		Apariencia	pH	1N de HCl (uL)	Apariencia ^a	H
1	Gatifloxacin	blanco, nuboso, sedimento visible	7,0	5	color ligeramente amarillo, transparente, sin precipitado	3.0
2	Gemifloxacin	incolore, transparente, sin sedimento	4,7		NR	-
3	Levofloxacin	color ligeramente amarillo, transparente, sin sedimento	4,7		NR	-
4	Moxifloxacin	color amarillo brillante, transparente, sin sedimento	4,7		NR	-
5	Ciprofloxacina	blanco, opaco (muy denso), sedimento visible	5,5	60	incolore, transparente, sin sedimento	2.0
6	Ofloxacin	nuboso, sedimento visible	6,5	10	color ligeramente amarillo, transparente, sin sedimento	5.2
7	Lomefloxacina	nuboso, sedimento visible	4,2	-	transparente, sin precipitado, después de 10 min. a temperatura ambiente.	-
8	Marbofloxacina	blanco, muy turbio, sedimento visible	6,5	40	blanco, turbio, sedimento visible	1.5
9	Orbifloxacina	blanco, nuboso, sedimento visible		20	incolore, transparente, sin sedimento	1.7
10	Pefloxacina	incolore, transparente, sin precipitado	4,5		NR	-
11	Esparfloxacina	amarillo brillante, turbio, sedimento visible	5,0	20	amarillo brillante, densamente turbio, sedimento visible	1.5
12	Tosufloxacina	blanco, turbio, sedimento visible	3,5	20	blanco, nuboso, menos turbio, sedimento visible	1.5
13	Trovafloxacina	incolore, ligeramente nuboso, sin precipitado	4,2		NR	-

a. NR: ajuste de pH no obligatorio. Fluoroquinolona fue soluble a un pH \geq 4 en la solución inicial.

Después del ajuste de pH, y seguido de un período de incubación adicional de 10 minutos con mezclado ocasional, se determinó la apariencia final de las soluciones, justo antes de la tolerancia al aerosol y prueba del sabor. Los resultados se muestran en la Tabla 10.

5 Tabla 10. Apariencia de solución final de las fluoroquinolonas (descrito, pero no reivindicado).

No.	Fluoroquinolona	pH	Solubilidad	Color	Sedimento	Opacidad	
10	1	Gatifloxacina	3,0	+	C	Ninguno	ninguno a muy ligero
	2	Gemifloxacina		+	C	Ninguno	ninguno a muy ligero
	3	Levofloxacina	4,7	+	VLY	Ninguno	Ninguno
	4	Moxifloxacina	4,7	+	Y	+/-	Ninguno
15	5	Ciprofloxacina	2,0	+	C	Ninguno	Ninguno
	6	Ofloxacina	5,2	+	LY	+/-	Ninguno
	7	Lomefloxacina	4,2	+	C	+/-	ninguno a muy ligero
20	8	Marbofloxacina	1,5	--	W	++	++
	9	Orbifloxacina	1,7	+	C	Ninguno	ligero
	10	Pefloxacina	4,5	+	C	Ninguno	ligero
25	11	Esparfloxacina	1,5	---	DY	+++	++++
	12	Tosufloxacina	1,5	--	W	++	+++
	13	Trovafloxacina	4,2	+	C	+	ligero
30	Y=amarillo; LY= amarillo ligero; VLY=amarillo muy ligero; DY=amarillo oscuro; C= incoloro; W = blanco.						

Los compuestos que exhiben la solubilidad preferida de las soluciones adecuadas para la administración por inhalación (10 mg/mL a un pH de 4,5 o superior), fueron la levofloxacina, gemifloxacina, moxifloxacina, ofloxacina y pefloxacina. La levofloxacina, ofloxacina y moxifloxacina exhibieron las mejores características de solubilidad/pH.

Evaluación del Gusto y Tolerancia

40 Dos evaluaciones se realizaron para determinar la idoneidad de las soluciones de la fluoroquinolona con respecto al sabor y la tolerancia.

En primer lugar, en una prueba de sabor por vía oral se determinó el sabor de una porción de 20 ul de la muestra prueba en un solo voluntario humano, sano colocando el material directamente en la parte central delantera de la lengua. El sabor se monitoreó a continuación, durante un período de 1 minuto. Esta prueba se realizó con las soluciones iniciales preparadas, así como las soluciones finales a continuación del ajuste del pH. Los datos se muestran en la Tabla 11.

50 Tabla 11. Prueba del sabor de la fluoroquinolona oral.

No.	Fluoroquinolona	Solución inicial	Solución final
55	1	sabor amargo moderado desagradable, ligeramente aromático	sabor fuerte amargo, parecido a almendras, desagradable, fuerte mal sabor en la boca
	2	sabor muy amargo desagradable con fuerte mal sabor en la boca, hasta el final de la garganta.	no realizado
60	3	sabor ligeramente químico, ligeramente amargo, sabor ligeramente parecido a almendras	no realizado
65	4	sabor amargo-dulce moderado, desagradable, ligeramente aromático	no realizado

5	5	Ciprofloxacina	sabor dulce parecido a almendras	sabor amargo, muy fuerte en todas partes de la garganta
	6	Ofloxacina	sabor amargo, desagradable, parecido a almendras	sabor amargo moderado, desagradable, parecido a almendras
10	7	Lomefloxacina	sabor de moderado a fuerte, parecido a almendras, no muy desagradable	no realizado
	8	Marbofloxacina	sabor amargo desagradable, parecido a almendras	sabor moderado a fuerte, amargo, desagradable, parecido a almendras
15	9	Orbifloxacina	sabor fuerte, desagradable	sabor amargo muy fuerte, muy desagradable
	10	Pefloxacina	sabor amargo fuerte, desagradable parecido a almendras	no realizado
20	11	Esparfloxacina	sabor ligero	sabor fuerte parecido a almendras
	12	Tosufloxacina	sabor de medio a moderado parecido a almendras	sabor fuerte parecido a almendras
25	13	Trovafloxacina	sabor amargo muy fuerte, desagradable, parecido a almendras, fuerte mal sabor en la boca	sin realizar

30 La disminución del pH generalmente tuvo el efecto de mejorar las propiedades del gusto de la solución. Gatifloxacina, gemifloxacina, ciprofloxacina, orbifloxacina y trovafloxacina fueron los menos deseables en la prueba de sabor. De las fluoroquinolonas ensayadas, la levofloxacina fue la única fluoroquinolona que era tolerable con respecto al sabor, a la concentración probada. La lomefloxacina tuvo un sabor moderadamente fuerte parecido a almendras, y el sabor fue un poco desagradable.

35 En la segunda prueba, se determinó la tolerancia y el sabor de una pequeña muestra de aerosol de 0,5 ml de una alícuota de la formulación de prueba en un solo voluntario sano humano, después de la nebulización en un nebulizador PARI eFlow (Tabla 12).

40 Tabla 12. Prueba del sabor y tolerancia a la Fluoroquinolona en aerosol (descrito, pero no reivindicado).

No.	Fluoroquinolona	Tolerancia y sabor al aerosol	
45	1	Gatifloxacina	sabor amargo moderado, desagradable, sensación de tos leve
	2	Gemifloxacina	sabor amargo fuerte, desagradable, fuerte mal sabor en la boca, sensación de tos leve
50	3	Levofloxacina	sabor químico, a veces amargo, sensación de tos leve
	4	Moxifloxacina	sabor amargo moderado, desagradable, algo de tos, mal sabor fuerte y amargo en la boca
55	5	Ciprofloxacina	muy fuerte, sabor amargo desagradable, sensación de tos inmediata
	6	Ofloxacina	sabor químico amargo, sensación de tos leve
	7	Lomefloxacina	sabor químico, a veces amargo, sensación de tos leve
	8	Marbofloxacina	demasiado insoluble para probar
60	9	Orbifloxacina	muy ácido, sabor amargo fuerte desagradable, tos fuerte
	10	Pefloxacina	sabor químico, algo de tos
65	11	Esparfloxacina	demasiado insoluble para probar

12	Tosufloxacin	demasiado insoluble para probar
13	Trovafoxacin	sabor amargo desagradable, sin tos o sensación de tos, sin mal sabor en la boca

5

10

15

20

25

30

En el caso de la orbifloxacin, marbofloxacin y trovafoxacin, porciones más pequeñas se probaron, debido a las limitaciones de la solubilidad. En un experimento de calibración, el inhalador produjo una salida de aerosol de 4,1 micras de VMD, con una desviación estándar geométrica (GSD) de 1,64 micras de VMD. Además de estas mediciones, el inhalador produjo una dosis de partículas finas (FPD) de 54,9 % (porcentaje de la dosis emitidas en partículas de menos de 5 micras). La tolerancia y el sabor del fármaco se monitorearon durante un periodo de administración muy breve y por un periodo de 10 minutos después de la administración. Los parámetros de la tolerancia fueron de los siguientes tipos: (i) tos, sensación de tos o estornudos (ii) irritación, ardor o sensación de opresión en la garganta, (iii) irritación o escurrecimiento en los pasajes nasales u ojos, (iv) irritación, ardor o sensación de opresión en los pulmones o falta de amplitud, y (v) mareos, dolor de cabeza, náuseas u otros efectos sistémicos.

La marbofloxacin, el esparfloxacin y la tosufloxacin fueron demasiado insolubles para evaluarse en esta prueba. Para el resto de las fluoroquinolonas probadas, no se observaron efectos de tolerancia durante o después de la exposición al aerosol en las categorías II, III o IV (anteriores). La gatifloxacin, moxifloxacin, ciprofloxacina, orbifloxacin y pefloxacina se asociaron con la tos. En el caso de la ciprofloxacina y la orbifloxacin esto pudo asociarse con el bajo pH de la solución. De las fluoroquinolonas probadas, la levofloxacin a 10 mg/ml tuvo las mejores características de sabor. La ofloxacina, lomefloxacin y pefloxacina tuvieron un sabor más perceptible que la levofloxacin, que fueron aceptables también, durante el ciclo corto de la administración.

Resumen y conclusiones de la prueba de sabor de las Fluoroquinolonas

De las trece fluoroquinolonas probadas en este estudio, la levofloxacin tuvo propiedades físico-químicas preferidas para la administración en aerosol y una demostración de mejor tolerancia aguda de las fluoroquinolonas probadas (Tabla 13). La levofloxacin también se reconoce por tener uno de los mejores perfiles antimicrobianos para los patógenos respiratorios y tiene la mayor eficacia *in vivo* comparable a la ciprofloxacina, para el tratamiento de las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabla 13. Conveniencia general para la nebulización (descrito, pero no reivindicado).

35

40

45

50

55

60

65

No.	Fluoroquinolona	Evaluación	Puntuación total	Limitación
1	Gatifloxacin	pobre solubilidad y pH, sabor del aerosol amargo moderadamente fuerte	--	solubilidad, sabor
2	Gemifloxacin	suficiente solubilidad y pH, sabor del aerosol fuerte amargo, fuerte mal sabor en la boca	--	Sabor
3	Levofloxacin	excelente solubilidad y pH, sabor de aerosol químico, a veces amargo	+	Sabor
4	Moxifloxacin	suficiente solubilidad y pH, sabor de aerosol amargo moderadamente fuerte, fuerte mal sabor en la boca	--	Sabor, Actividad de Pa
5	Ciprofloxacina	pobre solubilidad y pH, sabor del aerosol amargo muy fuerte, presencia de tos	---	solubilidad, sabor
6	Ofloxacina	mínimamente aceptable solubilidad y pH, sabor de aerosol químico amargo	-/+	Sabor
7	Lomefloxacin	solubilidad y pH mínimamente aceptable, sabor de aerosol químico, sabor del líquido fuerte	-/+	Actividad Pa
8	Marbofloxacin	muy poca solubilidad incluso a bajo pH, incapaz de probar	-	Solubilidad
9	Orbifloxacin	solubilidad muy pobre incluso a pH bajo, sabor de aerosol fuerte amargo desagradable, tos fuerte	-	solubilidad, sabor, Actividad Pa

10	Pefloxacin	suficiente solubilidad y pH, aerosol sabor químico, sabor líquido fuerte desagradable	-/+	Actividad Pa	
5	11	Esparfloxacin	muy poca solubilidad incluso a bajo pH, incapaz de probar	---	solubilidad, Actividad Pa
10	12	Tosufloxacin	muy poca solubilidad incluso a bajo pH, incapaz de probar	---	Solubilidad
	13	Trovafoxacin	solubilidad y pH moderados, sabor de aerosol amargo	--	Sabor, Actividad Pa

15 La ofloxacin, lomefloxacin y pefloxacin exhibieron menor solubilidad y sabor más fuerte a 10 mg/ml de la levofloxacin. La ofloxacin es 2 veces menos potente que la levofloxacin, y la lomefloxacin y pefloxacin son 4 veces menos potente. Las concentraciones más altas de estos antibióticos tienen los tiempos de potencia y de administración preferidos de menos de 15 minutos.

20 En un estudio separado, llevado a cabo de una manera similar, se probó la norfloxacin y se encontró que tienen una solubilidad, sabor y perfil de potencia muy similar a la gatifloxacin, con la excepción de una actividad significativamente menor contra los patógenos gram-positivos.

Prueba de sabor de las formulaciones salinas de la levofloxacin y la gemifloxacin en aerosol

25 Basándose en los resultados de los estudios anteriores, la levofloxacin y su racemato la ofloxacin, así como la gemifloxacin, y en menor grado la gatifloxacin y norfloxacin son susceptibles a la administración en aerosol para el tratamiento antibacteriano pulmonar. Para probar las propiedades del sabor y la tolerancia aguda (sensación tos y tos) de la levofloxacin y la gemifloxacin, varias formulaciones se prepararon con ácidos orgánicos e inorgánicos diferentes y se probaron en la forma descrita anteriormente. Las soluciones se prepararon añadiendo primero 500 mg de la levofloxacin a 10 ml de agua o añadiendo 500 mg de gemifloxacin a 20 ml de solución salina (debido a las limitaciones de la solubilidad), valorando el pH a ~ 6,5 con HCl o ácido orgánico, a continuación, ajustando después la osmolalidad de las soluciones que contienen la levofloxacin a ~300 mOsmol/kg con cloruro de sodio. Las formulaciones probadas se muestran en la Tabla 14.

35 Estas formulaciones se probaron en un total de tres voluntarios humanos sanos de la misma manera como se describió anteriormente, a una concentración de la levofloxacin de 50 mg/ml, y una concentración de gemifloxacin de 25 mg/ml, en una prueba cuidadosamente controlada, punto a punto, totalmente a ciega. Los resultados se muestran en la Tabla 15 y 16.

40 Estos resultados demuestran que las formulaciones de ácido clorhídrico, ácido cítrico y ácido ascórbico de la levofloxacin tienen sabor y tolerancia superior en comparación con las formulaciones de ácido acético, ácido láctico y ácido tartárico de la levofloxacin. Además, estas formulaciones de la levofloxacin tienen sabor y tolerancia superior sobre las formulaciones de la gemifloxacin equivalentes. Con respecto a la gemifloxacin, la formulación de ácido cítrico tuvo sabor y tolerancia superior en comparación con las formulaciones de HCl y ácido ascórbico de la gemifloxacin, y con un refinamiento de la formulación adicional, puede ser susceptible a la administración en aerosol.

Tabla 14. Formulaciones de la levofloxacin y la gemifloxacin (descrito pero no reivindicado).

Fluoroquinolona	Ácido	Conc (mg/mL)	pH	osmolalidad (mOsm/kg)
Levofloxacin	HCl	50	6,5	181
Levofloxacin	Acético	50	6,41	273
Levofloxacin	Cítrico	50	6,45	286
Levofloxacin	Láctico	50	6,42	286
Levofloxacin	Ascórbico	50	6,50	278
Levofloxacin	Tartárico	50	6,35	286
Gemifloxacin	HCl	25	5,6	330
Gemifloxacin	Cítrico	25	5,7	363
Gemifloxacin	Ascórbico	25	5,9	347

Tabla 15. Sabor y tolerancia de las formulaciones de la levofloxacin en aerosol a 50 mg/ml (descrito, pero no reivindicado).

	Catador		
Ácido	1	2	3
HCl	Sabor amargo moderado	Sabor amargo, sensación de tos	Sabor amargo
Ácido acético	Sabor muy ácido	Sabor ácido fuerte, sensación de tos	sabor ácido, regusto
Ácido cítrico	sabor suave después ligeramente dulce	sabor suave, dulce	suave, regusto
Ácido láctico	Sabor amargo fuerte, regusto	Sabor suave, regusto, tos ligera	amargo, regusto suave
Ácido ascórbico	sabor suave, ligeramente ácido	sabor suave	poco sabor o regusto
Ácido tartárico	muy amargo, regusto fuerte	sabor amargo fuerte, regusto amargo	sabor amargo

Tabla 16. Sabor y tolerancia de las formulaciones de Gemifloxacin a 25 mg/mL (descrita pero no reivindicada).

	Catador		
Ácido	1	2	3
Ácido clorhídrico	sabor metálico, regusto fuerte	sabor amargo ligero	sabor amargo, ligeramente metálico
Ácido cítrico	ligeramente dulce	Tos leve, ligeramente amargo	sabor muy suave, ningún regusto
Ácido ascórbico	sabor suave	Tos, regusto amargo suave	Ligeramente amargo, regusto suave

Prueba de sabor de las formulaciones adicionales de la levofloxacin en aerosol

Para probar las propiedades de sabor y tolerancia de las combinaciones de excipientes adicionales de la levofloxacin de una manera sistemática, se preparó y ensayó una serie de formulaciones. Las formulaciones se enumeran en la Tabla 17. Incluyeron azúcares, sales, edulcorantes y otros excipientes preparados mediante la mezcla de la levofloxacin con agua, añadiendo los excipientes enumerados en la Tabla 17, y titulando si es necesario al pH deseado con HCl diluido, la osmolalidad no se optimizó para estos estudios. Sin embargo, la osmolalidad se determinó usando un osmómetro de Advanced Instruments Modelo 3250. Esta medición, realizada en 250 µl de muestra, se basa en la disminución del punto de congelación para determinar la osmolalidad.

Estas formulaciones se probaron en un total de tres voluntarios humanos sanos con una serie de pruebas (A-G) de la misma manera que la descrita anteriormente, de una manera cuidadosamente controlada, punto a punto, completamente ciega. Todas las pruebas se llevaron a cabo de una manera completamente ciega. Resultados de los ensayos (Tablas 19-25) se describen más abajo. El siguiente sistema de puntuación se usó (Tabla 18).

Prueba A: Prueba de sabor de los edulcorantes, sales de metales divalentes, y agentes tensioactivos. Esta prueba incluye edulcorantes, sales de calcio y magnesio, y agentes activos de superficie (es decir, glicerina y PS-80). Como se muestra en la Tabla 17, las formulaciones que contienen edulcorantes mostraron ser suavemente amargo y tienen sabor metálico. Los edulcorantes artificiales parecían producir un sabor amargo que es distinto del amargor observado de otra manera. Más significativamente, la formulación que contiene CaCl₂ tuvo el mejor sabor con relación al control (MgCl₂ no se probó en este experimento) (Tabla 19).

Prueba B: Prueba de sabor de mono y disacáridos en presencia de cloruro de calcio. Todas las formulaciones examinadas en este experimento fueron bien toleradas y tuvieron mejor sabor que la muestra control. Las formulaciones que contienen tanto la sal de calcio como el azúcar se comportaron mejor que cualquiera de ellos por sí solo, lo que sugiere que estos compuestos mejoran el sabor a través de diferentes mecanismos. De estas formulaciones, 5 % de

Tabla 18. Sistema de puntuación de la prueba de sabor.

Puntuación	Sabor	Tolerancia	
5	1	Comparable con la salina	Ninguna sensación de tos, sin tos
	1,25	Sabor más ligero que la salina	Ligera sensación de tos, sin tos
	1,5	Sabor amargo/metálico suave	Sensación de tos, tos ligera
10	1,75	Entre 1,5 y 2.	-
	2	Sabor amargo/metálico moderado	Sensación de tos, tos moderada
	2,25	entre 2 y 2,5.	-
15	2,5	Sabor amargo/metálico fuerte	-
	2,75	entre 2,5 y 3.	-
20	3	Sabor amargo/metálico muy fuerte	Sensación de tos y tos fuerte
	4	Sabor amargo/metálico muy fuerte y otro sabor desagradable	Sensación de tos, tos fuerte y otra irritación

Tabla 19. Sabor y tolerancia de las formulaciones de la Levofloxacin que contienen edulcorantes, sales de metales divalentes, y agente tensioactivo.

Excipientes	Catador								
	1		2		3		Mediana		
	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	
Aspartamo (0,1 %)	2	1,25	2	1	2	1	2	1	
Sucrosa (0,1 %)	2	1	1,75	1	2	1	2	1	
35	Sacarosa (7,5 %); NaCl (0,225 %)	2	1	2,25	1	2	1	2	1
Glucosa (5 %)	1,5	2	2,5	1	2	1	2	1	
Glicerina (5 %)	2,25	1	2,25	1	2,5	1	2,3	1	
40	PS- 80 (0,1 %)	1,75	1	2,25	1	2,5	1	2,3	1
CaCl ₂ (5 %)	1,25	1	1,5	1,5	2	1	1,5	1	
MgSO ₄ (5 %)	1,5	1,5	2,5	2,5	2,5	1	2,5	1,5	
45	Control -A (0,225 % NaCl)	3	1	3	1	2,5	1	3	1

Tabla 20. Sabor y tolerancia de las formulaciones de la Levofloxacin CaCl₂.

Excipientes	Catador								
	1		2		3		Mediana		
	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	
55	CaCl ₂ (5 %)	1,75	1	2	1	2,75	1	2	1
Sacarosa (5 %)	2	1	2	1	2	1	2	1	
60	CaCl ₂ (5 %) ₂ , Sacarosa (7,5 %)	1,75	1	1,75	1	1,5	1	1,8	1
CaCl ₂ (5 %), Glucosa (7,5 %)	1,5	1	1,5	1	2	1	1,5	1	
CaCl ₂ (5 %), Lactosa (5 %)	1	1	1,75	1	2	1	1,8	1	
65	Control B-E (0,225 % NaCl)	3	1	2,5	1	3	1	3	1

Prueba C: Prueba de sabor de Mono y Disacáridos en Presencia de Cloruro de Magnesio. Como anteriormente, todas las formulaciones seleccionadas en este experimento se toleraron bien tolerados y degustaron mejor que la muestra de control. Las formulaciones que contienen tanto la sal de magnesio como la lactosa parecieron tener ligeramente mejor desempeño que cualquiera de ellas sola. Este experimento confirma que la combinación de sales de metales divalentes y azúcares simples es efectiva en el mejoramiento del sabor (Tabla 21).

Tabla 21. Sabor y tolerancia de las formulaciones de la Levofloxacin MgCl₂.

Excipientes	Catador							
	1		2		3		Mediana	
	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.
MgCl ₂ (5 %)	1,5	1	-	-	1,75	1	1,6	1
MgCl ₂ (5 %), Sacarosa (7,5 %)	1,5	1	1,75	1	2	1	1,8	1
MgCl ₂ (5 %), Glucosa (7,5 %)	1,25	1	2,25	1	2	1	2	1
MgCl ₂ (5 %), Lactosa (5 %)	1	1	1,5	1	1,5	1	1,5	1
Control B-E (0,225 % de NaCl)	2,25	1	-	-	2,75	1	2,5	1

Prueba D: Prueba de sabor de Mono- y Disacáridos en presencia de sulfato de magnesio. Al igual que con el cloruro de calcio y de magnesio, las formulaciones que contienen sulfato de magnesio y glucosa, sacarosa o lactosa degustaron mejor que la muestra control. Este experimento confirma que la combinación de sales de metales divalentes y azúcares simples mejoran el sabor (Tabla 22).

Tabla 22. Sabor y tolerancia de las formulaciones de la Levofloxacin M₂SO₄.

Excipientes	Catador							
	1		2		3		Mediana	
	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.
MgSO ₄ , Sacarosa	1,5	2	1,5	1,25	1,5	1	1,5	1,3
MgSO ₄ , Glucosa	1,5	2,75	2	2,5	1,5	1,5	1,5	2,5
MgSO ₄ , Lactosa	1,25	2,25	1,75	1,25	1,75	1	1,8	1,3
Control B-E (0,225 % de NaCl)	2,25	1	-	-	3	1	2,6	1

Prueba E: Prueba de sabor de sales de metal divalente en presencia de Glucosa a pH bajo y alto. En este experimento, el efecto de la glucosa en combinación con cada una de las tres sales de cationes divalentes se probó a pH bajo (≤ 5,5) y alto (≥ 6,0). Mejorías pequeñas pero consistentes se observaron en el sabor a pH más alto (Tabla 23).

Tabla 23. Sabor y tolerancia de las formulaciones Levofloxacin CaCl₂ a pH bajo versus alto.

Excipientes	Catador							
	1		2		3		Mediana	
	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.
CaCl ₂ (5 %), Glucosa (7,5 %), pH6,1	1	1	1,5	1	2	1	1,5	1
CaCl ₂ (5 %), Glucosa (7,5 %), pH 5,5	1,25	1	1,75	1	2,5	1	1,8	1
MgCl ₂ (5 %), Glucosa (7,5 %), pH6,0	1,25	1	2	1	2	1	2	1
MgCl ₂ (5 %), Glucosa (7,5 %), pH 5,0	1,75	1	1,75	1	1,5	1	1,8	1
MgSO ₄ (5 %), Glucosa (7,5 %), pH 6,2	1,25	2,25	2,25	1,75	1,5	1	1,5	1,8
MgSO ₄ (5 %), Glucosa (7,5 %), pH 5,4	1,5	1,75	1,75	1,5	2	1	1,8	1,5
Control B-E (0,225 % de NaCl)	2	1	-	-	-	-	-	-

Prueba F. Prueba de sabor de Mono- y Disacáridos. Todas las formulaciones seleccionadas en este experimento se toleraron bien y degustaron mejor que la muestra control. Los tres azúcares al 5 % fueron mejores que el control, la lactosa al 2,5 % supo mejor que el control, pero no tan buena como al 5 %. Este experimento confirma que los azúcares simples mejoran el sabor (Tabla 24).

Tabla 24. Sabor y tolerancia de las formulaciones con azúcar de la Levofloxacin (descrito pero no reivindicado).

Excipientes	Catador					
	1		3		Mediana	
	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.
Glucosa (5 %)	1,5	1,5	2	1	1,8	1,3
Sacarosa (5 %)	1,5	1,5	1,5	1	1,5	1,3
Lactosa (5 %)	1,75	1,25	2	1	1,9	1,1
Lactosa (2,5 %)	2,25	1,5	2	1	2,1	1,3
Control F-G (0,45 % de NaCl)	2,5	1	2,5	1	2,5	1

Prueba G. Sabor y tolerancia de las formulaciones de la levofloxacin CaCl₂ Formulaciones en la presencia de lactosa. En este experimento, la levofloxacin se formuló con concentraciones variables de cloruro de calcio y lactosa (Tabla 25). Como se señaló a lo largo de esta serie de experimentos, todas las formulaciones que contienen sales de metales divalentes y azúcar se mejoraron con respecto al sabor y la tolerancia con relación a la formulación control. Con máxima importancia, el cloruro de calcio al 5 % o el cloruro de calcio al 2,5 % en presencia de lactosa al 5 % fueron más eficaces en la disminución del amargor de la levofloxacin. Disminuciones adicionales en la concentración de estos excipientes fueron menos efectivas.

Tabla 25. Sabor y tolerancia de las formulaciones de la Levofloxacin CaCl₂ en presencia de lactosa.

Excipientes	Catador					
	1		3		Mediana	
	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.	Sabor	Tol.
CaCl ₂ (5 %)	1,25	1	1,5	1	1,4	1
CaCl ₂ (5 %), Lactosa (5 %)	1,25	1	2	1	1,6	1
CaCl ₂ (2,5 %), Lactosa (5 %)	1,25	1	2	1	1,6	1
CaCl ₂ (2,5 %), Lactosa (2,5 %)	1,5	1	2,5	1	2	1
CaCl ₂ (1,25 %), Lactosa (2,5 %)	1,75	1	2	1	1,9	1
CaCl ₂ (0,625 %), Lactosa (2,5 %)	1,75	1,25	2	1	1,9	1,1
Control F-G (0,45 % de NaCl)	3	1	2,5	1	2,8	1

Ejemplo de Referencia 3 - Caracterización de la levofloxacin en aerosol en el nebulizador a chorro PARI LC Plus.

Los estudios siguientes describen el potencial para el suministro aerosolizado de la levofloxacin que se administra a un paciente a través de un nebulizador de chorro. Para realizar esta tarea, una formulación sencilla de la levofloxacin se preparó y el aerosol se caracterizó en un nebulizador de chorro. Los resultados de estos estudios se muestran más abajo el resumen.

La solución de inhalación de la levofloxacin (55 mg/mL) se evaluó usando un nebulizador de chorro PARI LC Plus Air con Compresor ProNeb. La dosis emitida, la distribución del tamaño de partículas y la fracción de partículas finas se midieron mediante la impactación en cascada usando un impactador de Marple Miller. Los parámetros mencionados anteriormente se usaron para evaluar el desempeño *in vitro* de los medicamentos aerosolizados.

Estudio Marple Miller

Objetivo. Para determinar la distribución del tamaño de la partícula y estimar la cantidad del fármaco que es probable

que un paciente inhale (fracción respirable). Un objetivo secundario fue estimar la dosis emitida, que es la cantidad de la levofloxacin que salió del nebulizador.

5 Métodos. Formulación: 55 mg/ml de la levofloxacin, 120 mM de cloruro, 70 mM de sodio, pH 6,7. La formulación se estableció a partir de la máxima solubilidad que permite una dosificación de 300 mg en 6 mL y pH neutro. Se añadieron 5,5 mL de la formulación de la levofloxacin a un Nebulizador de chorro PARI LC Plus con Compresor ProNeb. El recipiente del nebulizador contuvo un total de 302 mg de la levofloxacin. El nebulizador se conectó en línea con un impactador Marple Miller (MMI), que funcionó con una velocidad de flujo de aire de 60 l/min. Cada nebulizador (n=2) funcionó hasta la sequedad (no se produce aerosol como se juzga por inspección visual durante 15 minutos). A 10 continuación de la aerosolización, el MMI se desconectó y la levofloxacin se extrajo cuantitativamente con la fase móvil (90/10 ACN:agua) desde el puerto de entrada USP, cada una de las copas de recogida del impactador (etapas) y el filtro de fibra de vidrio. Cualquier formulación restante en el nebulizador después de la aerosolización (copa y boquilla) se cuantificó también.

15 Resultados

Como se muestra en la Tabla 26, la cantidad promedio total recuperada de los experimentos MMI fue 170,2 mg. La recuperación esperada fue de 302 mg. Esto representa una recuperación total de ~57 %, que no reúne con las especificaciones generalmente aceptadas para los estudios basados en la impactación (85 %-115 % de recuperación total). Esta diferencia se debe a la adherencia no específica de la levofloxacin al dispositivo del nebulizador LC Plus. El porcentaje promedio del fármaco que sale del nebulizador en partículas finas fue de ~72 %. Por lo tanto, la dosis emitida respirable fue de 89,7 mg. Suponiendo que ~50 % no se inhala durante la respiración corriente normal, un total de ~40 mg puede depositarse en el pulmón con esta dosis de 300 mg. Sin embargo, dado el tiempo de administración lenta con este dispositivo, la competencia con el aclaramiento pulmonar probablemente puede prevenir la acumulación de suficiente levofloxacin que satisfaga la concentración mínima requerida para la dosificación de "administración rápida, alta concentración" necesaria para la actividad antimicrobiana máxima de la fluoroquinolona y la prevención de la resistencia.

Tabla 26. Conjunto de datos del impactador de Marple Miller.

ID de la muestra	A Dosis emitida (mg)	B Cantidad de fármaco que permanece en la copa del nebulizador (mg)	A+B Cantidad de fármaco recuperado (mg)	Por ciento del fármaco total existente en el nebulizador en la fracción de partículas finas (% < 5µm)
Corrida Levo 1	134,70	45,00	179,70	73,5
Corrida Levo 2	114,40	46,30	160,70	70,4
Promedio	124,6	45,7	170,2	72,0

45 Ejemplo de Referencia 4 - Modelos Animales y Evaluación de las Fluoroquinolonas y las Formulaciones de la Fluoroquinolona.

50 Modelo de Farmacocinética

A seis ratas por estudio se les administra una dosis única intravenosa en bolo, lenta de 10 mg/kg por la vena lateral de la cola o se les administra una dosis única por microaspersión de aerosol de 10 mg/kg usando un dispositivo de microaspersión de generación de aerosoles (PennCentury, Filadelfia, Pensilvania). Las muestras de sangre se tomaron a diferentes tiempos de más de 3 horas para determinar los parámetros farmacocinéticos del plasma. Dos ratas se sacrificaron en 0,5, 1,5 y 3 horas después de la dosificación para determinar los niveles en pulmón, lavado bronqueoalveolar (BAL), y líquido de revestimiento epitelial (ELF). Las concentraciones plasmáticas y tisulares se determinan por un método de HPLC y los datos después se establecieron usando WinNonlin. Los datos se muestran en la Tabla 27.

60 Modelo de eficacia

La cepa PAM 1723 de *P. aeruginosa* se cultiva en caldo Mueller-Hinton (MHB) a 35°C bajo aereación constante, después de 16 horas, el inóculo se subcultiva en MHB fresco y se deja crecer nuevamente a 35°C, bajo aereación constante, durante 4 horas. El inóculo se ajustó a cerca de 5×10^6 UFC/ml por correlación de la absorbancia a 600 nm con recuentos de placas predeterminados. Los ratones machos CFW (4 - 6 semanas de edad, N= 4/grupo) se hicieron neutropénicos por la inyección intraperitoneal de 150 mg/kg de ciclofosfamida (Cytosan, Mead Johnson, Princeton, Nueva Jersey) en los días 1 y 4. En el día 5, los ratones se infectaron por una instilación intratraqueal de 0,05 mL del

inóculo bajo anestesia con isoflurano (5 % de isoflurano en oxígeno que se ejecuta a 4 L/min). Dos horas después de la infección, a los ratones se les administraron dosis ya sea intraperitoneal o intratraqueal de cada fluoroquinolona en una dosis de 25 mg/kg. Los ratones se sacrificaron 1 y 4 horas después del tratamiento, los pulmones se eliminaron, se homogeneizaron y se sembraron para determinar los recuentos de colonias. Los datos se muestran en la Tabla 28.

5

Tabla 27. Modelo farmacocinético.

10

Fármaco	Ruta	Dosis (mg/kg)	AUC de suero (0-inf)	suero t1/2	AUC de ELF (0,5-3h)	F, % de Pulmón vs, IV
Levofloxacin	IV	10	3,8	0,5	10,5	NA
Levofloxacin	IT	10	3,28	0,4	12,07	86 %
Ciprofloxacina	IV	10	2,56	0,53	ND	NA
Ciprofloxacina	IT	3,3	0,8	0,93	194	82 %
Clinafloxacin	IT	10	3,2	0,74	30,8	
Gatifloxacin	IV	10	5,31	1,06	5,32	
Gatifloxacin	IT	10	5,83	1,13	54,7	100 %
Norfloxacin	IV	10	4,65	1,21	3,27	
Norfloxacin	IT	10	4,46	1,13	41,7	100 %
Gemifloxacin	IV	8	4,54	1,04	3,72	
Gemifloxacin	IT	10	5,86	1,68	536,5	86 %
Tobramicina	IV	10	15,7	0,5	27,6	NA
Tobramicina	IT	10	13,82	1,0	5152,0	81 %

40

En estudios farmacocinéticos en la rata, la administración en aerosol de las fluoroquinolonas resultó en el aumento de ELF AUCs de 0,5 - 3 horas para todas las fluoroquinolonas probadas, así como para la tobramicina, lo que sugiere que la vía de administración en aerosol producirá un aumento de la eficacia contra las infecciones pulmonares.

45

En un modelo de ratón de infección pulmonar, se confirmó el aumento de la eficacia, por sugerencia de los estudios farmacocinéticos en ratas. Para todas las fluoroquinolonas probadas, la vía de administración en aerosol (intratraqueal o IT), produjo reducciones más grandes en los recuentos bacterianos que la vía de administración intraperitoneal (IP), lo que sugiere que el aumento de la eficacia observado se debió a la producción de altas concentraciones locales por la administración directa del aerosol.

50

Tabla 28 Modelo de eficiencia.

55

Fármaco	Routa ^a	Dosis (mg/kg)	DeltaLOG UFC 1 hr ^b	DeltaLOG UFC 4 hr ^b
Levofloxacin	IP	25	-1,00	-0,52
Levofloxacin	IT	25	-1,97	-1,28
Gemifloxacin	IP	25	-0,28	-0,32
Gemifloxacin	IT	25	-2,45	-1,81
Levofloxacin	IP	25	-1,40	-1,14
Levofloxacin	IT	25	-2,48	-1,45
Gemifloxacin	IP	25	-0,74	-0,71

65

	Gemifloxacina	IT	25	-3,20	-2,28
	Clinafloxacina	IP	25	-1,32	-1,33
5	Clinafloxacina	IT	25	-2,86	-2,47
	Tobramicina	IP	5	-0,70	0,29
	Tobramicina	IT	5	-1,59	-0,94
10	Ciprofloxacina	IP	25	-1,59	-0,41
	Ciprofloxacina	IT	25	-2,32	-1,45
	Gatifloxacina	IP	25	-0,34	-0,02
15	Gatifloxacina	IT	25	-1,48	-2,11
	Clinafloxacina	IP	10	-0,96	-1,39
	Clinafloxacina	IT	10	-2,71	-2,40
20	Esparfloxacina	IP	25	-0,85	0,09
	Esparfloxacina	IT	25	-1,56	-0,81
	Tosufloxacina	IP	25	0,00	1,33
25	Tosufloxacina	IT	25	-0,48	-0,24
	a, Ruta de administración del fármaco, b, = Tiempo post administración del fármaco				

30 Ejemplo de Referencia 5 - Caracterización de la levofloxacina en aerosol en el nebulizador PARI eFlow.

Tamaño de las Partículas por Láser

35 El desempeño del dispositivo se caracterizó por la medición del tamaño de las partículas emitidas. Mediante ejemplo no limitante, el tamaño del aerosol emitido de la solución de la levofloxacina puede llevarse a cabo con un medidor de partículas Malvern Spraytec bajo las siguientes condiciones. Las condiciones ambientales se controlan para mantener una temperatura ambiente entre 23,0 °C y 24,0 °C y humedad relativa del 42 % al 45 %. La levofloxacina a 25 mg/mL se cargó en dos nebulizadores PARI eFlow fijados con "40" cabezas de nebulización. El programa para el medidor del tamaño de partículas Malvern Spraytec se programó para calcular la siguiente información. A) Diámetro del volumen medio (VMD), el volumen medio de las partículas que pasan a través del haz del láser. B) Desviación Geométrica Estándar (GSD), porcentaje del diámetro 84^{vo}/porcentaje de diámetro 50^{vo} C) % de las partículas ≤ 5 micras, el porcentaje del número de partículas menores de 5 micras o el porcentaje de las partículas > 1 micra y < 7 micras, el porcentaje del número de las partículas entre 1 y 7 micras.

45 El dispositivo se cargó con 2 mL de la levofloxacina a 25 mg/mL. La boquilla del dispositivo se colocó con la punta de la boquilla de 2 cm desde el centro del haz en el eje x y tan cerca al lente óptico del láser como sea posible en el eje y. El desvío del flujo ambiental acondicionado, se proporcionó a través del nebulizador en una cantidad para obtener un flujo total del nebulizador de 20 LPM. El desvío del flujo ambiental acondicionado, se proporcionó a través del nebulizador en una cantidad para obtener un flujo total del nebulizador de 20 LPM. El nebulizador se encendió y se dejó funcionar continuamente durante 1 minuto antes de la medición. La secuencia de medición se inició después de 1 minuto y las mediciones se realizaron continuamente durante 1 minuto en intervalos de 1 segundo. Al final de la fase de medición, estos 60 registros se promediaron para VMD, GSD y % ≤ 5 micras y % > 1 y < 7 micras. Por último, el nebulizador se pesó para determinar la velocidad de salida.

55 Estudios de Simulación de la Respiración

60 El desempeño del dispositivo se midió en condiciones similares a la inhalación natural usando un simulador de la respiración PARI Compas programado para usar el patrón del Estándar Europeo de 15 respiraciones por minuto, con una tasa de inspiración para expiración de 1:1. Estas mediciones se realizaron bajo condiciones ambientales que pueden ser controladas para mantener una temperatura ambiente entre 23,0 °C y 24,0 °C y humedad relativa del 42 % al 45 %. Para este experimento, el dispositivo PARI eFlow se cargó con 4 mL de solución de la levofloxacina a 25 mg/mL.

65 La simulación de la respiración se inició, y los nebulizadores comenzaron. Los dispositivos se dejaron funcionar continuamente hasta que la nebulización cesa. La duración se midió desde el comienzo de la nebulización. A continuación de la nebulización, los filtros de inspiración y expiración se lavaron individualmente en una cantidad

conocida de disolvente (dH₂O). La copa del nebulizador se lavó también de forma individual. Para la cuantificación, los lavados individuales se ensayaron mediante la espectrofotometría a una longitud de onda de 290 nanómetros, y la concentración resultante se convirtió en contenido. Usando estos datos cuantitativos, se realizó el siguiente análisis. A) Dosis Inspirada (ID), la cantidad total de fármaco ensayado del filtro inspiratorio. B) Dosis residual (RD), la cantidad de fármaco del nebulizador ensayada, al final de la nebulización. C) Dosis de Partículas Finas (FPD), el ID multiplicado por la fracción respirable (por ejemplo, % de partículas ≤ 5 micras VMD en dependencia del método usado para determinar el tamaño de las partículas emitidas por el dispositivo seleccionado). D) Duración, tiempo desde el comienzo hasta el final de la nebulización. E) Dosis Respirable Suministrada (RDD), % ID que es, por ejemplo, ≤ 5 micras de VMD.

Los resultados de la Tabla 29 indican que una dosis de 100 mg de la levofloxacina deposita probablemente ~34 mg de la fluoroquinolona en el compartimento pulmonar en ~4 min usando el dispositivo PARI eFlow (Tabla 29) en comparación con la dosis de 300 mg del dispositivo PAR LC Plus que suministra una dosis equivalente en >15 min. A partir de la "administración rápida, alta concentración" el modelo de dosificación y de suministro descritos en la presente descripción, mientras que el tiempo de suministro de 15 min de la LC Plus probablemente fallará, un tiempo de administración de 4 min de 35-40 mg de la levofloxacina puede satisfacer los criterios de máxima actividad de las fluoroquinolonas. Sin embargo, el aumento de la concentración del fármaco para permitir una administración más rápida (por ejemplo, 50 mg/mL en una dosificación de 2 mL que suministra 35-40 mg de la levofloxacina en ~2 min) muy probablemente satisfaga los requisitos mínimos. Además, los tiempos de administración más cortos mejorarán la conformidad del paciente por la dosificación. Además, se debe señalar que las soluciones hipotónicas de la levofloxacina en concentraciones mayores de 10 mg/mL son pobremente toleradas por inhalación.

Tabla 29. Propiedades de la Levofloxacina en Aerosol (100 mg Dosis de carga).

Duración (minutos)	Dosis residual	Dosis inspirada	FPD (%)		RDD (mg)		VMD	GS D	Osmo
			≤ 5u	1-7u	≤ 5u	1-7u	um	um	mOs/kg
3,9 ± 0,1	24,8 ± 3,4	61,1 ± 1,6	54,9	73,8	33,5	45,1	4,7	1,6	67 ± 1,0

Ejemplo de Referencia 6 - Tolerancia de la levofloxacina en aerosol en un Sujeto Humano Sano Métodos

En un solo individuo, voluntario sano, la viabilidad del suministro de la levofloxacina en aerosol se estableció usando ya sea un dispositivo de malla vibratoria Aerogen Clínical, que crea partículas de diámetro volumétrico medio (VMD) de 3,4 micras, o ~2 micras de MMAD (de aquí en lo adelante "Aerogen pequeño"), o usando un nebulizador PARI eFlow que produce partículas de ~4,7 micras de VMD (de aquí en lo adelante "PARI grande"). La levofloxacina se probó a una concentración de 4,25 mg/mL o 18,75 mg/mL a dosis de 10 mg, 35 mg y 55 mg, en una solución isotónica.

Resultados

En la primera prueba, 6 mL de la solución de 4,25 mg/mL se inhaló usando el nebulizador Aerogen Pequeño. El RDD estimado basándose en los estudios de caracterización de la separación in vitro de los dispositivos que usan simulador de respiración se estimó que era 10 mg. El tiempo de suministro fue de 22 minutos. No se observaron efectos adversos perceptibles en la garganta, las vías respiratorias o pulmones, durante o después de la administración, que incluyen la sensación de tos o tos, y hubo sólo un ligero sabor químico durante y después de la administración. No se observaron efectos adversos o sabor durante un período de monitorización de 30 minutos a continuación de la administración del fármaco. A esta baja concentración y dosis, y la velocidad lenta de la administración, la levofloxacina se toleró bien.

En la segunda prueba, se inhaló 4 ml de la solución de 18,75 mg/mL usando el nebulizador Aerogen Pequeño. El RDD estimado basándose en los estudios de caracterización de la separación in vitro de los dispositivos que usan simulador de la respiración fue 35 mg. El tiempo de suministro para la administración del fármaco fue de 14 minutos. A pesar del aumento de la dosis, la tolerancia aguda fue muy comparable con la de la primera prueba, tanto durante como después de la administración. El sabor, que fue más fuerte, fue la solución que tuvo un sabor más químico amargo/metálico característico de la levofloxacina. El sabor fue más discernible durante un período de unos pocos minutos después del final de la administración, nuevamente una característica de la levofloxacina.

En la tercera prueba, 4 mL de la solución de 18,75 mg/mL se inhaló usando el dispositivo PARI Grande. La RDD estimada basándose en los estudios de caracterización de la separación in vitro de los dispositivos fue ~55 mg (usando la definición FPD < 5 micras). El tiempo de suministro para la administración del fármaco fue de ~5 minutos. A pesar que el tamaño de la partícula y la tasa de entrega del fármaco aumentaron significativamente en comparación con la prueba 2, no se experimentaron efectos adversos en la garganta, las vías respiratorias o los pulmones, aparte de los efectos agudos de sabor que se señalaron anteriormente, que incluyen la sensación de tos o toser, a lo largo del periodo de dosificación y durante un periodo de observación de 30 minutos después de la entrega de la dosis. La recuperación urinaria del fármaco, que es una medida exacta de la exposición, confirma que la dosis respirable proyectada de aproximadamente 55 mg se entregó con éxito.

Estos resultados demuestran la viabilidad de la administración en aerosol la levofloxacin en un sujeto humano a las concentraciones intermedias probadas, y se sugiere que el aumento de las concentraciones y dosis, adecuadamente formuladas para la tolerabilidad y el gusto son alcanzables.

5 Ejemplo de Referencia 8 – La Preformulación del la Base de la levofloxacin.

10 El objetivo de este estudio fue caracterizar la base de la levofloxacin para entender las capacidades fisico-químicas y las restricciones de la base de la levofloxacin para varios enfoques de la formulación. El propósito de este estudio fue caracterizar las propiedades físico-químicas de la base de la levofloxacin.

Preformulación

15 Estudios pH-Solubilidad

La solubilidad de la levofloxacin se determinó como una función del pH. Los tampones se prepararon por primera vez en el intervalo de pH 2-10. Pequeñas alícuotas de cada tampón (~200 a 250 µL) se saturaron con el fármaco y se agitaron para lograr la solubilidad en equilibrio. Las muestras se centrifugaron y los sobrenadantes se analizaron para el fármaco disuelto por UV o HPLC. Los tampones usados en este estudio mostraron que afectan el resultado de la solubilidad (debido a que diferentes tampones contrarrestan iones que pueden formar diferentes formas de sal levo en solución). Por lo tanto, el pH-solubilidad se evaluará también en ausencia de los tampones (a través de la titulación).

20 Determinación del pKa

El pKa de la levofloxacin se determinó por volumetría. Los valores de pKa obtenidos se confirmaron por espectrofotometría UV. Esta información se usó para ayudar en la selección de la sal para la levofloxacin y para determinar la carga de la levofloxacin bajo las condiciones de pH en el pulmón.

30 Preformulación para el Sistema Líquido

La viabilidad de una formulación líquida se investigó usando (a) la solubilidad y (b) la tensión superficial como parámetros de valores iniciales para la formulación sólo con solución salina.

35 Estudios de preformulación en la levofloxacin

Método de transferencia por HPLC

Metodología Experimental

40 Un método de HPLC se usó para evaluar la linealidad, exactitud y precisión del ensayo de la levofloxacin. Se usó una columna de 50 mm X 4,6, Onyx Monolítica C18 (Phenomenex) a 30 °C. La fase móvil consistió en 85 % de TFA al 0,1 % en agua y 15 % 0,1 % TFA en acetonitrilo. El régimen de flujo se ajustó a 3 mL/min. Las muestras se inyectaron en el sistema cromatográfico y el eluyente se controló a 277 nm.

45 *Resultados*

El tiempo de retención para la levofloxacin fue de aproximadamente 0,82 min. Se encontró que el ensayo fue lineal en un rango de 5 a 15 µg/mL, con un coeficiente de correlación de 1.000. La RSD (desviación estándar relativa) fue menos del 0,5 % y la precisión estuvo dentro del 98-102%.

50 Estudios de solubilidad-pH

Por titulación

55 *Metodología Experimental*

Una solución saturada de la levofloxacin en HCl 0,1 N se tituló con NaOH. Después de cada adición de la base, la solución se agitó por vórtice. Se retiró una alícuota de la solución de la muestra, se centrifugó y el sobrenadante se analizó por espectroscopia UV a 288 nm. La misma solución se tituló de nuevo con HCl.

60 *Resultados*

El perfil del pH-solubilidad de la levofloxacin se muestra en la Figura 12. Por volumetría la levofloxacin exhibió una solubilidad de 25,4 mg/mL a pH 7,3. Sin embargo, contrario a los resultados de los experimentos de agitación, la solubilidad por volumetría disminuyó por debajo de pH 6,5 lo que se puede atribuir al efecto del ión común. Dado que una solución de levofloxacin se preparó en HCl, una sal de hidrocloreuro de la levofloxacin se pudo formar en la

solución. Además la adición de iones cloruro en forma de ácido clorhídrico puede suprimir la solubilidad de la sal del hidrocloreuro.

Determinación de pKa

5

Por Volumetría

Metodología Experimental

10 Una solución de la levofloxacin (18 mg/g) se preparó en agua (18,45 mg/g). El pH inicial de la solución fue de 7,36. Esta solución se tituló con HCl 1 N. Alícuotas medidas de HCl se añadieron y se registró el pH después de cada adición. La titulación se continuó hasta el pH de 1.

15 Para determinar el pKa ácido, una solución de la levofloxacin (18,38 mg/g) se preparó en 0,1 N HCl. El pH inicial de la solución fue de 1,32. La solución se tituló con NaOH 1N. La titulación se continuó hasta un pH de 6,55.

Resultados

20 La figura 13 muestra un gráfico del pH versus volumen del titulante añadido para la titulación de la levofloxacin con HCL. Este dato se estableció en la siguiente ecuación:

$$V_t [\text{OH}^-] = K_b \cdot V_{ep} - K_b \cdot V_t$$

25

donde,

Vt = Volumen del titulante añadido

V_{ep} = volumen del titulante añadido hasta el punto de equivalencia

[OH⁻] = concentración de iones hidróxido = Kw/ [H⁺]

30

[H⁺] = concentración de iones hidronio = 10^{-pH}

Un gráfico de Vt [OH⁻] Vs Vt generó una línea recta (Figura 14). Los datos que se muestran son de la región del punto de pre-equivalencia. A partir de la pendiente se obtiene

35

pendiente: Kb= 2,09X10⁻⁸

$$pK_b = - \log K_b = 7.7$$

40

$$pK_a = 14 - pK_b = 6.3$$

45 La Figura 15 muestra un gráfico de pH versus volumen de titulante añadido para la titulación de la levofloxacin con NaOH. El pKa ácido fue difícil de calcular porque fue bastante bajo (< 2,0). Sin embargo, una aproximación áspera del pKa se puede hacer con el pH en la mitad del punto de equivalencia. Desde la representación de dpH/DV versus volumen del titulante (V_t) (Figura 16), el punto de equivalencia es en 250 µl. El pH en la mitad del punto de equivalencia (es decir, cuando V_t = 125 µl) es 1,6. Así que el pKa ácido es ~ 1,6.

Por espectroscopía UV

Metodología Experimental

50

Soluciones diluidas de la levofloxacin (0,013 mg/mL) se prepararon en varios tampones. Los tampones que se usaron fueron HCL (pH 1,2), acetato (pH 4,5), fosfato (pH 6,7,8) y borato (9,10). Las soluciones de la levofloxacin se analizaron por espectroscopía UV a 257 nm.

55

Resultados

Un gráfico del pH versus absorbancia de la solución de la levofloxacin a 257 nm se muestra en la Figura 17. Estos datos se colocaron en una ecuación de Henderson Hasselbach modificada:

60

$$\text{Abs}_{\text{observado}} = \text{Abs}_{\text{HA}} \frac{[\text{H}^+]}{K_a + [\text{H}^+]} + \text{Abs}_{\text{A}^-} \frac{[\text{H}^+]}{K_a + [\text{H}^+]}$$

65

donde,

Abs_{observado} = Absorbancia de la solución de la levofloxacin
 Abs_{HA} = Absorbancia de la solución de la levofloxacin pH 1,2 ;
 Abs_{A-} = Absorbancia de la solución de la levofloxacin a pH 7,8;
 [H⁺] = concentración de iones hidronio = 10^{-pH}
 La ecuación establecida proporciona una estimación de pKa = 5,91.

Ejemplo 11 - Complejos de Iones Metálicos de la levofloxacin.

El objetivo de este estudio fue preparar la levofloxacin de diversas formas de sales de quelatos para obtener un aumento de las propiedades de enmascaramiento del sabor, propiedades para mejorar el perfil de AUC a lo largo de los cambios en la solubilidad, disolución y/o biodisponibilidad. Estos beneficios pueden mejorar las propiedades farmacodinámicas de la levofloxacin después de la administración pulmonar usando una suspensión de nanopartículas, la inhalación de polvo seco o formulaciones líquidas simples. Estas formulaciones se pueden optimizar para crear formulaciones para mejorar el perfil AUC de la levofloxacin a partir de la solubilidad alterada o el suministro lento o quelatos de baja biodisponibilidad. Estas propiedades además, pueden incorporarse en otros antibióticos de la fluoroquinolona, que incluyen, sin limitación la gemifloxacin, la gatifloxacin, la norfloxacin, la tosufloxacin, la sarafloxacin, sitafloxacin, la prulifloxacin, y la pazufloxacin. Además están en marcha los estudios para caracterizar varios quelatos y formas de quelatos de la gemifloxacin para enmascarar el sabor, mejorar el perfil AUC, la suspensión de nanopartículas y la administración de inhalación de polvo seco.

Preparación de Complejos de Iones Metálicos-Levofloxacin

Estudios preliminares

Una mezcla de la levofloxacin y una sal de un catión administrado se solubilizó en agua desionizada y se tituló con hidróxido de sodio. La curva de titulación se comparó contra una obtenida para la levofloxacin solo para evaluar la formación del complejo de metal-levofloxacin como se describe en Physical Pharmacy (4ta Edición) por Alfred Martin (págs 261-263). Se evaluaron diferentes cationes metálicos (por ejemplo, Ca²⁺, Mg²⁺, etc.) después se evaluaron para identificar el(os) candidato(s) adecuado(s) para las evaluaciones subsiguientes. Además se evaluaron diferentes proporciones molares de cationes y de la levofloxacin.

Preparación de Complejos

Las soluciones de la levofloxacin se titularon contra las soluciones acuosas de sales metálicas seleccionadas. Las titulaciones se llevaron a cabo a un pH constante. La formación de complejos se controló por diferentes métodos, incluyendo la volumetría, espectrofluorimetría, solubilidad, etc., según procedió. El punto final de la reacción de complejación dependió del método adoptado.

Caracterización de los Complejos de Levofloxacin

Los complejos de cationes metálicos-levofloxacin se caracterizaron por estequiometría, las constantes de formación y disociación cinética usando la metodología adecuada.

Objetivos

Formular y caracterizar los complejos de la levofloxacin con los cationes metálicos (di- y trivalentes).

Evaluación de la Complejación

Las investigaciones preliminares sugieren que la levofloxacin forma complejos solubles con cationes metálicos. Como resultado, la evaluación del proceso de la complejación por precipitación no fue posible. Otros enfoques que se intentaron se describen más abajo.

Volumetría

Este enfoque se basa en la suposición de que la porción del ácido carboxílico de la levofloxacin está involucrada en la complejación con un catión metálico dado y que los resultados de la complejación resultan en la liberación de un protón de la levofloxacin. La concentración de protones liberados puede ser por lo tanto, proporcional a la extensión de la complejación (en dependencia de la constante de unión) y la estequiometría del complejo (Physical Pharmacy: 4ta Edición por Alfred Martin; págs-261-263).

Metodología Experimental

Aproximadamente 0,35 mmoles de la levofloxacin (en 16 mL de agua desionizada) se titularon con NaOH 6N en presencia y en ausencia de la sal de un catión metálico (equimolar). Las soluciones de la levofloxacin se acidificaron a los valores de pH inferiores a 2,0 con HCl 6N antes de la titulación con NaOH. Las sales de cationes metálicos usados

incluyen cloruro de calcio, cloruro de magnesio, cloruro ferroso, cloruro de zinc, sulfato de aluminio y cloruro de aluminio.

Resultados

5 Como se muestra en la Figura 18, las titulaciones realizadas en presencia de cationes de metales resultaron en un cambio positivo de las curvas de titulación en comparación con la obtenida con la levofloxacina sola, lo que sugiere que el NaOH adicional (reactivo de valoración) se requiere para obtener un pH específico de la solución en la presencia de un catión metálico. La magnitud del cambio en la curva de titulación en cualquier punto puede representar moles de protones liberados debido a la complejación y por lo tanto moles de la levofloxacina acomplejada.

El grado de la complejación (unión y/o estequiometría) parece aumentar en el orden de $Ca^+ < Mg^{2+} < Zn^{2+} = Fe^{2+} < Al^{3+}$, lo que está razonablemente en concordancia con la literatura existente.

15 Nota: Se señaló en la literatura que el cloruro de aluminio y el sulfato de aluminio tienen propiedades similares al ácido y pueden disminuir el pH de las soluciones acuosas. Consecuentemente, las curvas de titulación obtenidas con $AlCl_3$ y $Al_2(SO_4)_3$ no pueden proporcionar información concluyente sobre la complejación con la levofloxacina.

Titulación doble

20 En este enfoque la solución de la levofloxacina se tituló con una solución de un catión metálico administrado para observar una gota del pH presumiblemente debido a la liberación de protones a través de la complejación. A continuación se añadió NaOH para revertir al pH inicial de la solución de la levofloxacina (antes de la adición de la solución del catión). Esto permite determinar la fracción de la levofloxacina en la forma complejada a un pH dado.

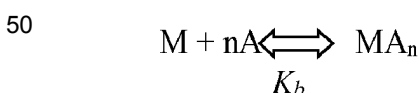
Metodología Experimental

25 Aproximadamente de 1,55 a 1,72 mmoles de la levofloxacina se solubilizaron en agua desionizada y la solución resultante se acidificó con HCl 6N al pH inicial deseado. Esta solución de la levofloxacina acidificada se tituló con un volumen conocido de solución concentrada de un catión metálico dado (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+}). El cambio en el pH se neutralizó (al pH inicial) por la adición de NaOH 6N y se registró el volumen de la solución de NaOH añadido. La adición de la solución del catión metálico seguido por la neutralización con NaOH se continuó hasta que otra adición de la solución del catión metálico falló a un cambio de pH de la solución de la levofloxacina, lo que puede indicar el punto final de la complejación. Las cantidades acumuladas del catión metálico añadido se representaron contra las cantidades acumuladas de NaOH requerido para neutralizar el cambio de pH (Figuras 42-45).

Resultados

30 A partir de las Figuras 19-22, las regiones de la meseta se extrapolaron para obtener la cantidad total de NaOH requerida para neutralizar el cambio en el pH debido a la complejación. Estos valores además representan las cantidades de la levofloxacina en la forma acomplejada (suponiendo que la complejación de la levofloxacina resulta en una liberación equimolar de protones). Las cantidades de la levofloxacina en la forma acomplejada con Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} son 0,8, 1,0, 1,3 y 1,1 mmoles, respectivamente. Estos representan el 46,5, 64,5, 77,8 y 64,5 % de los complejos de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} , respectivamente. Se debería señalar que el por ciento de complejación dependerá de las concentraciones totales de la levofloxacina.

Las constantes de unión, así como la estequiometría de la complejación para los complejos de la levofloxacina con los cationes metálicos se determinaron como sigue:



55 Donde M, A y MA_n representan el catión metálico, levofloxacina y el complejo, respectivamente. K_b puede ser la constante de equilibrio de unión. La reacción anterior supone que "n" moles de la levofloxacina reaccionan con un mol de metal para producir un mol de complejo.

60
$$K_b = [MA_n] / \{ [M][A]^n \} \text{ (Unidades } M^{-n}) \text{ ----- Ec. 1}$$

$[MA_n]$ es la concentración del complejo formado, $[M]$ y $[A]$ son las concentraciones del metal sin unir y levofloxacina sin unir, respectivamente.

Reordenamiento ecuación 1,

65

$$[MA_n]/[A]^n = K_b * [M] \text{ ----- Ec. 2}$$

$$\begin{aligned} [A] &= [A]_{\text{Total}} - [A]_{\text{unido}} = [A]_{\text{Total}} - [\text{NaOH}]_{\text{usado}} \\ [M] &= [M]_{\text{Total}} - [M]_{\text{unido}} = [M]_{\text{Total}} - [\text{NaOH}]_{\text{usado}}/n \\ [MA_n] &= [A]_{\text{unido}}/n = [\text{NaOH}]_{\text{usado}}/n \end{aligned}$$

Nota: $[\text{NaOH}]_{\text{usado}}$ es la concentración de hidróxido de sodio usada en cualquier punto dado para neutralizar el cambio en el pH causado por la adición de catión metálico (presumiblemente debido a la complejación).

La ecuación 2 se puede modificar para obtener,

$$[A]_{\text{unido}}/[A]^n = nK_b * [M] \text{ ----- Ec. 3}$$

Se infiere de la ecuación 3 que un gráfico de $[M]$ versus $[A]_{\text{unido}}/[A]^n$ resultará en una línea recta con una pendiente de nK_b cuando,

- n = 1, para un complejo de 1:1
- n = 2, para un complejo de 2:1
- n = 3, para un complejo de 3:1 etc.

Más abajo se muestran en las Figuras 23-26 los gráficos para el Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} , respectivamente.

Como se muestra en las Figuras 23-26, para cada uno de los cationes evaluados un gráfico de $[A]_{\text{unido}}/[A]^n$ versus $nK_b * [M]$ fue lineal cuando $n=2$ (para Ca^{2+} $n=2$ resultó en un mejor ajuste que $n=1$). Estos resultados sugieren que los complejos de la levofloxacinina con el Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} se forman con una estequiometría de 2 moles de fármaco por mol de catión (2:1).

Al usar $n=2$, las constantes de unión para los complejos anteriores se pueden determinar a partir de las pendientes de las respectivas representaciones lineales.

Las constantes de unión para 2:1 complejos representados como $\log(K_b)$ (K_b) son como sigue: $\text{Ca}^{2+}= 2,75$, $\text{Mg}^{2+}= 3,69$, $\text{Zn}^{2+}= 4,44$, $\text{Fe}^{2+}= 4,54$.

Solubilidad

Este método permite una forma relativamente sencilla determinar la estequiometría de la complejación. El enfoque implicó la evaluación de la solubilidad del fármaco (levofloxacinina) en presencia de concentraciones crecientes de agentes de complejación (un catión metálico administrado). La solubilidad total del fármaco (acomplejado + sin complejar) se esperó que aumentara linealmente debido a la complejación y para alcanzar la meseta correspondiente a la saturación de la solubilidad tanto del fármaco como el complejo. La determinación de la estequiometría de una curva de solubilidad de este tipo se explica en detalle en otra parte (Physical Pharmacy: 4ta edición por Alfred Martin; págs 265).

Metodología Experimental

Las cantidades excesivas de la levofloxacinina (las cantidades se registraron) se agitaron, en presencia de concentraciones crecientes de MgCl_2 , con 25 mM de tampón MES (pH 5,99) usando un mezclador de vórtice. Las muestras se filtraron después y el filtrado se diluyó apropiadamente y se analizó espectrofotométricamente para determinar las concentraciones de la levofloxacinina (Figura 27).

Resultados

Como se muestra en la Figura 27, la solubilidad de la levofloxacinina se incrementó con el aumento de las concentraciones de MgCl_2 . Sin embargo, más allá de la solubilidad de la meseta (~ 650mM de la levofloxacinina), se observó un aumento adicional en la solubilidad, que no es consistente con el perfil esperado. Esto se atribuyó al efecto de la fuerza iónica sobre la solubilidad de la levofloxacinina. Es importante tener en cuenta que el pH final de todas las soluciones fueron constantes, aunque mayor que 5,99 (final pH -7,0).

Posteriormente, el experimento se repitió a una fuerza iónica constante de ~1,0M (ajustado con NaCl) y con tampón de MES 0,5 (pH 5,99) para aumentar la capacidad tampón de la solución (Figura 28).

Espectrofluorimetría

Este enfoque se adoptó para evaluar la complejación de la levofloxacinina basado en la evidencia de la literatura existente

que el proceso de complejación se asocia con un cambio en las propiedades de fluorescencia de la fluoroquinolona. Al monitorear el cambio en la emisión de la fluorescencia de la levofloxacin en presencia de diferentes concentraciones de un catión metálico administrado fue posible determinar la constante de unión de la complejación, así como la estequiometría.

5

Metodología Experimental

La emisión de fluorescencia de la levofloxacin se evaluó en longitudes de onda de excitación y de emisión de 298 nm y 498 nm, respectivamente. Se realizaron estudios a dos valores diferentes de pH, es decir 5,0 (acetato) y 9,0 (histidina). Una serie de soluciones que contienen una concentración de la levofloxacin constante, pero concentraciones crecientes de un catión dado se analizaron para la emisión de fluorescencia debido a la levofloxacin. Sales metálicas estudiadas incluyeron CaCl₂, MgCl₂, FeCl₂, ZnCl₂ y Al₂(SO₄)₃.

10

Resultados

15

Como se muestra en la Tabla 34, se obtuvieron datos significativos sólo para el Fe²⁺ y Zn²⁺. Para los cationes restantes, las concentraciones relativas de la levofloxacin y el catión necesitan ser además optimizados para observar una tendencia específica en el cambio en la fluorescencia de la levofloxacin.

20

La influencia de concentraciones crecientes de Fe²⁺ y Zn²⁺ sobre la emisión de fluorescencia de la levofloxacin se muestra en las Figuras 29 y 30, respectivas.

25

Como se describió anteriormente, tanto Fe²⁺ como Zn²⁺ parecen formar complejos 2:1 con la levofloxacin; sin embargo, su influencia en la fluorescencia de la levofloxacin son diferentes (Figuras 29 y 30). La razón exacta de esto no está claro en este punto.

Tabla 34. Características de la Fluorescencia de la levofloxacin en presencia de cationes.

30

Cation	Fluorescencia de la levofloxacin		Resultados	Comentarios
	pH 5,0	pH 9,0		
Ca ²⁺	Cambios no significativos	Cambios no significativos	N/A	-
Mg ²⁺	Cambios no significativos	Cambios no significativos	N/A	-
Fe ²⁺	Disminución de la emisión con el aumento de Fe ²⁺	N/A	Figura 3.12 (pH 5,0)	FeCl ₂ insoluble a pH 9,0
Zn ²⁺	Cambios no significativos	Aumento de la emisión con el aumento de Zn ²⁺	Figura 3.13 (pH 9,0)	-
Al ³⁺	Cambios no significativos	N/A	N/A	Al ₂ (SO ₄) ₃ insoluble a pH 9,0

50

Muestras de complejos de la Levofloxacin

Siete muestras de complejos de la levofloxacin se evaluaron *in vivo* para la eficacia y la farmacocinética. Los detalles de las muestras probadas se muestran en la Tabla 35 más abajo.

55

60

65

Tabla 35. Proporciones Molares de los Complejos de la levofloxacin.

Identificador de la muestra	Catión	Relación molar usada	Levofloxacin total (mg/mL)	pH final de la solución
NB-049-001-06-066A	Mg ²⁺	1:1	40,2	6,24
NB-049-001-06-066B	Fe ²⁺	1:1	40,1	6,30
NB-049-001-06-066C	Mg ²⁺	1:1	202	5,98
NB-049-001-06-081A	Ca ²⁺	1:1	40,1	6,53
NB-049-001-06-081B	Ca ²⁺	1:1	201	6,04
NB-049-001-06-081C	Zn ²⁺	1:1	40	6,33
NB-049-001-06-081D	Zn ²⁺	1:1	200	5,69

Conclusiones y Próximas Etapas

Los resultados obtenidos de nuestros estudios de doble titulación sugieren que la levofloxacin forma complejos 2:1 con todos los cationes metálicos divalentes. Las constantes de unión ($\log K_b$) para la complejación con Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺ y Zn²⁺ son 2,75, 3,69, 4,44 y 4,54, respectivamente.

Ejemplo de Referencia 12 – Formulaciones de la levofloxacin y gemifloxacin con ácidos orgánicos.

Metodología Experimental

La solución de la levofloxacin se preparó disolviendo ya sea 50 o 100 mg de la levofloxacin a base de agua en 15-20 mL. El pH inicial de la solución de la levofloxacin en agua fue de aproximadamente 7,3. El pH de la solución se ajustó con aproximadamente 10 % de solución de ácido preparada en agua. Los siguientes ácidos se usaron para ajustar el pH de la solución de la levofloxacin: ácido acético, ácido ascórbico, ácido cítrico, láctico, tartárico y propiónico. Después de aumentar el volumen de la solución a aproximadamente 90 % del volumen final, la osmolalidad de la solución se midió y se ajustó a 300 mOsm/kg con aproximadamente 20 % solución de cloruro sódico preparada en agua. Después de ajustarse el pH y la osmolalidad el volumen de la solución se hizo hasta aproximadamente 25 mL con agua y se midió su tensión superficial. El pH y la osmolalidad se midieron después de aumentar el volumen y se enumeran en la Tabla 36. (Las cantidades exactas de la levofloxacin pesada, el ácido requerido para ajustar el pH, el cloruro sódico para ajustar la osmolalidad y el volumen final de las soluciones se enumeran en la Tabla 36). El contenido de la levofloxacin en las soluciones se determinó mediante HPLC.

Resultados

Los detalles acerca de las formulaciones de la levofloxacin con ácidos orgánicos, se muestran en la Tabla 36. Los resultados de HPLC se muestran en la Tabla 37.

Cuando se usó el ácido tartárico para ajustar el pH de la solución de la levofloxacin 100 mg/mL, se formó un precipitado.

Nota: Las soluciones con ácido acético, ácido cítrico y ácido ascórbico se prepararon nuevamente para el análisis por HPLC y por lo tanto, la concentración teórica de estas soluciones en la Tabla 36 y la Tabla 37 son diferentes.

Formulaciones de la Gemifloxacin con Bases Orgánicas

Metodología y Resultados Experimentales

Formulación de la Gemifloxacin con Ascorbato de Sodio.

Se añadieron 50,30 mg de mesilato de gemifloxacin (equivalente a 40,37 mg de gemifloxacin) a 1,5 mL de agua. La solución resultante fue nubosa. Se filtró a través de un filtro de 0,45 micras. Se obtuvieron 1,3 mL de solución después de la filtración con un pH de 4,28. El pH de esta solución se ajustó a 5,48 con 400 uL de una solución al 10 % de ascorbato de sodio preparado en agua (cantidad de base que se requiere para ajustar el pH = 0,04 g). La osmolalidad de esta solución fue de 308 mOsm/kg, por lo tanto, el cloruro de sodio no se usó para ajustar la osmolalidad. El volumen final de la solución fue de 1,7 mL. *La concentración teórica de la gemifloxacin en esta formulación puede ser de 20,59 mg/ml.

Tabla 36. Formulaciones de la Levofloxacin con Ácidos Orgánicos.

5	Peso de levo usado (g)	9,94% de ácido acético usado (ml)	ácido acético usado (g)	19,7% NaCl usado (ml)	NaCl usado (g)	Volumen final de la solución medido (ml)	Conc Levo (mg/ml)	Osmolalidad final (mOsm/kg)	pH Final	tensión superficial (mN/m)
10	1,253	1,05	0,104	0,681	0,134	25,105	49,9	312	6,48	63,2
	2,501	2,05	0,204	0,326	0,064	25,935	96,4	300	6,53	62,5
15	peso de Levo usado (g)	9,99 % ácido ascórbico usado (ml)	ácido ascórbico usado (g)	19,7% de NaCl usado (ml)	NaCl usado (g)	Vol final de la solución medido (ml)	Conc de levo (mg/ml)	Osmolalidad final (mOsm/kg)	pH final	tensión superficial (mN/m)
20	1,253	3,400	0,339	0,550	0,108	25,135	49,8	297	6,40	64,4
	2,505	7,400	0,739	0,300	0,059	25,135	99,7	298	6,47	62,5
25	Peso de Levo usado (g)	10,05 % ácido cítrico usado (ml)	ácido cítrico usado (g)	21,54 % de NaCl usado (ml)	NaCl usado (g)	Vol final de la solución medido (ml)	Conc de levo (mg/ml)	Osmolalidad final (mOsm/kg)	pH final	tensión superficial (mN/m)
30	1,251	1,25	0,126	1,005	0,216	25,12	49,8	299	6,54	61,5
	2,498	2,6	0,261	0,918	0,198	25,82	96,7	301	6,53	61,4
35	Peso de Levo usado (g)	10 % ácido láctico usado (ml)	ácido láctico usado (g)	21,54 % de NaCl usado (ml)	NaCl usado (g)	Vol final de la solución medido (ml)	Conc de levo (mg/ml)	Osmolalidad final (mOsm/kg)	pH final	tensión superficial (mN/m)
40	1,258	2,1	0,21	0,745	0,160	25,135	50,1	297	6,54	59,4
	2,497	4,2	0,42	0,392	0,084	25,605	97,5	301	6,63	57,5
45	Peso de Levo usado (g)	10 % ácido tartárico usado (ml)	ácido tartárico usado (g)	21,54% NaCl usado (ml)	NaCl usado (g)	Vol final de la solución medido (ml)	Conc de levo (mg/ml)	osmolalidad final (mOsm)	pH final	tensión superficial (mN/m)
50	1,252	1,55	0,155	0,948	0,204	25,180	49,7	298	6,51	61,5
	Peso de Levo usado (g)	9,79 % ácido propiónico usado (ml)	ácido propiónico usado(g)	21,53% NaCl usado (ml)	NaCl usado (g)	Vol final de la solución medido (ml)	Conc de levo (mg/ml)	osmolalidad final (mOsm)	pH final	tensión superficial (mN/m)
55	1,25281	1,310	0,128	0,737	0,159	25,045	50,02	298	6,50	58,1
	2,51342	2,610	0,256	0,310	0,067	25,030	100,42	297	6,57	52,0

* Concentración teórica = Cantidad teórica de gemifloxacin en la solución filtrada (en este caso 35 mg de gemifloxacin filtrada en 1,3 mL)/Volumen final de la solución (en este caso 1,7 mL).

Tabla 37. Concentraciones teóricas y reales/medidas de las formulaciones de la Levofloxacin.

Ácido	Conc teórica, (mg/mL)	Concentración medida (mg/ml) por HPLC
Ácido acético	50,05	51,45
Ácido acético	99,9	102,32
ácido cítrico	49,91	50,31
ácido cítrico	99,86	102,99
L-Ácido ascórbico	49,95	50,01
L-Ácido ascórbico	100	102,49
Ácido láctico	50,05	50,07
Ácido láctico	97,54	95,27
Ácido tartárico	49,74	51,07

Nota: Las soluciones con ácido acético, ácido cítrico y ácido ascórbico se prepararon nuevamente para el análisis por HPLC y por lo tanto, la concentración teórica de estas soluciones en la Tabla 36 y la Tabla 37 son diferentes,

Ejemplo de Referencia 13 - Inhalación Toxicológica en Ratas.

En un estudio de dosis ascendente no-GLP de levofloxacin aerosolizada en ratas Sprague-Dawley machos y hembras durante 4 días, una solución de 25 mg/mL de la levofloxacin se administró durante una hora en el primer día y una solución de 50 mg/mL de la levofloxacin se administró durante dos horas por día durante los días 2 al 4. No se observaron signos clínicos de toxicidad durante el período de tratamiento. La necropsia a las 24 horas después de la administración de la última dosis no mostró hallazgos.

En un estudio GLP de la levofloxacin en aerosol en ratas Sprague-Dawley machos y hembras, la levofloxacin en aerosol se administró diariamente con una dosis promedio de 6,92 mg/kg/día para los machos y 10,04 mg/kg/día para las hembras durante 4 días usando un dispositivo de suministro de aerosol sólo para la nariz. Las exposiciones totales fueron de 29 y 42 mg/kg para los machos y hembras, respectivamente, durante el período de estudio. Cada dosis se suministró más de 2 horas diarias. La dosis para este estudio se seleccionó sobre la base de la solubilidad máxima de la levofloxacin que puede administrarse en el dispositivo por más de 2 horas. No se observaron signos clínicos de toxicidad, y todos los animales sobrevivieron durante el período de tratamiento de 4 días. La necropsia de los animales después de la administración de la última dosis no mostró hallazgos.

En un estudio GLP en ratas Sprague-Dawley durante 28 días, los animales se aleatorizaron a 3 niveles de dosis de la levofloxacin en forma de aerosol o solución salina. Los grupos de recuperación adicionales usaron el control del vehículo y se trataron además con la dosis más alta y se observaron durante un período de recuperación de 14 días después de la última dosis. Las dosis promedio de la levofloxacin en aerosol fueron 1,49, 3,63, y 7,29 mg/kg/día para las ratas macho y 2,20, 5,35 y 11,01 mg/kg/día en ratas hembra. Las exposiciones totales durante el período de tratamiento de 28 días osciló entre 41,7 y 204,1 mg/kg para los machos y 61,6 y 308,3 mg/kg para las hembras. Cada dosis se suministró más de 2 horas diarias. No se observaron signos clínicos de toxicidad relacionados con las dosis, y todos los animales sobrevivieron durante el período de tratamiento de 28 días. La necropsia de los animales después de la administración de la última dosis mostró una hiperplasia de células escamosas de la laringe relacionada con la dosis que redujo la gravedad durante un período de recuperación de 14 días.

Reivindicaciones

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende una solución de una fluoroquinolona y un catión divalente o trivalente, en donde la fluoroquinolona es la levofloxacinina u ofloxacinina.
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en donde la solución tiene una osmolalidad mayor de 150 mOsmol/kg.
- 10 3. Un aerosol de una solución que comprende una fluoroquinolona y un catión divalente o trivalente, en donde la fluoroquinolona es la levofloxacinina u ofloxacinina.
4. La composición de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, o el aerosol de la reivindicación 3, en donde el catión divalente o trivalente es magnesio o se selecciona de uno o más de calcio, aluminio, zinc y hierro.
- 15 5. La composición de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, o el aerosol de la reivindicación 3, en donde la solución comprende cloruro de magnesio.
6. La composición de cualquiera de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, o el aerosol de la reivindicación 3, en donde el catión es un catión divalente.
- 20 7. La composición o el aerosol de la reivindicación 6, en donde el catión divalente es magnesio o calcio, en donde preferentemente el catión divalente es magnesio.
8. La composición o el aerosol de la reivindicación 6 o de la reivindicación 7, en donde la solución de la fluoroquinolona tiene una concentración de ion permeable de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 300 mM, u opcionalmente (i) de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 200 mM, o (ii) a partir de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 150 mM.
- 25 9. La composición o el aerosol de la reivindicación 8, en donde el ion permeable es cloruro o bromuro, en donde preferentemente el ion permeable es cloruro.
- 30 10. La composición o el aerosol de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde la solución tiene una concentración de levofloxacinina u ofloxacinina mayor que aproximadamente 10 mg/mL, preferentemente mayor que aproximadamente 25 mg/mL, con mayor preferencia mayor que aproximadamente 35 mg/mL, aún con mayor preferencia de aproximadamente 40 mg/mL, altamente preferido mayor que aproximadamente 50 mg/mL, y con preferencia superlativa de 100 mg/mL.
- 35 11. La composición o el aerosol de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, en donde la solución tiene una osmolalidad de aproximadamente 200 mOsmo/kg a aproximadamente 1250 mOsmol/kg, preferentemente de aproximadamente 250 mOsmol/kg a aproximadamente 1050 mOsmol/kg, con mayor preferencia desde aproximadamente 350 mOsmol/kg a aproximadamente 750 mOsmol/kg.
- 40 12. La composición o el aerosol de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, en donde la solución tiene un pH de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 6,5, con mayor preferencia de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5.
- 45 13. La composición o el aerosol de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, que comprende un edulcorante.
- 50 14. La composición o el aerosol de la reivindicación 13, en donde el edulcorante se selecciona entre el aspartamo o sucrosa, un mono- o di-sacárido, lactosa, sacarosa, dextrosa o glucosa.
- 55 15. La composición o el aerosol de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 14, que comprende otro antimicrobiano.
- 60 16. La composición o el aerosol de la reivindicación 15, en donde el otro antimicrobiano es un aminoglucósido, una polimixina, un monobactámico, un macrólido, o un cetólido, un glucopéptido o una fluoroquinolona.
17. La composición o el aerosol de la reivindicación 16, en donde el aminoglucósido es la tobramicina, la polimixina es colistina, el monobactámico es aztreonam, el glicopéptido es la vancomicina o la fluoroquinolona se selecciona del grupo que consiste en lomefloxacinina, pefloxacinina, ciprofloxacina, gatifloxacinina, gemifloxacinina, moxifloxacinina, tosufloxacinina, pazufloxacinina, rufloxacinina, feroxacinina, balofloxacinina, esparfloxacina, trovafloxacinina, enoxacinina, norfloxacina, clinafloxacinina, grepafloxacinina, sitafloxacinina, temafloxacinina, cimiazol, orbifloxacinina, sarafloxacinina, danoflaxacinina, difloxacinina, enrofloxacinina, garenoxacinina, prulifloxacinina, olamufloxacinina, DX-619, TG -873870 y DW-286.
- 65 18. La composición o el aerosol de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 17, que comprende uno o más de dornasa alfa, una formulación hipertónica, manitol, y cloruro sódico.

19. La composición o el aerosol de cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que la fluoroquinolona es la levofloxacin.
- 5 20. La composición o aerosol de la reivindicación 6, en donde la solución comprende la levofloxacin y el magnesio, tiene una concentración mayor que aproximadamente 50 mg/mL, tiene una osmolalidad de aproximadamente 350 mOsmol/kg a aproximadamente 750 mOsmol/kg, y tiene un pH de alrededor de 5,5 a aproximadamente 6,5.
- 10 21. El aerosol de la reivindicación 3, que tiene un diámetro aerodinámico medio de masa de aproximadamente 2 micras a aproximadamente 5 micras con una desviación estándar geométrica menor que o igual a aproximadamente 2,5 micras, preferentemente de aproximadamente 2,5 micrómetros a aproximadamente 4,5 micrómetros con una desviación estándar geométrica menor que o igual a aproximadamente 1,8 micras, con mayor preferencia de aproximadamente 2,8 micrómetros a aproximadamente 4,3 micrómetros con una desviación estándar geométrica menor que o igual a aproximadamente 2 micras; y en donde el catión es un catión divalente.
- 15 22. Un contenedor de uso único estéril, que comprende la composición de la reivindicación 1 o la reivindicación 2.
- 20 23. El contenedor de la reivindicación 22, que comprende de aproximadamente 1 ml a aproximadamente 5 ml de la solución.
24. El contenedor de la reivindicación 22 o 23, que comprende de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 400 mg de levofloxacin, preferentemente de aproximadamente 28 mg a aproximadamente 280 mg de levofloxacin, al menos aproximadamente 100 mg de levofloxacin, o al menos aproximadamente 400 mg de levofloxacin.
- 25 25. Un kit que comprende:
una composición farmacéutica que comprende una solución de levofloxacin u ofloxacin y un catión divalente en un contenedor estéril, en donde la levofloxacin u ofloxacin tiene una osmolalidad mayor de aproximadamente 150 mOsmol/kg, y un nebulizador adaptado para aerosolizar la solución ofloxacin o levofloxacin concentrada para su suministro a un tracto respiratorio bajo a través de la inhalación oral.
- 30 26. El kit de la reivindicación 25, en donde el nebulizador opera mediante la atomización ultrasónica, atomización hidráulica, o mediante una malla vibratoria.
- 35 27. El kit de la reivindicación 25, en donde la solución, tiene un pH de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5.
- 40 28. Uso de una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4 a 20 en la preparación de un medicamento, preferentemente un aerosol, para el tratamiento de:
(i) una infección pulmonar o fibrosis quística, preferentemente fibrosis quística; o
(ii) neumonía, una enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o sinusitis.
- 45 29. El uso de la reivindicación 28, en donde la infección pulmonar es causada por una o más de las siguientes bacterias: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas acidovorans*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophilia*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia intermedia*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus haemolyticus*, *Haemophilus parahaemolyticus*, *Haemophilus ducreyi*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Borrelia burgdorferi*, *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia*, *Francisella tularensis*, *Kingella*, y *Moraxella*, preferentemente seleccionadas de una o más de *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, y *Moraxella*.
- 50 60 30. El uso de la reivindicación 28, en donde la infección pulmonar es una neumonía.

31. El uso de la reivindicación 28, en donde la infección pulmonar es causada por una bacteria Gram-negativa anaerobia, por una bacteria gram-positiva, por una bacteria gram-positiva anaerobia, por una bacteria resistente al ácido o por una bacteria atípica.
- 5 32. El uso de la reivindicación 28 o 31, en donde la infección pulmonar es causada por una o más de las bacterias seleccionadas del grupo que consiste de *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides* grupo de homología 3452A, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides ovalus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides eggerthii*, y *Bacteroides splanchnicus*, o del grupo que consiste en *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus milleri*; *Streptococcus* (Grupo G); *Streptococcus* (Grupo C/F); *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, y *Staphylococcus saccharolyticus*, o del grupo que consiste en *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetini*, y *Clostridium botulinum*, o del grupo que consiste en *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, y *Mycobacterium leprae*, o del grupo que consiste en *Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*.
- 10 33. El uso de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, en donde la infección pulmonar es en un ser humano con fibrosis quística.
- 20 34. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 33, en donde el medicamento es un aerosol con un diámetro aerodinámico medio de masa de aproximadamente 2 micras a aproximadamente 5 micras con una desviación estándar geométrica menor que o igual a aproximadamente 2,5 micras, preferentemente de aproximadamente 2,5 micras a aproximadamente 4,5 micras con una desviación geométrica estándar de menos de o igual a aproximadamente 1,8 micras, más preferentemente de aproximadamente 2,8 micras a aproximadamente 4,3 micras con una desviación estándar geométrica menor que o igual a aproximadamente 2 micras.
- 25 35. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 34, en donde el medicamento es un aerosol producido con un nebulizador de malla vibratoria, preferentemente un nebulizador PARI E-FLOW®.
- 30 36. El uso de la reivindicación 35, en donde el nebulizador está configurado para administrar al menos aproximadamente 20 mg de levofloxacina u ofloxacina al pulmón, preferentemente al menos aproximadamente 100 mg de levofloxacina u ofloxacina al pulmón, más preferentemente al menos aproximadamente 125 mg de levofloxacina u ofloxacina al pulmón, incluso con mayor preferencia al menos aproximadamente 150 mg de levofloxacina u ofloxacina al pulmón.
- 35 37. El uso de la reivindicación 35, en donde el nebulizador está configurado para administrar el aerosol al pulmón en menos de aproximadamente 10 minutos, preferentemente en menos de aproximadamente 5 minutos, con mayor preferencia en menos de aproximadamente 3 minutos, aún con mayor preferencia en menos de aproximadamente 2 minutos.
- 40 38. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 37, en donde el aerosol es para uso alternativo con un segundo antimicrobiano inhalado, tal como un aminoglicósido, preferentemente tobramicina, una polimixina, preferentemente colistina, o un monobactámico, preferentemente aztreonam.
- 45 39. Un método para enmascarar el sabor de una fluoroquinolona seleccionada a partir de la levofloxacina u ofloxacina, que comprende los complejos de la fluoroquinolona con un catión divalente o trivalente.
- 50 40. El método de la reivindicación 39, en donde la fluoroquinolona es la levofloxacina y el catión divalente o trivalente se selecciona de uno o más de magnesio, calcio, aluminio, zinc y hierro.
41. El método de cualquiera de la reivindicación 40, en donde la fluoroquinolona y catión divalente o trivalente se combinan en una sola solución.
- 55 42. El método de cualquiera de las reivindicaciones 39 a 41, que comprende además la fabricación de un aerosol a partir de la combinación.
- 60 43. Uso de una composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 en la preparación de un aerosol para el tratamiento o prevención de una infección en un paciente con una concentración en un pulmón del paciente de al menos 32 g/mL de levofloxacina u ofloxacina, preferentemente una concentración en el pulmón de al menos 128 g/mL de levofloxacina u ofloxacina, con mayor preferencia una concentración en el pulmón de al menos 512 g/mL de levofloxacina u ofloxacina, aún con mayor preferencia una concentración en el pulmón de 800 mg/mL a 1600 mg/mL de levofloxacina u ofloxacina.

44. Uso de la reivindicación 43, en donde el aerosol comprende más de aproximadamente 50 mg/mL de levofloxacina y cloruro de magnesio, tiene un pH de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5, y una osmolalidad de aproximadamente 350 mOsmol/kg a aproximadamente 750 mOsmol/kg.

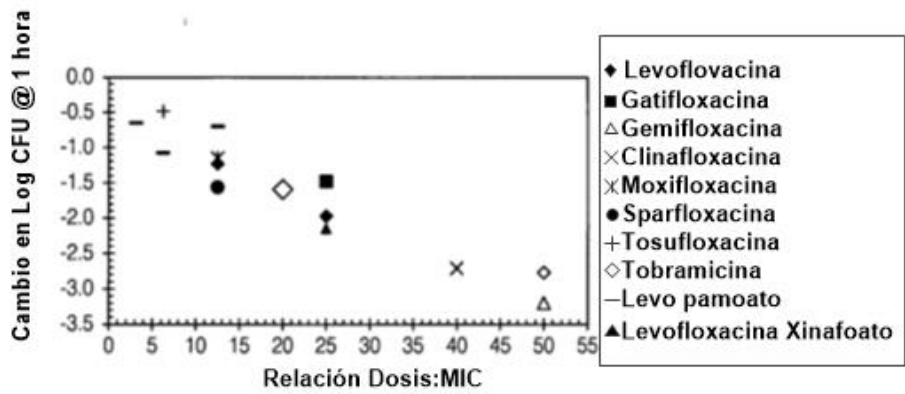


Figura 1

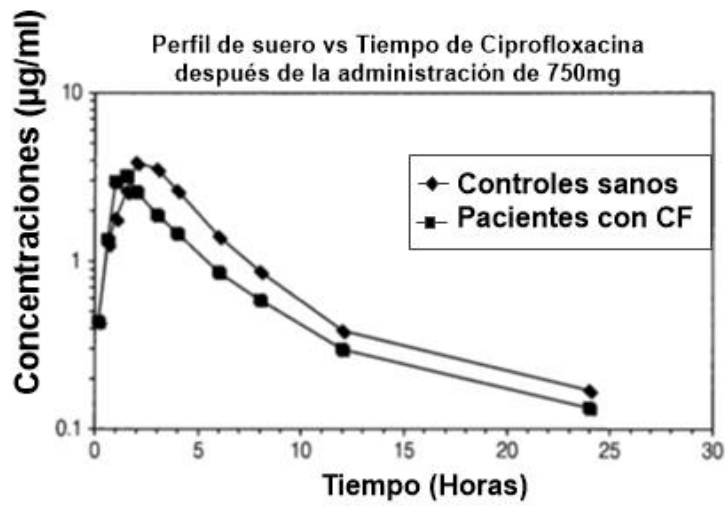


Figura 2

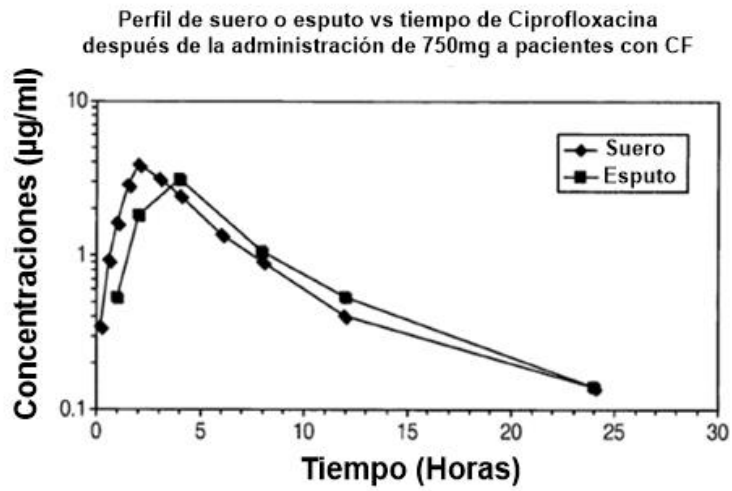


Figura 3

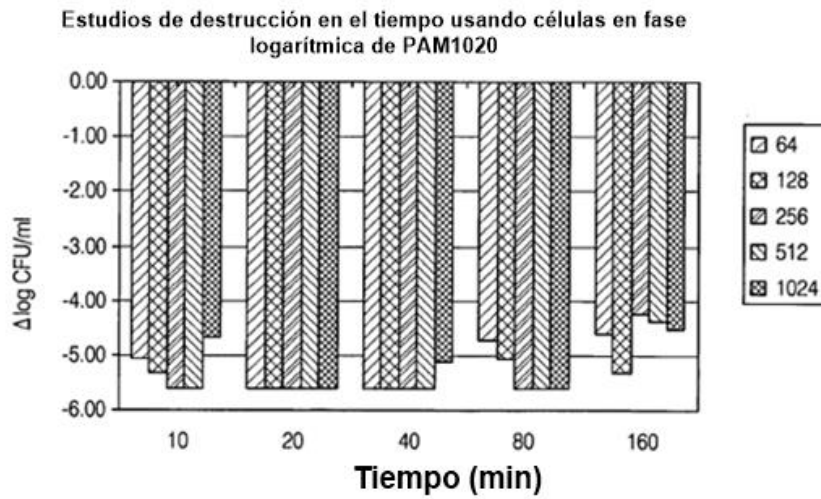


Figura 4A

Estudios de destrucción en el tiempo usando células en fase logarítmica de PAM1032

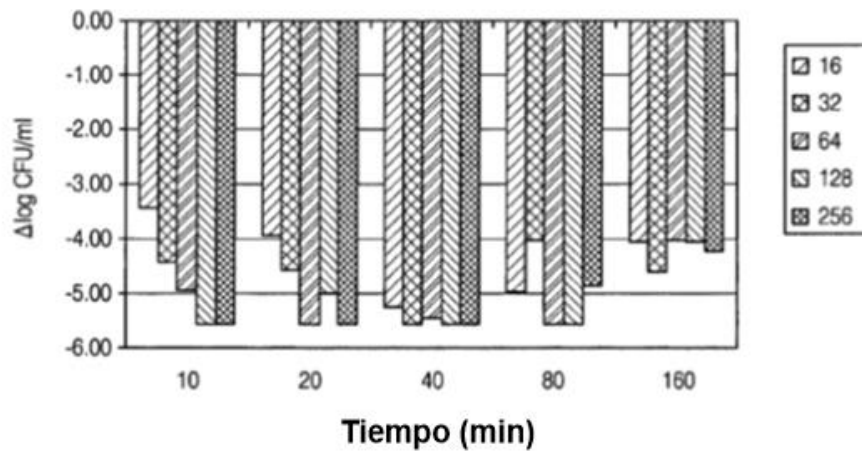


Figura 4B

Estudios de destrucción en el tiempo usando células en fase estacionaria de PAM1020

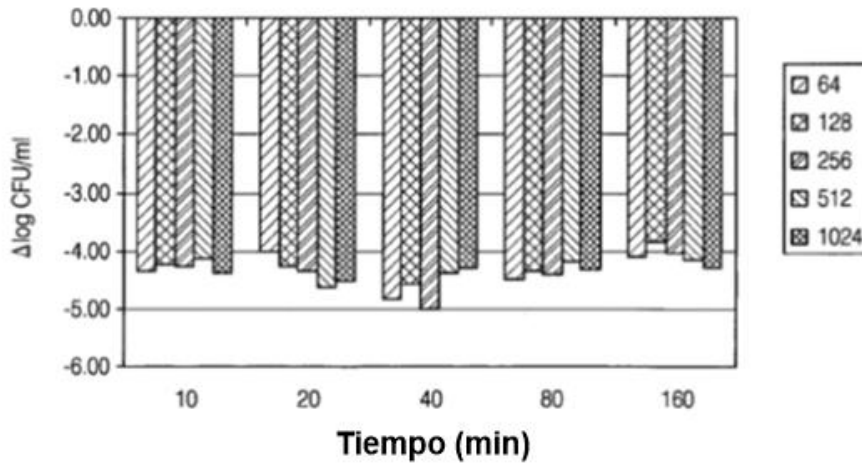


Figura 5A

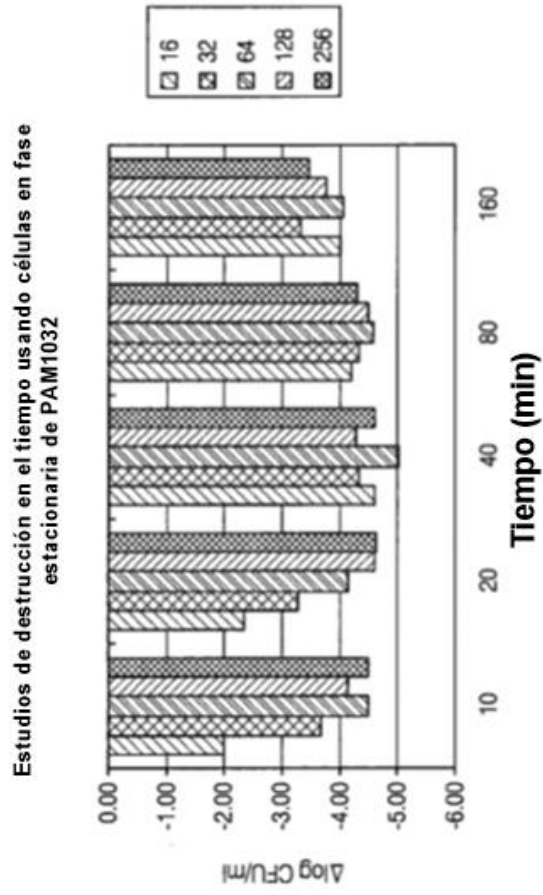


Figura 5B

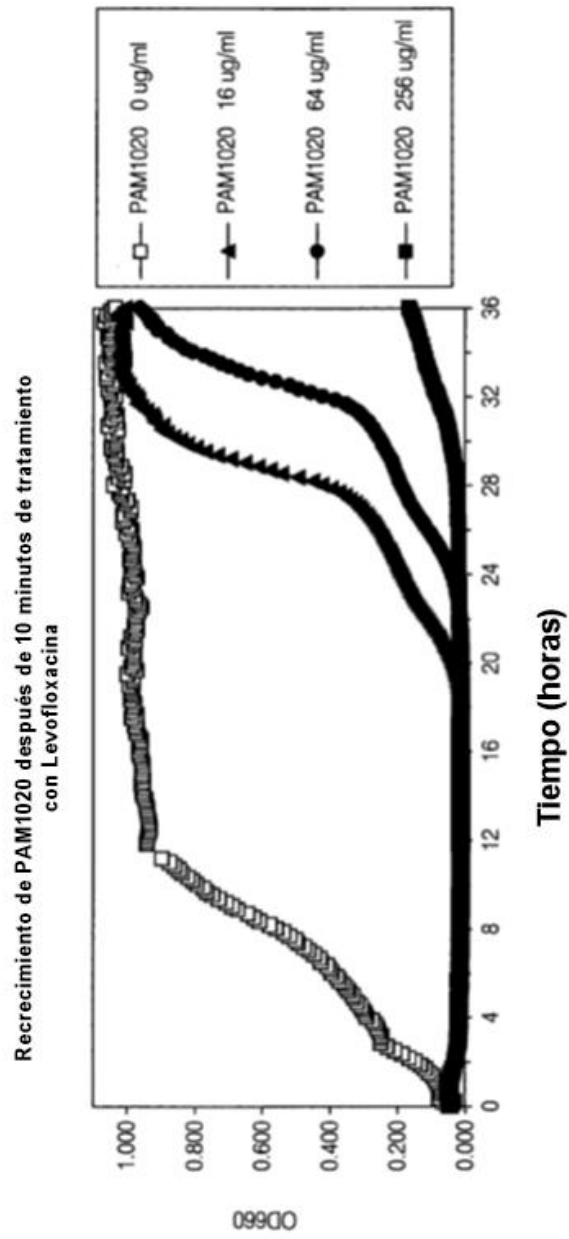


Figura 6A

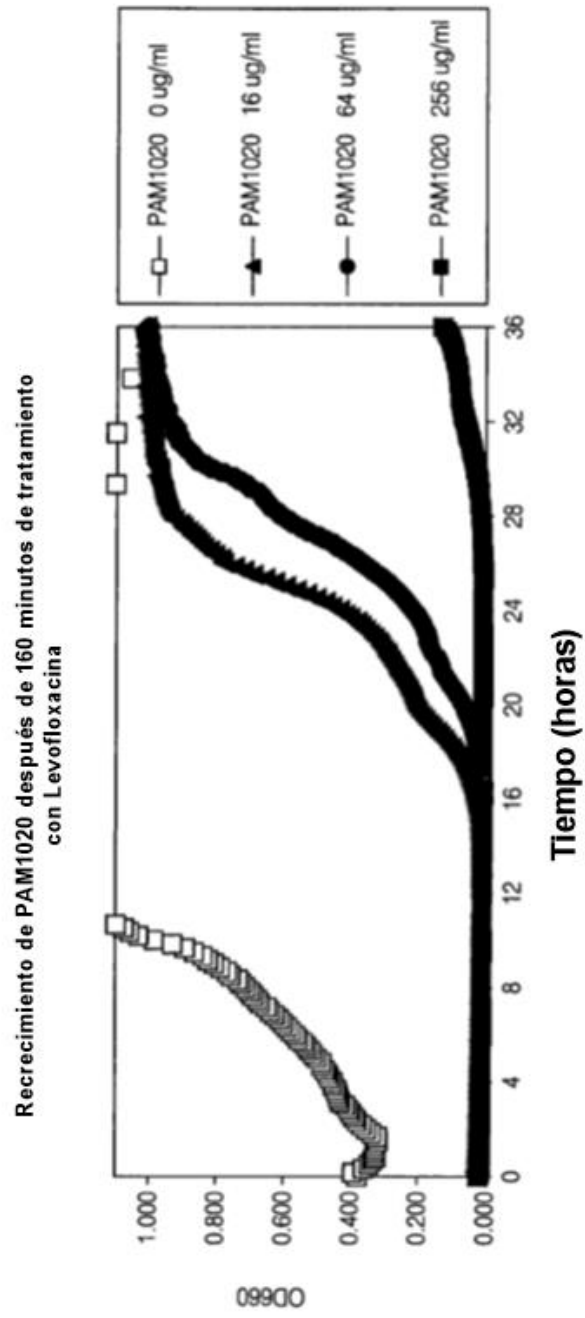


Figura 6B

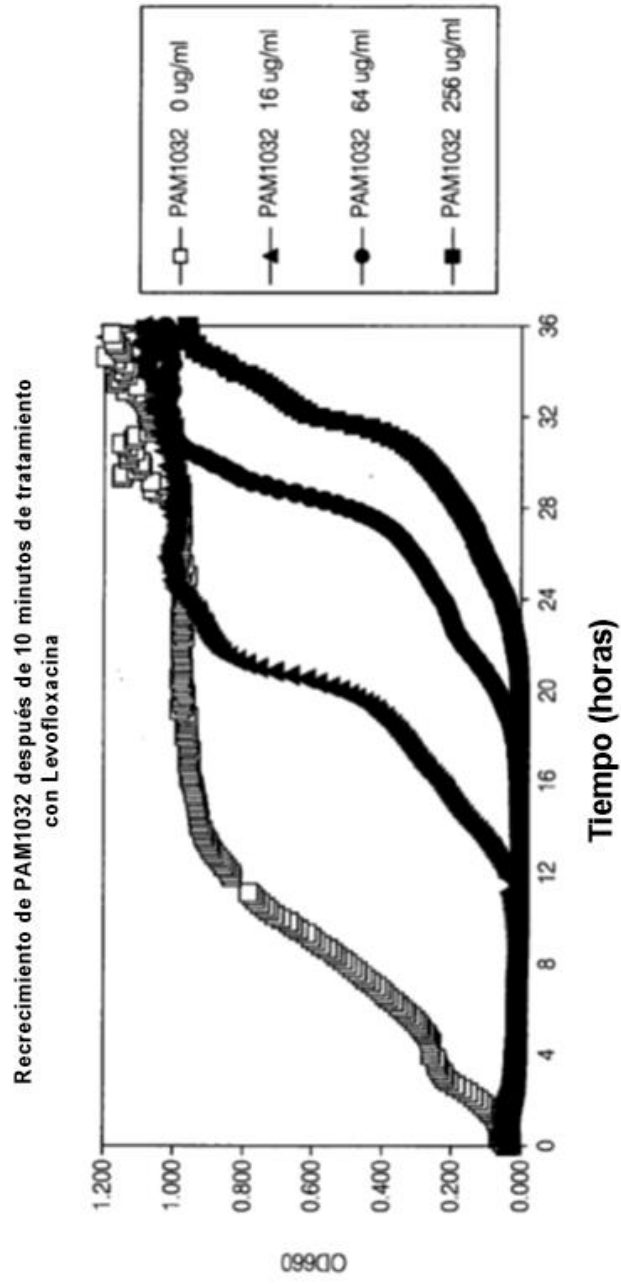


Figura 6C

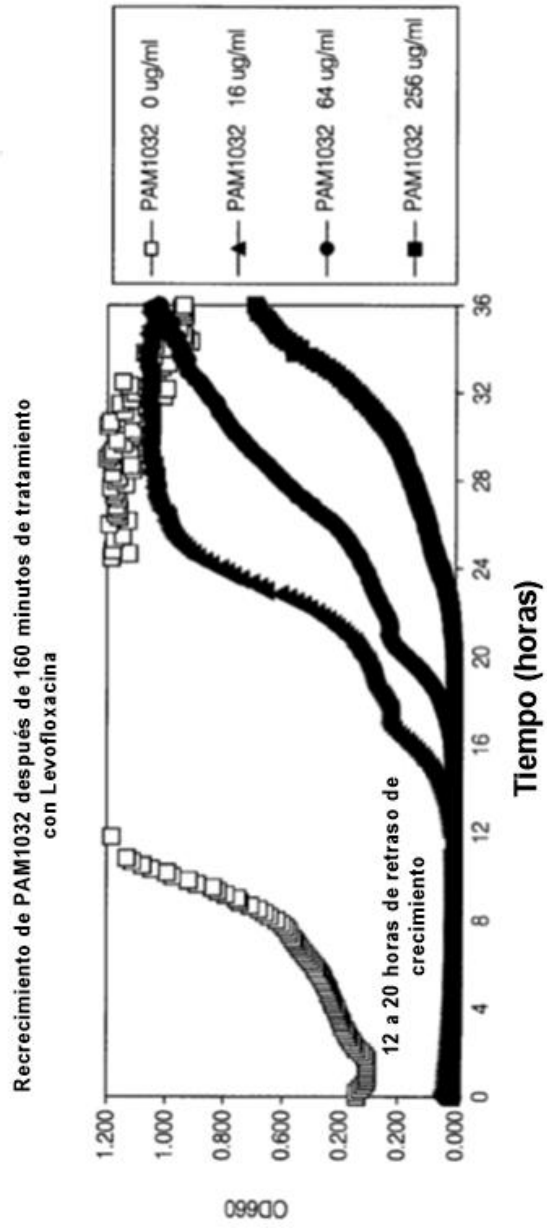


Figura 6D

Estudios de destrucción en el tiempo usando células en fase
logarítmica tardía de PAM 1020 crecidas bajo condiciones limitantes
de oxígeno.

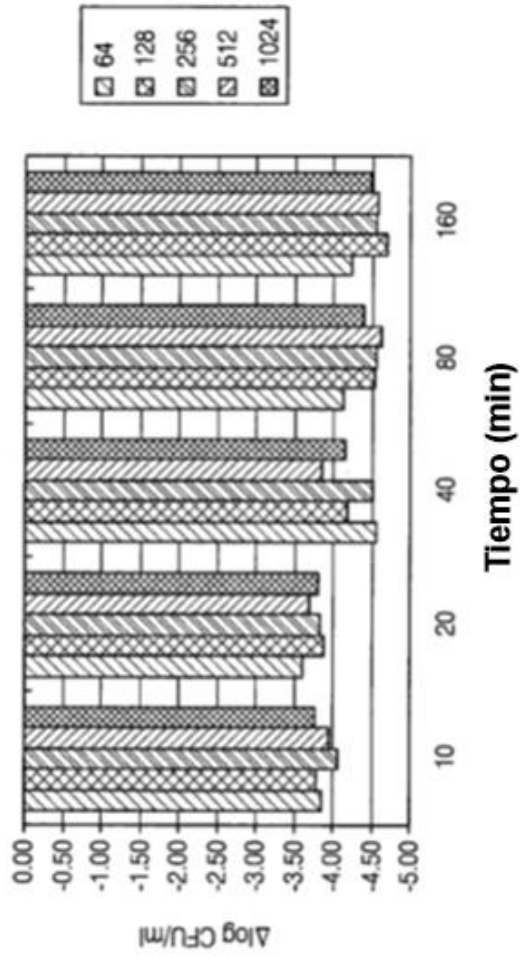


Figura 7A

Estudios de destrucción en el tiempo usando células en fase logarítmica tardía de PAM1032 crecidas bajo condiciones limitantes de oxígeno.

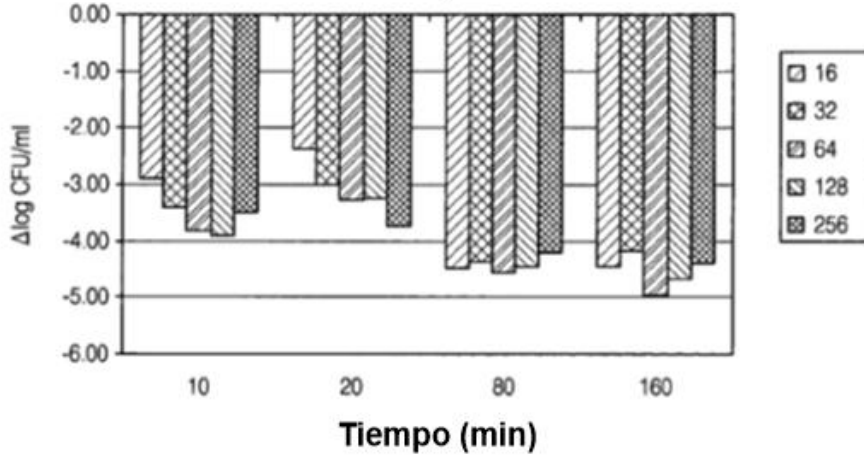


Figura 7B

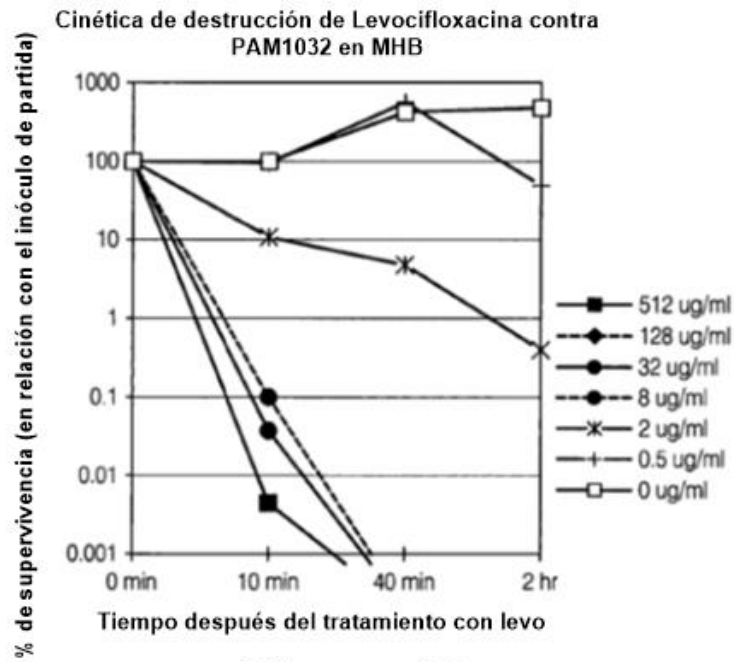


Figura 8A

Cinética de destrucción de levofloxacin contra PAM1032 en esputo

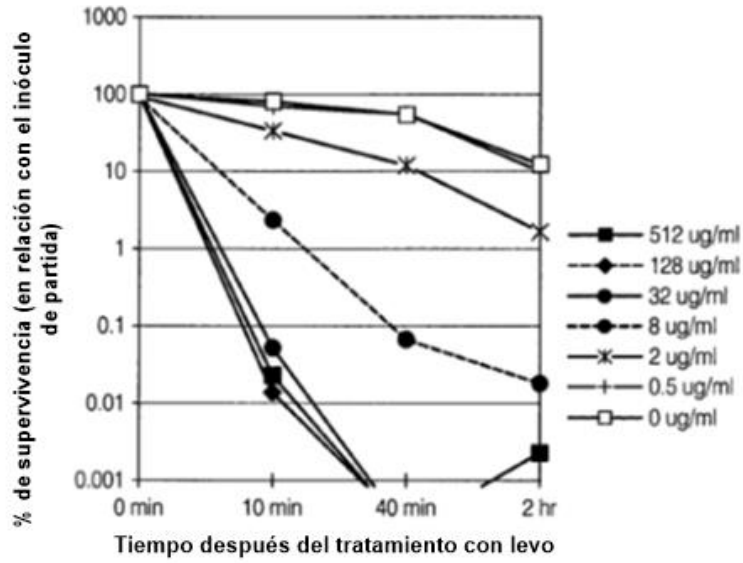


Figura 8B

Tratamiento del biofilm de PAM1032 con levofloxacin

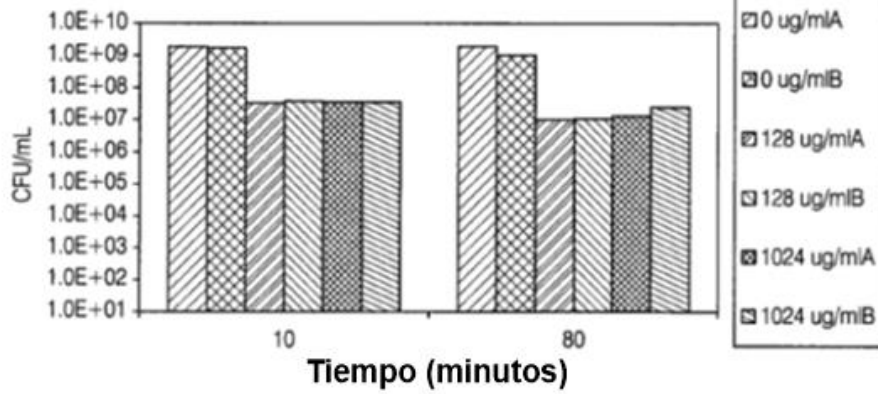


Figura 9

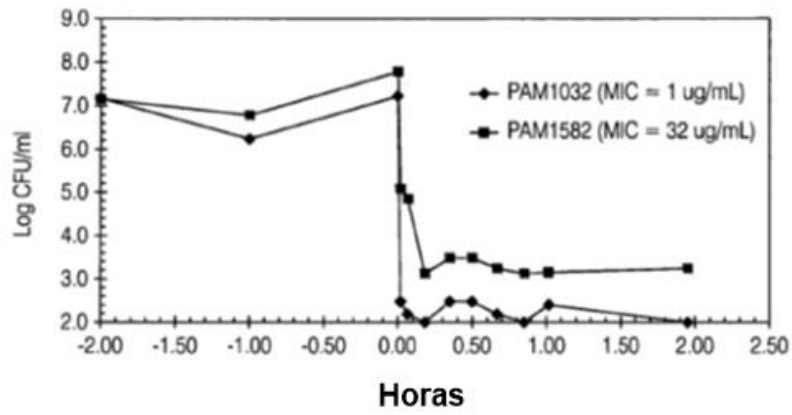


Figura 10

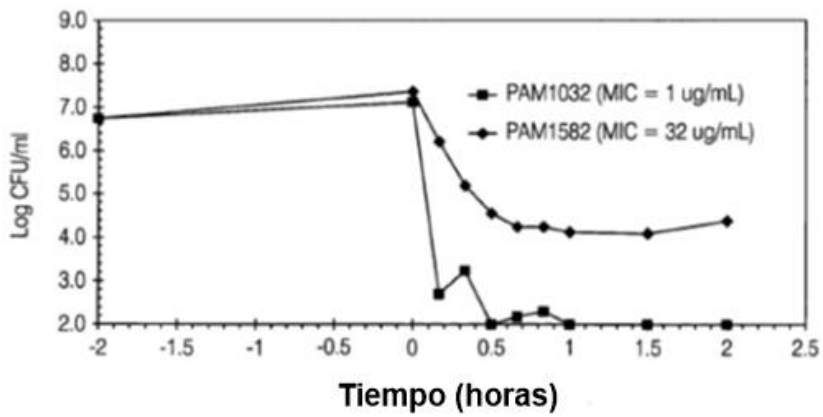


Figura 11

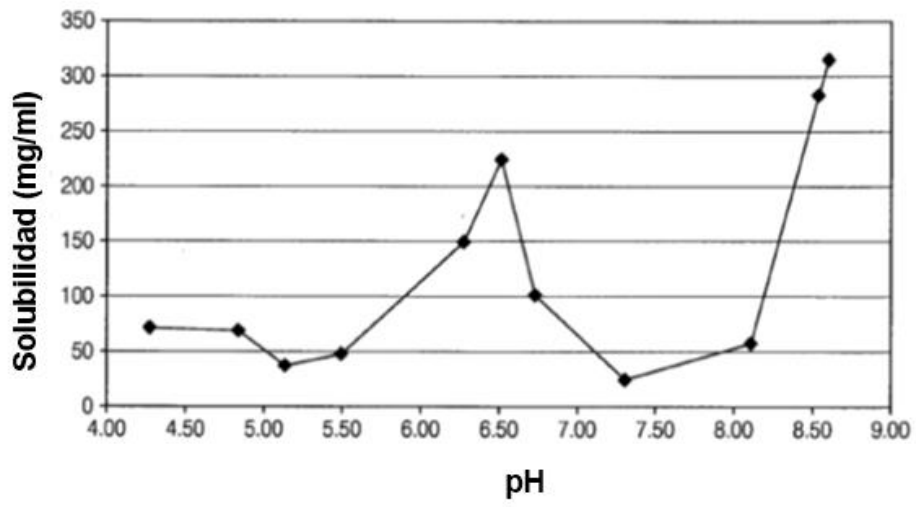


Figura 12

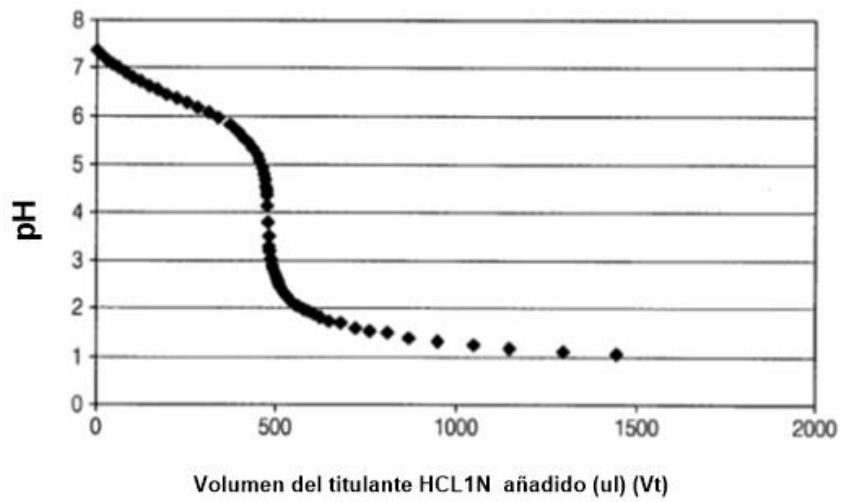


Figura 13

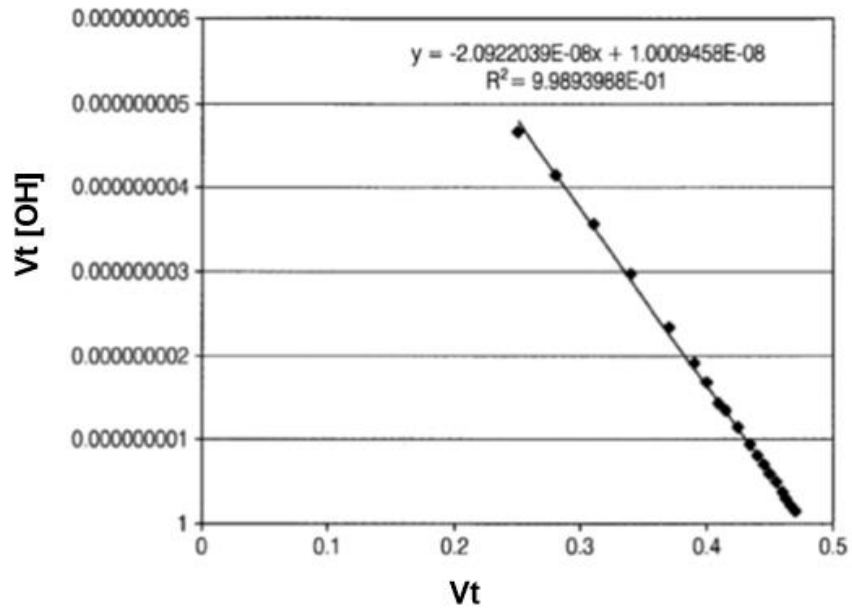


Figura 14

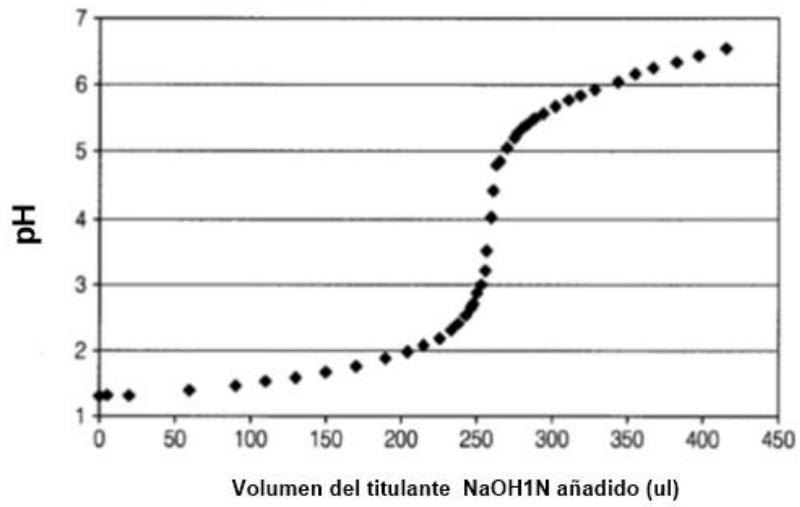


Figura 15

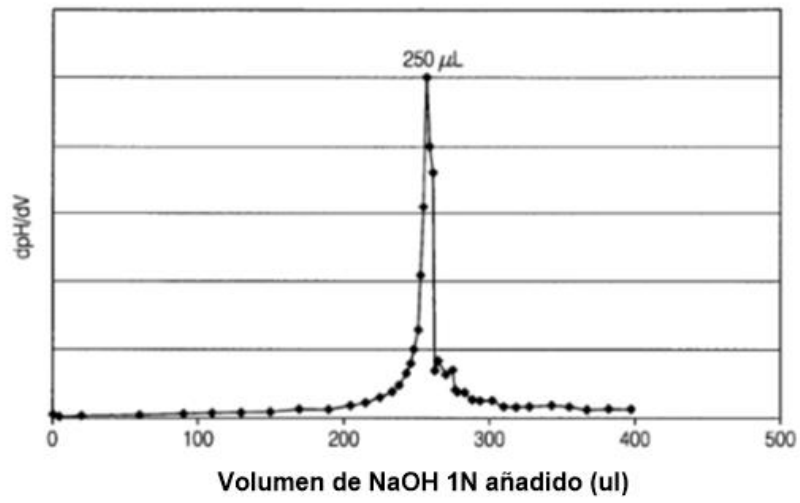


Figura 16

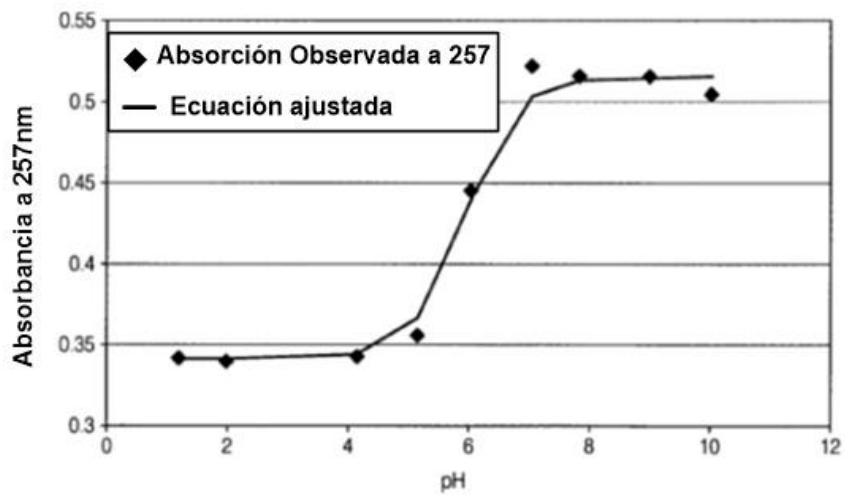


Figura 17

Complejación de levofloxacin con cationes

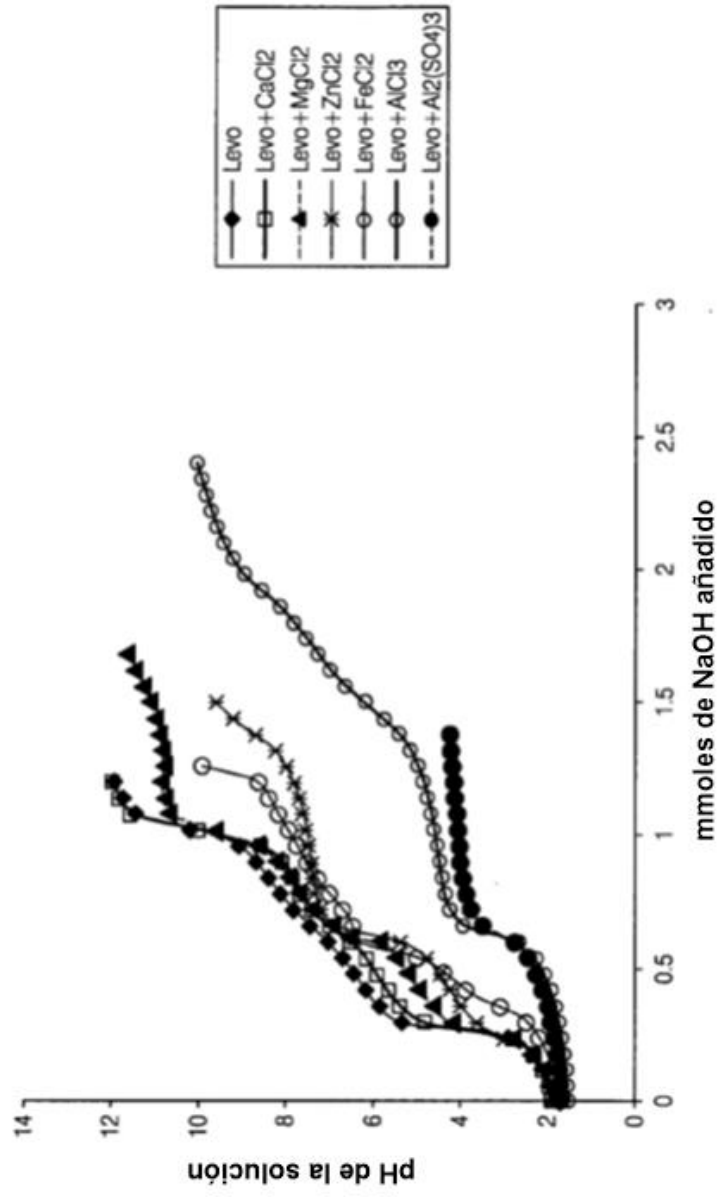


Figura 18

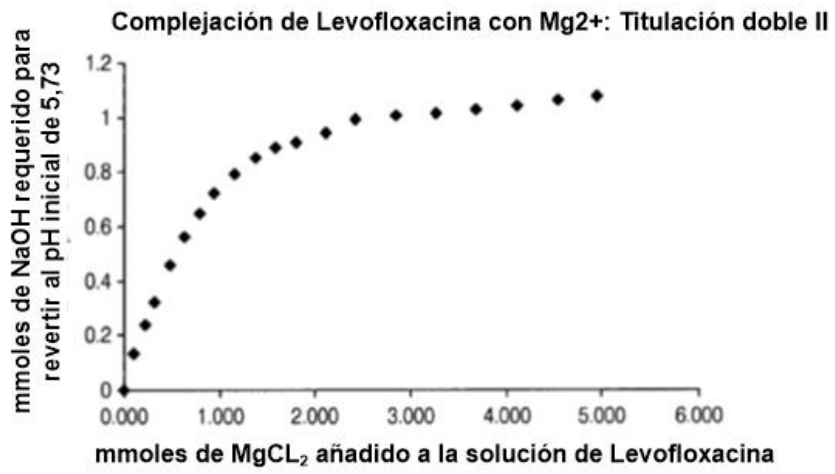


Figura 19

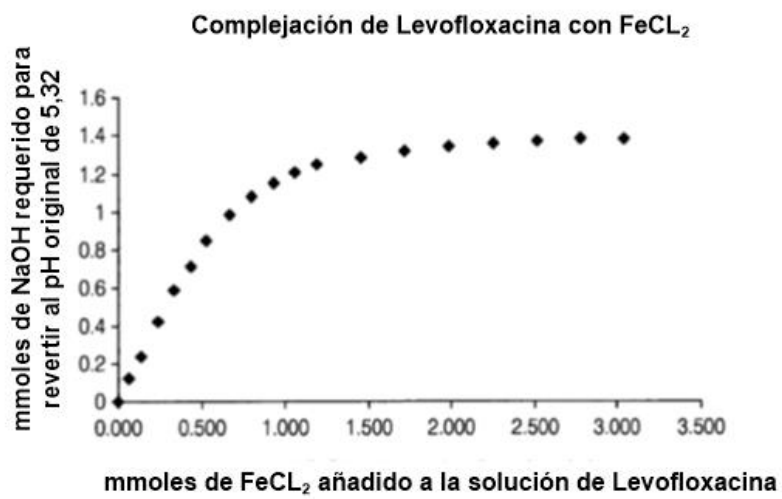


Figura 20

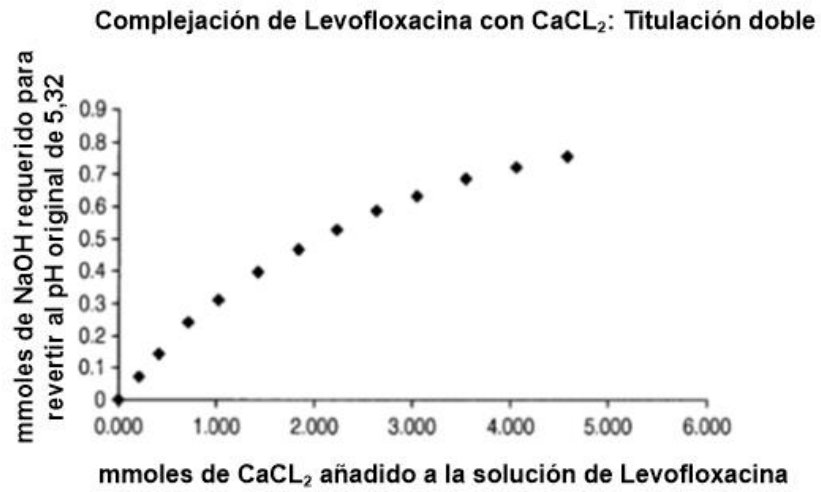


Figura 21

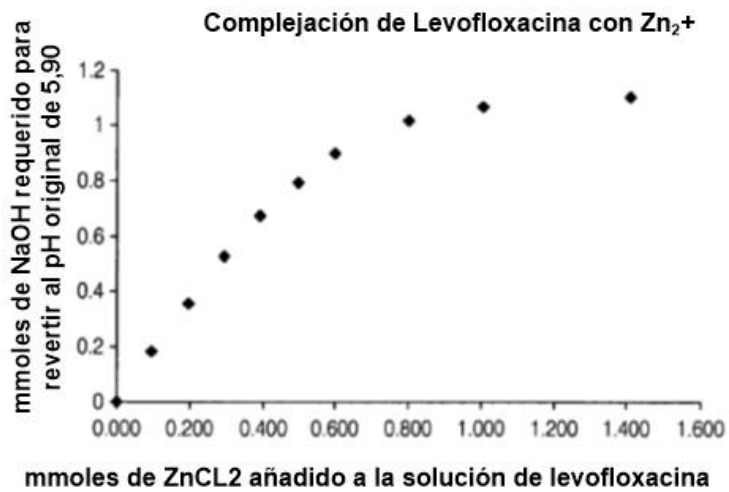


Figura 22

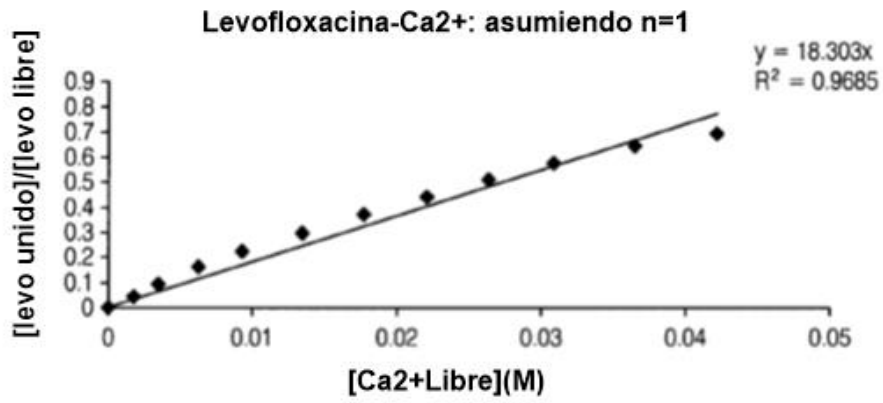


Figura 23A

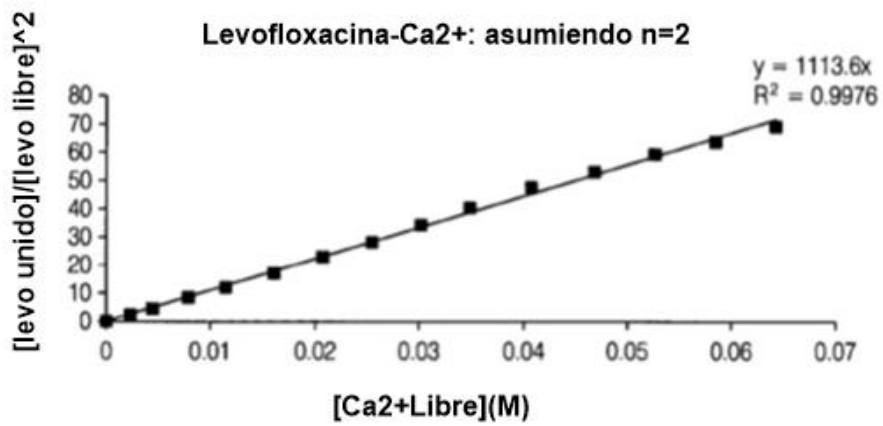


Figura 23B

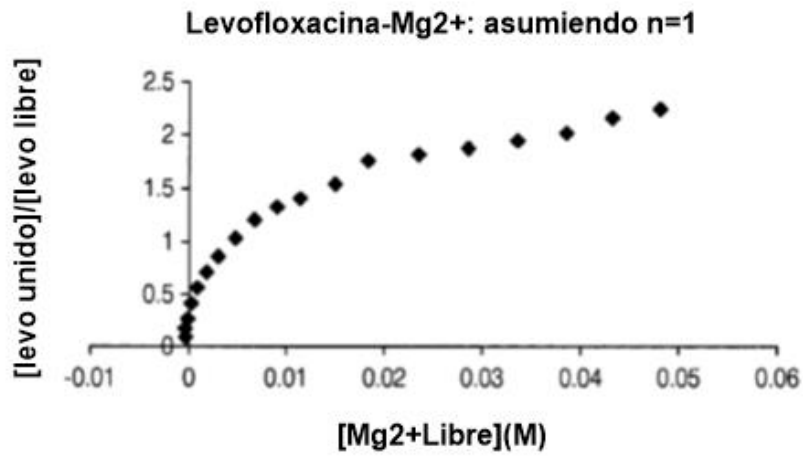


Figura 24A

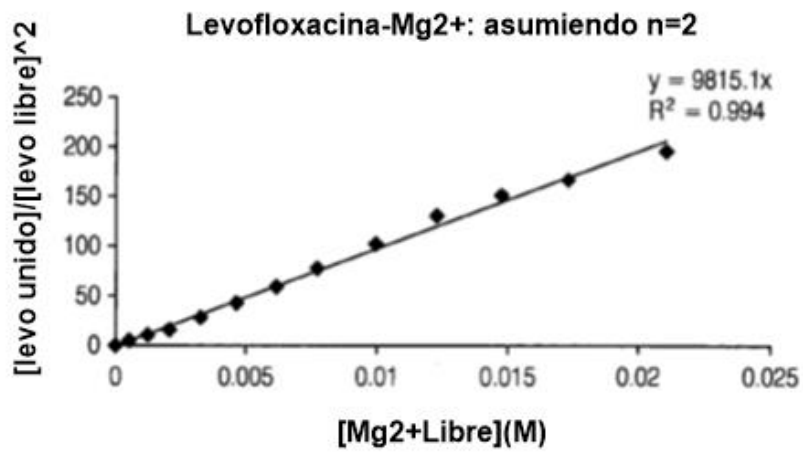


Figura 24B

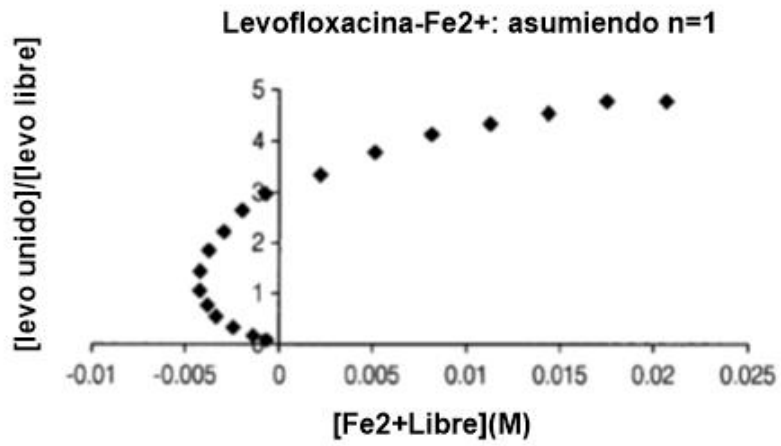


Figura 25A

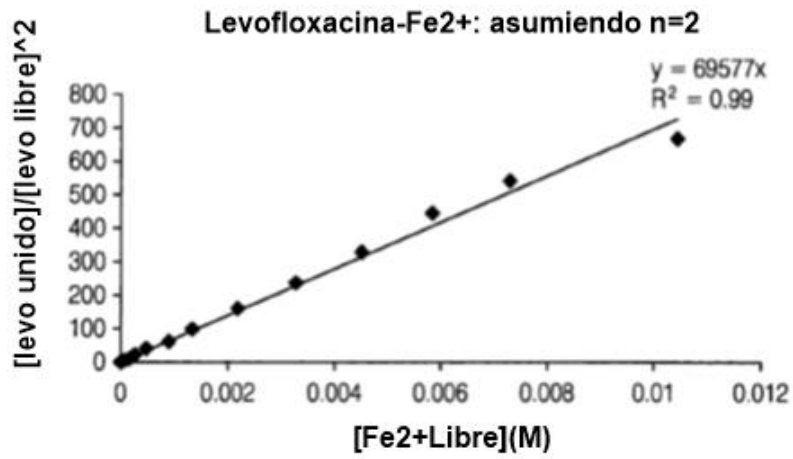


Figura 25B

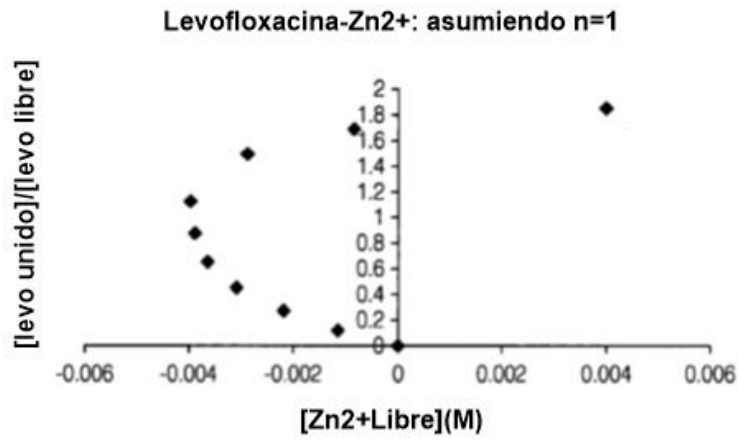


Figura 26A

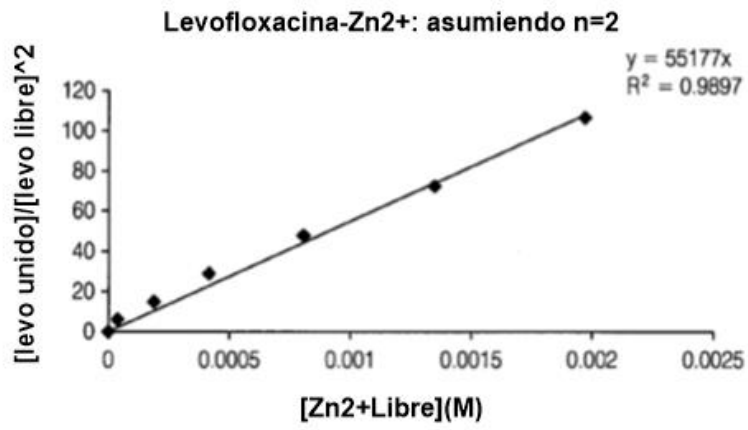


Figura 26B

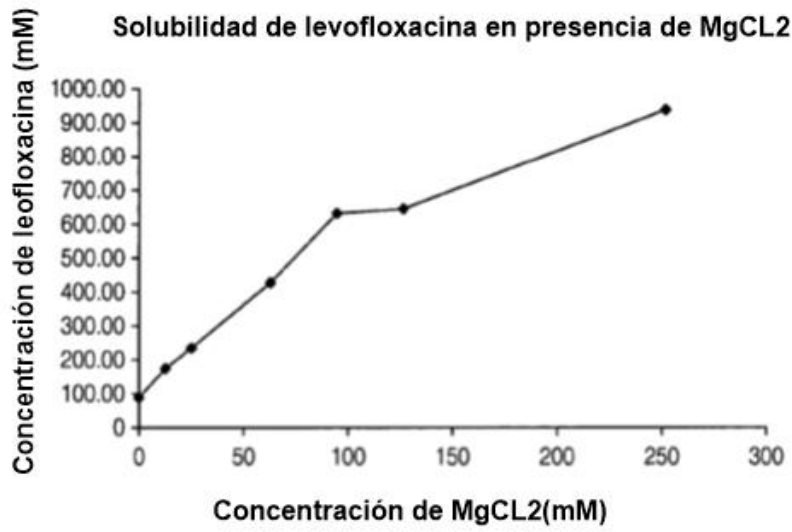


Figura 27

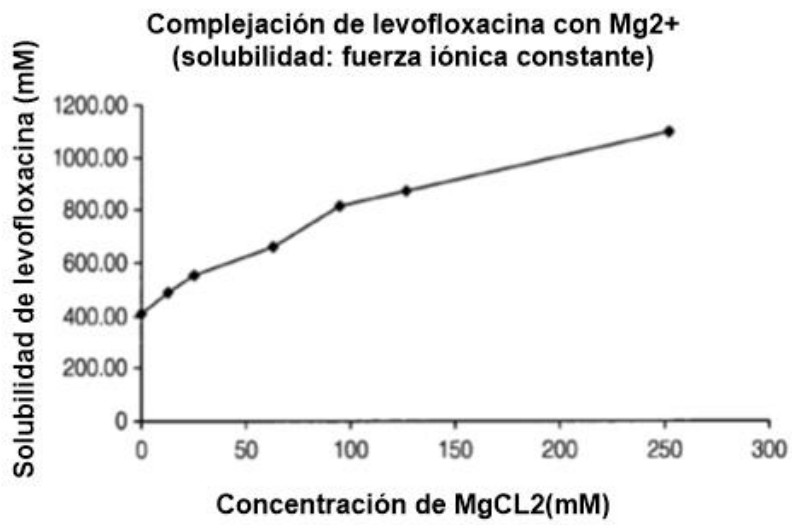


Figura 28

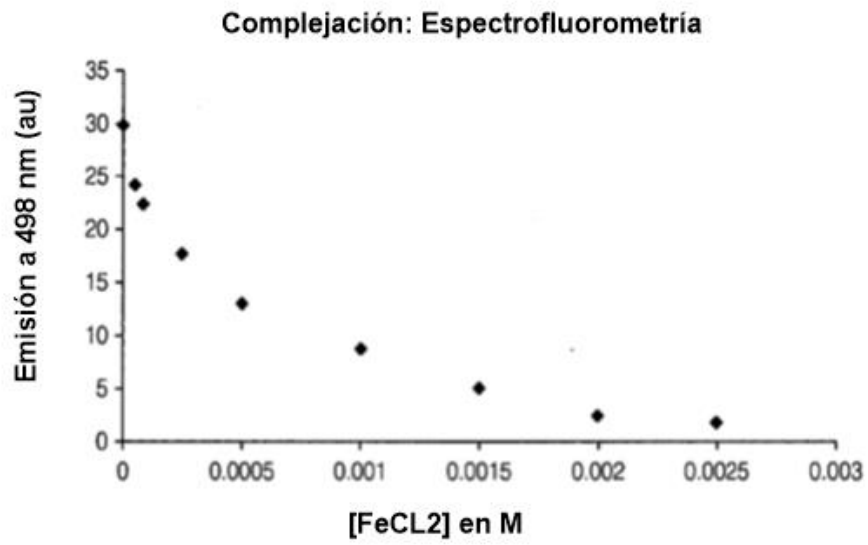


Figura 29

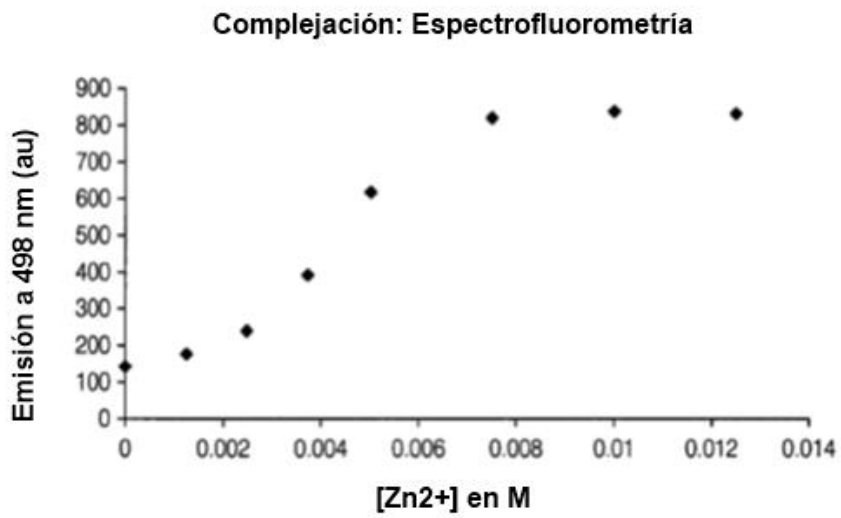


Figura 30