

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 638 987**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/12**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.06.2003 PCT/US2003/020166**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.01.2004 WO04002551**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2003 E 03742233 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017 EP 1531794**

54 Título: **Epinefrina inhalable**

30 Prioridad:

**28.06.2002 US 393007 P**  
**02.07.2002 US 393716 P**  
**08.11.2002 US 425349 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.10.2017**

73 Titular/es:

**CIVITAS THERAPEUTICS, INC. (100.0%)**  
**190 Everett Ave.**  
**Chelsea, MA 02150, US**

72 Inventor/es:

**BATYCKY, RICHARD, P.;**  
**CAPONETTI, GIOVANNI;**  
**CHILDS, MARIKO;**  
**EHRICH, ELLIOT;**  
**FU, KAREN;**  
**HRKACH, JEFFREY, S.;**  
**LI, WEN-I;**  
**LIPP, MICHAEL, M.;**  
**PAN, MEI-LING y**  
**SUMMA, JASON**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 638 987 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

Epinefrina inhalable

## 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La anafilaxia es una reacción alérgica grave y aguda que a menudo requiere tratamiento en una sala de emergencia. Pumphrey R.S.H., "Lessons for Management of Anaphylaxis from a Study of Fatal Reactions", *Clin. Exp. Allergy*, 30:1144-50 (2000). Contribuye o complica el transcurso de uno de cada 2.700 pacientes hospitalizados (Kemp S.F., et al., "Anaphylaxis. A Review of 266 Cases", *Arch. Intern. Med.*, 155:1749-54 (1995)) y, si no se trata adecuadamente y con prontitud, puede ocasionar la muerte. Debido a que el número de reacciones alérgicas en los Estados Unidos y en muchos países europeos está aumentando progresivamente, también se espera que aumente la incidencia de anafilaxia. Neugut A.I., et al., "Anaphylaxis in the United States: an Investigation into its Epidemiology", *Arch. Intern. Med.*, 161: 15-21 (2001).

15

La epinefrina, también conocida como adrenalina, es el fármaco de elección para el tratamiento inicial de la anafilaxia. Véase AAAAI Directors, "Position Statement: The Use of Epinephrine in the Treatment of Anaphylaxis", *J. Allergy Clin. Immunol.*, 94(4): 666-68 (1994). De hecho, la FDA ha reconocido que la epinefrina "no sólo es segura y eficaz, sino esencial para el tratamiento de la anafilaxia". NDA 19-430, 1985, Nicklas, Medical Officer Review. La falta de administración rápida de epinefrina se considera un hecho muy importante que contribuye a la muerte de pacientes con anafilaxia. Yunginger J.W., et al., "Fatal Food-Induced Anaphylaxis", *J. Am. Med. Assoc.*, 260:1450-52 (1988); Sampson H.A., et al., "Fatal and Near-fatal Anaphylactic Reactions to Food in Children and Adolescents", *New Engl. J. Med.*, 327:380-84 (1992).

25 A pesar del papel beneficioso de la epinefrina en el tratamiento de la anafilaxia, los problemas significativos con los métodos de administración actuales comprometen en gran medida el tratamiento. Goldberg, et al., "Insect Sting-Inflicted Systemic Reactions: Attitudes of Patients with Insect Venom Allergy Regarding After-Sting Behavior and Proper Administration of Epinephrine", *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106: 1184-89 (2000). Numerosos estudios han enfatizado problemas con las opciones de tratamiento existentes. Véase, por ejemplo, Korenblat P., et al., "A Retrospective Study of Epinephrine Administration for Anaphylaxis: How Many Doses are Needed?" *Allergy Asthma Proc.*, 20:383-86 (1999); Goldberg, *et al.* Debido a que la epinefrina no es activa por vía oral, actualmente debe administrarse por inyección, con una variabilidad sustancial existente en las concentraciones plasmáticas alcanzadas dentro y entre las modalidades de dosificación. Por ejemplo, tanto la tasa de absorción como la concentración máxima de epinefrina varían ampliamente con las inyecciones intramusculares (IM) aproximándose a menudo el coeficiente de varianza (CV) al 50 %. Simons F.E.R., et al., "Epinephrine Absorption in Children with a History of Anaphylaxis", *J. Allergy Clin. Immunol.*, 101:33-37 (1998); Gu X., et al., "Epinephrine Absorption after Different Routes of Administration in an Animal Model", *Biopharm. Drug Dispos.*, 20:401-5 (1999); Simons F.E., et al., "Epinephrine Absorption in Adults: Intramuscular versus Subcutaneous Injection", *J. Allergy Clin. Immunol.*, 108: 871-73 (2001). Con inyecciones subcutáneas (SC), el tiempo hasta la concentración máxima se retrasa con respecto a la vía IM, y se observa una variabilidad aún mayor tanto en la concentración máxima alcanzada como en el tiempo para alcanzar la concentración máxima. Simons, *et al.*, (1998); Gu, *et al.* Estos retrasos en el tratamiento y la falta de previsibilidad comprometen significativamente a los pacientes.

45 La epinefrina se ha utilizado de forma segura con un método de administración pulmonar durante años como un producto de venta libre (OTC) para el alivio temporal de la falta de aire, opresión del pecho y sibilancias debido al asma bronquial. Primatene® Mist, Physicians' Desk Reference (2000). Una forma pulmonar de epinefrina, que ya no se comercializa, era un tratamiento preferido para la anafilaxia en ciertos países europeos. Medihaler-Epi, Compendium of Data Sheets and Summaries of Product Characteristics, APBI, 693-94 (1998); Muller, et al., "Withdrawal of the Medihaler®-epi/ Adrenaline Medihaler®", *Allergy*, 53:619-20 (1998).

50

El autoinyector EpiPen® es un ejemplo de un producto actualmente aprobado en Estados Unidos para la autoadministración de epinefrina para emergencias alérgicas. Se pretende proporcionar una detención suficiente de una reacción anafiláctica para permitir al paciente un tiempo suficiente para buscar atención médica adicional apropiada. EpiPen®, Physicians' Desk Reference, 56ª ed. Montvale, Nueva Jersey, Medical Economic Company, Inc., 1236 (2002). Aunque el autoinyector EpiPen® es reconocido como beneficioso, sin embargo, tiene limitaciones ampliamente reconocidas por la comunidad médica. En primer lugar, existe una renuencia significativa entre los pacientes a autoinyectarse. Por lo tanto, a menudo esperan largos períodos de tiempo antes de administrar el EpiPen® o se abstienen de tratarse por completo. Goldberg, *et al.* Estos retrasos comprometen en gran medida su seguridad, ya que los síntomas anafilácticos generalmente alcanzan su máximo en 30 minutos. Atkinson, et al., "Anaphylaxis", *Med. Clin. North Am.*, 76(4):841-55 (1992); Kemp, *et al.*; Korenblat, *et al.* Además, para los pacientes

60

que mueren, el tiempo de muerte es del orden de 15 minutos después de un veneno y 30 minutos después de una exposición alimentaria. Véase Pumphrey. En consecuencia, las autoridades subrayan la importancia de la rápida intervención de la epinefrina para reducir la morbilidad y la mortalidad. En segundo lugar, la amplia variabilidad de las concentraciones plasmáticas generalmente conseguidas después de la inyección se ve exacerbada por los malos procedimientos de inyección del paciente, resultantes de la autoinyección en momentos inesperados e infrecuentes, en circunstancias de pánico. Goldberg, *et al.* Los problemas de fiabilidad asociados con la autoadministración de epinefrina aumentan el riesgo de que los pacientes reciban un tratamiento inadecuado dentro del tiempo requerido. R.A.Sabroe, *et al.*, "An Audit of the Use of Self-Administered Adrenaline Syringes in Patients with Angio-Oedema", *British J. of Dermatology*, 146 (4):615-20 (2002). En tercer lugar, una encuesta informó que aproximadamente el 35 % de los pacientes requirieron reinyección con un segundo EpiPen<sup>®</sup>, y el 20 % de los pacientes presentaron incluso la reacción más leve requiriendo al menos dos inyecciones. Korenblat, *et al.* Por lo tanto, dependiendo de la gravedad de los síntomas de un paciente, pueden ser necesarias múltiples inyecciones de EpiPen<sup>®</sup>. Dahlof, C., *et al.*, *Allergy*, 42: 215-21 (1987), describe la administración de adrenalina en aerosol por inhalación. El documento WO 03/080028, relevante según el Artículo 54 (3) EPC, describe partículas secas para inhalación, por ejemplo, que comprenden epinefrina. Por lo tanto, existe la necesidad de métodos y medios más fiables, no invasivos y agradables para el paciente para que los pacientes se autoadministren epinefrina.

#### RESUMEN DE LA INVENCION:

20 La presente invención está dirigida a la utilización de partículas que contienen no más del 10 % en peso de líquido, cuyas partículas comprenden:

a) epinefrina, o una sal de la misma; y

b) al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar un paciente que necesita epinefrina, donde dichas partículas se administrarán en una única etapa activada por la respiración de un inhalador de polvo seco al sistema respiratorio de un paciente como partículas que comprenden al menos 50 microgramos de epinefrina, que tiene una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm<sup>3</sup>, y que posee una fracción de partícula fina de menos de 5,6 µm de al menos el 45 por ciento.

30 Las características preferidas se exponen en las reivindicaciones dependientes en el presente documento. Las partículas se forman preferiblemente por secado por pulverización.

Las partículas y las composiciones respirables son sustancialmente secas y están sustancialmente libres de propulsores. En una realización preferida, las partículas tienen características aerodinámicas que permiten la administración dirigida de epinefrina al sitio o sitios de acción.

35

La cantidad eficaz de partículas puede poseer una fracción de partículas finas de menos de 3,4 micrómetros de al menos el 15 por ciento.

#### Breve descripción de los dibujos

40

Figura 1A, 1B y 1C. Figura 1A, datos de difracción de polvo de rayos X (XRPD) para el bitartrato de epinefrina a granel. Exploraciones a (de arriba a abajo) 200, 155, 145 y 25 °C (velocidad de calentamiento de 5 °C/min). Figura 1B, datos de XRPD para leucina a 25 °C. Figura 1C, datos de XRPD para partículas de leucina/bitartrato de epinefrina/tartrato sódico secadas por pulverización. Exploraciones a (de arriba a abajo) 200, 147, 140, 80, 52 y 25 °C (velocidad de calentamiento de 5 °C/min).

45

Figura 2. Curvas de diámetro geométrico medio en volumen (DGMV) para dos lotes separados de polvos secos de epinefrina (Formulaciones IA e IB) que muestran el DGMV en función de la presión.

Figuras 3A, 3B y 3C. Figura 3A, Cromatograma de una muestra de epinefrina con norepinefrina y 3,4-dihidroxibencilamina (patrón interno "IS"). Figura 3B, Cromatograma de una única muestra con alta concentración de epinefrina que no muestra picos adicionales de impurezas (pico entero de epinefrina). Figura 3C, Cromatograma de una sola muestra con alta concentración de epinefrina que no muestra picos adicionales de impurezas (detalle del pico de epinefrina).

50

Figuras 4A y 4B. Figura 4A, Cromatograma estándar de epinefrina del estudio farmacocinético que muestra el pico de epinefrina y el pico estándar interno. Figura 4B, Cromatograma que muestra los niveles de epinefrina en plasma de rata en diversos momentos después de la insuflación con polvo de epinefrina en polvo seco.

55

Figura 5. Niveles de epinefrina plasmática (ng/ml) después del tratamiento con placebo, insuflación pulmonar del polvo de epinefrina en polvo seco, e inyección intramuscular de epinefrina en función del tiempo en minutos.

Figura 6. Frecuencia cardíaca de rata (latidos por minuto) después del tratamiento con placebo, insuflación pulmonar de polvo de epinefrina en polvo seco e inyección intramuscular de epinefrina en función del tiempo en minutos.

60

Figura 7. Concentraciones de epinefrina en plasma sanguíneo de rata (ng/ml) en función del tiempo (en minutos)

después de la administración de insuflación intratraqueal de epinefrina en polvo seco Formulaciones VII, IX y X (Media + DE).

Figura 8. Concentraciones plasmáticas de epinefrina (pg/ml) frente al tiempo (en minutos) después de la inhalación de epinefrina en polvo seco Formulación VII o administración IM de epinefrina en perros Beagle (Media + DE).

- 5 Figura 9. Concentraciones plasmáticas de epinefrina (pg/ml) medias (DE) frente al tiempo (en minutos) después del tratamiento de epinefrina en polvo seco o inyección (es decir, IM estándar y autoinyector EpiPen<sup>®</sup>) en las dosis indicadas.

Figura 10. Concentraciones de epinefrina en plasma medias (pg/ml) en función del tiempo (en minutos) a 20 minutos después de la dosis tras la epinefrina en polvo seco o autoinyección EpiPen<sup>®</sup> (el área sombreada representa  $\pm$  DE).

- 10 Figura 11. Cambio medio de potasio desde el valor inicial (mmol/l) frente al tiempo (en minutos) después de la epinefrina en polvo seco administrada a las dosis indicadas o inyección de epinefrina (IM estándar y EpiPen<sup>®</sup> a dosis de 300 microgramos).

- Figura 12. Cambio medio de la presión arterial sistólica humana (mmHg) frente al tiempo (en minutos) tras (1) la administración de una dosis inicial de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) con una dosis posterior de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) a los 15 minutos (n = 12), (2) administración de placebo en polvo seco (n = 23), (3) una inyección subcutánea de 300 microgramos de epinefrina (n = 23) y (4) administración de EpiPen<sup>®</sup> a una dosis de 300 microgramos (n = 23).

- Figura 13. Cambio medio de la concentración de potasio en suero de sangre humana (en mmol/l) frente al tiempo (en minutos) tras (1) la administración de una dosis inicial de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) con una dosis posterior de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) a los 15 minutos (n = 12), (2) administración de placebo en polvo seco (n = 23), (3) una inyección subcutánea de 300 microgramos de epinefrina (n = 23) y (4) administración de EpiPen<sup>®</sup> a una dosis de 300 microgramos (n = 23).

- Figura 14. Cambio del placebo y el intervalo de confianza al 95 % de la presión arterial sistólica humana (en mmHg) frente al tiempo (en minutos) tras (1) la administración de una dosis inicial de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) con una dosis posterior de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) en 15 minutos, (2) una inyección subcutánea de 300 microgramos de epinefrina y (3) administración de EpiPen<sup>®</sup> a una dosis de 300 microgramos.

- Figura 15. Cambio del placebo y el intervalo de confianza al 95 % de la concentración de potasio en suero de sangre humana (en mmol/l) frente al tiempo (en minutos) tras (1) la administración de una dosis inicial de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) con una dosis posterior de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) en 15 minutos, (2) una inyección subcutánea de 300 microgramos de epinefrina y (3) administración de EpiPen<sup>®</sup> a una dosis de 300 microgramos.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 35 A continuación se describe una descripción de realizaciones preferidas de la invención.

- La presente invención se refiere al uso de partículas como se define en la reivindicación 1 para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar un paciente que necesita epinefrina, como se define en la reivindicación 40 1. Las partículas y composiciones respirables que comprenden las partículas de la presente invención descritas en el presente documento comprenden el agente bioactivo epinefrina, o una sal del mismo, como un agente terapéutico. Las partículas se forman preferiblemente por secado por pulverización. Las partículas y las composiciones respirables son sustancialmente secas y están sustancialmente libres de propulsores. En una realización preferida, las partículas tienen características aerodinámicas que permiten la administración dirigida de epinefrina al sitio o 45 sitios de acción.

- Las partículas y composiciones respirables que comprenden las partículas de la invención, ambas en lo sucesivo en el presente documento denominadas "partículas" o "polvos", son también preferiblemente biocompatibles, y opcionalmente son capaces de afectar a la velocidad de administración de la epinefrina. Además de la epinefrina, las 50 partículas pueden incluir además una variedad de excipientes farmacéuticamente aceptables. Pueden usarse materiales tanto inorgánicos como orgánicos. Los materiales adecuados pueden incluir, pero sin limitación, lípidos, fosfolípidos, ácidos grasos, sales inorgánicas, ácidos carboxílicos, aminoácidos, carbohidratos, tartrato y diversos azúcares. Las composiciones de partículas preferidas se describen adicionalmente a continuación.

- 55 La práctica de la presente invención proporciona numerosas ventajas sobre los sistemas convencionales de administración de epinefrina. El uso de la invención evita las incómodas y a menudo dolorosas inyecciones requeridas por algunas formas convencionales de epinefrina. Se espera que la disponibilidad de una forma inhalada fiable de epinefrina aumente la comodidad del paciente y reduzca los retrasos en el tratamiento, por ejemplo, proporcionando un sistema de administración de epinefrina sin aguja. Las partículas de polvo seco que contienen 60 epinefrina permitirán a los pacientes transportar un inhalador compacto y conveniente y autoadministrar de manera

fiable epinefrina de forma no invasiva.

Las concentraciones en plasma sanguíneo de epinefrina conseguidas mediante la presente invención han demostrado ser significativamente menos variables que las inyecciones corrientes, ofreciendo otra mejora importante con respecto a las terapias existentes. La disminución de la variabilidad, es decir, la mayor fiabilidad, en la concentración máxima y el tiempo hasta la concentración sistémica máxima de epinefrina ( $C_{MAX}$  y  $T_{MAX}$ , respectivamente) a través de la administración de acuerdo con la presente invención puede dar como resultado una mayor consistencia en la respuesta terapéutica y un perfil de seguridad mejorado respecto a las formulaciones de epinefrina disponibles actualmente. Además, la epinefrina administrada a través de los pulmones formulados como partículas en polvo seco ha demostrado una absorción relativamente rápida y tiempo hasta las concentraciones máximas en plasma sanguíneo, lo que debería mejorar aún más los beneficios terapéuticos de la epinefrina, por ejemplo, la capacidad de la epinefrina para detener una reacción anafiláctica de rápido avance. Las características únicas de las partículas aerodinámicamente ligeras que comprenden epinefrina, o una sal del mismo, proporcionan efectos fisiológicos mejorados tales como, por ejemplo, efecto o efectos terapéuticos aumentados o aumento de la duración del efecto o efectos terapéuticos.

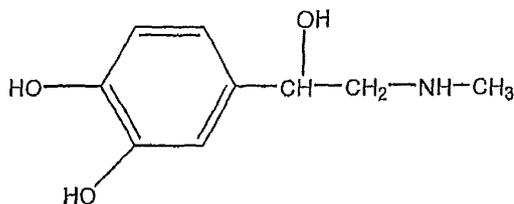
Las partículas que contienen epinefrina pueden formularse para modificar o controlar la liberación de epinefrina y/o la eliminación de epinefrina del paciente.

Por ejemplo, las partículas utilizadas en la presente invención pueden tener una eliminación rápida de epinefrina del torrente sanguíneo con respecto a las terapias convencionales de epinefrina tales como la epinefrina autoinyectada. Un perfil farmacocinético consistente que demuestra una eliminación relativamente rápida de epinefrina del torrente sanguíneo puede permitir un tratamiento más preciso y predecible de pacientes que necesitan epinefrina. Como alternativa, las partículas pueden formularse, como se describe en el presente documento, para liberación sostenida y/o acción de epinefrina. Las partículas pueden formularse tanto con un inicio rápido de la acción por la epinefrina como con una liberación y/o acción sostenida.

Las partículas respirables descritas y los métodos de su administración permiten la administración de epinefrina tanto a nivel local como sistémico. La administración de partículas que comprenden epinefrina proporciona un tratamiento bajo demanda sin el inconveniente de las inyecciones. La administración selectiva de epinefrina al sitio o sitios de acción se puede obtener en un intervalo de tiempo no disponible con formulaciones intramusculares, subcutáneas o autoinyectadas. Mediante la práctica de la invención, el alivio está disponible para pacientes sintomáticos en un período de tiempo durante el cual la epinefrina de terapias convencionales (es decir, formulaciones intramusculares, subcutáneas o autoinyectadas) seguiría viajando al sitio de acción. Las partículas utilizadas en la invención son preferiblemente aerodinámicamente ligeras, como se describe en el presente documento, y son capaces de depositarse en las vías respiratorias o en los alvéolos, o pulmón profundo, para la administración de epinefrina al torrente sanguíneo y una posterior acción sistémica. Las partículas utilizadas en la invención son también capaces de depositarse por vía local en sitios de obstrucción o congestión en el sistema respiratorio para la administración tópica de epinefrina. Por ejemplo, al depositar partículas que contienen epinefrina directamente en los pasos de las vías respiratorias y en los pulmones, las complicaciones respiratorias de la respuesta anafiláctica (por ejemplo, broncoespasmo y edema laríngeo) deben ser tratadas con mayor rapidez y eficacia. Por el contrario, la administración de epinefrina parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, subcutánea y autoinyectada) no logra este componente de administración local.

Ventajosamente, las partículas utilizadas en la invención son capaces de administrar una cantidad eficaz de epinefrina a un paciente en una única etapa activada por respiración. La dosis de epinefrina administrada en una sola inhalación puede variar entre aproximadamente 50 microgramos a varios miligramos.

Las partículas usadas en la presente invención comprenden epinefrina, también denominada en el presente documento como el "agente bioactivo", "agente terapéutico", "agente", "medicamento" o "fármaco". La epinefrina, una catecolamina, se conoce químicamente como 4-[1-hidroxi-2-(metilamino)etil]-1,2-bencenodiol y está representada por la Fórmula Estructural I:



(I).

La epinefrina utilizada en la presente invención puede obtenerse a partir de fuentes naturales, tales como, por ejemplo, a partir de las glándulas suprarrenales de animales, o puede producirse sintéticamente, tal como, por ejemplo, a partir de pirocatecol. Las partículas utilizadas en la invención pueden comprender sales de epinefrina, incluyendo, pero sin limitación, clorhidrato de epinefrina ( $C_9H_{13}NO_3 \cdot HCl$ ) o bitartrato de epinefrina ( $C_9H_{13}NO_3 \cdot C_4H_6O_6$ ). Como alternativa, las partículas pueden comprender una base libre de epinefrina ( $C_9H_{13}NO_3$ ), es decir, epinefrina que carece de sal o un contraión. Las partículas utilizadas en la invención pueden comprender también una mezcla de dos o más formas de epinefrina. Las partículas también pueden comprender uno o más derivados o análogos de epinefrina. Los derivados o análogos pueden obtenerse a partir de fuentes naturales o de vías sintéticas. Los ejemplos de derivados o análogos de epinefrina incluyen, pero sin limitación, fenil-epinefrina y norepinefrina.

La epinefrina es una molécula quiral. Las partículas pueden comprender los estereoisómeros (L) o (D) de epinefrina, o una mezcla de los mismos (por ejemplo, una mezcla ópticamente activa o una mezcla racémica). Preferiblemente, las partículas contienen epinefrina que comprende sustancialmente el isómero (L), por ejemplo, al menos el 70, 80, 90 o el 95 % de la epinefrina es el isómero (L).

La cantidad de epinefrina, o sal de la misma, presente en las partículas puede variar del 1 al 95 por ciento en peso. Como alternativa, una mezcla de formas de epinefrina está presente en las partículas a una concentración del 1 al 95 por ciento en peso. Las partículas utilizadas en la presente invención pueden comprender del 1 al 60, del 1 al 55, del 1 al 50, del 1 al 45, del 1 al 40, o preferiblemente, del 1 al 30 por ciento en peso de epinefrina, o una o más sales de la misma. Las partículas pueden comprender del 1 al 20 por ciento en peso de epinefrina, tal como del 1 al 10 por ciento en peso de epinefrina; del 1 al 15 por ciento en peso de base libre de epinefrina, por ejemplo, del 1 al 10 o el 5 por ciento en peso de base libre de epinefrina; del 1 al 25 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina, tal como del 5 al 20 o del 9 al 18 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; y/o del 1 al 20 por ciento en peso de clorhidrato de epinefrina, tal como del 5 al 15, del 10 al 15, o el 12 por ciento en peso de clorhidrato de epinefrina.

Las partículas utilizadas en la presente invención comprenden epinefrina, o una sal de la misma, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. A continuación se describen ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables. Las partículas utilizadas en la invención están esencialmente, o sustancialmente, libres de líquido, es decir, las partículas están sustancialmente secas. La expresión "sustancialmente secas", como se usa en el presente documento, se refiere a que no contienen más del 10 % en peso de líquido. Preferiblemente, las partículas no contienen más del 10 % de líquido en peso, por ejemplo, las partículas pueden contener del 1 al 8 % de líquido, del 2 al 6 % de líquido, o del 2 al 5 % de líquido (porcentajes en peso).

La expresión "sustancialmente libre de propulsor", como se usa en el presente documento, se refiere a que contiene menos del 1 por ciento en peso de propulsor o propulsores. Las partículas descritas en el presente documento están preferiblemente completamente libres de propulsores (es decir, están libres de propulsores).

En un aspecto, las partículas y composiciones respirables que comprenden las partículas usadas en la invención comprenden un fosfolípido o una combinación de fosfolípidos. Los ejemplos de fosfolípidos adecuados incluyen, entre otros, los enumerados en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 60/150.742, titulada "Modulation of Release From Dry Powder Formulations by Controlling Matrix Transition", presentada el 25 de agosto de 1999. Otros fosfolípidos adecuados incluyen fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilgliceroles, fosfatidilserinas, fosfatidilinositoles, y combinaciones de los mismos. Los ejemplos específicos de fosfolípidos incluyen, pero sin limitación, 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1-miristoil-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MSPC), 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE), 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DSPG), 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), o cualquier combinación de los mismos. Se conocen otros fosfolípidos por los expertos en la técnica. En una realización preferida, los fosfolípidos son endógenos al pulmón.

En una realización preferida, las partículas utilizadas en la presente invención comprenden el fosfolípido 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfolina (DPPC). La DPPC puede estar presente en las partículas en una concentración de al menos el 50 por ciento en peso, preferiblemente al menos el 55 por ciento en peso, o más preferiblemente del 55 al 70 por ciento en peso, por ejemplo, del 58 al 65 por ciento en peso.

5

Los fosfolípidos, o combinaciones de los mismos, pueden seleccionarse para impartir propiedades de liberación controlada a las partículas altamente dispersables. La temperatura de transición de fase de un fosfolípido específico puede estar por debajo, alrededor o por encima de la temperatura fisiológica de un paciente. Seleccionando fosfolípidos o combinaciones de fosfolípidos de acuerdo con su temperatura de transición de fase, las partículas

10 pueden adaptarse para tener propiedades controladas de liberación de epinefrina. Por ejemplo, mediante la administración de partículas que incluyen un fosfolípido o una combinación de fosfolípidos, que tienen una temperatura de transición de fase superior a la temperatura corporal del paciente, se puede ralentizar la liberación de un agente, tal como epinefrina. Por otra parte, se puede obtener una liberación rápida incluyendo en las partículas fosfolípidos que tienen temperaturas de transición inferiores.

15

Las partículas que tienen propiedades de liberación controlada y métodos de modulación de la liberación de un agente biológicamente activo se describen en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 60/150.742 titulada "Modulation of Release From Dry Powder Formulations by Controlling Matrix Transition", presentada el 25 de agosto de 1999, y en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 20010036481 (09/792.869) titulada "Modulation of

20 Release From Dry Powder Formulations", presentada el 23 de febrero de 2001.

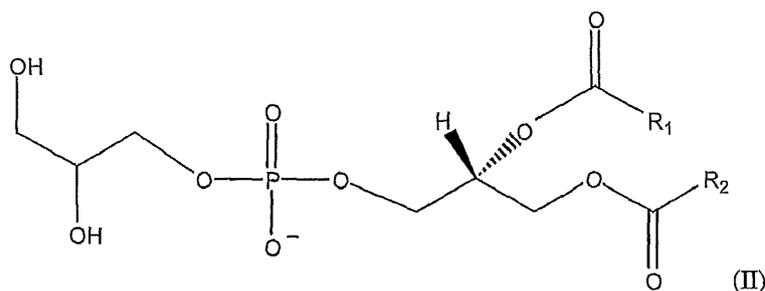
Las partículas utilizadas en la presente invención pueden comprender un fosfolípido cargado. La expresión "fosfolípido cargado", como se utiliza en el presente documento, se refiere a fosfolípidos que son capaces de poseer una carga neta total. La carga sobre el fosfolípido puede ser negativa o positiva. El fosfolípido puede elegirse para

25 tener una carga opuesta a la de la epinefrina cuando el fosfolípido y la epinefrina están asociados. Preferiblemente, el fosfolípido es endógeno al pulmón o puede ser metabolizado tras la administración a un fosfolípido endógeno de pulmón. Se pueden usar combinaciones de fosfolípidos cargados. Una combinación de fosfolípidos cargados también puede tener una carga neta total opuesta a la de la epinefrina.

30 En una realización, la asociación de epinefrina y un lípido de carga opuesta puede dar se resultado de la complejación iónica. En otra realización, la asociación de un agente terapéutico y un lípido de carga opuesta puede ser resultado de la unión de hidrógeno. En aún otra realización, la asociación de un agente terapéutico y un lípido de carga opuesta puede ser resultado de una combinación de complejación iónica y enlace de hidrógeno.

35 El fosfolípido cargado puede ser un lípido cargado negativamente tal como un 1,2-diaetil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)].

Los 1,2-diaetil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] fosfolípidos pueden representarse por la Fórmula Estructural II:



40

donde cada uno de  $R_1$  y  $R_2$  es independientemente un grupo alifático que tiene de 3 a 24 átomos de carbono, preferiblemente de 10 a 20 átomos de carbono.

45 La expresión "grupo alifático" como se utiliza en el presente documento en referencia a las Fórmulas Estructurales II-V, se refiere a hidrocarburos  $C_1$ - $C_{24}$  lineales, ramificados o cíclicos sustituidos o sin sustituir que pueden estar completamente saturados, que pueden contener uno o más heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno o azufre y/o que puede contener una o más unidades de insaturación.

50 Los sustituyentes adecuados en un grupo alifático incluyen -OH, halógeno (por ejemplo, -Br, -Cl, -I y -F), -O(alifático, sustituido), -CN, -NO<sub>2</sub>, -COOH, -NH<sub>2</sub>, -NH(grupo alifático, alifático sustituido), -N(grupo alifático, grupo alifático

sustituido)<sub>2</sub>, -COO(grupo alifático, grupo alifático sustituido), -CONH<sub>2</sub>, -CONH(alifático, grupo alifático sustituido), -SH, -S(alifático, grupo alifático sustituido) y -NH-C(=NH)-NH<sub>2</sub>. Un grupo alifático sustituido puede tener también un grupo bencilo, bencilo sustituido, arilo (por ejemplo, fenilo, naftilo o piridilo) o un grupo arilo sustituido como sustituyente. Un grupo alifático sustituido puede tener uno o más sustituyentes.

5

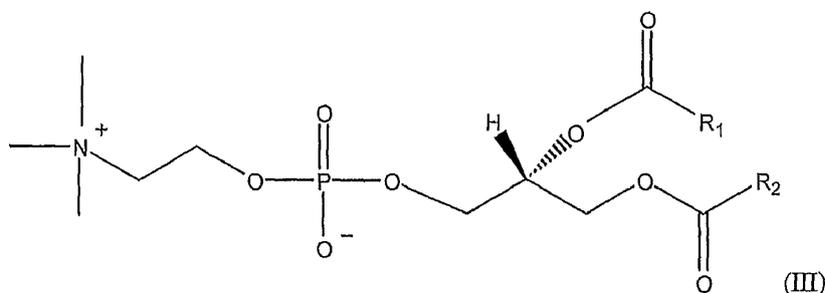
Los ejemplos específicos de este tipo de fosfolípido cargado negativamente incluyen, pero sin limitación, 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DSPG); 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DMPG); 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DPPG); 1,2-dilauroil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DLPG); y 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DOPG).

10

Las partículas utilizadas en la invención pueden comprender también fosfolípidos que son zwitteriónicos y, por lo tanto, no poseen una carga neta global. Dichos lípidos, pueden ayudar a proporcionar partículas con las características apropiadas para la inhalación. Dichos fosfolípidos adecuados para su uso en la invención incluyen, pero sin limitación, 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfocolina, 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina y 1,2-diacil-*sn*-glicero-

15 3-fosfo-[2-trialquilamonioetanol] fosfolípidos.

Los fosfolípidos de 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfocolina pueden representarse por la Fórmula Estructural III:



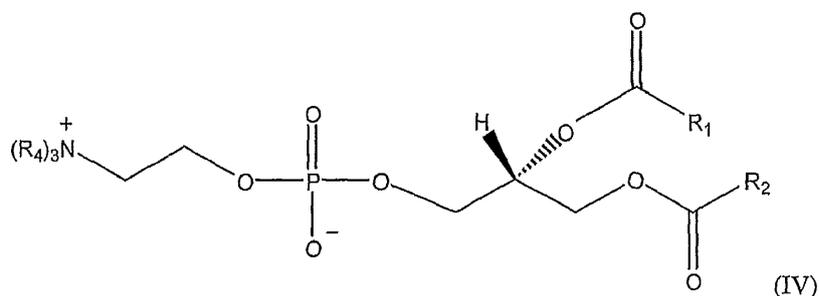
20

cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es independientemente un grupo alifático que tiene de 3 a 24 átomos de carbono, preferiblemente de 10 a 20 átomos de carbono.

Los ejemplos específicos de fosfolípidos de 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfocolina incluyen, pero sin limitación, 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC); 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC); 1,2-dilauroil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DLPC); 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DMPC); y 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DOPC).

Los fosfolípidos de 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina y 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfo-[2-trialquilamonioetanol] pueden representarse por la Fórmula Estructural IV:

30



donde cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es independientemente un grupo alifático que tiene de 3 a 24 átomos de carbono, preferiblemente, de 10 a 20 átomos de carbono y R<sub>4</sub> es independientemente hidrógeno o un grupo alifático que tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

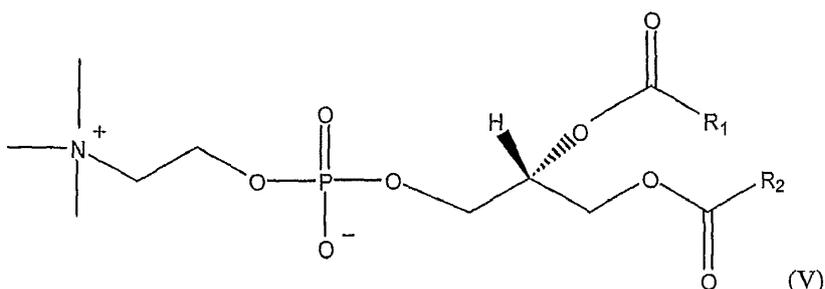
35

Los ejemplos específicos de este tipo de fosfolípido incluyen, pero sin limitación, 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE); 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE); 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-

fosfoetanolamina (DSPE); 1,2-dilauroil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DLPE); y 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE).

Las partículas utilizadas en la presente invención pueden comprender un fosfolípido asimétrico. Los "fosfolípidos asimétricos" también son conocidos por los expertos en la técnica como fosfolípidos de "cadena mixta" o de "cadena no idéntica". Se pueden usar fosfolípidos asimétricos que tienen grupos de cabeza tales como fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol y ácidos fosfatídicos. Los ejemplos de fosfolípido asimétrico incluyen las 1-acrilo, 2-acil-*sn*-glicero-3-fosfocolinas.

10 Los fosfolípidos de 1-acil, 2-acil-*sn*-glicero-3-fosfocolina pueden representarse por la Fórmula Estructural V:



donde cada uno de  $R_1$  y  $R_2$  es independientemente un grupo alifático que tiene de 3 a 24 átomos de carbono y donde los grupos alifáticos representados por  $R_1$  y  $R_2$  tienen diferentes longitudes de cadena de carbono. Preferiblemente,  $R_1$  y  $R_2$  tienen de 10 a 20 átomos de carbono.

Los ejemplos específicos de este tipo de fosfolípido incluyen, pero sin limitación, 1-palmitoil-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (PSPC); 1-estearoil-2-palmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (SPPC); 1-estearoil-2-miristoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (SMPC); 1-miristoil-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MSPC); 1-miristoil-2-palmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MPPC); y 1-palmitoil-2-miristoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (PMPC).

Las partículas utilizadas en la presente invención pueden comprender combinaciones de fosfolípidos asimétricos, combinaciones de fosfolípidos simétricos o combinaciones de fosfolípidos asimétricos y simétricos (es decir, de cadena idéntica).

En una realización de la presente invención, las partículas comprenden fosfolípidos asimétricos que tienen cadenas acilo individuales que están naturalmente presentes en el pulmón. Las partículas que comprenden fosfolípidos desaturados se prefieren sobre las partículas que comprenden fosfolípidos mono o di-insaturados.

Sin estar sujetos a ninguna teoría en particular, los solicitantes creen que las partículas que contienen fosfolípidos asimétricos pueden poseer un empaquetado y/o división únicos de las moléculas constitutivas de epinefrina y dar lugar a atrapamiento o encapsulación del fármaco. Se cree que la liberación del fármaco y la posterior absorción de la carga útil del fármaco a partir de la formulación de aerosol será más lenta si el fármaco se aprisiona o encapsula en lugar de simplemente asociarse a la superficie. Los solicitantes creen que para las moléculas de epinefrina atrapadas o encapsuladas, la disponibilidad del agente en los medios de disolución o fluidos de revestimiento fisiológicos no sólo se determina por la solubilidad del fármaco, sino también por disolución y/o difusión de las moléculas del fármaco a partir de la matriz de partículas. Por el contrario, se cree que en las partículas en las que las moléculas de fármacos se asocian principalmente a la superficie, la disponibilidad de moléculas de fármaco está principalmente limitada en solubilidad al fármaco. En consecuencia, el atrapamiento o encapsulación del fármaco en la matriz de partículas puede retardar la liberación y la posterior absorción del fármaco.

Las partículas que comprenden fosfolípidos asimétricos se describen en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 60/359.466, titulada "Sustained Release Formulations Utilizing Asymmetric Phospholipids", presentada el 22 de febrero de 2002. En una realización de la invención, las partículas comprenden uno o más aminoácidos. Se prefieren los aminoácidos hidrófobos. En una realización preferida, las partículas comprenden el aminoácido leucina. En otra realización preferida, las partículas comprenden un análogo de leucina. Otros aminoácidos adecuados incluyen aminoácidos hidrófobos de ocurrencia natural y no natural. Los aminoácidos no naturales incluyen, por ejemplo, beta-aminoácidos. Pueden emplearse configuraciones D, L y racémicas de aminoácidos hidrófobos. Los aminoácidos hidrófobos adecuados pueden incluir también análogos de aminoácido. Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, un análogo de aminoácido incluye la configuración D o L de un aminoácido que tiene la fórmula

- siguiente: -NH-CHR-CO-, donde R es un grupo alifático, un grupo alifático sustituido, un grupo bencilo, un grupo bencilo sustituido, un grupo aromático o un grupo aromático sustituido y donde R no corresponde a la cadena lateral de un aminoácido de ocurrencia natural. Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, los grupos alifáticos incluyen hidrocarburos C1-C8 de cadena recta, ramificada o cíclicos que están completamente saturados, que contienen uno o dos heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno o azufre y/o que contienen una o más unidades de desaturación. Los grupos aromáticos incluyen grupos aromáticos carbocíclicos tales como fenilo y naftilo y grupos aromáticos heterocíclicos tales como imidazolilo, indolilo, tienilo, furanilo, piridilo, piranilo, oxazolilo, benzotienilo, benzofuranilo, quinolinilo, isoquinolinilo y acridinilo.
- 5
- 10 Los sustituyentes adecuados en un grupo alifático, aromático o bencilo incluyen -OH, halógeno (por ejemplo, -Br, -Cl, -I y -F) -O(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido), -CN, -NO<sub>2</sub>, -COOH, -NH<sub>2</sub>, -NH(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido), -N(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido)<sub>2</sub>, -COO(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido), -CONH<sub>2</sub>, -CONH(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido)), -SH, -S(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, aromático o aromático sustituido) y -NH-C(=NH)-NH<sub>2</sub>. Un grupo bencílico o aromático sustituido puede tener también un grupo alifático o alifático sustituido como sustituyente. Un grupo alifático sustituido puede tener también un bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido como sustituyente. Un grupo alifático sustituido, aromático sustituido o bencilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes. La modificación de un sustituyente de aminoácidos puede aumentar, por ejemplo, la lipofilia o la hidrofobia de los aminoácidos naturales que son hidrófilos.
- 15
- 20

Una serie de los aminoácidos, análogos de aminoácidos y sales de los mismos adecuados puede obtenerse comercialmente. Otros pueden sintetizarse mediante procedimientos conocidos en la técnica. Las técnicas de síntesis se describen, por ejemplo, en Greene y Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, Capítulos 5 y 7 (1991).

25

La hidrofobia se define en general con respecto a la distribución de un aminoácido entre un disolvente no polar y agua. Los aminoácidos hidrófobos son aquellos ácidos que muestran preferencia por el disolvente no polar. La hidrofobia relativa de los aminoácidos puede expresarse en una escala de hidrofobia donde la glicina tiene el valor 0,5. En dicha escala, los aminoácidos que tienen preferencia por el agua tienen valores inferiores a 0,5 y los que tienen preferencia por disolventes no polares tienen un valor superior a 0,5. Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, el término aminoácido hidrófobo se refiere a un aminoácido que, en la escala de hidrofobia tiene un valor mayor o igual a 0,5, o en otras palabras, tiene tendencia a distribuirse en el ácido no polar que es al menos igual al de la glicina.

30

35

Los ejemplos de aminoácidos que pueden emplearse incluyen, pero no se limitan a: glicina, prolina, alanina, cisteína, metionina, valina, leucina, tirosina, isoleucina, fenilalanina, y triptófano. Los aminoácidos hidrófobos preferidos incluyen leucina, isoleucina, alanina, valina, fenilalanina y glicina. También pueden emplearse combinaciones de aminoácidos hidrófobos. Además, también pueden emplearse combinaciones de aminoácidos hidrófobos o hidrófilos (preferentemente distribuidos en agua), donde la combinación global es hidrófoba.

40

La leucina es el aminoácido más preferido. Las partículas utilizadas en la presente invención pueden comprender leucina en una concentración de al menos el 40 por ciento en peso. Preferiblemente, las partículas comprenden al menos el 50, 60, o el 70 por ciento en peso de leucina. Por ejemplo, las partículas pueden comprender del 60 al 95, del 70 al 95, o del 72 al 91 por ciento en peso de leucina.

45

En una realización preferida, las partículas se secan por pulverización y comprenden el aminoácido hidrófobo leucina. Sin estar sujetos a ninguna teoría en particular, se cree que debido a su hidrofobicidad y baja solubilidad en agua, los aminoácidos hidrófobos, tales como la leucina, facilitan la formación de una envoltura durante el proceso de secado cuando se emplea una mezcla de co-disolvente etanol/agua. También se cree que los aminoácidos pueden alterar el comportamiento de fase de cualquier fosfolípido presente de tal manera que faciliten la formación de una envoltura durante el proceso de secado.

50

Las partículas pueden comprender adicionalmente un material que tiene un resto carboxilato. En una realización de la invención, el resto carboxilato incluye al menos dos grupos carboxilo. Los restos de carboxilato pueden proporcionarse por ácidos carboxílicos, sales de los mismos, así como por combinaciones de dos o más ácidos carboxílicos y/o sales de los mismos. En una realización preferida, el resto carboxilato es un ácido carboxílico hidrófilo o una sal del mismo. Los ácidos carboxílicos adecuados incluyen, pero sin limitación, ácidos hidroxidicarboxílicos (por ejemplo, ácidos monohidroxidicarboxílicos y dihidroxidicarboxílicos), ácidos hidroxitricarboxílicos (por ejemplo, ácidos monohidroxitricarboxílicos y dihidroxitricarboxílicos) y similares. Se

55

60

prefieren ácido cítrico y citratos tales como, por ejemplo, citrato sódico y ácido tartárico y tartratos tales como, por ejemplo, tartrato de sodio.

El material que tiene un resto carboxilato puede estar presente en las partículas en una cantidad que varía del 5 al 80 por ciento en peso o del 5 al 50 por ciento en peso. Preferiblemente, el material que tiene un resto carboxilato está presente en las partículas en una cantidad de 10 a 30 por ciento en peso. En una realización, el material que tiene un resto carboxilato es una sal de un ácido carboxílico, preferiblemente citrato de sodio. El citrato sódico puede estar presente en las partículas a una concentración del 5 al 50, del 5 al 40, del 10 al 30, o del 15 al 25 por ciento en peso. Preferiblemente, el citrato sódico está presente en las partículas a una concentración del 18 al 22 por ciento en peso, por ejemplo, el 20 por ciento en peso. En otra realización preferida, la sal de un ácido carboxílico es tartrato sódico. El tartrato sódico puede estar presente en las partículas a una concentración del 2 al 50, del 5 al 40, del 10 al 30, o del 10 al 20 por ciento en peso. Preferiblemente, el tartrato sódico está presente en las partículas a una concentración del 15 al 20 por ciento en peso, por ejemplo, el 16 por ciento en peso. En otra realización preferida, el tartrato sódico está presente en las partículas en una concentración suficiente para ajustar el pH de la solución desde la cual se forman las partículas entre pH 4 y pH 5, por ejemplo, entre pH 4 y pH 4,5. Por ejemplo, si el contenido de epinefrina de las partículas es bajo (por ejemplo, 5 por ciento en peso o menos), la concentración de tartrato sódico necesaria también será baja (por ejemplo, 2 o 3 por ciento en peso); si el contenido de epinefrina de las partículas es mayor, la concentración de tartrato sódico necesaria también será mayor.

Las partículas también pueden incluir una sal que comprende al menos un catión o anión multivalente. Como se usa en este documento, un catión o anión "multivalente" incluye iones divalentes. En una realización preferida, la sal comprende al menos un catión o anión divalente. La sal es preferiblemente una sal de un metal alcalinotérreo, tal como, por ejemplo, cloruro de calcio. Las partículas utilizadas en la invención pueden incluir también mezclas o combinaciones de sales.

La sal que comprende al menos un catión o anión multivalente puede estar presente en las partículas en una cantidad que varía del 1 al 40, del 5 al 30, o del 5 al 20 por ciento en peso. Preferiblemente, la sal que comprende al menos un catión o anión multivalente es cloruro cálcico y está presente en las partículas en una concentración del 1 al 40, del 5 al 30, del 5 al 20, o, preferiblemente, del 5 al 15 por ciento en peso. Por ejemplo, la sal que comprende al menos un catión o anión multivalente es cloruro cálcico y está presente en las partículas en una concentración del 10 por ciento en peso.

Las partículas también pueden comprender un azúcar no reductor, por ejemplo, sacarosa, trehalosa o fructosa. Se prefiere la sacarosa. También pueden emplearse combinaciones de azúcares no reductores. La cantidad de azúcar o azúcares no reductores, por ejemplo, sacarosa, presente en las partículas usadas en la invención, generalmente es menor del 40 por ciento en peso, preferiblemente menor del 30 por ciento en peso, y más preferiblemente menor del 20 por ciento en peso, por ejemplo, del 15 por ciento en peso. En una realización, la sacarosa está presente en las partículas en una concentración del 1 al 30 por ciento en peso, preferiblemente del 10 al 20 por ciento en peso, por ejemplo, el 15 por ciento en peso.

Sin desear estar limitados a una interpretación particular de la invención, se cree que los azúcares no reductores potencian la estabilidad de un fármaco, tal como epinefrina, que tiene grupos químicos, por ejemplo, un grupo amina, que pueden reaccionar potencialmente con un azúcar que es reductor, por ejemplo, lactosa. Se cree además que la presencia de azúcares no reductores en lugar de azúcares reductores también puede beneficiar a las composiciones que incluyen otros agentes o fármacos bioactivos, tales como, por ejemplo, Carbidopa, Levodopa y otras catecolaminas.

Las partículas usadas en la presente invención pueden comprender además componentes tales como antioxidantes para estabilizar adicionalmente el agente activo de epinefrina. Las partículas pueden comprender uno o más antioxidantes. Los antioxidantes preferidos incluyen, pero sin limitación, eliminadores de oxígeno o agentes reductores tales como metabisulfito sódico; quelantes metálicos tales como ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) o sales de los mismos (por ejemplo, EDTA disódico); antioxidantes fenólicos tales como vitamina E (alfa tocoferol); o cualquier combinación de los mismos. Otros antioxidantes adecuados incluyen cisteína, cisteamina, hidroxitolueno butilado (BHT) y ácido ascórbico (Vitamina C). En una realización, las partículas contienen hasta un 25 por ciento en peso de antioxidante(s). En otras realizaciones, las partículas contienen hasta el 15, hasta el 10, hasta el 5, o hasta el 2 por ciento en peso de antioxidante(s).

En una realización ventajosa, las partículas están sustancialmente libres de antioxidantes. La expresión "sustancialmente libre de antioxidante", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a que contiene no más del 2 por ciento de antioxidante(s) en peso, por ejemplo, no más del 1, no más del 0,5, no más del 0,25 o no

más del 0,05 por ciento de antioxidante(s) en peso. En una realización, las partículas sustancialmente libres de antioxidantes no contienen antioxidante(s).

Las partículas también pueden incluir otros materiales tales como, por ejemplo, sales tampón, azúcares, colesterol, dextrano, polisacáridos, lactosa, manitol, maltodextrina, ciclodextrinas, proteínas, péptidos, polipéptidos, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, compuestos inorgánicos, fosfatos y lípidos.

En una realización de la invención, las partículas incluyen un material que mejora la cinética de liberación del medicamento. Los ejemplos de estos materiales adecuados incluyen, pero sin limitación, determinadas fracciones de fosfolípidos, aminoácidos y carboxilato combinadas con sales de metales multivalentes.

Las partículas y composiciones respirables que comprenden las partículas utilizadas en la invención pueden incluir opcionalmente un tensioactivo, tal como un tensioactivo que es endógeno para el pulmón. Como se usa en el presente documento, el término "tensioactivo" se refiere a cualquier agente que absorbe preferentemente en una interfaz entre dos fases inmiscibles, tal como la interfaz entre agua y una solución de polímero orgánico, una interfaz agua/aire o una interfaz disolvente orgánico/aire. Los tensioactivos poseen generalmente una porción hidrófila y una porción lipófila, de modo que, al ser absorbidos en las micropartículas, tienden a presentar porciones al medio externo que no atraen partículas revestidas de manera similar, reduciendo de este modo la aglomeración de partículas. Ambos tensioactivos pulmonares de origen natural y sintéticos están incluidos en el alcance de la invención.

Además de tensioactivos pulmonares, como, por ejemplo, los fosfolípidos expuestos anteriormente, los tensioactivos adecuados incluyen pero no se limitan a hexadecanol; alcoholes grasos tales como polietilenglicol (PEG); éter polioxitileno-9-laurílico; un ácido graso activo de superficie, tal como ácido palmítico o ácido oleico; glucocolato; surfactina; un poloxámero, un éster de ácido graso de sorbitano tal como trioleato de sorbitano (Span 85); y tiloxapol.

Un tensioactivo puede estar presente en las partículas en una cantidad que varía de más del 1 al 70 por ciento en peso. En una realización, al menos el 40 por ciento en peso de agente tensioactivo está presente en las partículas, por ejemplo, del 50 al 70 por ciento en peso de tensioactivo.

Las formulaciones de partículas preferidas que exhiben características químicas y físicas aceptables y adecuadas para los fines de la presente invención incluyen (1) partículas que comprenden epinefrina, o una sal de la misma; un ácido carboxílico, o una sal del mismo; una sal que comprende al menos un catión o anión multivalente; y un fosfolípido; (2) partículas que comprenden epinefrina, o una sal de la misma; un aminoácido; y un azúcar; (3) partículas que comprenden epinefrina, o una sal de la misma; y un aminoácido; (4) partículas que comprenden epinefrina, o una sal de la misma; un aminoácido; y un ácido carboxílico, o una sal del mismo.

Las partículas preferidas para la administración de epinefrina al sistema respiratorio comprenden: (a) del 6 al 25 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; (b) del 62 al 82 por ciento en peso de leucina; y (c) del 2 al 22 por ciento en peso de tartrato sódico. Por ejemplo, las partículas pueden comprender (a) del 11 al 21 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; (b) del 62 al 82 por ciento en peso de leucina; y (c) del 7 al 17 por ciento en peso de tartrato sódico. Otras partículas preferidas para la administración de epinefrina al sistema respiratorio comprenden (a) del 7 al 28 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; y (b) del 72 al 92 por ciento en peso de leucina. Por ejemplo, las partículas pueden comprender (a) del 12 al 23 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; y (b) del 77 al 88 por ciento en peso de leucina.

Un método preferido para tratar un paciente que necesita epinefrina comprende administrar una cantidad eficaz de partículas al sistema respiratorio de un paciente donde las partículas comprenden (a) del 6 al 25 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; (b) del 62 al 82 por ciento en peso de leucina; y (c) del 2 al 22 por ciento en peso de tartrato sódico. Por ejemplo, las partículas pueden comprender (a) del 11 al 21 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; (b) del 67 al 77 por ciento en peso de leucina; y (c) del 7 al 17 por ciento en peso de tartrato sódico. Otro método preferido para tratar un paciente que necesita epinefrina comprende administrar una cantidad eficaz de partículas al sistema respiratorio de un paciente donde las partículas comprenden (a) del 7 al 28 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; y (b) del 72 al 92 por ciento en peso de leucina. Por ejemplo, las partículas pueden comprender (a) del 12 al 23 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; y (b) del 77 al 87 por ciento en peso de leucina.

En una realización, las partículas poseen propiedades rápidas de liberación de epinefrina. Las propiedades de liberación rápida permiten que las partículas usadas en la presente invención se usen en terapia de rescate como se describe en el presente documento.

En otra realización, las partículas utilizadas en la presente invención son capaces de liberar epinefrina de una manera sostenida. Como tal, se puede decir que las partículas poseen propiedades de liberación sostenida. La expresión "liberación sostenida" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un aumento en el período de tiempo durante el cual se libera un agente de una partícula utilizada en la presente invención en comparación con un control apropiado, tal como, por ejemplo, en comparación con el período de tiempo durante el cual se libera un agente de una partícula que no comprende epinefrina, o una sal de la misma, y un fosfolípido o combinación de fosfolípidos. La expresión "liberación sostenida", como se utiliza en el presente documento, también puede referirse a una reducción en la disponibilidad, o ráfaga, de agente típicamente visto poco después de la administración. Por ejemplo, "liberación sostenida" puede referirse a una reducción en la disponibilidad de epinefrina en la primera media hora o la primera hora después de la administración, es decir, una reducción en la ráfaga inicial de epinefrina.

La expresión "liberación sostenida", como se utiliza en el presente documento, también puede referirse a una mayor cantidad de epinefrina retenida o que permanece en las partículas después de la ráfaga inicial en comparación con un control apropiado. La "liberación sostenida" también es conocida por los expertos en la técnica como "liberación modificada", "liberación prolongada" o "liberación extendida". "Liberación sostenida", como se usa en el presente documento, también incluye "acción sostenida" o "efecto sostenido". La "acción sostenida" y el "efecto sostenido", como se usan estas expresiones en el presente documento, pueden referirse a un aumento en el período de tiempo durante el cual la epinefrina realiza su actividad terapéutica en comparación con un control apropiado. La "acción sostenida" también es conocida por los expertos en la técnica como "acción prolongada" o "acción extendida".

Las partículas para inhalación que poseen propiedades sostenidas de liberación del fármaco, y métodos para su administración, se describen también en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 09/644.736, titulada "Modulation Of Release From Dry Powder Formulations", presentada el 23 de agosto de 2000; Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 2001/0036481 (09/792.869), titulada "Modulation Of Release From Dry Powder Formulations", presentada el 23 de febrero de 2001; y la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 60/366.497, titulada "Inhalable Sustained Therapeutic Formulations", presentada el 20 de marzo de 2002.

Sin quedar sujetos a ninguna teoría en particular, los Solicitantes creen que las ventajas proporcionadas por las partículas utilizadas en la presente invención pueden estar influenciadas, entre otros factores, por la velocidad de liberación de epinefrina de las partículas. Las velocidades de liberación de fármaco se pueden describir en términos del medio tiempo de liberación de un agente bioactivo de una formulación. Como se usa en el presente documento, la expresión "medio tiempo" se refiere al tiempo requerido para liberar el 50 % de la carga útil de epinefrina inicial contenida en las partículas. En una realización, las partículas utilizadas en la presente invención tienen un medio tiempo de liberación de epinefrina de las partículas de 1 a 20 minutos. En otra realización, las partículas se formulan para la liberación prolongada de epinefrina y tienen un medio tiempo de liberación más largo, tal como, por ejemplo, aproximadamente una hora o más.

Las velocidades de liberación de fármaco también se pueden describir en términos de constantes de liberación. La constante de liberación de primer orden se puede expresar usando una de las siguientes ecuaciones:

$$M_{pw(t)} = M_{(\infty)} * e^{-k*t} \quad (1)$$

$$M_{(t)} = M_{(\infty)} * (1 - e^{-k*t}) \quad (2)$$

donde k es la constante de liberación de primer orden.  $M_{(\infty)}$  es la masa total de fármaco en el sistema de administración de fármacos, por ejemplo, el polvo seco, y  $M_{pw(t)}$  es la masa de fármaco que queda en los polvos secos en el momento t.  $M_{(t)}$  es la cantidad de masa de fármaco liberada de polvos secos en el momento t. La relación se puede expresar como:

$$M_{(\infty)} = M_{pw(t)} + M_{(t)} \quad (3)$$

Las ecuaciones (1), (2) y (3) pueden expresarse en cantidad (es decir, masa) de fármaco liberado o concentración de fármaco liberado en un volumen especificado de medio de liberación.

Por ejemplo, la Ecuación (2) puede expresarse como:

$$C_{(t)} = C_{(\infty)} * (1 - e^{-k*t}) \quad (4)$$

donde  $k$  es la constante de liberación de primer orden.  $C_{(\infty)}$  es la concentración teórica máxima del fármaco en el medio de liberación, y  $C_{(t)}$  es la concentración de fármaco que se libera de los polvos secos al medio de liberación en el momento  $t$ .

5

El "medio medio" o  $t_{50\%}$  para una cinética de liberación de primer orden viene dado por la ecuación ya conocida,

$$t_{50\%} = 0.693 / k \quad (5)$$

- 10 Las velocidades de liberación de fármaco en términos de constante de liberación de primer orden y  $t_{50\%}$  se pueden calcular usando las siguientes ecuaciones:

$$k = -\ln (M_{pw(t)} / M_{(\infty)}) / t \quad (6)$$

o,

15

$$k = -\ln (M_{(\infty)} - M_{(t)}) / M_{(\infty)} / t \quad (7)$$

- En una realización, las partículas usadas en la invención tienen propiedades de liberación prolongada de epinefrina en comparación con el perfil farmacocinético/farmacodinámico de epinefrina administrado como formulaciones convencionales, tales como por inyección intravenosa (IV), inyección intramuscular (IM), inyección subcutánea, 20 autoinyección, o vías de inhalación en aerosol líquido.

En una realización preferida, las partículas poseen características de aerosol que permiten la administración eficaz de las partículas al sistema respiratorio sin el uso de propulsores.

- 25 Las partículas usadas en la presente invención tienen un tamaño preferido, por ejemplo, un diámetro geométrico medio en volumen (VMGD) de al menos 5 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ). En una realización de la invención, el DGMV de las partículas es de 5 a 30 micrómetros.

Preferiblemente, las partículas tienen un DGMV de 5 a 15 micrómetros o, como alternativa, de 15 a 30 micrómetros.

- 30 Las partículas pueden tener un diámetro medio, un diámetro medio en masa (MMD), un diámetro medio de envoltura en masa (MMED) o un diámetro geométrico medio en masa (MMGD) de al menos 5 micrómetros, por ejemplo, de 5 a 30 micrómetros, tales como 5 a 15 micrómetros.

- El diámetro de las partículas, por ejemplo, su DGMV, puede medirse usando un instrumento de detección de zona 35 eléctrica tal como Multisizer IIe (Coulter Electronic, Luton, Beds, Inglaterra), o un instrumento de difracción láser, tal como HELOS (Sympatec, Princeton, NJ). Otros instrumentos para medir el diámetro geométrico de las partículas son bien conocidos en la técnica. El diámetro de las partículas en una muestra estará comprendido en un intervalo que dependerá de factores como la composición de las partículas y los métodos de síntesis. La distribución de tamaño de las partículas de una muestra puede seleccionarse de manera que permita un depósito óptimo en lugares 40 diana dentro del sistema respiratorio.

Las partículas adecuadas para su uso en la presente invención pueden fabricarse y después separarse, por ejemplo, por filtración o centrifugación, para proporcionar una muestra de partículas con una distribución de tamaños preseleccionada. Por ejemplo, más de aproximadamente el 30, 50, 70 o el 80 % de las partículas en una muestra 45 pueden tener un diámetro dentro del intervalo seleccionado de al menos 5 micrómetros. El intervalo seleccionado dentro de un cierto porcentaje de las partículas debe estar situado por ejemplo, entre 5 y 30 micrómetros u, opcionalmente, entre 5 y 15 micrómetros. También se puede fabricar la muestra de partículas donde al menos el 90 % u, opcionalmente, del 95 al 99 % de las partículas, tienen un diámetro dentro del intervalo seleccionado.

- 50 En una realización, el intervalo intercuartílico de la muestra de partículas puede ser de 2 micrómetros, con un diámetro medio, por ejemplo, entre 7,5 y 13,5 micrómetros. Por lo tanto, por ejemplo, al menos del 30 al 40 % de las partículas pueden tener diámetros dentro del intervalo seleccionado. Dichos porcentajes de partículas pueden tener diámetros dentro de un intervalo de 1 micrómetro, por ejemplo, entre 5 y 6; 6 y 7; 7 y 8; 8 y 9; 9 y 10; 10 y 11; 11 y 12; 12 y 13; 13 y 14; o 14 y 15 micrómetros.

55

El diámetro aerodinámico de partícula también se puede usar para caracterizar el rendimiento del aerosol de una composición. En una realización, las partículas tienen un diámetro aerodinámico medio en masa (MMAD) de 1 a 5 micrómetros. En realizaciones preferidas, las partículas tienen un MMAD de 1 a 3 micrómetros, 2 a 4 micrómetros, o de 3 a 5 micrómetros.

Experimentalmente, el diámetro aerodinámico puede determinarse usando medidas de tiempo de vuelo (TOF). Por ejemplo, puede usarse un instrumento tal como el analizador de tamaño de partículas DSP modelo 3225 Aerosizer (Amherst Process Instrument, Inc., Amherst, MA) para medir el diámetro aerodinámico. El Aerosizer mide el tiempo necesario para que las partículas individuales pasen entre dos haces láser fijos. El instrumento utiliza posteriormente estos datos TOF para resolver un balance de fuerzas sobre las partículas y el diámetro aerodinámico se determina en base a la relación

$$d_{\text{aer}} = d \sqrt{\rho} \quad (8)$$

donde  $d_{\text{aer}}$  es el diámetro aerodinámico de la partícula;  $d$  es el diámetro de la partícula; y  $\rho$  es la densidad de partículas.

El diámetro aerodinámico también puede determinarse experimentalmente empleando un procedimiento de sedimentación gravitatoria, donde el tiempo para que un conjunto de partículas se sedimente a una cierta distancia se usa para inferir directamente el diámetro aerodinámico de las partículas. Los métodos indirectos para medir el diámetro aerodinámico medio en masa son el impactador en cascada de Andersen y el impactador en líquido de múltiples fases (MSLI). Los métodos e instrumentos para medir el diámetro aerodinámico de las partículas se conocen bien en la técnica.

Las partículas administradas al sistema respiratorio de un sujeto tienen una densidad de compactación inferior a 0,4 g/cm<sup>3</sup>. Las partículas que tienen una densidad de compactación inferior a 0,4 g/cm<sup>3</sup> se denominan en el presente documento "aerodinámicamente ligeras". En otras realizaciones preferidas, las partículas tienen una densidad de compactación inferior o igual a 0,3 g/cm<sup>3</sup> o inferior o igual a 0,2 g/cm<sup>3</sup>. En otras realizaciones, las partículas tienen una densidad de compactación inferior o igual a 0,1 g/cm<sup>3</sup> o inferior o igual a 0,05 g/cm<sup>3</sup>. La densidad de compactación es una medida de la densidad de masa envolvente que caracteriza una partícula. La densidad de masa envolvente de una partícula de una forma estadísticamente isótropa se define como la masa de la partícula dividida por el volumen de envolvente de esfera mínimo donde puede confinarse. Entre las características que pueden contribuir a una baja densidad de compactación se incluyen una textura superficial irregular y una estructura porosa.

La densidad de compactación se puede medir usando instrumentos conocidos por los expertos en la técnica, tales como el medidor de densidad de compactación controlado por microprocesador de plataforma doble (Vankel, NC) o un instrumento GeoPyc™ (Micrometrics Instrument Corp., Norcross, GA). La densidad de compactación también se puede determinar usando el procedimiento de la densidad aparente y la densidad de compactación de la USP, United States Pharmacopia convention, Rockville, MD, suplemento 10, 4950-4951, 1999.

Las partículas utilizadas en la presente invención se caracterizan como aerodinámicamente ligeras. Las partículas ligeras aerodinámicamente tienen un tamaño preferido, por ejemplo, un diámetro geométrico medio en volumen (DGMV) de al menos 5 micrómetros. En una realización preferida de la invención, el DGMV de las partículas es de 5 a 30 micrómetros. Las partículas ligeras aerodinámicamente también tienen preferentemente un "diámetro aerodinámico medio en masa" (DAMM), también referido en el presente documento como "diámetro aerodinámico", de 1 a 5 micrómetros. En una realización preferida de la invención, el MMAD de las partículas es de 1 a 5 micrómetros.

Las condiciones del proceso, así como la eficacia del inhalador, en particular con respecto a la dispersabilidad, pueden contribuir al tamaño de las partículas que pueden suministrarse al sistema respiratorio. Las partículas aerodinámicamente ligeras pueden fabricarse o separarse, por ejemplo, por filtrado o centrifugado, para proporcionar una muestra de partículas con una distribución de tamaños preseleccionada.

Las partículas aerodinámicamente ligeras con una densidad de compactación inferior a 0,4 g/cm<sup>3</sup>, diámetros medios de al menos 5 micrómetros, y un diámetro aerodinámico de entre 1 y 5 micrómetros, preferiblemente entre 1 y 3 micrómetros, son más capaces de escapar de la deposición inercial y gravitatoria en la región bucofaríngea, y están dirigidas a las vías respiratorias o al pulmón profundo. El uso de partículas mayores y más porosas resulta ventajoso porque son capaces de convertirse en aerosol con mayor eficiencia que las partículas de aerosol más densas y pequeñas tales como las usadas convencionalmente para terapias de inhalación.

En comparación con partículas más pequeñas y relativamente más densas las partículas ligeras aerodinámicamente de mayor tamaño, que tienen preferentemente un diámetro medio de al menos aproximadamente 5 micrómetros,

también pueden potencialmente evitar más acertadamente el atrapamiento fagocitario por parte de los macrófagos alveolares y el aclaramiento de los pulmones, debido a la exclusión por tamaños de las partículas a partir del espacio citosólico de los fagocitos. La fagocitosis de partículas por los macrófagos alveolares disminuye drásticamente a medida que aumenta el diámetro de partícula por encima de aproximadamente 3 micrómetros. Kawaguchi, H., et al., *Biomaterials* 7:61-66 (1986); Krenis, L.J. y Strauss, B., *Proc. Soc. Exp. Med.*, 107:748-750 (1961); y Rudt, S. y Muller, R.H., *J. Contr. Rel.*, 22:263-272 (1992). Para partículas de forma estadísticamente isótropa, tales como esferas con superficies rugosas, el volumen de envoltura de la partícula es aproximadamente equivalente al volumen del espacio citosólico requerido en un macrófago para que complete la fagocitosis de la partícula.

- 10 Por lo tanto, las partículas aerodinámicamente ligeras son capaces de una liberación a más largo plazo de un agente atrapado a los pulmones. Después de la inhalación, las partículas biodegradables aerodinámicamente ligeras pueden depositarse en los pulmones y posteriormente someterse a degradación sostenida y liberación del fármaco sin que la mayoría de las partículas sean fagocitadas por los macrófagos alveolares. La epinefrina puede administrarse de forma relativamente lenta en el fluido alveolar y a una velocidad controlada en el torrente
- 15 sanguíneo, minimizando las posibles respuestas tóxicas de las células expuestas a una concentración excesivamente alta del fármaco. Por lo tanto, las partículas aerodinámicamente ligeras son muy adecuadas para terapias por inhalación, particularmente en aplicaciones de liberación controlada.

- Las partículas pueden fabricarse con el material, la rugosidad superficial, el diámetro y la densidad de compactación apropiados para el suministro localizado en las regiones seleccionadas del sistema respiratorio tales como el tejido pulmonar profundo o las vías respiratorias superiores o centrales. Por ejemplo, pueden usarse partículas más grandes o de mayor densidad para el suministro en las vías respiratorias superiores, o puede administrarse una mezcla de partículas de tamaño variable en una muestra, provistas del mismo agente terapéutico o de uno diferente a diferentes regiones diana del pulmón en una administración. Se prefieren las partículas que tienen un diámetro
- 20 aerodinámico comprendido entre aproximadamente 3 y aproximadamente 5 micrómetros para el suministro a las vías respiratorias centrales y superiores. Se prefieren partículas que tienen un diámetro aerodinámico comprendido entre aproximadamente 1 y aproximadamente 3 micrómetros para el suministro al tejido pulmonar profundo.

- La impactación inercial y la sedimentación gravitatoria de los aerosoles son mecanismos de depósito predominantes en las vías respiratorias y los ácidos de los pulmones durante las condiciones de respiración normales. Edwards, D.A., *J. Aerosol Sci.*, 26: 293-317 (1995)). La importancia de estos dos mecanismos de depósito aumenta en proporción con la masa de los aerosoles y no con el volumen de las partículas (o envolturas). Dado que el lugar de depósito de aerosoles en los pulmones está determinado por la masa del aerosol (es decir, al menos para partículas de diámetro aerodinámico medio de más de aproximadamente 1 micrómetro), al disminuir la densidad de
- 30 compactación mediante el incremento de las irregularidades superficiales de las partículas y la porosidad de las partículas se permite el suministro de volúmenes mayores de envoltura de las partículas en los pulmones, mientras todos los demás parámetros físicos permanecen sin cambios.

- Las partículas de baja densidad de compactación tienen un diámetro aerodinámico menor en comparación con el diámetro de la esfera de la envoltura real. El diámetro aerodinámico,  $d_{aer}$ , se refiere al diámetro de la esfera envolvente,  $d$  (Gonda, I., "Physico-chemical principles in aerosol delivery", en *Topics in Pharmaceutical Sciences* 1991 (eds. D.J.A. Crommelin y K.K. Midha), págs. 95-117, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1992)), por la fórmula:

45 
$$d_{aer} = d\sqrt{\rho} \quad (9)$$

- donde la densidad en masa envolvente,  $\rho$ , está en unidades de  $g/cm^3$ . El depósito máximo de las partículas de aerosol monodispersadas en la región alveolar del pulmón humano (~60 %) tiene lugar para un diámetro aerodinámico de aproximadamente  $d_{aer} = 3$  micrómetros. Heyder, J. et al., *J. Aerosol Sci.*, 17:811-825 (1986). Debido a su pequeña densidad de masa envolvente, el diámetro real  $d$  de las partículas ligeras aerodinámicamente que comprenden un polvo inhalado monodispersado que mostrarán un depósito máximo en el tejido pulmonar profundo es:

55 
$$d = 3/\sqrt{\rho} \text{ } \mu\text{m (donde } \rho < 1 \text{ g/cm}^3\text{);} \quad (10)$$

donde  $d$  es siempre mayor de 3 micrómetros. Por ejemplo, las partículas ligeras aerodinámicamente que muestran una densidad de masa envolvente,  $\rho = 0,1 \text{ g/cm}^3$ , mostrarán un depósito máximo para partículas que tienen diámetros de envoltura de hasta 9,5 micrómetros. El aumento en el tamaño de las partículas reduce las fuerzas de

adhesión entre partículas. Visser, J., Powder Technology, 58:1-10. Por lo tanto, un tamaño de partículas grande aumenta la eficiencia de la aerosolización en el tejido pulmonar profundo para partículas de baja densidad de masa envolvente, además de contribuir a menores pérdidas fagocíticas.

- 5 El diámetro aerodinámico se calcula para proporcionar una máxima deposición dentro de los pulmones, lograda previamente por el uso de partículas muy pequeñas de menos de 5 micrómetros de diámetro, preferiblemente entre 1 y 3 micrómetros, que se someten entonces a fagocitosis. La selección de partículas que tienen un diámetro mayor, pero que son suficientemente ligeras (de ahí la caracterización de "ligeras aerodinámicamente"), produce un suministro equivalente a los pulmones, pero las partículas de mayor tamaño no son fagocitadas. Puede obtenerse un  
10 suministro mejorado usando partículas con una superficie rugosa o desigual con respecto a las que tienen una superficie lisa.

La densidad de masa y la relación entre densidad de masa, diámetro medio y diámetro aerodinámico se exponen en la solicitud de Estados Unidos n.º 08/655,570, presentada el 24 de mayo de 1996.

- 15 La fracción de partícula fina puede usarse como una forma de caracterizar el comportamiento en aerosol de un polvo dispersado. La fracción de partículas finas describe la distribución de tamaño de partículas transportadas por el aire. El análisis gravimétrico, usando impactadores de cascada, es un método de medición de la distribución del tamaño, o fracción de partículas finas, de las partículas transportadas por el aire. El impactador de cascada de Andersen  
20 (ACI) es un impactador de ocho fases que puede separar los aerosoles en nueve fracciones distintas basándose en el tamaño aerodinámico. Los límites de tamaño de cada fase dependen de la velocidad del caudal al cual se hace funcionar el ACI.

- También se puede usar un ACI plegado de dos fases para medir la fracción de partículas finas. El ACI plegado de  
25 dos fases consiste únicamente en dos fases de del ACI de ocho fases y permite la recolección de dos fracciones de polvo distintas. El ACI se compone de múltiples etapas que consisten en una serie de boquillas (es decir, una placa de chorro) y una superficie de impactación (es decir, un disco de impactación). En cada fase una corriente de aerosol pasa a través de las boquillas e impacta sobre la superficie. Las partículas de la corriente de aerosol con una inercia suficientemente grande impactarán sobre la placa. Las partículas de menor tamaño que no tengan inercia  
30 suficiente para impactar sobre la placa permanecerán en la corriente de aerosol y serán llevadas a la siguiente fase. Cada fase sucesiva del ACI tiene una mayor velocidad de aerosol en las boquillas de modo que se pueden recoger partículas más pequeñas en cada etapa sucesiva.

- Las partículas de la invención se caracterizan por una fracción de partícula fina de menos de 5,6 µm de al menos el  
35 45 %. Se utiliza un impactador en cascada Andersen plegado en dos fases para determinar la fracción de partículas finas. Específicamente, un ACI plegado de dos fases se calibra de modo que la fracción de polvo que se recoge en la fase uno esté compuesta por partículas que tienen un diámetro aerodinámico de menos de 5,6 micrómetros y más de 3,4 micrómetros. Por lo tanto, la fracción de polvo que pasa por la primera fase y que se deposita sobre un filtro de recogida está compuesta por partículas que tienen un diámetro aerodinámico inferior a 3,4 micrómetros. El flujo  
40 de aire en tal calibración es de aproximadamente 60 l/min.

- Los términos "FPF (<5,6)", "FPF (<5,6 micrómetros)" y "fracción de partícula fina de menos de 5,6 micrómetros", como se utilizan en el presente documento, se refieren a la fracción de una muestra de partículas que tienen un diámetro aerodinámico de menos de 5,6 micrómetros. FPF (<5,6) se puede determinar dividiendo la masa de  
45 partículas depositadas en la fase uno y en el filtro de recogida de un ACI plegado de dos fases por la masa de partículas pesadas en una cápsula para su administración al instrumento.

- Los términos "FPF (<3,4)", "FPF (<3,4 micrómetros)" y "fracción de partícula fina de menos de 3,4 micrómetros", como se utilizan en el presente documento, se refieren a la fracción de una masa de partículas que tienen un diámetro aerodinámico de menos de 3,4 micrómetros. FPF (<3,4) se puede determinar dividiendo la masa de  
50 partículas depositadas en el filtro de recogida de un ACI plegado de dos fases por la masa de partículas pesadas en una cápsula para su administración al instrumento.

- Se ha demostrado que la FPF (<5,6) se correlaciona con la fracción del polvo que es capaz de acumularse en el  
55 pulmón del paciente, mientras que se ha demostrado que la FPF (3,4) se correlaciona con la fracción de polvo que alcanza la zona profunda del pulmón de un paciente. Estas correlaciones proporcionan un indicador cuantitativo que se puede utilizar para la optimización de partículas.

- También puede utilizarse un impactador en cascada Andersen plegado de tres fases para determinar la fracción de  
60 partículas finas. Opcionalmente, el ACI plegado de tres fases comprende tamices mojados que se usan para ayudar

a disminuir el rebote de partículas y la reentrada. El ACI plegado de tres fases se calibra de modo que la fracción de polvo que se recoge en un filtro de recogida está compuesta de partículas que tienen un diámetro aerodinámico de menos de 3,3 micrómetros. El flujo de aire en tal calibración es de aproximadamente 28 l/min. Los términos "FPF (<3,3)", "FPF (<3,3 micrómetros)" y "fracción de partícula fina de menos de 3,3 micrómetros", como se utilizan en el presente documento, se refieren a la fracción de una masa de partículas que tienen un diámetro aerodinámico de menos de 3,3 micrómetros. FPF (<3,3) se puede determinar dividiendo la masa de partículas depositadas en el filtro de recogida de un ACI plegado de tres fases por la masa de partículas pesadas en una cápsula para su administración al instrumento.

10 Un impactador en líquido de múltiples fases (MSLI) es otro dispositivo que puede usarse para medir la fracción de partícula fina. El impactador en líquido de múltiples fases opera según los mismos principios que el impactador en cascada Anderson, aunque en lugar de ocho fases, el MSLI tiene cinco. Adicionalmente, cada fase del MSLI consiste en una frita de vidrio humedecida en etanol en lugar de una placa sólida. La fase humedecida se utiliza para evitar el rebote de las partículas y la reentrada, lo que puede ocurrir cuando se usa el ACI.

15 Las partículas utilizadas en la invención tienen una FPF (<5,6) de al menos el 45 %, preferiblemente el 50 %. En otra realización, las partículas tienen una FPF (<3,4) de al menos el 5 %, 10 %, 15 % o el 20 %.

20 En un aspecto, la presente invención está dirigida a partículas secadas por pulverización para la administración de epinefrina al sistema respiratorio, donde las partículas comprenden epinefrina, o una sal de la misma; y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable; donde las partículas poseen una fracción de partícula fina de menos de 5,6 micrómetros de al menos el 45 por ciento. En otro aspecto, la invención está dirigida a partículas secadas por pulverización para la administración de epinefrina al sistema respiratorio, donde las partículas comprenden epinefrina, o una sal de la misma; y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable; donde las partículas poseen una fracción de partícula fina de menos de 3,4 micrómetros de al menos el 15 por ciento.

30 Las partículas utilizadas en la invención pueden caracterizarse por la estabilidad química de la epinefrina que comprenden las partículas. Sin quedar sujeto a ninguna teoría en particular, se cree que varios factores pueden influir en la estabilidad química de la epinefrina. Estos factores pueden incluir los materiales que comprenden las partículas, la estabilidad del propio agente, las interacciones entre el agente y los excipientes, y las interacciones entre agentes. La estabilidad química de la epinefrina constituyente puede afectar a características importantes de una composición farmacéutica incluyendo la vida útil, condiciones de almacenamiento adecuadas, entornos aceptables para la administración, compatibilidad biológica y eficacia de la epinefrina. La estabilidad química se puede evaluar usando técnicas bien conocidas en la técnica. Un ejemplo de una técnica que puede usarse para evaluar la estabilidad química es la cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC).

40 Las partículas utilizadas en la invención incluyen epinefrina que es generalmente estable durante un período de al menos 1 año. En una realización, al menos el 90 %, por ejemplo, el 95 % de epinefrina contenida en las partículas no se degrada como se mide por HPLC durante un período de al menos 1 año.

45 La epinefrina, o sal de la misma, contenida en las partículas puede ser sustancialmente cristalina, semicristalina o sustancialmente amorfa. Sin quedar sujetos a ninguna teoría en particular, los Solicitantes creen que la epinefrina, o una sal de la misma, tal como se encuentra en las partículas es semicristalina o sustancialmente amorfa o en una forma dispersa. El excipiente farmacéuticamente aceptable contenido en las partículas puede ser sustancialmente cristalino, semicristalino o sustancialmente amorfo, dependiendo de factores tales como las condiciones de secado por pulverización y las características del excipiente particular.

50 En una realización, las partículas comprenden epinefrina en una forma sustancialmente amorfa o dispersa en una matriz excipiente semicristalina (por ejemplo, una matriz de leucina). La forma dispersada de epinefrina puede variar desde dominios de nanoescala (es decir, tamaños menores de 0,1 micrómetros en anchura característica) de epinefrina amorfa en una matriz excipiente semicristalina a una solución sólida de epinefrina y excipiente semicristalino.

55 La Figura 1A muestra datos de difracción de polvo de rayos X (XRPD) para el bitartrato de epinefrina a granel. Los picos ya resueltos y las exploraciones reproducibles muestran un comportamiento cristalino, térmicamente estable hasta 145 °C. La Figura 1B muestra datos de XRPD para la leucina a granel a 25 °C. Los picos ya resueltos son característicos del material cristalino. La Figura 1C muestra datos de XRPD para partículas secadas por pulverización que contienen leucina, bitartrato de epinefrina y bitartrato sódico. Los picos observables en estos datos son característicos de la leucina solamente, lo que indica que la epinefrina está presente en forma amorfa o dispersa.

60

Los solicitantes creen que la estabilidad física mejorada resulta del estado semicristalino o amorfo de epinefrina en las presentes partículas y que esta estabilidad física de la fase de epinefrina pueden proporcionar una estabilidad química mejorada de la epinefrina. Además, las propiedades de disolución mejoradas parecen ser resultado de partículas que comprenden una fase semicristalina o amorfa de epinefrina en una matriz de excipiente semicristalina.

Los métodos de preparación y administración de partículas que son aerodinámicamente ligeras e incluyen tensioactivos, y, en particular fosfolípidos, se describen en la Patente de Estados Unidos N.º 5.855.913, expedida el 5 de enero de 1999 de Hanes, et al., y en la Patente de Estados Unidos n.º 5.985.309, expedida el 16 de noviembre de 1999 de Edwards, et al.

Las partículas altamente dispersables adecuadas para su uso en la invención pueden prepararse usando evaporación de disolvente de emulsión simple y doble, secado por pulverización, extracción con disolvente, evaporación de disolvente, separación de fases, coacervación simple y compleja, polimerización interfacial, dióxido de carbono supercrítico (CO<sub>2</sub>) y otros métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Las partículas pueden fabricarse usando métodos para fabricar microesferas o microcápsulas conocidas en la técnica, siempre que se optimicen las condiciones para formar partículas con las propiedades aerodinámicas deseadas (por ejemplo, diámetro aerodinámico y diámetro geométrico) o se realicen etapas adicionales para seleccionar partículas con la densidad y diámetro suficientes para proporcionar las partículas con un diámetro aerodinámico entre 1 y 5 micrómetros, preferentemente entre 1 y 3 micrómetros, o como alternativa, entre 3 y 5 micrómetros.

Si las partículas preparadas por cualquiera de los métodos anteriores tienen un intervalo de tamaños fuera del intervalo deseado, las partículas pueden dimensionarse, por ejemplo, usando un tamiz, y se separan adicionalmente de acuerdo con la densidad usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica. Preferiblemente las partículas se secan por pulverización. Las técnicas de secado por pulverización adecuadas se describen, por ejemplo, por K. Masters en "Spray Drying Handbook", John Wiley & Sons, Nueva York (1984). En general, durante el secado por pulverización, se usa el calor de un gas caliente como aire o nitrógeno calentado para evaporar un disolvente de las gotas formadas al atomizar una alimentación de líquido continua.

Se puede emplear un disolvente orgánico o un disolvente acuoso-orgánico para formar una alimentación para el secado por pulverización de las partículas usadas en la presente invención. Los disolventes orgánicos adecuados que pueden emplearse incluyen pero no se limitan a alcoholes tales como, por ejemplo, etanol, metanol, propanol, isopropanol, butanoles y otros. Otros disolventes orgánicos incluyen pero no se limitan a perfluorocarbonos, diclorometano, cloroformo, éter, acetato de etilo, éter metil-terc-butílico y otros. Los codisolventes que pueden emplearse incluyen un disolvente acuoso y un disolvente orgánico, tal como, pero sin limitarse a, los disolventes orgánicos tal como se describe anteriormente. Los disolventes acuosos incluyen agua y soluciones con tampón. En una realización, se prefiere un disolvente de etanol/agua con la relación de solución de etanol con respecto a la solución acuosa que varía de 70:30 a 30:70 en volumen.

La mezcla puede tener un pH neutro, ácido o alcalino. Opcionalmente, puede añadirse un amortiguador de pH al disolvente o codisolvente o a la mezcla formada. El pH de la mezcla puede variar de 3 a 8. Se prefiere un pH ácido en mezclas que comprenden epinefrina, o una sal de la misma. En una realización, el pH de la mezcla está entre 4 y 5, por ejemplo, entre 4,0 y 4,5 o entre 4,1 y 4,4. Por ejemplo, puede formarse una mezcla que comprende leucina, bitartrato de epinefrina y tartrato sódico, donde el tartrato sódico está presente en una cantidad tal que el pH de la solución resultante está entre 4,1 y 4,4.

En un aspecto, los componentes orgánicos de partículas solubles se disuelven en una fase orgánica y los componentes de partículas solubles en agua se disuelven en una fase acuosa. Las soluciones se calientan según sea necesario para asegurar la solubilidad. En una realización preferida, los componentes de partículas solubles en etanol se disuelven en una fase de etanol y los componentes de partículas solubles en agua se disuelven en una fase acuosa.

Las soluciones que contienen componentes de partículas se combinan o se mezclan antes del secado por pulverización. Por ejemplo, en un aspecto de la presente invención, las soluciones se mezclan a granel antes suministrarse al secado por pulverización. En una realización, las soluciones se combinan o se mezclan de manera que la solución resultante tenga una concentración total de sólidos disueltos de 1 g/l. Preferiblemente, la concentración de sólidos disueltos es mayor que 1 g/l, por ejemplo 5, 10 o 15 g/l. Las soluciones que contienen componentes de partículas se pueden combinar o mezclar utilizando un dispositivo mezclador estático antes del secado por pulverización.

60

En un aspecto de la presente invención, se preparan un componente hidrófilo y un componente hidrófobo. Los componentes hidrófobos e hidrófilos se combinan entonces en un mezclador estático para formar una combinación. La combinación se atomiza para producir gotas que se secan para formar partículas secas. En un aspecto preferido de este método, la etapa de atomización se realiza inmediatamente después de que los componentes se combinen en el mezclador estático.

También se describe un método para preparar una composición en polvo seco. En dicho método, se preparan un primer y un segundo componentes, uno o ambos de los cuales comprenden epinefrina o una sal de la misma. El primer y segundo componentes se combinan en un mezclador estático para formar una combinación. En una realización, el primer y segundo componentes son física y/o químicamente incompatibles entre sí. El primer y segundo componentes puede ser tales que combinarlos causa la degradación de uno de los componentes. En otro aspecto, un material presente en el primer componente es incompatible con un material presente en el segundo componente. La combinación se atomiza para producir gotas que se secan para formar partículas secas. Preferiblemente, el primer componente comprende epinefrina, o una sal de la misma, y uno o más excipientes disueltos en un disolvente acuoso, y el segundo componente comprende uno o más excipientes disueltos en un disolvente orgánico.

Por ejemplo, en un método para preparar una composición de polvo seco, se prepara una primera fase combinando una solución que comprende agua, citrato sódico y cloruro de calcio con una solución que comprende agua, base libre de epinefrina y ácido clorhídrico. Se prepara una segunda fase que comprende etanol y uno o más fosfolípidos. Una o ambas soluciones pueden calentarse por separado según sea necesario para asegurar la solubilidad de sus componentes. La primera y segunda fases se combinan en un mezclador estático para formar una combinación. La combinación se atomiza para producir gotas que se secan para formar partículas secas. En una realización, el aparato usado para hacer partículas usadas en la presente invención incluye un mezclador estático (por ejemplo, un mezclador estático como el que se describe más detalladamente en la patente de Estados Unidos N.º 4.511.258, u otros mezcladores estáticos adecuados tal como, pero sin limitación, el modelo 1/4-21, fabricado por Koflo Corporation.) que tiene un extremo de entrada y un extremo de salida. El mezclador estático permite combinar un componente acuoso con un componente orgánico para formar una combinación. Se proporcionan medios para transportar el componente acuoso y el componente orgánico al extremo de entrada del mezclador estático. En un aspecto preferido de este método, los componentes acuoso y orgánico se transportan al mezclador estático sustancialmente a la misma velocidad. Un atomizador está en comunicación fluida con el extremo de salida de la mezcladora estática para atomizar la combinación en forma de gotas. Las gotas se secan para formar partículas secas.

El aparato también puede incluir un medidor del tamaño de las partículas que determina un diámetro geométrico de las partículas secas, y un medidor del tamaño de las partículas aerodinámicas que determina un diámetro aerodinámico de las partículas secas.

Se analizan métodos y aparatos para producir partículas secas en la Solicitud de Patente de Estados Unidos pendiente junto con la presente N.º 2003/0180283 (10/101,563), titulada "Method and Apparatus for Producing Dry Particles", presentada el 20 de marzo de 2002.

Las soluciones de secado por pulverización preparadas como se ha descrito anteriormente se distribuyen a un recipiente de secado a través de un dispositivo de atomización. Por ejemplo, se puede usar una boquilla o un atomizador rotatorio para distribuir las soluciones al recipiente de secado. En una realización preferida, se emplea un atomizador rotatorio, tal como un atomizador rotatorio con álabes. Por ejemplo, se puede usar un atomizador rotatorio que tiene una rueda de 4 o 24 álabes. Los ejemplos de secadores por pulverización adecuados usan atomización rotativa, el Secador de Pulverización Menor Móvil o el Modelo PSD-1, ambos fabricados por Niro, Inc. (Dinamarca).

Las condiciones reales de secado por pulverización variarán dependiendo en parte de la composición de la solución de secado por pulverización y de las velocidades de flujo del material. En algunas realizaciones, la temperatura de entrada al secador por pulverización es de 100 a 200 °C. Preferiblemente, la temperatura de entrada es de 105 a 190 °C.

La temperatura de salida del secador por pulverización variará dependiendo de factores tales como la temperatura de alimentación y las propiedades de los materiales que se están secando. En una realización, la temperatura de salida es de 35 a 80 °C. En otra realización, la temperatura de salida es de 40 a 70 °C.

Opcionalmente, las partículas incluyen una pequeña cantidad de una sal electrolítica fuerte tal como la sal preferida,

cloruro sódico (NaCl). Otras sales que pueden emplearse incluyen fosfato sódico, fluoruro sódico, sulfato sódico y carbonato cálcico. Generalmente, la cantidad de sal presente en las partículas es menor del 10 por ciento en peso, preferiblemente menor del 5 por ciento en peso.

- 5 Las partículas que comprenden, en peso, más del 90 % de un agente, por ejemplo, epinefrina, pueden tener áreas locales de cargas en la superficie de las partículas. Esta carga electrostática en la superficie de las partículas hace que las partículas se comporten de maneras indeseables. Por ejemplo, la presencia de la carga electrostática hará que las partículas se adhieran a las paredes de la cámara de secado por pulverización, o a la tubería que conduce desde el secador por pulverización, o que se adhieran en la cámara de filtros de bolsas, reduciendo de este modo  
10 significativamente el rendimiento porcentual obtenido. Adicionalmente, la carga electrostática puede tender a hacer que las partículas se aglomeren cuando se colocan en un sistema basado en una cápsula. Dispersar estos aglomerados puede ser difícil y eso se puede poner de manifiesto mediante dosis emitidas pobres, fracciones de partículas finas pobres, o ambas. Por otra parte, el empaquetado de las partículas también puede estar afectado por la presencia de una carga electrostática. Las partículas con cargas semejantes, próximas entre sí, se repelerán,  
15 dejando espacios vacíos en el lecho de polvo. Esto da como resultado que una determinada masa de partículas con una carga electrostática ocupa más espacio que una masa dada del mismo polvo sin carga electrostática. En consecuencia, esto limita la dosis superior que se puede administrar en un único receptáculo.

- Sin desear mantenerse en una interpretación particular de la invención, se cree que una sal, tal como NaCl,  
20 proporciona una fuente de contraiones móviles y que los contraiones se asocian con regiones cargadas sobre la superficie de las partículas. Se cree que la adición de una sal pequeña a las partículas que tienen áreas locales de carga en su superficie, reducirá la cantidad de estática presente en el polvo final proporcionando una fuente de contraiones móviles que se asociarían con las regiones cargadas de la superficie. De este modo se mejora el rendimiento del polvo producido, reduciendo la aglomeración del polvo, mejorando la fracción de partículas finas  
25 (FPF) y la dosis emitida de las partículas y permitiendo empaquetar una mayor masa de partículas en un único receptáculo.

- Las partículas de polvo secas que comprenden una catecolamina y métodos para su administración se describen adicionalmente en la Solicitud Provisional de Estados Unidos pendiente junto con la presente N.º 60/366.471,  
30 titulada "Pulmonary Delivery for Levodopa", presentada el 20 de marzo de 2002. Las partículas que contienen epinefrina pueden administrarse por una diversidad de razones incluyendo, pero sin limitación, para estimular la contracción de algunos músculos lisos y/o relajar otros músculos lisos; estimular la frecuencia cardíaca; para aumentar la presión arterial; estimular la glucogenólisis en el hígado y/o el tejido muscular; estimular la lipólisis en el tejido adiposo; tratar la broncoconstricción, el broncoespasmo, la constricción de las vías respiratorias y/o el edema;  
35 y para tratar anafilaxia, choque, enfisema, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis, crup (por ejemplo, postintubación e infeccioso), asma y/o afecciones alérgicas.

- El término "anafilaxia", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una amplia clase de afecciones de hipersensibilidad de tipo inmediato y anafilácticas bien conocidas por los expertos en la técnica incluyendo, pero sin  
40 limitación, reacciones anafilactoides, choque anafiláctico, anafilaxia idiopática, anafilaxia inducida por alérgenos, anafilaxia inducida por ejercicio, anafilaxia dependiente de alimentos inducida por el ejercicio, anafilaxia activa, anafilaxia agregada, anafilaxia antisuero, anafilaxia generalizada, anafilaxia inversa, anafilaxia local, anafilaxia pasiva, anafilaxia inversa y anafilaxia sistémica. Un "episodio" de anafilaxia, como se utiliza en el presente documento, se refiere a una manifestación continua de anafilaxia en un paciente.  
45

- La expresión "sistema respiratorio", como se usa en el presente documento, se refiere al sistema anatómico que realiza la función de respiración, por ejemplo, las vías respiratorias, los pulmones y sus estructuras asociadas. El sistema respiratorio incluye el "tracto respiratorio", como se conoce en la técnica. El sistema respiratorio incluye las vías respiratorias superiores, incluyendo la bucofaringe y la laringe, seguidas de las vías respiratorias inferiores, que  
50 incluyen la tráquea seguida de bifurcaciones en los bronquios y bronquiolos. Las vías respiratorias superiores e inferiores se denominan vías aéreas conductoras. Los bronquiolos terminales se dividen en bronquiolos respiratorios que luego conducen a la última zona respiratoria, los alvéolos o el pulmón profundo.

- Las partículas usadas en la invención pueden usarse para proporcionar administración sistémica y/o local controlada  
55 de epinefrina al sistema respiratorio mediante aerosolización. La administración de las partículas al pulmón por aerosolización permite el suministro de aerosoles terapéuticos de diámetro relativamente grande, por ejemplo, mayores de 5 micrómetros de diámetro medio. Se han mostrado poros o partículas aerodinámicamente ligeras, que tienen un tamaño geométrico (o diámetro medio) en el intervalo de 5 a 30 micrómetros, y una densidad de compactación inferior a 0,4 g/cm<sup>3</sup>, de tal manera que poseen un diámetro aerodinámico de 1 a 3 micrómetros para  
60 mostrar las propiedades ideales para la administración al pulmón profundo. Sin embargo, generalmente se prefieren

diámetros aerodinámicos mayores, que varían, por ejemplo, de 3 a 5 micrómetros, para la administración a las vías aéreas centrales y superiores. Las partículas que tienen un intervalo de diámetros aerodinámicos pueden coadministrarse para administrar epinefrina a una diversidad de sitios en el sistema respiratorio, por ejemplo, para administrar epinefrina tanto a las vías respiratorias como al pulmón profundo.

5

La presente invención también comprende tratar a un paciente que necesita epinefrina, en el que se administra una cantidad eficaz de las partículas sustancialmente secas al sistema respiratorio del paciente, en el que las partículas comprenden epinefrina, o una sal de la misma, y en el que una primera porción de las partículas se deposita en las vías respiratorias del sistema respiratorio y una segunda porción de las partículas se deposita en la región alveolar de los pulmones. En una realización, la primera porción de partículas se deposita en un sitio o en sitios de constricción u obstrucción del sistema respiratorio. Los ejemplos de sitios de constricción u obstrucción incluyen, pero sin limitación, las constricciones de las vías respiratorias superiores, inferiores, o ambas, superior e inferior; sitios de constricción del músculo liso de las vías respiratorias; obstrucciones bronquiales, áreas de inflamación o edema; y constricciones debido espasmo muscular. Las vías respiratorias, como se describen en el presente documento, también incluyen las regiones bucofaringeas y laringeas superiores. Sin quedar sujetos a ninguna teoría en particular, los Solicitantes creen que la epinefrina liberada de la primera porción de partículas, depositada en un sitio o sitios de constricción u obstrucción del sistema respiratorio, puede entrar en la circulación sistémica pero se piensa generalmente que actúa localmente (es decir, por vía tópica en el sitio de la constricción u obstrucción, o en la circulación local). La epinefrina liberada de la segunda porción de las partículas, depositada en la región de los alvéolos de los pulmones, puede actuar localmente (es decir, por vía tópica en el sitio o en la circulación local), pero generalmente se cree que entra en la circulación sistémica. Los Solicitantes creen que la eficacia de las partículas en el tratamiento de un paciente que necesita epinefrina se debe, en parte, a la distribución tanto sistémica como local de epinefrina que se obtiene poniendo en práctica la presente invención. Además, se piensa que la cantidad de partículas depositadas aumentará con la gravedad de la obstrucción o constricción en el sitio de obstrucción o constricción, aumentando así eficazmente la dosis local donde se necesita una dosis mayor de epinefrina. Los Solicitantes también creen que al depositar partículas que contienen epinefrina directamente en los pasos de las vías respiratorias y en los pulmones, las complicaciones respiratorias de la respuesta anafiláctica (por ejemplo, broncoespasmo y edema laríngeo) deben ser tratadas con mayor rapidez y eficacia. Por el contrario, la administración de epinefrina parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, subcutánea y autoinyectada) no logra este componente de administración local.

Se ha demostrado que las concentraciones sistémicas de epinefrina después de la administración subcutánea, intramuscular o por autoinyector son bastante variables. (Véase anteriormente Simons, *et al.*, 2001). Esta variabilidad puede ser una razón subyacente para la respuesta clínica incoherente a la terapia de epinefrina. El coeficiente de variación para la concentración máxima de epinefrina ( $C_{MÁX}$ ) y para el tiempo de concentración máxima de epinefrina ( $T_{MÁX}$ ) en el plasma sanguíneo del paciente es sustancialmente menor tras la administración de las partículas de la presente invención que con epinefrina inyectada por vía intramuscular.

En una realización, el coeficiente de variación (CV) para la concentración máxima de epinefrina,  $C_{MÁX}$ , en el plasma sanguíneo del paciente de una dosis de epinefrina es menor que para una inyección no intravenosa (por ejemplo, subcutánea, intramuscular o por autoinyector) de la misma dosis de epinefrina. En otra realización, el coeficiente de variación (CV) para el tiempo para la concentración máxima de epinefrina,  $T_{MÁX}$ , en el plasma sanguíneo del paciente de una dosis de epinefrina es menor que para una inyección no intravenosa (por ejemplo, subcutánea, intramuscular o por autoinyector) de la misma dosis de epinefrina. Una CV menor de  $T_{MÁX}$  y  $C_{MÁX}$  en plasma puede traducirse en una ventaja terapéutica importante para epinefrina en polvo seco. La disminución de la variabilidad, es decir, la mayor fiabilidad, en la concentración máxima y el tiempo hasta el pico de las concentraciones sistémicas de epinefrina puede dar lugar una mayor coherencia en la respuesta terapéutica y un perfil de seguridad mejorado.

En una realización de la presente invención, la epinefrina  $C_{MÁX}$  resultante en el plasma sanguíneo del paciente es de 2 a 3 veces mayor que la epinefrina  $C_{MÁX}$  en el plasma sanguíneo del paciente que se proporciona por la administración de un aerosol de base líquida, tal como Medihaler, por ejemplo. En una realización, la  $C_{MÁX}$  de epinefrina en el plasma sanguíneo de un paciente proporcionado mediante la administración de un aerosol de base líquida, tal como Medihaler, se determina, por ejemplo, utilizando los métodos descritos en Warren, J.B., et al., "Systemic Adsorption of Inhaled Epinephrine", *Clin. Pharmacol. Ther.*, 40(6):673-78 (1986) y también en Dahlof, C., et al., "Systemic Adsorption of Adrenaline after Aerosol, Eye-drop and Subcutaneous Administration to Healthy Volunteers", *Allergy*, 42:215-21 (1987).

Las propiedades aerodinámicas de una población de partículas se pueden adaptar para dirigirse generalmente a sitios de deposición dentro del sistema respiratorio. Por ejemplo, se pueden producir partículas o se pueden separar de manera que las partículas de una población tengan una fracción de partículas finas alta, inferior a 3,4

micrómetros. Como se analiza en el presente documento, las partículas que tienen una fracción de partícula fina de menos de 3,4 micrómetros son capaces de alcanzar el pulmón profundo, o región de los alvéolos del pulmón. Como alternativa, se pueden producir o separar partículas de manera que una población de partículas tenga una fracción de partícula fina baja, inferior a 3,4 micrómetros. Sin quedar sujetos a ninguna teoría en particular, los Solicitantes creen que las partículas que tienen una fracción de partícula fina inferior de menos de 3,4 micrómetros son más propensas a depositarse en superficies del sistema respiratorio antes de que las partículas alcancen el pulmón profundo.

En otra realización, la presente invención incluye tratar a un paciente que necesita terapia de rescate para anafilaxia que comprende administrar las partículas al sistema respiratorio del paciente, en el que las partículas comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de epinefrina, o una sal de la misma; y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, y donde las partículas se administran al sistema respiratorio y la epinefrina alcanza su sitio de acción dentro de un tiempo suficientemente corto para proporcionar dicha terapia de rescate. El tratamiento incluye la administración al sistema respiratorio de un paciente que necesita partículas de terapia de inicio rápido o de rescate que comprenden una cantidad eficaz de epinefrina. Las partículas se administran al sistema respiratorio y la epinefrina se libera en el torrente sanguíneo del paciente y llega al sitio o sitios de acción de la epinefrina en un intervalo de tiempo que es suficientemente corto para proporcionar la terapia de rescate. Como se usa en el presente documento, "terapia de rescate" significa un suministro rápido a demanda de un fármaco a un paciente para ayudar a reducir o controlar los síntomas de la enfermedad.

La liberación rápida, preferida en el suministro de un medicamento de terapia de rescate, puede obtenerse por ejemplo, incluyendo en las partículas materiales, tales como algunos fosfolípidos, caracterizados por bajas temperaturas de transición de fase. En otra realización, una combinación de partículas de liberación rápida y partículas de liberación controlada permitirá una terapia de rescate acoplado con una liberación más sostenida en un único transcurso de terapia.

También se prefiere generalmente la administración rápida de epinefrina al sitio o sitios de acción. Preferentemente, la cantidad eficaz se suministra en el "primer paso" de la sangre al lugar de acción. El "primer paso" es la primera vez que la sangre transporta el fármaco hasta el interior del órgano o tejido diana desde el punto en que el fármaco pasa del pulmón al sistema vascular. En general, el medicamento se libera en el torrente sanguíneo y se suministra en su sitio o sitios de acción en un periodo de tiempo que es suficientemente breve para proporcionar la terapia de rescate al paciente sometido a tratamiento. En muchos casos, la epinefrina puede alcanzar el órgano o tejido diana en menos de 10 minutos. Preferiblemente, los síntomas del paciente disminuyen o mejoran en cuestión de minutos, por ejemplo, en 5 minutos.

En una realización de la invención, las cinéticas de liberación del medicamento son sustancialmente similares a las cinéticas de liberación del fármaco conseguidas por medio de la vía intravenosa. En otra realización de la invención, la  $T_{MÁX}$  media de epinefrina en el torrente sanguíneo varía de 1 y 10 minutos, preferiblemente la  $T_{MÁX}$  media de epinefrina en el torrente sanguíneo es inferior a 5 minutos. Como se usa en el presente documento, el término " $T_{MÁX}$ " se refiere al momento en el que los niveles sanguíneos alcanzan una concentración máxima, por ejemplo, el tiempo para la concentración máxima de epinefrina en el plasma sanguíneo del paciente. En una realización, el tiempo medio para la concentración máxima de epinefrina en el plasma sanguíneo del paciente de una dosis de epinefrina es menor que para una inyección no intravenosa (por ejemplo, inyección subcutánea, inyección intramuscular y una autoinyección, por ejemplo EpiPen<sup>®</sup>) de la misma dosis de epinefrina.

Preferiblemente, los síntomas del paciente comienzan a mejorar en cuestión de minutos y generalmente no más tarde de 15 minutos. En muchos casos, el inicio medio del efecto epinefrina obtenido mediante la invención, por ejemplo, el inicio medio del efecto obtenido por acción local de la epinefrina, es al menos 2 veces más rápido que el inicio medio del efecto epinefrina obtenido con la administración intramuscular, subcutánea o por autoinyector. El inicio medio del efecto de epinefrina obtenido utilizando la invención puede variar de 2 a 5 veces más rápido que el observado con la administración intramuscular, subcutánea o por autoinyector. En un ejemplo, el inicio medio del efecto de epinefrina obtenido utilizando la invención es de 2 a 5 veces más rápido que el observado con la administración intramuscular, subcutánea o por autoinyector.

También se describe el tratamiento de un paciente que padece anafilaxia, comprendiendo el tratamiento: (a) administrar una cantidad eficaz de las partículas sustancialmente secas al sistema respiratorio del paciente, comprendiendo las partículas epinefrina, o una sal de la misma; (b) controlar al paciente; y (c) administrar epinefrina adicional al paciente. La cantidad eficaz de partículas sustancialmente secas se administra por inhalación. En general, el paciente se controla para determinar la reducción de anafilaxia, por ejemplo, si se restablece la facilidad de respiración, se reduce la constricción, etc. La epinefrina adicional se puede administrar por inyección

intramuscular, inyección subcutánea o autoinyección o puede administrarse por inhalación de partículas sustancialmente secas. En una realización, las partículas o epinefrina adicional son autoadministradas, es decir, administradas por el paciente. En otra realización, las partículas o la epinefrina adicional se administran fuera de la supervisión directa de un profesional de la salud, por ejemplo, un médico o enfermera. Por ejemplo, las partículas o la epinefrina adicional pueden ser administradas por el paciente o por alguien que no sea el paciente. En una realización, la epinefrina adicional se administra al paciente si los síntomas de la anafilaxia continúan sustancialmente sin disminuir durante al menos aproximadamente 5 a aproximadamente 30 minutos.

La expresión "sustancialmente disminuido", tal como se aplica a los síntomas clínicos en el presente documento, se refiere a la reducción de los síntomas clínicos de tal manera que el tratamiento adicional es típicamente innecesario para conseguir el efecto terapéutico deseado. La expresión "sustancialmente no disminuido", como se aplica a los síntomas clínicos en el presente documento, se refiere a la falta de reducción de los síntomas clínicos de tal forma que el tratamiento adicional es típicamente necesario para lograr el efecto o efectos terapéuticos deseados.

En otra realización, la presente invención está dirigida al tratamiento de un paciente que necesita epinefrina, comprendiendo el tratamiento: (a) administrar una cantidad eficaz de una primera masa de las partículas sustancialmente secas al sistema respiratorio del paciente, comprendiendo las partículas epinefrina, o una sal de la misma; y (b) posteriormente, administrar una cantidad eficaz de una segunda masa de las partículas sustancialmente secas al sistema respiratorio del paciente, comprendiendo las partículas epinefrina, o una sal de la misma. En algunos aspectos, los tratamientos descritos en el presente documento comprenden además la administración de al menos una cantidad adicional más eficaz de partículas sustancialmente secas al sistema respiratorio de un paciente. Por ejemplo, se administran una segunda, tercera, cuarta, quinta, sexta o séptima cantidad de partículas sustancialmente secas al sistema respiratorio de un paciente según sea necesario para lograr el efecto o efectos terapéuticos deseados.

En una realización, el paciente que necesita epinefrina experimenta anafilaxia. Preferiblemente, la cantidad eficaz de partículas sustancialmente secas se administra mientras el paciente experimenta síntomas de anafilaxia, por ejemplo, antes de que los síntomas de la anafilaxia hayan disminuido sustancialmente. En un aspecto, la cantidad o cantidades eficaces de partículas sustancialmente secas se administran durante un solo episodio de anafilaxia. En otro aspecto, la cantidad eficaz de partículas sustancialmente secas se administra mientras el paciente experimenta al menos una de las afecciones seleccionadas del grupo que consiste en broncoconstricción, broncoespasmo, constricción de las vías respiratorias y edema. En algunas realizaciones, la cantidad o cantidades eficaces de partículas sustancialmente secas se administran dentro de 72, 48, 36, 24, 12 o 6 horas de administración de la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas, por ejemplo, en 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, o 0,25 horas de administración de la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas, por ejemplo, se administra la cantidad eficaz de la segunda masa de partículas sustancialmente secas en aproximadamente 30 minutos de la administración de la cantidad efectiva de la primera masa de partículas sustancialmente secas. Aún en otras realizaciones, la cantidad o cantidades eficaces de partículas sustancialmente secas se administran al menos aproximadamente en 0,5, 1, 2, 3, 4, o aproximadamente 5 minutos después de la administración inmediatamente anterior de partículas sustancialmente secas, por ejemplo, la cantidad eficaz de la segunda masa de partículas sustancialmente secas se administran al menos aproximadamente 5 minutos después de la administración de la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas. En otras realizaciones, la cantidad o cantidades eficaces de partículas sustancialmente secas se administran al menos aproximadamente 10, 15, 20, 25 o aproximadamente 30 minutos después de la administración inmediatamente anterior de partículas sustancialmente secas.

También se describe un método para tratar un paciente que padece anafilaxia, que comprende: (a) administrar una cantidad eficaz de una primera masa de partículas sustancialmente secas al sistema respiratorio del paciente, comprendiendo las partículas epinefrina, o una sal de la misma; y (b) posteriormente, administrar una cantidad eficaz de una segunda masa de partículas sustancialmente secas al sistema respiratorio del paciente, comprendiendo las partículas epinefrina, o una sal de la misma; donde la primera y segunda masas de partículas sustancialmente secas comprenden (a) del 11 al 21 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; (b) del 62 al 82 por ciento en peso de leucina; y (c) del 7 al 17 por ciento en peso de tartrato sódico. Como alternativa, sólo una de las primera y segunda masas de partículas sustancialmente secas comprende (a) del 11 al 21 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; (b) del 62 al 82 por ciento en peso de leucina; y (c) del 7 al 17 por ciento en peso de tartrato sódico.

En una realización, la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas comprende 250 a 750, 350 a 650, 450 a 550, o 500 microgramos de epinefrina. En otra realización, la cantidad eficaz de la segunda masa de partículas sustancialmente secas comprende de 250 a 750, 350 a 650, 450 a 550, o 500 microgramos de epinefrina. En aún otra realización, tanto la primera como la segunda masa de partículas sustancialmente secas

comprenden 250 a 750, 350 a 650, 450 a 550, o 500 microgramos de epinefrina. Por ejemplo, en una realización, la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas comprende 500 microgramos de epinefrina, la cantidad eficaz de la segunda masa de partículas sustancialmente secas comprende 500 microgramos de epinefrina, y la cantidad eficaz de la segunda masa de partículas sustancialmente secas se administra de 10 a 20 minutos después de la administración de la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas.

En algunas realizaciones, la primera o segunda masa de partículas sustancialmente secas comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. Como alternativa, tanto la primera como la segunda masas de partículas sustancialmente secas comprenden además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, una o ambas de la primera y segunda masa de partículas sustancialmente secas comprenden epinefrina, o una sal de la misma, y leucina. En otro aspecto, una o ambas de la primera y segunda masas de partículas sustancialmente secas comprenden además un ácido carboxílico, o una sal del mismo, tal como, por ejemplo, tartrato, o una sal del mismo. Por ejemplo, cualquiera de las dos primeras o segundas masas de partículas sustancialmente secas comprende (a) del 11 al 21 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina; (b) del 62 al 82 por ciento en peso de leucina; y (c) del 7 al 17 por ciento en peso de tartrato sódico.

Como se describe en el presente documento, la administración de partículas al sistema respiratorio son por medios tales como los conocidos en la técnica. Por ejemplo, una o ambas de la primera y segunda masas de partículas sustancialmente secas se administran a través de un inhalador activado por respiración. La invención comprende además la administración de una o ambas de la primera y segunda masas de partículas sustancialmente secas en etapas activadas por una única respiración. En una realización, una cantidad eficaz de una primera masa de partículas sustancialmente secas y cantidades eficaces posteriores de partículas sustancialmente secas se administran por medio de dispositivos de inhalación separados. Por ejemplo, la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas y una cantidad eficaz de una segunda masa de partículas sustancialmente secas se administran por medio de dispositivos de inhalación separados. Como alternativa, la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas y las cantidades eficaces posteriores de partículas sustancialmente secas se administran a través de un único dispositivo de inhalación. En otra realización, la masa o masas de partículas sustancialmente secas se administran a través de un dispositivo de inhalación multidosis, tal como cuando una o ambas de la primera y segunda masas de partículas sustancialmente secas se administran a través de un dispositivo de inhalación multidosis. Por ejemplo, la cantidad eficaz de la primera masa de partículas sustancialmente secas y la cantidad eficaz de la segunda masa de partículas sustancialmente secas se administran a través de un dispositivo de inhalación multidosis.

En las realizaciones preferidas, la administración de las partículas de la presente invención da como resultado una eficacia terapéutica que se aproxima o excede la duración y/o magnitud de la observada tras la administración de otras formulaciones de epinefrina tales como, por ejemplo, formulaciones para inyección intravenosa (IV), inyección intramuscular (IM), inyección subcutánea, autoinyección (por ejemplo, EpiPen<sup>®</sup>), o inhalación de aerosol líquido. En una realización, la epinefrina en polvo seco es al menos tan eficaz para la administración de epinefrina (por ejemplo, administración para el tratamiento de anafilaxia) como son las formulaciones de epinefrina para inyección intravenosa (IV), inyección intramuscular (IM), inyección subcutánea, autoinyección (por ejemplo, EpiPen<sup>®</sup>), o inhalación de aerosol líquido.

Las partículas pueden fabricarse para reducir la aglomeración de partículas y mejorar la fluencia del polvo. Las partículas secadas mediante pulverización tienen propiedades de aerosolización mejoradas. Las partículas secadas por pulverización pueden fabricarse con características que mejoran la aerosolización por medio de dispositivos de inhalador de polvo seco, y conducen a un menor depósito en la boca, la garganta y el dispositivo inhalador. Como alternativa, se pueden fabricar partículas secadas por pulverización con características que mejoran la aerosolización a través de dispositivos inhaladores de polvo seco y conducen a la deposición en sitios de obstrucción o congestión, así como deposición en la región alveolar de los pulmones.

La expresión "cantidad eficaz", como se utiliza en el presente documento, se refiere a la cantidad de agente necesaria para conseguir el efecto o la eficacia deseados. Las cantidades eficaces reales de fármaco pueden variar de acuerdo con la composición particular formulada, el modo de administración, y la edad, peso, estado del paciente y gravedad de los síntomas o afección que se están tratando. Las dosificaciones para un paciente en particular pueden determinarse por un experto en la técnica usando consideraciones convencionales, por ejemplo, por medio de un protocolo farmacológico apropiado.

Las partículas utilizadas en la invención pueden emplearse en composiciones adecuadas para la administración de fármacos a través del sistema respiratorio. Por ejemplo, dichas composiciones pueden incluir las partículas y un soporte farmacéuticamente aceptable para la administración a un paciente, por medio de inhalación. Las partículas

pueden suministrarse de forma conjunta con partículas de soporte más grandes, sin incluir un agente terapéutico, donde el último posee diámetros medios en masa por ejemplo en el intervalo entre 50 y 100 micrómetros. Las partículas pueden administrarse en solitario o en cualquier soporte farmacéuticamente aceptable apropiado, por ejemplo, un polvo, para la administración al sistema respiratorio.

5

La invención también se refiere a la administración al sistema respiratorio de un sujeto, de partículas y/o composiciones que contienen las partículas de la invención, que pueden estar encerradas en un receptáculo. Como se usa en el presente documento, el término "receptáculo" incluye, aunque sin limitarse a, por ejemplo una cápsula, un envase blíster, un pocillo contenedor recubierto con película, una cámara y otro medio adecuado para almacenar partículas, un polvo o una composición respirable en un dispositivo de inhalación conocido por los expertos en la técnica.

En una realización preferida, el receptáculo se usa en un inhalador de polvo seco. Los ejemplos de inhaladores de polvo seco que pueden emplearse en los métodos de la invención incluyen, pero sin limitación, los inhaladores descritos en la Patente de Estados Unidos 4.995.385 y 4.069.819, Spinhaler<sup>®</sup> (Fisons, Loughborough, Reino Unido), Rotahaler<sup>®</sup> (GlaxoSmithKline, Research Triangle Technology Park, North Carolina), FlowCaps<sup>®</sup> (Hovione, Loures, Portugal), Inhalator<sup>®</sup> (Boehringer-Ingelheim, Alemania), Aerolizer<sup>®</sup> (Novartis, Suiza), Diskhaler<sup>®</sup> (GlaxoSmithKline, RTP, NC), Diskus<sup>®</sup> (GlaxoSmithKline, RTP, NC) y otros conocidos por los expertos en la técnica. En una realización, el inhalador empleado se describe en la solicitud de patente de Estados Unidos N.º 2004/0011360 (09/835,302), titulada "Inhalation Device and Method", presentada el 16 de abril de 2001.

Los receptáculos pueden ser cápsulas, por ejemplo, cápsulas designadas con un tamaño de cápsula particular, tal como un tamaño de 2. Las cápsulas adecuadas se pueden obtener, por ejemplo, de Shionogi (Rockville, MD). Los receptáculos pueden ser blísteres. Los envases blíster se pueden obtener, por ejemplo, de Hueck Folls, (Wall, NJ). Otros receptáculos y otros volúmenes de los mismos, adecuados para usar en la presente invención, son conocidos para los expertos en la técnica.

El receptáculo encierra o almacena partículas y/o composiciones respirables que comprenden partículas. En una realización, las partículas y/o composiciones respirables que comprenden partículas están en forma de un polvo. El recipiente está lleno de partículas y/o composiciones que comprenden partículas. Por ejemplo, pueden utilizarse tecnologías de llenado al vacío o de apisonamiento. Generalmente, el llenado del recipiente con polvo puede llevarse a cabo por métodos conocidos en la técnica. En una realización de la invención, las partículas, polvo o composición respirable que está encerrada o almacenada en un receptáculo tiene una masa de al menos 1,0 mg. Preferiblemente, la masa de las partículas o composiciones respirables almacenadas o encerradas en el receptáculo es al menos 5,0 miligramos o, como alternativa, la masa de las partículas o composiciones respirables almacenadas o encerradas en el receptáculo es de hasta 10, 20, 25, 30 o 50 miligramos. Generalmente, el receptáculo y los inhaladores se utilizan en un intervalo de temperatura de 5 a 35 °C y del 15 al 85 % de humedad relativa.

En una realización de la invención, el receptáculo encierra una masa de partículas, especialmente una masa de partículas altamente dispersables como se describe en el presente documento. La masa de partículas comprende una dosis nominal de una epinefrina. Como se usa en el presente documento, la expresión "dosis nominal" significa la masa total de epinefrina que está presente en la masa de partículas en el receptáculo y representa la cantidad máxima de epinefrina disponible para administración en una sola respiración. En algunas realizaciones, las partículas de polvo seco administradas a un paciente en una sola inhalación comprenden al menos 50, 100, 150, 200 o 250 microgramos de epinefrina. En otras realizaciones, las partículas de polvo seco administradas a un paciente en una sola inhalación comprenden 50 microgramos a 5 miligramos o 250 microgramos a 5 miligramos de epinefrina. Preferiblemente, las partículas de polvo seco administradas a un paciente en una sola inhalación comprenden de 200 microgramos a 3 miligramos o de 250 microgramos a 1 miligramo de epinefrina.

Las partículas y/o composiciones respirables que comprenden partículas se almacenan o encierran en los receptáculos y se administran al sistema respiratorio de un sujeto. Como se usa en el presente documento, los términos "administración" o "administrar" partículas y/o composiciones respirables se refieren a la introducción de partículas en el sistema respiratorio de un sujeto.

Se entiende que las partículas y/o composiciones respirables que comprenden las partículas usadas en la invención que se pueden administrar al sistema respiratorio de un sujeto también incluyen vehículos farmacéuticamente aceptables, como se conoce bien en la técnica. La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se utiliza en el presente documento, se refiere a un vehículo que puede administrarse al sistema respiratorio de un paciente sin efectos toxicológicos adversos significativos. Los vehículos farmacéuticamente aceptables apropiados incluyen aquellos típicamente usados para terapia de inhalación (por ejemplo, lactosa) e incluyen vehículos

farmacéuticamente aceptables en forma de un líquido (por ejemplo, solución salina) o un polvo (por ejemplo, un polvo en partículas). En una realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende partículas que tienen un diámetro medio que varía de 50 a 100 micrómetros, y en particular partículas de lactosa en este intervalo de tamaños. Se entiende que los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente vehículos farmacéuticamente aceptables apropiados para su uso en la administración, acompañamiento y/o co-distribución de las partículas de la invención.

Las partículas y/o composiciones respirables que comprenden partículas, se administran en una única etapa activada por respiración. Como se utilizan en el presente documento, las expresiones "activada por la respiración" y "accionada por la respiración" se usan indistintamente. Como se usa en el presente documento, "una única etapa activada por la respiración" significa que las partículas se dispersan e inhalan en una única etapa. Por ejemplo, en dispositivos individuales de inhalación activados por la respiración, la energía de la inhalación del sujeto dispersa las partículas y las lleva a la cavidad oral o nasofaríngea. Suitable Los inhaladores adecuados que son inhaladores individuales accionados por la respiración que se pueden emplear en la invención incluyen, pero sin limitación, inhaladores de polvo secos sencillos descritos en las Patentes de Estados Unidos 4.995.385 y 4.069.819, Spinhaler<sup>®</sup> (Fisons, Loughborough, Reino Unido), Rotahaler<sup>®</sup> (GlaxoSmithKline, Research Triangle Technology Park, North Carolina), FlowCaps<sup>®</sup> (Hovione, Loures, Portugal), Inhalator<sup>®</sup> (Boehringer-Ingelheim, Alemania), Aerolizer<sup>®</sup> (Novartis, Suiza), Diskhaler<sup>®</sup> (GlaxoSmithKline, RTP, NC), Diskus<sup>®</sup> (GlaxoSmithKline, RTP, NC) y otros, tales como los conocidos por los expertos en la técnica. En una realización, el inhalador empleado se describe en la solicitud de patente de Estados Unidos N.º 2004/0011360 (09/835,302), titulada "Inhalation Device and Method", presentada el 16 de abril de 2001. En otra realización, una dosis de epinefrina está contenida en un inhalador de uso único (por ejemplo, uno desechable).

La administración en una "única respiración" puede incluir administración activada por una única respiración, pero también administración durante la cual las partículas, composiciones respirables o polvos se dispersan primero, seguido de la inhalación o inspiración de las partículas dispersadas, composiciones respirable o polvos. En el último modo de administración, la energía adicional distinta de la energía suministrada por la inhalación del sujeto dispersa las partículas. Un ejemplo de un solo inhalador por respiración que emplea energía distinta de la energía generada por la inhalación del paciente es el dispositivo descrito en la Patente de Estados Unidos N.º 5.997.848 expedida a Patton, et al., el 7 de diciembre de 1999.

En una realización preferida, el receptáculo que encierra las partículas, las composiciones respirables que comprenden partículas o polvo se vacía en una única etapa activada por la respiración. En otra realización preferida, el receptáculo que encierra las partículas se vacía en una sola inhalación. Como se usa en el presente documento, el término "vaciado" significa que al menos aproximadamente el 50 % de la masa de partículas encerrada en el receptáculo es emitida desde el inhalador durante la administración de las partículas al sistema respiratorio del sujeto. Esto también se llama una "dosis emitida". En una realización, la masa de partículas emitidas es mayor de aproximadamente el 60 % de la masa de partículas encerrada en el receptáculo. Como alternativa, se emite más de aproximadamente el 70 o aproximadamente el 80 % de la masa de partículas encerrada en el receptáculo. En otra realización, se emite de aproximadamente el 50 a aproximadamente el 90 % de la masa de partículas encerrada en el receptáculo, tal como, por ejemplo, de aproximadamente el 80 a aproximadamente el 90 % de la masa de partículas encerrada en el receptáculo.

El suministro al sistema pulmonar de partículas en una única etapa activada por respiración se mejora empleando partículas que se dispersan a energías relativamente bajas, como, por ejemplo, a las energías suministradas normalmente por la inhalación de un sujeto. Dichas energías se refieren en la presente memoria descriptiva como "bajas". Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, "administración de baja energía" se refiere a la administración en que la energía aplicada para dispersar e inhalar las partículas está en el intervalo suministrado normalmente por un sujeto durante la inhalación.

Las partículas utilizadas en la presente invención son preferiblemente altamente dispersables. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "partículas o polvos altamente dispersables" se refiere a partículas o polvos que pueden dispersarse mediante un dispersor de polvo seco RODOS (o técnica equivalente) de modo que a 1 bar, las partículas del polvo seco se emiten desde el orificio RODOS con diámetros geométricos, medidos por un HELOS u otro sistema de difracción láser, que son menores de 1,5 veces el tamaño de partícula geométrica según se mide a 4 bares. Los polvos altamente dispersables tienen una baja tendencia a aglomerarse, agregarse o agruparse juntos y/o, si se aglomeran, se agregan o se agrupan entre sí, se dispersan o se desaglomeran fácilmente a medida que se emiten desde un inhalador y son inhalados por el sujeto. Típicamente, las partículas altamente dispersables adecuadas en los métodos de la invención presentan una agregación muy baja en comparación con polvos micronizados estándar que tienen diámetros aerodinámicos similares y que son adecuados para su administración al

sistema pulmonar. Las propiedades que mejoran la dispersabilidad incluyen, por ejemplo, carga de partícula, rugosidad superficial, química superficial y diámetros geométricos relativamente grandes. En una realización, debido a que las fuerzas de atracción entre partículas de un polvo varían (para una masa de polvo constante) inversamente con el cuadrado del diámetro geométrico y la fuerza de cizallamiento observada por una partícula aumenta con el cuadrado del diámetro geométrico, la facilidad de dispersabilidad de un polvo está en el orden del inverso del diámetro geométrico elevado a la cuarta potencia. El aumento en el tamaño de las partículas reduce las fuerzas de adhesión entre partículas. (Visser, J., Powder Technology, 58:1-10 (1989)). Por lo tanto, el tamaño de partícula grande, todas las otras cosas equivalentes, aumenta la eficacia de la aerosolización a los pulmones para partículas de baja densidad de masa de envoltura. El aumento de las irregularidades superficiales y la rugosidad también pueden aumentar la dispersabilidad de las partículas. La rugosidad superficial puede expresarse, por ejemplo, por rugosidad.

Las partículas adecuadas para su uso en la invención pueden viajar a través de las vías respiratorias superiores (es decir, la bucofaringe y la laringe), las vías respiratorias inferiores, que incluyen la tráquea seguida de bifurcaciones en los bronquios y bronquiolos, y a través de los bronquiolos terminales que a su vez se dividen en bronquiolos respiratorios que conducen entonces a la última zona respiratoria, los alvéolos o el pulmón profundo. En una realización de la invención, la mayor parte de la masa de partículas se deposita en el pulmón profundo. En otra realización de la invención, la administración es principalmente a las vías aéreas centrales. En otra realización, la administración es a las vías aéreas superiores.

El término "dosis" de agente se refiere a la cantidad que proporciona efecto terapéutico, profiláctico o de diagnóstico en un régimen de administración. Una dosis puede consistir en más de un accionamiento de un dispositivo inhalador. En una realización, una dosis de epinefrina está contenida en un inhalador de uso único (por ejemplo, uno desechable). El número de actuaciones de un dispositivo inhalador por parte de un paciente no es crítico para la invención y puede variarse por el médico que supervisa la administración.

Un régimen de dosificación preferido inducirá una respuesta adrenérgica que es similar en magnitud a la observada con epinefrina inyectada, pero tiene un comienzo de acción similar o más rápido y una variabilidad más baja (por ejemplo, un coeficiente de variación más bajo). La epinefrina intramuscular (300 microgramos) se selecciona preferiblemente como referencia ya que es 1) la dosis más comúnmente utilizada para el tratamiento ambulatorio para el tratamiento de la anafilaxia de emergencia en Europa y Estados Unidos, 2) está apoyada por datos empíricos, y 3) está dentro de las directrices de tratamiento actual de la anafilaxia.

Los modelos que describen la relación entre la dosis y la respuesta proporcionan información clínicamente útil con respecto al efecto del fármaco y al cambio de este efecto con el tiempo. Se pueden construir modelos matemáticos para describir la relación dosis-respuesta para los parámetros farmacodinámicos (PD) clave (por ejemplo, presión sanguínea, potasio sérico, función pulmonar, ritmo cardíaco) después de la epinefrina inhalada e inyectada. Los enfoques de modelado incluyen modelos de respuesta directa (por ejemplo,  $E_{MAX}$  lineal, sigmoidea) e indirecta. Para algunos parámetros, el modelo puede ampliarse para incluir relaciones concentración-respuesta dependiendo del nivel de información disponible.

La dosificación de aerosol, las formulaciones y los sistemas de administración pueden seleccionarse para una aplicación terapéutica particular, como se describe, por ejemplo, en Gonda, I. "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract", en Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6:273-313 (1990); y en Moren, "Aerosol Dosage Forms and Formulations", en Aerosols in Medicine, Principles, Diagnosis and Therapy, Moren, et al., Eds., Elsevier, Amsterdam (1985).

## EJEMPLIFICACIÓN

A continuación se enumeran los materiales utilizados en la siguiente Ejemplificación y sus fuentes. Se obtuvieron bitartrato de epinefrina, clorhidrato de epinefrina y la base libre de epinefrina (cada grado USP) en Boehringer Ingelheim (Petersburgo, VA). Se adquirieron leucina, citrato sódico dihidrato, cloruro de calcio dihidrato y tartrato sódico dihidrato en Spectrum Quality Products, Inc. (Gardena, CA). Se obtuvo 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfolina (DPPC) (dipalmitoilfosfatidilcolina) de Avanti Polar Lipids, Inc. (Alabaster, AL).

Los métodos usados en los siguientes Ejemplos se describen a continuación bajo los títulos apropiados.

**Diámetro aerodinámico.** El diámetro aerodinámico medio en masa (MMAD) se determinó usando un API AeroDispenser, Modelo 3230, y un Aerosizer, Modelo 3225 (TSI, Inc., St. Paul, MN) usando los siguientes procedimientos. Se introdujeron aproximadamente 0,5 miligramos de polvo de muestra y se dispersaron en el

AeroDisperser con una fuerza de cizallamiento de 0,5 psi y luego se aceleró a través de una boquilla en el Aerosizer. Se realizó una medida del tiempo de vuelo directo de cada partícula en el Aerosizer, que dependía de la inercia de cada partícula. Se obtuvo una distribución del tiempo de vuelo y después se tradujo en una distribución de tamaños de partículas aerodinámicas basada en la masa usando un equilibrio de fuerzas basado en la ley de Stokes.

5

**Diámetro geométrico.** El diámetro geométrico medio volumétrico (DGMV) se determinó usando una técnica de difracción láser. El equipo consistía en un difractómetro HELOS y un dispersor RODOS (Sympatec, Inc., Princeton, NJ). El dispersor RODOS aplica una fuerza de cizallamiento a una muestra de partículas, controlada por la presión del regulador (ajustada a 1,0 bar con la presión del anillo de orificio establecida a 7 mbar) del polvo seco comprimido entrante. La muestra de polvo se dispensa desde una microespátula al interior del embudo RODOS. Las partículas dispersadas se desplazan a través de un haz de láser donde el patrón de luz difractada resultante producido es recogido por una serie de detectores. A continuación se traduce el patrón de difracción conjunto a una distribución de tamaños de partículas basada en el volumen usando el modelo de difracción de Fraunhofer, sobre la base de que las partículas más pequeñas difractan la luz en ángulos mayores.

15

**Fracción de partículas finas.** Las propiedades aerodinámicas de los polvos dispersados a partir del dispositivo inhalador se evaluaron con un impactador en cascada MkII Anderson en 2 fases (Anderson Instruments, Inc., Smyrna, GA). El instrumento funcionó en condiciones ambientales controladas de 18 a 25 °C y humedad relativa (HR) entre el 20 y el 40 %. El instrumento consiste en dos fases que separan las partículas del aerosol según su diámetro aerodinámico. En cada fase, la corriente de aerosol pasa a través de un conjunto de boquillas e incide en una placa de impactación correspondiente. Las partículas que tienen una inercia suficientemente pequeña continuarán en la corriente de aerosol hasta la fase siguiente, mientras que las partículas restantes impactarán contra la placa. En cada fase sucesiva, el aerosol pasa a través de las boquillas a mayor velocidad y en la placa se recogen partículas aerodinámicamente más pequeñas. Después de que el aerosol pasa a través de la fase final, un filtro recoge las partículas más pequeñas que aún quedan.

20

Esta técnica de impactación permitió la recogida de dos fracciones de polvo separadas. Las cápsulas se llenaron con 10 mg de polvo y se colocaron dentro de un dispositivo inhalador. El caudal de polvo seco se ajustó a 60 l/min, donde los diámetros de corte calibrados para las dos fases eran 5,6 micrómetros y 3,4 micrómetros. El instrumento funcionó durante 2 segundos. Las fracciones se recogieron colocando dos filtros en el aparato y determinando la cantidad de polvo que les impactaba mediante mediciones gravimétricas. Los resultados se presentan como la fracción de partículas finas de menos de 5,6 micrómetros (FPF <5,6 micrómetros) y la fracción de partículas finas de menos de 3,4 micrómetros (FPF <3,4 micrómetros).

30

Como alternativa, se montó un impactador en cascada Andersen de 3 fases (ACI) (Andersen Instruments, Inc., Smyrna, GA) con tamices y se usó para determinar la fracción de partículas finas. Se usaron ACI de fases 0, 2 y 3 con diámetros de corte eficaces de 9,0, 4,7 y 3,3 micrómetros (a un caudal de  $28,3 \pm 2$  l/min) en el aparato. Cada fase comprendía una placa de impactación, una tamiz y una placa de chorro. Los tamices utilizados fueron laminados Dynapore sinterizado de 5 capas con poros de acero inoxidable de 150 micrómetros (Martin Kurz & Co, Inc., Mineola, NY). Los tamices se aclararon con metanol, se dejaron secar y después se sumergieron en agua de calidad HPLC y se colocaron inmediatamente en las placas de impactación sólidas del instrumento. Como medio filtrante del instrumento se utilizó un filtro de fibra de vidrio de 81 mm pesado previamente (Anderson Instruments, Inc., Smyrna, GA).

40

Se realizaron experimentos de impacto en cascada Andersen de tres fases de 18 a 25 °C y del 20 al 40 % de HR. El caudal de aire a través del instrumento se calibró a  $28,3 \pm 2$  l/min. Se llenó una cápsula con polvo y se colocó dentro de un dispositivo inhalador. Después, la cápsula se perforó usando el inhalador y se colocó en un adaptador de boquilla en el ACI. Se activó una bomba de aire durante aproximadamente 4,2 segundos para extraer el polvo de la cápsula. El ACI se desmontó y el filtro de fibra de vidrio se pesó. Se determinó una fracción de partículas finas (FPF) inferior a 3,3 micrómetros dividiendo la masa de polvo depositada sobre el filtro por la masa total de polvo cargada en la cápsula.

50

La Tabla A describe la composición y los porcentajes en peso de las formulaciones de epinefrina en polvo seco descritas en el presente documento.

55

**Tabla A:** Composición de partículas

Formulación	Composición	Relación en peso
I	DPPC:citrato sódico:cloruro cálcico:base libre de epinefrina	60:20:10:10
II	DPPC:citrato sódico:cloruro cálcico:base libre de epinefrina	65:20:10:5
III	DPPC:citrato sódico:cloruro cálcico:bitartrato de epinefrina	61:20:10:9
IV	DPPC:citrato sódico:cloruro cálcico:clorhidrato de epinefrina	58:20:10:12
V	Leucina:sacarosa:base libre de epinefrina	84:15:1
VI	Leucina:sacarosa:bitartrato de epinefrina	76:15:9
VII	DPPC:citrato sódico:cloruro cálcico:base libre de epinefrina	69:20:10:1
IX	Leucina:bitartrato de epinefrina	82:18
X	Leucina:bitartrato de epinefrina	91:9
XI	Leucina:bitartrato de epinefrina:tartrato sódico	72:16:12

**Ejemplo 1**

5 Este ejemplo describe la preparación de partículas que tienen la composición de la formulación I, 60 por ciento en peso de DPPC, 20 por ciento en peso de citrato sódico, 10 por ciento en peso de cloruro cálcico, y 10 por ciento en peso de base libre de epinefrina.

Se preparó una fase acuosa añadiendo 0,23 g de citrato sódico dihidrato, 0,13 g de cloruro de calcio dihidrato, y 0,1 g de epinefrina libre de base a 300 ml de agua. Se preparó una fase orgánica añadiendo 0,6 g de DPPC a 700 ml de etanol. Las fases acuosa y orgánica se combinaron para producir una solución de secado por pre-pulverización de 1 litro de volumen total de 70/30 (v/v) de solución de etanol/solución acuosa con una concentración de soluto de 1 g/l. Después, la solución mixta en lotes se secó por pulverización. El gas de proceso, nitrógeno calentado, se introdujo a una velocidad controlada de 38 mm de agua (aproximadamente igual a 98 kg/h) en la parte superior de un secador de pulverización Niro Modelo PSD-1. La temperatura de entrada del secador de pulverización fue de 115 °C y la temperatura de salida fue de 45 °C. El punto de rocío se controló y se ajustó a -25 °C. La solución se atomizó con un atomizador giratorio V24 girando a una velocidad de 20.000 rpm. Las partículas salieron de la cámara de secado con el gas de proceso y entraron en un ciclón aguas abajo. El gas de proceso salió de la parte superior del ciclón y se dirigió al sistema de escape. Las partículas porosas se recuperaron de un recipiente de recogida de polvo en el fondo del ciclón como partículas de polvo seco.

**Ejemplo 2**

Este ejemplo describe la caracterización de dos lotes separados de polvos secos de Formulación I, preparados como se describe en el Ejemplo 1.

Las propiedades físicas de las partículas obtenidas en dos lotes separados (Formulación IA e IB) se resumen en la Tabla B. La fracción de partículas finas (FPF) según se mide por un impactador en cascada Andersen de 2 fases, una técnica de dimensionamiento aerodinámico *in vitro*, fue de un 56,3 % promedio para FPF inferior a 5,6 micrómetros y un 27,1 % para FPF inferior a 3,4 micrómetros. El tamaño aerodinámico también se midió con un Aerosizer. El valor medio del diámetro aerodinámico medio en masa (MMAD) fue de 2,408 micrómetros. El tamaño geométrico se determinó por difracción láser y el valor medio para el diámetro geométrico medio en volumen (DGMV) a una presión de 1 bar fue de 10,2 micrómetros. Además, el polvo mostró un comportamiento relativamente independiente del caudal como se puede ver en la Figura 2 y de la relación de DGMV medido a 0,5 bar con respecto al DGMV medido a 4,0 bar como se muestra en la Tabla B.

**Tabla B:** Resumen de las propiedades físicas de dos lotes de partículas

Formulación:	I-A	I-B
FPF menos de 5,6 micrómetros	55,3	57,3
FPF menos de 3,4 micrómetros	24,4	31,7
DGMV a 1 bar (micrómetros)	9,7	10,7
Proporción DGMV a 0,5 bar/4 bar	1,34	1,57

<b>MMAD (micrómetros)</b>	2,594	2,222
---------------------------	-------	-------

**Propiedades químicas.** Se utilizó cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC) para obtener el contenido de epinefrina del polvo y un perfil de impurezas. Además, el contenido de agua se midió por coulométrico Karl-Fischer. Las mediciones para los dos lotes de partículas se resumen en la Tabla C.

5

**Tabla C:** Resumen de las propiedades químicas de dos lotes de partículas

Formulación	% de carga	% de contenido de agua	Impurezas
I-A	8,3	7,0	Ninguna
I-B	6,2	5,6	Ninguna

*Todos los porcentajes en peso*

**Método de HPLC.** La solución madre estándar interna se preparó pesando 200 mg de 3,4-dihidroxibencilamina y disolviéndola en 100 ml de la fase móvil de HPLC (metanol al 2,5% y solución acuosa al 97,5 % de 10,5 g/l de ácido cítrico, 20 mg/l de EDTA y 20 mg/l de sal de sodio del ácido 1-octanosulfónico monohidrato). El patrón estándar madre de epinefrina se preparó pesando 100 mg de epinefrina y disolviéndola en 100 ml de la fase móvil de HPLC. El patrón estándar madre de epinefrina se diluyó entonces en metanol para obtener ocho diluciones que variaban de 1 a 100 mg/ml. Cada patrón diluido se enriqueció con un volumen igual del patrón interno madre.

15 Las muestras se prepararon disolviendo 5 mg de las muestras de epinefrina en polvo seco en 2 ml de metanol. Se añadió 1 ml de la solución madre estándar interna y se llevó el volumen a 10 ml con metanol.

Como alternativa, el patrón madre de epinefrina se preparó pesando 100 mg de epinefrina y disolviéndolo en 100 ml de metanol acidificado. El patrón madre de epinefrina se diluyó entonces en metanol para obtener diluciones que variaban de 1 a 100 mg/ml.

Se prepararon muestras disolviendo 10-20 mg de las muestras de epinefrina en polvo seco en 900 ml de metanol y 10 ml de HCl concentrado. El volumen se llevó hasta 1 ml con metanol. Se preparó un blanco mezclando 990 ml de metanol con 10 ml de HCl concentrado.

25

Las muestras se ensayaron mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC) usando una columna Waters Symmetry C18 de 5 mm (150 mm x 4,6 mm de DI). La columna se mantuvo a 30 °C mientras que las muestras se mantuvieron a 25 °C en el automuestreador. El volumen de inyección fue de 10 microlitros y las muestras se hicieron pasar a través de la columna a un caudal de 1 ml/min. La fase móvil se agitó continuamente durante la realización y se desgasificó a través de un sistema de desgasificación Waters en línea. La detección se realizó usando un detector de ultravioleta fijado a una longitud de onda de 254 nm. La concentración de la epinefrina se cuantificó frente a una curva estándar de ocho puntos.

**Resultados.** La carga esperada de los polvos era del 8,6 por ciento en peso de epinefrina (en base al material de partida que era puro al 86 %, según se determinó mediante el protocolo RP-HPLC). La carga real estaba relativamente próxima a este número para el polvo I-A, pero un 25 % más baja para el polvo I-B (véase la Tabla C). Esta discrepancia puede haber surgido del uso del protocolo de disolución alternativo usado para solubilizar los polvos (véase anteriormente). El cambio se hizo con el fin de mejorar la solubilidad, pero no se determinó si el 100 % de recuperación se logró después de este cambio.

40

En términos de pureza, no se observaron impurezas en ninguno de los dos polvos. Los cromatogramas no se distinguían del material de partida. El método de HPLC se desarrolló para distinguir entre catecolaminas. Esto se consiguió con éxito como se puede observar en la Figura 3A, que muestra una separación clara entre la epinefrina, la norepinefrina y el patrón interno 3,4-dihidroxibencilamina. Además, las Figuras 3B y 3C demuestran que incluso a altas concentraciones de epinefrina, no aparecen picos adicionales en el espectro.

45

### **Ejemplo 3**

Este ejemplo describe la preparación de partículas que tienen la composición de la formulación VII, 69 por ciento en peso de DPPC, 20 por ciento en peso de citrato sódico, 10 por ciento en peso de cloruro cálcico, y 1 por ciento en peso de base libre de epinefrina.

Se añadieron 228 mg de citrato sódico y 132,5 mg de cloruro cálcico a 294 ml de agua. Se preparó una solución madre de epinefrina añadiendo 68 microlitros de HCl 1 N a 6 ml de agua y luego añadiendo 10 mg de la base libre de epinefrina. La solución madre de epinefrina se añadió después a la solución de citrato sódico y cloruro de calcio

55

para formar una solución acuosa. El pH de la solución acuosa se ajustó después a 5,0 con HCl 1 N. Se preparó una solución orgánica añadiendo 690 mg de DPPC a 700 ml de etanol.

La solución de alimentación de secado por pulverización se preparó mediante mezcla estática en línea de la solución acuosa con la solución orgánica a temperatura ambiente, y dio como resultado una solución de solución orgánica/agua 70/30 (v/v) con 1 g/l de solutos totales. La solución de alimentación acuosa/orgánica combinada resultante se bombeó a una velocidad controlada de 70 ml/min en la parte superior de la cámara de secado por pulverización. Al entrar en la cámara de secado por pulverización, la solución se atomizó en pequeñas gotitas de líquido usando un atomizador giratorio V24 girando a 20.000 rpm. El gas de proceso, nitrógeno calentado, se introdujo a una velocidad controlada de 100 kg/h en la parte superior de la cámara de secado del secador por pulverización Niro Modelo PSD-1. La temperatura de la entrada era de 110 °C y la temperatura de salida era de 47 °C. Las partículas salieron de la cámara de secado con el gas de proceso y entraron en un ciclón aguas abajo. El gas de proceso salió de la parte superior del ciclón y se dirigió al sistema de escape. Las partículas porosas se recuperaron de un recipiente de recogida de polvo en el fondo del ciclón como partículas de polvo seco. Las partículas resultantes tenían un DGMV de 8,2 micrómetros a 1 bar, determinado por RODOS y FPF (<5,6) del 62,1 % y FPF (<3,4) del 32 % como se determinó usando un ACI de dos fases. La epinefrina en polvo seco se cargó en cápsulas de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de tamaño 2 y luego se envasó.

Las partículas que tenían las composiciones de la Formulación II se prepararon como se ha descrito anteriormente con relaciones en peso como se muestra en la Tabla A.

#### **Ejemplo 4**

Este ejemplo describe la producción de partículas que tienen la composición de la formulación III, 61 por ciento en peso de DPPC, 20 por ciento en peso de citrato sódico, 10 por ciento en peso de cloruro cálcico, y 9 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina.

Se añadieron 91 mg de bitartrato de epinefrina a 300 ml de agua para formar una solución acuosa. Después, se añadieron 229 mg de citrato de sodio y 132,5 mg de cloruro de calcio a la solución acuosa. Se preparó una solución orgánica añadiendo 609 mg de DPPC a 700 ml de etanol. Las soluciones acuosa y orgánica se combinaron para formar una solución de secado por pre-pulverización con 1 l de volumen total de 70/30 (v/v) de solución orgánica/solución acuosa con una concentración de soluto de 1 g/l. Esta solución mixta en lotes se secó por pulverización. La solución se alimentó a la cámara de secado por pulverización a una velocidad de 70 ml/min. La disolución se atomizó con un atomizador rotatorio V24 a 20.000 rpm. Se introdujo gas de proceso (nitrógeno calentado) a una velocidad de 100 kg/h en la parte superior del secador por pulverización Niro Modelo PSD-1. La temperatura de entrada era de 120 °C y la temperatura de salida era de 50 °C. Las partículas salieron de la cámara de secado con el gas de proceso y entraron en un filtro de producto en polvo aguas abajo. El filtro de producto separó las partículas porosas de la corriente de gas de proceso, incluyendo los disolventes evaporados. El gas de proceso salió entonces de la parte superior del colector y se dirigió al sistema de escape. Las partículas porosas salieron del fondo del filtro de producto y se recuperaron en un recipiente de recogida de polvo como un polvo seco.

Las partículas se caracterizaron como se indica a continuación. El DGMV a 1 bar se midió como 12,1 micrómetros. El MMAD se midió como 1,6 micrómetros. La FPF (<5,6) fue del 74,8 % y la FPF (<3,4) fue del 57,6 % según se determinó usando un ACI de dos fases.

#### **Ejemplo 5**

Este ejemplo describe la preparación de partículas que tienen la composición de la formulación V, 84 por ciento en peso de leucina, 15 por ciento en peso de sacarosa, y 1 por ciento en peso de base libre de epinefrina.

Se preparó una solución acuosa añadiendo 840 mg de leucina y 150 mg de sacarosa a 694 ml de agua. Se preparó una solución madre de epinefrina añadiendo 68 microlitros de HCl 1 N a 6 ml de agua y luego añadiendo 10 mg de la base libre de epinefrina. A continuación se añadieron los aproximadamente 6 ml de solución madre de epinefrina a los 694 ml de solución acuosa. La solución de alimentación por secado por pulverización se preparó añadiendo 300 ml de etanol a los 700 ml de solución acuosa como se preparó anteriormente, produciendo una disolución de etanol de 30/70 (v/v)/solución acuosa con una concentración total de solutos de 1 g/l.

La solución de alimentación acuosa/orgánica se bombeó a una velocidad controlada de 75 ml/min en la parte superior de la cámara de secado por pulverización. Al entrar en la cámara de secado por pulverización, la solución se atomizó en pequeñas gotitas de líquido usando un atomizador giratorio V24 girando a 24.000 rpm. El gas de

proceso, nitrógeno calentado, se introdujo también a una velocidad controlada de 95 kg/h en la parte superior de la cámara de secado del secador por pulverización Niro Modelo PSD-1. La temperatura de la entrada era de 190 °C y la temperatura de salida era de 70 °C. Las partículas salieron de la cámara de secado con el gas de proceso y entraron en un filtro de producto en polvo aguas abajo. El filtro de producto separó las partículas porosas de la corriente de gas de proceso, incluyendo los disolventes evaporados. El gas de proceso salió de la parte superior del colector y se dirigió al sistema de escape. Las partículas porosas salieron del fondo del filtro de producto y se recuperaron en un recipiente de recogida de polvo como partículas de polvo seco.

Las partículas resultantes tenían un DGMV de 5,9 micrómetros a 1 bar, determinado por RODOS y FPF (<5,6) del 54,5 % y FPF (<3,4) del 30 % como se determinó usando un ACI de dos fases. El polvo seco se cargó en cápsulas de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de tamaño 2 y luego se envasó.

Las partículas que tienen la composición de la Formulación VI, 76 por ciento en peso de leucina, 15 por ciento en peso de sacarosa, y 9 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina, también se prepararon como se ha descrito anteriormente.

### **Ejemplo 6**

Este ejemplo describe la preparación de partículas que tienen la composición de la formulación IV, 58 por ciento en peso de DPPC, 20 por ciento en peso de citrato sódico, 10 por ciento en peso de cloruro cálcico, y 12 por ciento en peso de clorhidrato de epinefrina.

Se añadieron 120 mg de clorhidrato de epinefrina a 300 ml de agua. A esta solución se le añadieron 229 mg de citrato sódico y 132,5 mg de cloruro de calcio. Se preparó una solución orgánica añadiendo 580 mg de DPPC a 700 ml de etanol. Las soluciones acuosas y orgánicas se combinaron entonces para producir una solución de secado por pre-pulverización de 1 l de volumen total con solución de etanol de 70/30 (v/v)/solución acuosa con una concentración total de soluto de 1 g/l.

Esta solución de secado por pre-pulverización mezclada por lotes se secó después por pulverización en una cámara de secado por pulverización Niro. La solución mixta se suministró a la parte superior de la cámara de secado por pulverización a una velocidad de 70 ml/min, donde la solución se atomizó con un atomizador rotatorio V24 que giraba a 20.000 rpm. El gas de proceso (nitrógeno calentado) también se introdujo en la parte superior de la cámara de secado por pulverización a una velocidad de 100 kg/h. La temperatura de entrada era de 110 °C y la temperatura de salida era de 50 °C. Las partículas salieron de la cámara de secado con el gas de proceso y entraron en un ciclón aguas abajo. El gas de proceso salió de la parte superior del ciclón y se dirigió al sistema de escape. Las partículas porosas se recuperaron de un recipiente de recogida de polvo en el fondo del ciclón como partículas de polvo seco.

Las partículas resultantes tenían un DGMV de 10,1 micrómetros a 1 bar, determinado por RODOS y un MMAD de 2,6 micrómetros. La FPF (<5,6) de las partículas era del 56,2 % y la FPF (<3,4) era del 25,6 %.

### **Ejemplo 7**

Este ejemplo describe la preparación de partículas que tienen la composición de la Formulación IX, 82 por ciento en peso de leucina y 18 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina.

Se prepararon 300 ml de una solución acuosa que contenía 0,9 g de bitartrato de epinefrina y 4,1 g de leucina en agua (agua estéril para irrigación, USP). Se preparó una solución de alimentación de secado por pulverización mediante mezcla estática en línea de la solución acuosa con 700 ml de solución de etanol (prueba 200, USP), mientras se mantenían ambas soluciones a temperatura ambiente. La solución acuosa combinada resultante y la solución de etanol se bombearon a una velocidad controlada de 65 ml/min en la parte superior de la cámara de secado por pulverización. Tras entrar en la cámara de secado por pulverización, la solución se atomizó en pequeñas gotitas de líquido usando un atomizador de 2 fluidos a una velocidad de 23,5 g/min (CPS, PD), 19,5 g/min (RD). El gas de proceso, nitrógeno calentado, se introdujo también a una velocidad controlada de 100 kg/h en la parte superior de la cámara de secado del secador por pulverización Niro Modelo PSD-1. A medida que las gotitas de líquido entraron en contacto con el nitrógeno calentado, se formaron las partículas líquidas evaporadas y porosas. La temperatura de entrada era de 107 °C y la temperatura de salida era de 47 °C. Las partículas salieron de la cámara de secado con el gas de proceso y entraron en un filtro de producto en polvo aguas abajo. El filtro de producto separó las partículas porosas de la corriente de gas de proceso, incluyendo los disolventes evaporados. El gas de proceso salió de la parte superior del colector y se dirigió al sistema de escape. Las partículas porosas salieron del fondo del filtro de producto y se recuperaron en un recipiente de recogida de polvo como partículas de polvo seco.

Las partículas resultantes tenían un DGMV de 6,2 micrómetros a 1 bar, determinado por RODOS y una FPF (<5,6) del 54,4 % y una FPF (<3,4) del 39,1 % como se determinó usando un ACI de dos fases. Las partículas de polvo seco tenían una FPF (<3,3) del 25 al 32 % como se determinó mediante ACI-3 con tamices húmedos. El polvo seco se cargó en cápsulas de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de tamaño 2 y luego se envasó.

La Formulación X también se preparó como se ha descrito anteriormente ajustando las cantidades de leucina y epinefrina para dar los porcentajes en peso deseados como se muestra en la Tabla A.

#### 10 **Ejemplo 8**

Este ejemplo describe la preparación de partículas que tienen la composición de la Formulación XI, 72 por ciento en peso de leucina, 16 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina, y 12 por ciento en peso de tartrato sódico.

- 15 Se prepararon 300 ml de una solución acuosa que contenía 0,9 g de bitartrato de epinefrina y 4,1 g de leucina en agua (agua estéril para irrigación, USP). El pH de la solución acuosa se ajustó a 4,3 mediante la adición de tartrato sódico. Se preparó una solución de alimentación de secado por pulverización mediante mezcla estática en línea de la solución acuosa con 700 ml de solución de etanol (prueba 200, USP), mientras se mantenían ambas soluciones a temperatura ambiente. La solución de alimentación acuosa/orgánica combinada resultante se bombeó a una
- 20 velocidad controlada de 65 ml/min en la parte superior de la cámara de secado por pulverización. Tras entrar en la cámara de secado por pulverización, la solución se atomizó en pequeñas gotitas de líquido usando un atomizador de 2 fluidos a una velocidad de 23,5 g/min (CPS, PD), 19,5 g/min (RD). El gas de proceso, nitrógeno calentado, se introdujo también a una velocidad controlada de 100 kg/h en la parte superior de la cámara de secado del secador por pulverización Niro (Modelo PSD-1). A medida que las gotitas de líquido entraron en contacto con el nitrógeno
- 25 calentado, se formaron las partículas líquidas evaporadas y porosas. La temperatura de la entrada era de 107 °C y la temperatura de salida era de 47 °C. Las partículas salieron de la cámara de secado con el gas de proceso y entraron en un filtro de producto en polvo aguas abajo. El filtro de producto separó las partículas porosas de la corriente de gas de proceso, incluyendo los disolventes evaporados. El gas de proceso salió de la parte superior del colector y se dirigió al sistema de escape. Las partículas porosas salieron del fondo del filtro de producto y se recuperaron en un
- 30 recipiente de recogida de polvo como partículas de polvo seco. Las partículas resultantes tienen un DGMV de 5,3 micrómetros a 1 bar determinado por RODOS y una FPF (<3,3) del 25 al 30 % usando ACI-3 con tamices húmedos. El polvo seco se cargó en cápsulas de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de tamaño 2 y luego se envasó.

#### **Ejemplo 9**

35

La Tabla D resume las características físicas de las partículas de polvo secas producidas como se describe en los Ejemplos 1 y 3 a 8 anteriores.

**Tabla D:** Características físicas de partículas de polvo seco

<b>Formulación</b>	<b>DGMV (micrómetros)</b>	<b>MMAD (micrómetros)</b>	<b>FPF(&lt;5,6) (%)</b>	<b>FPF(&lt;3,4) (%)</b>
I-A	9,7	2,59	55,3	24,4
I-B	10,7	2,22	57,3	31,7
II	11,0	2,4	65,3	39,7
III	12,1	1,6	74,8	57,6
IV	10,1	2,6	56,2	25,6
V	5,9	2,1	54,4	30
VI	6,2	2,3	62,7	37,4
VII	8,2	2,9	60	30
IX	6,2	ND	54,4	39,1
X	12,8	ND	ND	ND
XI	5,3	1,7	ND	ND

ND: no determinado

40

#### **Ejemplo 10**

El siguiente ejemplo describe experimentos para evaluar la estabilidad de epinefrina en polvos secos de la presente invención, así como el efecto de los antioxidantes sobre la estabilidad de epinefrina en polvos secos. Los 6 antioxidantes estudiados fueron los siguientes: metabisulfito sódico, EDTA disódico, Vitamina C (ácido ascórbico),

Vitamina E (alfa tocoferol), cisteamina e hidroxitolueno butilado (BHT). Para cada antioxidante se eligieron diferentes niveles de carga como se muestra en la Tabla E.

**Tabla E:** Resumen de las concentraciones de antioxidantes de partículas secas.

Antioxidante	Carga (% en peso)		
	Metabisulfito sódico	0,6	0,9
Vitamina E	0,1	0,3	0,9
Vitamina C	0,6	0,9	2,0
Cisteamina	0,03	0,1	0,3
EDTA	0,6	0,9	2,0
BHT	0,6	0,9	2,0

5

**Preparación de solución.** Para este estudio, las partículas que contenían epinefrina se secaron por pulverización a partir de una mezcla en disolución de fase orgánica al 70 % (alcohol etílico de Pharmco) y fase acuosa al 30 % (agua estéril de McGaw). Las dos fases se prepararon por separado con una concentración de soluto total de 5 g/l. La leucina, el bitartrato de epinefrina y un antioxidante se disolvieron consecutivamente en la fase acuosa. El bitartrato de epinefrina estaba presente en un 18 % de la concentración total de sólidos. La leucina y el antioxidante estaban presentes en un 82 % combinado de la concentración total de sólidos. Las dos fases se mezclaron estáticamente inmediatamente antes de secarse por pulverización. Se prepararon partículas que contenían un 82 por ciento en peso de leucina y un 18 por ciento en peso de bitartrato de epinefrina (Formulación IX) como control.

10

- 15 Se prepararon soluciones que contenían BHT, Vitamina E y Vitamina C usando un procedimiento ligeramente diferente como se indica a continuación. Dado que el BHT y la Vitamina E son sólo solubles en etanol, el antioxidante se disolvió primero en etanol y después se añadió a una solución acuosa de leucina para formar una solución 50/50 (v/v) de etanol/agua, después de lo cual se añadió epinefrina. El disolvente adicional de etanol puro se mezcló estáticamente con la solución de etanol/agua 50/50 para formar una solución de etanol/agua 70/30 (v/v).
- 20 La formulación de vitamina E a las cargas del 0,3 % y el 0,9 % se preparó como se indica a continuación. La vitamina E a estos niveles se disolvió en la fase orgánica completa y se mezcló estáticamente con la fase acuosa, lo que impidió que la vitamina E precipitase de la solución. La vitamina C sólo se disolvió en la fase acuosa al 0,9 % y los otros tres polvos que contenían vitamina C al 0,6, 0,9 y el 2,0 % se prepararon con vitamina C disuelta en la fase orgánica. El secado por pulverización de todos los polvos se realizó como se describe para la Formulación IX
- 25 usando el procedimiento del Ejemplo 7.

**Condiciones de estabilidad y análisis.** Se colocaron 50 mg de polvo en un vial de centelleo de 7 ml. El vial se tapó ligeramente y se colocó dentro de un horno a 40 °C y aproximadamente al 15 % de humedad relativa (HR). Las muestras se analizaron inmediatamente ( $T_0$ ) y después de 1, 2, 4 y 8 semanas de dicho almacenamiento. Los controles que no contenían ningún antioxidante (es decir, la Formulación IX) se colocaron también a 45 °C y 50 °C tapados de forma suelta. Las condiciones cromatográficas utilizadas para evaluar el contenido de epinefrina se muestran en la Tabla F.

30

**Tabla F:** Resumen de condiciones cromatográficas

<b>Columna:</b>	Alltech Alltima C18, 4,6 x 250 mm, 5 um
<b>Caudal:</b>	1 ml/min
<b>Temperatura de columna:</b>	30 ± 2°C
<b>Detección:</b>	UV, 280 nm
<b>Tiempo de realización:</b>	60 minutos
<b>Fase móvil A:</b>	TFA al 0,05 % en Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 20 mM (ac.)
<b>Fase móvil B:</b>	Metanol
<b>Disolvente de disolución:</b>	HCl 0,05 N al 90 % Metanol al 10 %
<b>Tiempo de retención de epinefrina:</b>	Aproximadamente 6,2 minutos

35

Se analizaron las formulaciones de epinefrina en polvo seco que contenían antioxidantes, o EDTA disódico, metabisulfito de sodio, ácido ascórbico, vitamina E, cisteamina y BHT a diversas concentraciones en función del tiempo y la condición de almacenamiento.

40 La Tabla G contiene los datos de estabilidad de epinefrina en polvos almacenados a 40 °C/HR al 15 % inmediatamente después de la preparación (es decir, a  $T_0$ ) y después de 1, 2, 4 y 8 semanas.

**Tabla G:** Resumen del contenido total de epinefrina en polvos almacenados a 40 °C/15 % de HR.

Antioxidante	Nivel (%)	Contenido de epinefrina (%)				
		Tiempo 0	1 semana	2 semanas	4 semanas	8 semanas
Control	0,00	99,73	99,06	98,74	97,70	95,56
Metabisulfito sódico	0,60	99,76	99,32	98,66	98,18	96,20
Metabisulfito sódico	0,90	99,74	99,42	98,92	98,58	97,02
Metabisulfito sódico	2,00	99,76	99,56	99,30	99,27	98,69
Ácido ascórbico	0,60	99,63	98,83	98,16	97,19	93,94
Ácido ascórbico	0,90	99,74	99,13	98,49	97,93	95,37
Ácido ascórbico	H <sub>2</sub> O al 0,9 %	99,70	98,86	98,18	97,11	93,65
Ácido ascórbico	2,00	99,73	98,99	98,49	97,78	94,74
EDTA	0,60	99,75	99,17	98,78	98,05	96,21
EDTA	0,90	99,77	99,20	99,04	98,48	96,90
EDTA	2,00	99,77	99,43	99,24	98,92	98,19
Cisteamina	0,03	99,77	98,73	98,33	96,79	93,94
Cisteamina	0,10	99,76	98,67	98,28	96,85	94,19
Cisteamina	0,30	99,74	98,82	98,17	96,74	93,71
BHT	0,60	99,73	98,95	98,56	97,37	94,78
BHT	0,90	99,76	99,08	98,71	97,52	95,15
BHT	2,00	99,73	99,08	98,80	97,80	95,42
Vitamina E	0,10	99,66	99,00	98,58	97,16	94,49
Vitamina E	0,30	99,73	99,04	98,64	97,40	94,84
Vitamina E	0,90	99,74	99,12	98,62	97,46	94,83
Vitamina E	0,30	99,63	99,13	98,76	97,94	96,32

Los datos demuestran una buena reproducibilidad del secado por pulverización con niveles de epinefrina en torno al 99,72 % con una desviación muy baja a T<sub>0</sub> para todos los polvos ensayados.

5

El metabisulfito sódico y el EDTA proporcionaron una buena protección contra la degradación de la epinefrina a 40 °C y 15 % de HR; ambos proporcionaron estabilidad añadida en comparación con el control que no contenía antioxidantes. A medida que aumentaba el nivel de metabisulfito de sodio, el nivel de protección en esta condición acelerada aumentaba. Se observó la misma tendencia para los polvos que contenían EDTA. La vitamina E a una carga del 0,3 %, cuando se añadió a la fase de etanol durante el secado por pulverización, también mostró resultados favorables.

10

El EDTA disódico tuvo un efecto aumentado sobre las impurezas totales a medida que los niveles aumentaron del 0,6 % al 2 %. El metabisulfito sódico tuvo un efecto aumentado sobre las impurezas totales a medida que los niveles aumentaron del 0,6 % al 2 %. El ácido ascórbico, BHT y cisteamina generalmente no eran antioxidantes eficaces para esta formulación de epinefrina en esta condición acelerada. La vitamina E proporcionó la protección favorable cuando se añadió a la fase de etanol a una concentración del 0,3 %.

15

### **Ejemplo 11**

20

Las partículas que contenían metabisulfito sódico, EDTA o Vitamina E se secaron por pulverización en una diversidad de niveles con el contenido total de antioxidantes de la formulación nunca superior al 2 %. Para este estudio, las formulaciones de epinefrina en polvo seco basadas en la Formulación XI, como se describe en la Tabla A, se secaron por pulverización a partir de una mezcla de fase orgánica al 70 % (alcohol etílico de Pharmco) y fase acuosa al 30 % (agua estéril de McGaw) como se describe en el Ejemplo 8. Las dos fases se prepararon separadamente con una concentración total de sólidos de 5 g/l antes de la etapa de ajuste del pH. La leucina, los antioxidantes y el bitartrato de epinefrina se disolvieron consecutivamente en la fase acuosa. Puesto que la vitamina E no es soluble en agua, se disolvió en la fase orgánica. Se añadió tartrato de sodio a la fase acuosa para elevar el pH de la mezcla a 4,30.

25

30

Para cada antioxidante se eligieron diferentes niveles de carga. La composición final de cada polvo se indica en la

Tabla H. Se prepararon dos controles (es decir, ID A e ID N como se muestra en la Tabla H) que no contenían antioxidantes. El contenido total de antioxidantes en cada formulación no superó el 2 % en peso.

**Tabla H:** Composición de polvos secos que contienen antioxidantes (% p/p).

ID	Antioxidantes			Bitartrato de epinefrina	Leucina	Tartrato sódico
	Metabisulfito sódico	EDTA	Vitamina E			
A	0	0	0	15,7	71,4	12,9
B	2	0	0	15,0	68,4	14,6
C	0	0	2	15,3	69,7	13,0
D	0	1	1	15,3	69,7	13,0
E	2	0	0	15,2	69,4	13,3
F	1	0	1	15,2	69,2	13,7
G	1,33	0,33	0,33	15,1	68,9	14,0
H	0	2	0	15,3	69,7	13,0
I	1	1	0	15,2	69,4	13,3
J	0,67	0,67	0,67	15,2	69,2	13,7
K	0	2	0	15,3	69,7	13,0
L	1	1	0	15,2	69,4	13,3
M	0,33	1,33	0,33	15,2	69,4	13,3
N	0	0	0	15,7	71,7	12,6
O	0	0	2	15,4	70,2	12,3
P	0,33	0,33	1,33	15,4	70,2	12,3

5

Se colocaron veinte miligramos de polvo en un vial de centelleo ámbar de 4 ml al 15 % de HR. El vial se tapó herméticamente con una tapa de teflon y se colocó dentro de un horno a 40 °C o 50 °C. La muestra de polvo se almacenó a aproximadamente el 15 % de HR. Las muestras se analizaron inmediatamente (T<sub>0</sub>) y después de 0,5, 1,1,5, 2, 4 semanas a 50 °C y después de 1, 2, 3, 4 y 8 semanas a 40 °C. En cada punto de tiempo, dos muestras individualmente en viales fueron retiradas del horno y analizadas (es decir, n = 2). El análisis por HPLC de la integridad de la epinefrina se realizó como se ha descrito anteriormente.

10

Se analizaron polvos secos que no contenían antioxidantes, EDTA disódico, metabisulfito sódico, vitamina E, o una combinación de los mismos, a diversas concentraciones como se muestra en la Tabla H, en función del tiempo y de la condición de almacenamiento. La Tabla I contiene datos de estabilidad para polvos almacenados a 50 °C/15 % de HR inmediatamente después de las preparaciones (T<sub>0</sub>) y después de 0,5, 1, 1,5, 2 y 4 semanas. La Tabla J contiene los datos de estabilidad para polvos almacenados a 40 °C/15 % de HR inmediatamente después de las preparaciones (T<sub>0</sub>) y después de 1, 2, 3, 4 y 8 semanas.

15

20

**Tabla I:** Resumen del contenido total de epinefrina en polvos almacenados a 50 °C/15 % de HR.

ID	Porcentaje de epinefrina											
	Tiempo 0		0,5 semanas		1 semana		1,5 semanas		2 semanas		4 semanas	
	n=1	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2
A	99,72	99,78	99,39	99,48	98,98	99,01	98,99	99,02	98,60	98,64	96,52	97,34
B	99,80	99,78	99,56	99,56	99,35	99,29	99,31	99,46	99,11	99,09	98,85	98,75
C	99,73	99,80	99,59	99,60	99,33	99,35	99,38	99,31	98,91	99,07	97,21	97,34
D	99,78	99,81	99,60	99,55	99,29	99,36	99,28	99,32	99,02	99,09	97,66	97,26
E	99,80	99,77	99,62	99,64	99,44	99,43	99,49	99,46	99,27	99,30	98,45	98,25
F	99,80	99,78	99,43	99,49	98,37	98,9	98,57	98,55	98,90	99,51	94,61	93,98
G	99,80	99,81	99,50	99,55	99,26	99,35	99,09	99,39	99,59	99,60	98,48	98,24
H	99,82	99,80	99,54	99,50	99,03	99,11	99,16	99,23	99,43	99,48	98,07	99,07
I	99,77	99,78	99,59	99,60	99,37	99,28	99,55	99,54	98,97	99,14	99,07	98,85
J	99,78	99,77	99,63	99,65	99,43	99,63	99,46	99,51	99,30	99,54	98,21	98,32
K	99,79	99,81	99,49	99,46	99,22	99,32	99,32	99,28	99,38	99,22	97,82	97,83
L	99,79	99,80	99,49	99,55	99,19	99,28	99,23	99,43	99,58	99,56	97,97	98,59
M	99,79	99,82	99,74	99,77	99,68	99,68	99,70	99,67	99,61	99,64	99,16	99,22
N	99,81	99,80	99,40	99,47	99,09	99,12	99,06	99,13	98,78	99,10	97,16	97,74
O	99,81	99,80	99,64	99,51	99,21	99,22	99,20	99,33	98,85	99,11	96,93	95,74
P	99,77	99,79	99,64	99,61	99,47	99,48	99,56	99,52	99,36	99,28	99,04	98,08

**Tabla J:** Resumen del contenido total de epinefrina en polvos almacenados a 40 °C/15 % de HR.

ID	Porcentaje de epinefrina											
	Tiempo 0		0,5 semanas		1 semana		1,5 semanas		2 semanas		4 semanas	
	n=1	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2
A	99,72	99,78	99,62	99,58	99,35	99,32	99,12	99,06	98,85	98,88	98,10	98,03
B	99,80	99,78	99,74	99,74	99,60	99,55	99,43	99,62	99,42	99,33	98,95	99,25
C	99,73	99,80	99,81	99,81	99,71	99,74	99,65	99,34	99,15	99,27	98,65	98,65
D	99,78	99,81	99,77	99,74	99,69	99,69	99,33	99,39	99,22	99,17	98,77	98,60
E	99,80	99,77	99,81	99,80	99,73	99,72	99,70	99,68	99,33	99,48	99,02	99,04
F	99,80	99,78	99,52	99,48	99,64	99,37	99,00	99,71	98,41	98,74	97,75	97,79
G	99,80	99,81	99,79	99,75	99,63	99,61	99,34	99,72	99,36	99,18	99,18	99,47
H	99,82	99,80	99,68	99,71	99,52	99,49	99,68	99,42	98,79	99,39	98,91	99,03
I	99,77	99,78	99,75	99,80	99,75	99,72	99,64	99,62	99,21	99,56	99,31	98,77
J	99,78	99,77	99,82	99,79	99,78	99,8	99,73	99,72	99,53	99,51	99,53	99,11
K	99,79	99,81	99,73	99,68	99,62	99,62	99,65	99,29	99,21	99,22	98,91	98,61
L	99,79	99,80	99,70	99,73	99,64	99,7	99,65	99,43	99,07	99,29	98,44	99,33
M	99,79	99,82	99,82	99,82	99,79	99,8	99,73	99,74	99,71	99,69	99,44	99,47
N	99,81	99,80	99,71	99,71	99,56	99,56	99,24	99,21	99	99,18	98,49	98,67
O	99,81	99,80	99,74	99,73	99,47	99,45	99,34	99,42	99,24	99,44	98,56	98,77
P	99,77	99,79	99,73	99,76	99,69	99,76	99,63	99,66	99,53	99,47	99,08	99,10

Los datos demuestran una buena reproducibilidad del secado por pulverización con niveles de epinefrina en torno al 99,79 % con una desviación muy baja de las muestras replicadas a T<sub>0</sub> para todos los polvos ensayados. Como se observa en la Tabla I, todos los antioxidantes usados en combinación proporcionaron una buena protección contra la degradación de epinefrina a 50 °C y 15 % de HR. Cuando se usan conjuntamente, el metabisulfito de sodio, EDTA y la Vitamina E proporcionan estabilidad adicional en comparación con un control que no contenía antioxidantes. La combinación del 0,34 % de metabisulfito sódico, 1,34 % de EDTA y 0,34 % de vitamina E proporcionó la mejor protección general. Esta combinación mostró niveles de epinefrina del 99,19 % después de 4 semanas a 50 °C y 15 % de HR. Los dos controles mostraron niveles de epinefrina del 96,93 % y el 97,45 %. Por lo tanto, esta combinación proporcionó una estabilidad de aproximadamente el 2 % mayor después de 4 semanas a 50 °C y el 15 % de HR. También se puede observar una fuerte dependencia de EDTA a partir de los datos a 50 °C y el 15 % de HR; las formulaciones que no contienen EDTA generalmente se comportan peor que las que contienen parte de EDTA en combinación. Las formulaciones de partículas que contenían únicamente EDTA como antioxidante mostraron pequeñas impurezas cuando se almacenaron a 50 °C y 15 % de HR.

Como se observa en la Tabla J, todos los antioxidantes usados en combinación proporcionaron una buena protección contra la degradación de epinefrina a 40 °C y 15 % de HR. Cuando se usan conjuntamente, el metabisulfito de sodio, EDTA y la Vitamina E proporcionan estabilidad adicional en comparación con un control que no contenía antioxidantes. Una combinación óptima del 0,34 % de metabisulfito de sodio, 1,34 % de EDTA y 0,34 % de vitamina E proporcionó la mejor protección en general. Esta combinación mostró niveles de epinefrina del 99,45 % después de 8 semanas a 40 °C y 15 % de HR. Los dos controles mostraron niveles de epinefrina del 98,12 % y el 98,58 %. Por lo tanto, esta combinación óptima proporcionó una estabilidad de aproximadamente el 1 % mayor en esta condición después de 8 semanas a 40 °C y el 15 % de HR. También se puede apreciar una fuerte dependencia del EDTA a partir de los datos a 40 °C y el 15 % de HR. Las formulaciones que no contenían EDTA generalmente presentaban peores resultados que las que contenían parte de EDTA en combinación. Además, las formulaciones que contenían solamente EDTA como un antioxidante mostraron impurezas bajas en esta condición.

Usando estos datos fue posible modelar el espacio que rodea estas combinaciones de antioxidantes con el fin de predecir la combinación de antioxidantes que proporcionaría la mejor estabilidad. Utilizando los datos de 50 °C y el 15 % de HR a las 4 semanas, se encontró un modelo estadísticamente significativo. A partir de este modelo se predijo una combinación del 0,65 % de metabisulfito de Na, el 0,92 % de EDTA y el 0,43 % de vitamina E, que tenía una pureza del 99,23 % después de 4 semanas a 50 °C y el 15 % de HR.

### 35 **Ejemplo 12**

Este ejemplo describe el perfil farmacocinético (PK) y farmacodinámico (PD) después de la administración pulmonar de un polvo seco que contiene epinefrina en comparación con la epinefrina inyectada por vía intramuscular. Las ratas se dosificaron solo con un polvo seco que tenía la composición de la Formulación I y se prepararon como en el Ejemplo 1 (dosis nominal = 25,8 mg), se dosificaron usando una técnica de insuflación intratraqueal, se insuflaron

con aire ambiente como control de placebo, o se les inyectó una solución de epinefrina administrada por vía intramuscular (25,8 mg/ml, dosis nominal = 12,9 mg). Se tomaron muestras de sangre de las ratas a través de catéteres yugulares en los puntos de tiempo 0, 2,5, 5, 10 y 20 minutos después de la dosificación. También se hicieron mediciones de la frecuencia cardiaca en los mismos puntos de tiempo.

5

**Animales.** Se obtuvieron ratas macho Sprague Dawley de Taconic Farms (Germantown, NY). En el momento del uso, los animales pesaban entre 450 y 550 gramos. Los animales tenían buena salud a su llegada y permanecieron así hasta su uso; no se observaron signos clínicos de enfermedad en ningún momento. Se alojaron dos por jaula, mientras que en el estudio de acuerdo con las directrices del NIH en jaulas de caja de plástico estándar. Se dejó que los animales se aclimataran a su entorno durante al menos una semana antes de su uso. El ciclo luz/oscuridad fue de 12/12 horas. La temperatura en la sala de animales era la temperatura ambiente ambiente de aproximadamente 19 °C (66 °F). La humedad ambiente en las sales de animales fue de aproximadamente el 23 % el día del estudio. A los animales se les permitió el libre acceso a alimento y agua. La comida era Lab Diet-Roedor Chow #5010 (PMI Nutrition International, Inc., Brentwood, MO). El agua era de una agua del grifo limpia.

10

**Administración de dosis.** El polvo se administró a los pulmones de ratas mediante una técnica de insuflación. El dispositivo insuflador era de PennCentury (Philadelphia, PA). El tubo de administración del insuflador se insertó por vía intratraqueal a través de la boca hasta que la punta del tubo quedó a un centímetro de la carina (primera bifurcación). La cantidad de epinefrina administrada a los pulmones era de aproximadamente 300 microgramos independientemente del peso corporal del animal. El volumen de polvo seco utilizado para administrar el polvo de la cámara de muestras fue de 3 ml, que se consiguió a partir de una jeringa cargada. La jeringa se recargó y se descargó dos veces más para un total de tres descargas por dosis de polvo con el fin de disminuir o eliminar los residuos de polvo en la cámara de muestra.

15

**Diseño del estudio.** La vena yugular de los animales utilizados en los estudios farmacocinéticos se cateterizó con PE90 el día antes de la dosificación y se realizó el muestreo. Se utilizaron un total de seis animales en este estudio. Para la anestesia (colocación del catéter y dosificación del polvo), se inyectó por vía intraperitoneal (IP) una mezcla de ketamina (25 mg), xilazina (3 mg) y acepromazina (0,2 mg) en cada animal. Las ratas se colocaron sobre una almohadilla calentadora después de la colocación del catéter para recuperarse. Después de la dosificación del polvo, las ratas se colocaron de nuevo en sus respectivas jaulas. Los números de identificación asignados a las ratas se escribieron en sus colas, así como en las tarjetas de la jaula. Se extrajo sangre y se midió la frecuencia cardiaca usando un oxímetro de pulso unido a la extremidad trasera derecha de las ratas en el tiempo 0, 2,5, 5,0, 10,0 y 20,0 minutos. Las muestras de sangre se recogieron mediante una jeringa del catéter de vena yugular. La sangre se expulsó cuidadosamente en tubos revestidos con EDTA, se mezcló y después se centrifugó durante 5 minutos a 14.000 g para separar el plasma de las células. El plasma se colocó en tubos de microcentrífuga limpia y se almacenó en refrigeración hasta que se recibió en el laboratorio. Las muestras se almacenaron a 2-8 °C si el análisis se realizó en 24 horas, o a -80 °C si el análisis se produjo después de 24 horas.

20

25

30

35

40

45

50

55

**Método de extracción de epinefrina en plasma.** La epinefrina se extrajo del plasma usando el Kit de Análisis de Catecolaminas de Plasma de ESA. En primer lugar, se preparó una solución estándar de epinefrina diluyendo la solución madre de epinefrina suministrada a la concentración deseada (4, 8, 20, 40 y 100 ng/ml). En segundo lugar, se preparó una solución de enriquecimiento estándar interna de DHBA diluyendo la solución madre de DHBA proporcionada a una concentración de 10 ng/ml. A continuación se añadieron 50 ml de la solución estándar interna a todos los tubos de extracción. También se añadieron 200 ml de la muestra de plasma o el patrón de epinefrina a los tubos de extracción. Los tubos se taparon, se mezclaron por inversión y se balancearon en un balancín mecánico durante 10 minutos. Se retiraron las tapas y se lavaron con la solución de lavado proporcionada para no perder ningún material de los tubos. La tapa inferior se retiró entonces y los tubos se colocaron en un colector de extracción al vacío. El vacío se encendió y todo el líquido se aspiró fuera de los tubos. Los tubos se llenaron con la solución de lavado y el vacío se volvió a accionar para eliminar todo el fluido. Los tubos se llenaron de nuevo con la solución de lavado y se repitió la etapa anterior. El resto del fluido se expulsó de los tubos aplicando una presión positiva a las partes superiores con una ampolla de extracción modificada. Los tubos se taparon de nuevo en el fondo y se añadieron 200 ml de la solución de elución. Los tubos se taparon en la parte superior y se agitaron vorticialmente durante 10 minutos a una velocidad de 3. Ambas tapas se retiraron y se recogió un eluyente aplicando presión positiva a la parte superior de los tubos con la ampolla de extracción modificada. El eluyente se inyectó entonces directamente sobre la columna.

60

**Método de HPLC para muestras de suero extraídas.** Las muestras se ensayaron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) usando una columna Waters Symmetry C18 de 5 mm (150 mm x 4,6 mm de DI). La columna y las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante la realización. La fase móvil se preparó a partir de metanol al 4 % y solución acuosa al 96 % (10,5 g/l de ácido cítrico, 20 mg/l de EDTA, 20 mg/l de sal sódica

60

de ácido 1-octanosulfónico monohidratada). El volumen de inyección fue de 50 microlitros y las muestras se hicieron pasar a través de la columna a un caudal de 1 ml/min. La detección se realizó utilizando un detector electroquímico. El voltaje se fijó a 350 mV a través de la célula de acondicionamiento, a 50 mV a través del primer electrodo analítico, y a -300 mV a través del segundo electrodo analítico.

5

**Cálculo de la concentración de epinefrina.** Los patrones de epinefrina se usaron para construir una curva estándar. Después del procedimiento de extracción, las concentraciones de los patrones fueron de 1, 2, 5, 10 y 25 ng/ml (calculadas en base al cambio de volumen durante el procedimiento de extracción). También estaba presente en la solución un patrón interno que tenía la concentración de 2,5 ng/ml. Los patrones se realizaron en la columna de HPLC y se determinaron las áreas de la epinefrina y los picos estándar internos. La relación del área del pico de epinefrina y el área del pico estándar interno se calculó y se representó frente a la concentración conocida de los patrones de epinefrina. Se ajustó una línea recta a través de los datos. La curva estándar se usó para calcular la concentración de epinefrina en las muestras basándose en la relación de las áreas de pico del pico de epinefrina y el pico estándar interno. El porcentaje de recuperación de los patrones internos también se calculó a partir del área pico del patrón interno en la muestra en comparación con el área del pico del patrón interno cuando se inyectó en tampón.

**Farmacocinética.** La sangre obtenida de los animales se separó en plasma. La epinefrina se extrajo del plasma usando un Kit de Análisis de Catecolaminas de Plasma de ESA. La concentración de epinefrina se determinó entonces mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). El método funcionó muy bien como puede verse en los cromatogramas de muestra limpios en la Figura 4.

La Figura 5 muestra los datos de epinefrina plasmática de todos los grupos de tratamiento. Las concentraciones plasmáticas de epinefrina aumentaron rápidamente después de la administración pulmonar de polvo, con una  $T_{MÁX}$  de 5,0 minutos y una  $C_{MÁX}$  de 48,01 ng/ml. Los niveles de epinefrina regresaron al valor inicial 20 minutos después de la dosificación. Los niveles plasmáticos de epinefrina fueron muy bajos y no significativamente diferentes de los controles de aire ambiente en animales inyectados por vía intramuscular (IM) con epinefrina en solución. En comparación con la bibliografía sobre la inhalación de epinefrina en aerosol líquido, la biodisponibilidad de epinefrina es mayor con una formulación de polvo seco. Los humanos dosificados con 20 inhalaciones de adrenalina en aerosol a 0,15 miligramos/inhalación (0,06 mg/kg) alcanzaron concentraciones plasmáticas máximas de 2,5 ng/ml. Melle, H., et al., "Faster and More Reliable Absorption of Adrenaline by Aerosol Inhalation than by Subcutaneous Injection", Br. J. Clin. Pharmacol., 6:677-81 (1991). Por el contrario, la insuflación de epinefrina en polvo seco (1,0 mg/kg) dio como resultado concentraciones plasmáticas máximas de 48 ng/ml. Teniendo en cuenta las variaciones en los métodos de dosificación (10 % de deposición por inhalación, 50 % por insuflación), la formulación de polvo seco parece tener 4-5 veces más biodisponibilidad que un aerosol líquido. La falta de medidas significativas de epinefrina plasmática en animales inyectados por vía intramuscular fue sorprendente basándose en datos humanos. Sin embargo, la inyección humana es típicamente inyección subcutánea frente a intramuscular en la rata. La inyección intramuscular de rata puede haber alterado significativamente la tasa de absorción de modo que en veinte minutos, no se habían alcanzado todavía niveles significativos de epinefrina intravenosa. Esta hipótesis se evidencia por el aumento tardío de la frecuencia cardíaca observada en los animales tratados con IM descritos a continuación.

**Farmacodinámica.** La Figura 6 muestra el cambio en la frecuencia cardíaca después de la dosificación con epinefrina. La frecuencia cardíaca aumentó rápidamente en animales administrados con epinefrina por insuflación pulmonar. A los diez minutos después de la insuflación, la frecuencia cardíaca alcanzó un máximo de 324 latidos por minuto (+ 60 sobre el valor inicial). Los animales inyectados con placebo e IM no mostraron un aumento significativo de la frecuencia cardíaca en comparación con el valor inicial. De hecho, se observó que la frecuencia cardíaca disminuyó durante los primeros 10 minutos. El cóctel anestésico utilizado durante la insuflación contenía xilazina, un agonista alfa<sub>2</sub>-adrenérgico. Por lo tanto, la disminución de la frecuencia cardíaca observada en los animales inyectados con placebo e IM puede haber estado relacionada con la anestesia. Los cambios en la frecuencia cardíaca pueden no haberse observado hasta 20 minutos en animales a los que se administró epinefrina por inyección intramuscular porque aún no se habían alcanzado niveles biológicamente eficaces de epinefrina. Se observó un animal inyectado por vía intramuscular con epinefrina hasta 40 minutos después de la dosificación. La frecuencia cardíaca en este animal comenzó a aumentar entre 15 y 20 minutos después de la dosificación pero no aumentó significativamente hasta 25 minutos después de la dosificación (hasta 340 latidos/minuto). Este aumento era todavía evidente a los 40 minutos después de la dosificación. Por lo tanto, la ausencia de una respuesta farmacodinámica significativa en animales que recibieron epinefrina IM frente a epinefrina insuflada no fue sorprendente.

60 **Ejemplo 13**

Este ejemplo describe experimentos in vivo llevados a cabo en ratas para evaluar y comparar tres formulaciones de epinefrina en polvo seco diferentes (es decir, Formulaciones VII, IX y X). Los polvos se prepararon usando los procedimientos de los Ejemplos 3 y 7. Los polvos se administraron a los pulmones mediante una técnica de insuflación. El dispositivo insuflador utilizado para la administración de polvos a los pulmones de rata procedía de PennCentury (Philadelphia, PA). El tubo de administración del insuflador se insertó por vía intratraqueal a través de la boca hasta que la punta del tubo quedó a un centímetro de la carina (primera bifurcación). La cantidad de epinefrina pesada para administrarse a los pulmones era de aproximadamente 10 microgramos (es decir, 1,0 mg de polvo) independientemente del peso corporal del animal. El volumen de aire utilizado para administrar el polvo de la cámara de muestras fue de 3 ml, que se consiguió a partir de una jeringa cargada. La jeringa se recargó y se descargó dos veces más para un total de tres descargas por dosis de polvo con el fin de disminuir o eliminar los residuos de polvo en la cámara de muestra.

La vena yugular de los animales utilizados en los estudios farmacocinéticos se cateterizó con PE90 el día antes de la dosificación y se realizó el muestreo. Se usaron un total de 18 animales en este estudio, 6 para cada grupo de tratamiento. Para la anestesia (colocación del catéter y dosificación en polvo), se inyectó por vía intraperitoneal (IP) un cóctel de anestesia de ketamina (30 mg) y xilazina (4 mg) en cada animal. Las ratas se colocaron sobre una almohadilla calentadora después de la colocación del catéter para recuperarse. Después de la dosificación del polvo, las ratas se colocaron de nuevo en sus respectivas jaulas.

Las muestras de sangre se recogieron mediante una jeringa del catéter de vena yugular. La sangre se expulsó cuidadosamente en tubos revestidos con EDTA, se mezcló y después se centrifugó durante 1 minutos a 14.000 g para separar el plasma de las células. Las muestras de plasma se colocaron en tubos de microcentrífuga limpia y se congelaron con hielo seco dentro de los dos minutos de la recogida y se mantuvieron congeladas hasta que se recibieron en el laboratorio. Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

La cuantificación de epinefrina se realizó utilizando el RAT-CAT@-RIA (Catálogo n.º 017-RA616/100) de ALPCO Diagnostics. En resumen, la adrenalina se extrae usando un gel de afinidad específico de cis-diol y se acila en N-aciladrenalina y luego se convierte enzimáticamente durante el procedimiento de detección en N-acilmetanofrina. El procedimiento de ensayo sigue el principio básico de los radioinmunoensayos, que implica la competencia entre un antígeno radiactivo y un antígeno no radiactivo para un número fijo de sitios de unión a anticuerpos. La cantidad de antígeno marcado con <sup>125</sup>I unido al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de analito de la muestra. Cuando la reacción está en equilibrio, la radioactividad unida a un anticuerpo se precipita con un segundo anticuerpo en presencia de polietilenglicol. El precipitado se cuenta en un contador gamma. La cuantificación de muestras desconocidas se consigue comparando su actividad con una curva de referencia preparada con patrones conocidos. Los controles que se suministraron con el kit se llevaron a cabo junto con las muestras.

La Tabla K resume los resultados del análisis farmacocinético (PK) incluyendo  $C_{MÁX}$ ,  $T_{MÁX}$  y  $AUC_{LAST}$  (área bajo la curva desde el valor inicial al último valor medible). La Figura 7 muestra las concentraciones plasmáticas de epinefrina a lo largo del tiempo en forma gráfica. Las concentraciones plasmáticas aumentaron rápidamente para todas las formulaciones y alcanzaron valores medios de  $C_{MÁX}$  de 7-14 ng/ml a una  $T_{MÁX}$  media de 3-10 minutos.

**Tabla K:** Resumen de los resultados del análisis de PK (datos presentados como media ± DE)

Formulación	$C_{MÁX}$ (ng/ml)	$T_{MÁX}$ (minutos)	$AUC_{LAST}$ (ng min/ml)
VII (n = 6)	9,9 ± 6,5	9,6 ± 6,0	222,5 ± 151,4
IX (n = 6)	7,1 ± 1,5	5,0 ± 2,7	128,4 ± 46,4
X (n = 6)	14,3 ± 7,4	3,3 ± 1,3	187,9 ± 90,7

#### 45 **Ejemplo 14**

El siguiente ejemplo describe un estudio farmacocinético (PK) realizado en perros para evaluar los efectos PK y farmacodinámicos (PD) de la Formulación VII de epinefrina en polvo seco. Los polvos secos se prepararon usando el procedimiento del Ejemplo 3.

Se administraron a seis perros Beagle una dosis nominal de 100 mg de epinefrina en Formulación VII de epinefrina en polvo seco. A efectos de comparación, a los mismos seis perros se administraron 100 mg de solución de epinefrina tomada de un EpiPen® pediátrico y se inyectó IM en el muslo trasero a través de una aguja de calibre 20 utilizando una jeringa de 1 ml. Se recogieron muestras de sangre antes de la dosificación, inmediatamente después de la dosificación, y 2,5, 5, 10, 30, 45, 60 y 120 minutos después de la dosificación. La concentración de epinefrina en el plasma de fármaco se analizó por Covance Labs, Inc. (Viena, VA). Además, cada perro fue implantado con un

dispositivo de radiotelemedría para monitorear continuamente la funci3n cardiaca y los cambios en la presi3n sanguinea.

Las concentraciones plasmáticas de epinefrina aumentaron r3pidamente despu3s de la administraci3n pulmonar de epinefrina en polvo seco con una  $C_{M3X}$  media de 2.672 pg/ml. La  $T_{M3X}$  y la  $C_{M3X}$  se observaron inmediatamente despu3s de la inhalaci3n (v3ase la Tabla L y la Figura 8]. En contraste, la  $C_{M3X}$  media despu3s de la dosificaci3n IM fue de 647 pg/ml, con una  $T_{M3X}$  media mayor de 38 minutos.

**Tabla L:**  $C_{M3X}$  y  $T_{M3X}$  para epinefrina en polvo seco y epinefrina inyectada en perros Beagle

Artículo de ensayo	Dosis media (mg)	$C_{M3X}$ <sup>1</sup> (pg/ml)	$T_{M3X}$ <sup>1</sup> (min)
Formulaci3n VII (n = 6)	642	2672 (729)	IAD <sup>3</sup>
Inyecci3n IM de contenido de EpiPen <sup>®</sup> (n = 6)	100	647 (265)	38 (8)

<sup>1</sup> Datos presentados como media (desv. est.)

<sup>2</sup> Las dosis inhaladas de epinefrina se estimaron en base a la validaci3n previa al estudio del sistema de dosificaci3n que incluyeron la determinaci3n del porcentaje de la dosis nominal depositada en un filtro al final del tubo endotraqueal.

<sup>3</sup> IAD = Inmediatamente despu3s de la dosificaci3n

10

La epinefrina en polvo seco Formulaci3n VII no produjo un aumento de la frecuencia cardiaca despu3s de la dosificaci3n mientras que las frecuencias cardiacas estaban elevadas (es decir, una velocidad m3xima de 150 latidos por minuto) en dos de los seis perros despu3s de la administraci3n IM de la formulaci3n de EpiPen<sup>®</sup> pedi3trica. La ausencia de un aumento de la frecuencia cardiaca en la mayoría de los perros fue probablemente una consecuencia de la anestesia con propofol, administrada a perros para el procedimiento de inhalaci3n y antes de la administraci3n IM de epinefrina. La presi3n sanguinea (es decir, las presiones arteriales sist3lica, diast3lica y media) disminuy3 despu3s de la inhalaci3n de epinefrina en polvo seco en todos los perros tratados. La administraci3n IM de epinefrina caus3 una disminuci3n transitoria de la presi3n arterial seguida de ligeros aumentos variables en la presi3n arterial. Las diferencias observadas en las respuestas de la presi3n arterial entre las vías de administraci3n inhaladas e IM estaban probablemente relacionadas con la cantidad de anestesia que recibieron los perros, recibiendo los perros m3s propofol para el procedimiento de inhalaci3n.

15

20

Se observaron latidos prematuros ventriculares (VPB) espont3neos registrados antes de cada perío3o de dosificaci3n en dos perros. Tanto la inhalaci3n de epinefrina en polvo seco de Formulaci3n VII como la epinefrina IM aumentaron la incidencia de VPB en estos dos animales durante el perío3o de 30 minutos despu3s de la dosificaci3n; no se observaron arritmias ventriculares en ning3n otro perro.

25

### **Ejemplo 15**

El siguiente ejemplo describe un estudio clínico que evalúa las partículas porosas de polvo seco inhaladas que contienen epinefrina (Formulaci3n VII, como se describe en la Tabla A). El estudio era un ensayo de Fase I, aleatorizado, de doble ciego, controlado con placebo, de dosis escalada de la seguridad, tolerabilidad y farmacocinética (PK) de dosis únicas de epinefrina en polvo seco en sujetos sanos macho. Se administr3 epinefrina en polvo seco (es decir, Formulaci3n VII) a trav3s de un intervalo de dosis para evaluar el perfil PK de epinefrina en polvo seco inhalado en comparaci3n con la inyecci3n (es decir, usando una inyecci3n IM est3ndar usando un vial y jeringa o un autoinyector EpiPen<sup>®</sup>), y para identificar los posibles r3gímenes de dosificaci3n de epinefrina en polvo seco inhalada para el futuro desarrollo. Cada sujeto (n = 10) recibí3 dosis únicas aproximadamente una semana de diferencia entre las siguientes:

35

- 40 (a) epinefrina en polvo seco (es decir, Formulaci3n VII, preparada como en el Ejemplo 2) a una dosis de epinefrina de 50 microgramos, 100 microgramos, 200 microgramos y 400 microgramos;
- (b) polvo seco de placebo; y
- (c) epinefrina a una dosis de 300 microgramos administrada a trav3s de un autoinyector (EpiPen<sup>®</sup>) e inyecci3n IM est3ndar.

Además, 8 de los 10 sujetos recibieron epinefrina en polvo seco (Formulación VII) a una dosis de epinefrina de 800 microgramos. Se obtuvo información de seguridad y PK durante al menos 2 horas después de la dosificación.

- 5 Las evaluaciones iniciales indicaron que los tratamientos fueron bien tolerados, y el escalamiento de dosis continuó hasta la dosis máxima planificada de 800 microgramos de epinefrina en forma de epinefrina en polvo seco. No hubo eventos adversos serios o graves. Hubo tres eventos adversos moderados, que fueron considerados por el investigador principal como definitivamente no relacionados con el tratamiento del estudio.
- 10 La mayoría de las concentraciones plasmáticas de epinefrina después de la administración de epinefrina en polvo seco a dosis de 50-400 microgramos, se encontraban cerca o por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo bioanalítico (50 pg/ml), lo que impidió la estimación de los parámetros de PK. Se observaron perfiles de concentración-tiempo más completos después de la administración de epinefrina en polvo seco dosificada a 800 microgramos y de inyecciones de 300 microgramos de epinefrina. En la Figura 9 se proporcionan los perfiles de
- 15 concentración-tiempo de epinefrina en plasma medios de la epinefrina en polvo seco dosificada a 800 microgramos, la dosis de EpiPen<sup>®</sup> de 300 microgramos y la dosis de inyección IM estándar de 300 microgramos.

EpiPen<sup>®</sup> y la inyección IM estándar proporcionaron una mayor exposición sistémica de epinefrina que la epinefrina en polvo seco, sin embargo, hubo una variabilidad significativa en los perfiles de concentración individuales proporcionados por EpiPen<sup>®</sup> e inyección IM estándar. En el tratamiento con EpiPen<sup>®</sup>, hubo evidencia de dos picos de concentración en muchos sujetos, y un sujeto tuvo absorción muy lenta. La absorción lenta también fue evidente en varios sujetos en el tratamiento estándar de IM.

20

Aunque la exposición sistémica fue menor después de la epinefrina en polvo seco, el perfil de PK durante los primeros 20 minutos después de la dosificación parece prometedor. La Figura 10 muestra las concentraciones plasmáticas de epinefrina plasmática durante 20 minutos después de la dosis para los tratamientos de epinefrina en polvo seco y EpiPen<sup>®</sup>. Para mayor claridad, el tratamiento IM estándar no se representa en el gráfico, sin embargo, la variabilidad observada fue similar a la del EpiPen<sup>®</sup>.

25

30 Con el tratamiento con epinefrina en polvo seco, la absorción de epinefrina fue rápida y la variabilidad entre sujetos fue menor en comparación con el tratamiento inyectable. Esto sugiere que dosis más altas de epinefrina en polvo seco pueden administrar una dosis más reproducible que EpiPen<sup>®</sup> o inyección IM estándar. Las estimaciones medias de C<sub>MÁX</sub> y T<sub>MÁX</sub> para la epinefrina en polvo seco y los tratamientos de inyección se proporcionan en la Tabla M.

35

**Tabla M:** Estimaciones de C<sub>MÁX</sub> y T<sub>MÁX</sub>

Parámetro	Tratamiento		
	Epinefrina en polvo seco (800 microgramos de epinefrina) (n = 8)	EpiPen <sup>®</sup> 300 microgramos (n = 10)	Epinefrina 300 microgramos IM (n = 7)†
C <sub>MÁX</sub> (pg/ml)			
Media (DE)	238 (76)	397 (196)	263 (174)
% de CV	32	49	66
T <sub>MÁX</sub> (min)			
Media (intervalo)	2, (1-5).	12,5, (2-90).	15, (1-60).
† Datos de concentración suficiente disponibles a partir de únicamente 7 de 10 sujetos DE: desviación estándar % de CV: % de coeficiente de variación			

Después de la administración de epinefrina en polvo seco, la epinefrina se absorbió rápidamente, con una T<sub>MÁX</sub> media de 2 minutos. El mayor valor de T<sub>MÁX</sub> (5 minutos) se informó en un sujeto; los 7 sujetos restantes informaron

40 valores de T<sub>MÁX</sub> menores o iguales a 2 minutos. Por el contrario, la administración de epinefrina a través de EpiPen<sup>®</sup> dio como resultado una T<sub>MÁX</sub> media de 12,5 minutos, más de seis veces el valor observado con epinefrina en polvo seco. La mitad de los sujetos tenían valores de T<sub>MÁX</sub> iguales a o mayores de 20 minutos. Además de ser más mayores en comparación con la epinefrina en polvo seco, los valores de T<sub>MÁX</sub> fueron más variables después de la administración de EpiPen<sup>®</sup> y variaron de 2 a 90 minutos. La T<sub>MÁX</sub> después de la inyección IM estándar fue similar a

45 la observada después de la administración de EpiPen<sup>®</sup>. La T<sub>MÁX</sub> fue mayor (es decir, T<sub>MÁX</sub> media de 15 minutos) y más variable (es decir, un intervalo de 1-60 minutos) que para el tratamiento con epinefrina en polvo seco.

- La  $C_{MÁX}$  media después de la epinefrina en polvo seco dosificada a 800 microgramos fue comparable a la observada después de una inyección IM estándar de 300 microgramos (238 pg/ml frente a 263 pg/ml), sin embargo, la variabilidad fue menor (32 % de CV frente a al 66 % de CV). La media en el tratamiento IM estándar se vio influenciada probablemente por 2 sujetos, que notificaron valores más altos de  $C_{MÁX}$  en relación con los demás en el grupo (405 y 595 pg/ml en comparación con 220 pg/ml o menos). La  $C_{MÁX}$  media después de la epinefrina en polvo seco dosificada a 800 microgramos fue menor que la observada para 300 microgramos de EpiPen<sup>®</sup> (238 pg/ml frente a 397 pg/ml). De nuevo, se observó una variabilidad reducida en comparación con EpiPen<sup>®</sup> (32 % de CV frente al 49 % de CV).
- 10 En un análisis farmacodinámico preliminar (PD), se produjeron gráficos de cambios de parámetros con el tiempo. Las formas de las curvas para las diferentes vías de administración de epinefrina sugieren que la relación entre la concentración de epinefrina y el efecto no es directa para todos los marcadores de PD. Por ejemplo, se muestran en la Figura 11 los cambios medios en el potasio desde el valor inicial para la epinefrina en polvo seco y las inyecciones IM. Estos datos indican que EpiPen<sup>®</sup> produjo el cambio medio máximo desde el valor inicial en 10 minutos después de la dosificación, similar al momento en que se produjo la  $C_{MÁX}$  de epinefrina (es decir, la  $T_{MÁX}$  media fue de 12,5 minutos). En cambio, el cambio medio de potasio máximo desde el valor inicial para la epinefrina en polvo seco dosificada a 800 microgramos se produjo después de EpiPen<sup>®</sup> (es decir, 20 minutos después de la dosis), a pesar de haber alcanzado la concentración de epinefrina plasmática máxima más rápidamente después de la dosificación (es decir, la  $T_{MÁX}$  media fue 2 minutos). Las concentraciones de potasio después del tratamiento IM estándar continuaron disminuyendo a través de 60 minutos después de la dosis, aunque la concentración plasmática máxima se alcanzó aproximadamente 15 minutos después de la dosis.

- Debido a que algunas respuestas farmacológicas a la epinefrina tardan en desarrollarse, la respuesta observada en un momento dado no está aparentemente relacionada con la concentración plasmática en ese mismo momento. Las diferencias marcadas en los perfiles de concentración-tiempo de epinefrina entre la epinefrina inhalada e inyectada no se traducen directamente en marcadas diferencias en los perfiles efecto-tiempo. Por lo tanto, a pesar de diferentes perfiles de PK, puede ser posible lograr un perfil de DP con epinefrina en polvo seco similar al de la inyección de epinefrina.
- 30 En resumen, los resultados de este estudio en humanos indican que la epinefrina en polvo seco es un método alternativo prometedor para la administración de epinefrina. Después de la administración de dosis únicas, no se presentaron problemas de seguridad graves. La  $T_{MÁX}$  de epinefrina fue notablemente más corta después de la administración de epinefrina en polvo seco en comparación con la inyección (es decir, tanto EpiPen<sup>®</sup> como inyección IM estándar). Además, la variabilidad en la  $C_{MÁX}$  y la  $T_{MÁX}$  se redujo con epinefrina en polvo seco en relación con la inyección. Es decir, el coeficiente de variación (CV) de la  $T_{MÁX}$  y  $C_{MÁX}$  en plasma eran sustancialmente inferiores con epinefrina en polvo seco que con epinefrina inyectada.

### **Ejemplo 16**

- 40 El siguiente ejemplo describe un estudio humano propuesto de la Formulación IX en polvo seco como se describe en la Tabla A. Los objetivos de este estudio incluyen: 1) evaluación de la seguridad y tolerabilidad de la epinefrina en polvo seco de Formulación IX, 2) evaluación de los perfiles farmacocinéticos (PK) y farmacodinámicos (PD) a través de un intervalo de dosis, y 3) la identificación de los regímenes de dosificación potenciales de epinefrina en polvo seco inhalado para el desarrollo clínico posterior. Se anticipa que la dosis inicial de epinefrina en polvo seco tiene un efecto de PD límite (es decir, menor que EpiPen<sup>®</sup>, 300 microgramos). Se realizará un escalamiento de la dosis de epinefrina en polvo seco posterior para determinar una dosis de epinefrina inhalada que consiga efectos de EP de una magnitud similar a los observados con EpiPen<sup>®</sup>.

- El diseño será un estudio de escalamiento de dosis, controlado con placebo y comparador activo de ocho períodos, de una sola cohorte, de doble ciego, en un ~24 voluntarios varones y mujeres sanos. Los sujetos se seleccionarán para excluir anomalías cardiovasculares. La selección requerirá una prueba normal de ejercicio en la cinta de correr y una grabación del monitor Holter.

- A los sujetos se les administrará EpiPen<sup>®</sup> (300 microgramos) y una inyección subcutánea de 300 microgramos en los Grupos 1 y 2, respectivamente.

- En los Grupos 3, 4 y 5, a los sujetos se les administrará placebo y una dosis de 500 microgramos y 1000 microgramos de epinefrina en polvo seco de Formulación IX de una manera de doble ciego. Los sujetos serán asignados al azar a una de tres secuencias de tratamiento (N = 8: placebo, 500 microgramos de epinefrina, 1000 microgramos de epinefrina, N = 8: 500 microgramos, placebo, 1000 microgramos de epinefrina, N = 8: 500

- microgramos de epinefrina, 1000 microgramos de epinefrina, placebo). La dosis inicial de epinefrina en polvo seco se seleccionó sobre la base de los resultados de los estudios en seres humanos descritos en el Ejemplo 15. La dosis inicial de 500 microgramos que se utilizará como dosis inicial está por debajo de la dosis más alta usada en epinefrina en polvo seco (800 microgramos de epinefrina) que administró a seres humanos y se toleró bien y
- 5 demostró un nivel más bajo de exposición de epinefrina/respuesta de DP en comparación con EpiPen® (300 microgramos). El escalamiento de la dosis debe permitir la elucidación de una dosis de epinefrina en polvo seco que es bien tolerada y proporciona la respuesta de PD deseada.
- En los Grupos 6, 7 y 8 sujetos se administrarán 1500, 2000 y 2500 microgramos de epinefrina en epinefrina en polvo
- 10 seco, respectivamente. Después de cada administración de fármaco de estudio, se obtendrán ECG de repetición, cinta de ritmo, química en suero, hematología, análisis de orina, hallazgos del examen físico y espirometría. Se recogerán muestras en plasma repetidas para el análisis de PK. Se registrarán eventos adversos notificados espontáneamente.
- 15 Para evaluar el impacto del asma en la administración sistémica de epinefrina, se realizará una evaluación de PK de la epinefrina en polvo seco en pacientes con asma leve a moderada. Se planean dos estudios en pacientes asmáticos, incluyendo: 1) una investigación piloto; y 2) un estudio clínico definitivo con epinefrina en polvo seco y un régimen de dosis clínica, incluyendo el uso de un inhalador comercial.
- 20 Existen varios parámetros PD para medir la magnitud y la duración de las actividades de beta agonistas provocadas por la epinefrina. Como se muestra en la Tabla N, varios de estos parámetros, incluyendo la presión arterial sistólica, corresponden directamente a las acciones terapéuticas de la epinefrina en el tratamiento de la anafilaxia. Las mediciones de PD serán incluidas en todos los estudios de PK. Como se detalla en la sección a continuación, la comparación del perfil de DP de la epinefrina en polvo seco frente a la epinefrina IM será la base principal para la
- 25 selección de la dosis.

**Tabla N:** Parámetros farmacocinéticos

Parámetros farmacocinéticos	Acciones fisiológicas clave de la epinefrina en el tratamiento de la anafilaxia
Presión arterial sistólica ( $\beta_1 > \beta_2$ )	Gasto cardiaco ( $\beta_1 > \beta_2$ )
Presión arterial diastólica ( $\alpha_1, \beta_2$ )	Aumento de la resistencia vascular sistémica ( $\alpha_1, \beta_2$ )
Frecuencia cardiaca ( $\beta_1 > \beta_2$ )	Disminución de la fuga vascular y edema tisular ( $\beta_2$ )
QTc ( $\beta_1 > \beta_2$ )	Disminución del broncoespasmo ( $\beta_2$ )
Suero K+ ( $\beta_2$ )	Inhibición de la desgranulación de mastocitos* ( $\beta_2$ )
Glucosa en suero ( $\beta_2, \alpha_2, \beta_3$ )	FEV <sub>1</sub> ( $\beta_2$ )
<i>Adaptado de</i> Goodman y Gilman's, The Pharmacologic Basis for Therapeutics, 10 <sup>a</sup> ed. 2001, McGraw Hill, Nueva York, Capítulo 10, pág. 215.	
<i>* Estudios recientes in vitro indican que los agonistas beta inhiben la desgranulación de los mastocitos. El tratamiento con epinefrina puede interferir con la cascada inflamatoria bloqueando la liberación de los mediadores de mastocitos, aunque la relevancia clínica de estos hallazgos in vitro es incierta.</i> Barnes, P.J., "Effect of Beta-Agonists on Inflammatory Cells", J. Allergy Clin. Immunol. 104(2 Pt 2):s10-7 (1999).	

- Las medidas del volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV<sub>1</sub>) se incluirán en los estudios en voluntarios
- 30 normales y estudios en pacientes con asma. Se compararán los efectos de la epinefrina en polvo seco y la epinefrina inyectada sobre el FEV<sub>1</sub> y otros parámetros espirométricos.

- Debido a que es poco ético e impráctico llevar a cabo estudios de eficacia en un contexto de anafilaxia clínica, la selección de dosis para la epinefrina en polvo seco utilizará un enfoque de modelado de PK/PD. El objetivo es
- 35 identificar un régimen de dosis/dosificación de epinefrina en polvo seco que produzca un perfil de PD que se compare favorablemente con el observado después de 300 microgramos de epinefrina inyectada.

- Los modelos matemáticos (por ejemplo, basados en la PD o la relación dosis-respuesta de PK/PD) se implementarán en ejercicios de simulación de ensayos clínicos y se usarán para estimar una dosis/régimen de
- 40 dosificación de epinefrina en polvo seco que se espera produzca una magnitud similar de efectos en los marcadores de PD como la administración de 300 microgramos de epinefrina inyectada.

Se evaluará la dosis/régimen de dosificación identificado mediante modelado de PK y se comparará con la epinefrina inyectada (300 microgramos) en un estudio clínico. Un objetivo primario de este estudio será confirmar que el

régimen de dosis de epinefrina en polvo seco seleccionado da un perfil de PD similar en magnitud al observado con epinefrina inyectada usando criterios definidos por modelación de PK/PD. Asumiendo que se observa el perfil de PK/PD deseado, la dosis/régimen de dosificación seleccionado se propagará a lo largo de estudios clínicos posteriores.

5

Una evaluación de seguridad de la epinefrina en polvo seco consistirá en evaluaciones en voluntarios normales, asma y pacientes con anafilaxia. Todos los estudios con epinefrina en polvo seco incluirán evaluaciones exhaustivas de la seguridad, incluyendo eventos adversos, repetición de signos vitales, exámenes físicos, evaluaciones de ECG (incluyendo evaluaciones específicas del intervalo QT y ritmo cardíaco), química sérica (incluyendo glucosa y potasio) y hematología. A través del programa de desarrollo clínico, aproximadamente 150 sujetos/pacientes recibirán al menos una administración de epinefrina en polvo seco. La gran mayoría de estos pacientes también recibirán una administración de un comparador inyectado.

Tanto la seguridad como la eficacia de la epinefrina están basadas en mecanismos en relación con el agonismo alfa y beta adrenérgico. Como se señaló anteriormente, el modelado de PK/PD se llevará a cabo con una diversidad de parámetros que incluyen la presión arterial sistólica y diastólica, potasio sérico, función pulmonar y frecuencia cardíaca. La intención de este análisis es definir un régimen de dosis/dosificación de polvo seco epinefrina que da lugar a agonismo adrenérgico sistémico a una magnitud similar a la que se produce después de 300 microgramos de epinefrina inyectada. Usando este enfoque, el perfil de seguridad del régimen de dosificación de epinefrina en polvo seco debe ser similar a la administración inyectada de epinefrina.

20

### **Ejemplo 17**

El siguiente ejemplo describe un estudio clínico humano que evalúa partículas porosas de polvo seco inhaladas que contienen epinefrina (es decir, Formulación XI: leucina al 72 %, bitartrato de epinefrina al 16 % y tartrato sódico al 12 % (% en peso), como se describe en Tabla A). El estudio fue parte de un estudio de Fase I, de una sola cohorte, cegado, controlado con placebo y activo, de escalamiento de la dosis en 23 voluntarios varones y mujeres sanos.

25

Cada sujeto (n = 23) recibió dosis únicas con al menos dos días de diferencia entre las siguientes:

30

- (a) polvo seco de placebo;
- (b) epinefrina a una dosis de 300 microgramos administrada mediante un autoinyector (EpiPen<sup>®</sup>); y
- (c) epinefrina a una dosis de 300 microgramos administrada por inyección subcutánea estándar (SC).

Doce sujetos (es decir, n = 12) recibieron 2 dosis de epinefrina en polvo seco (es decir, Formulación XI, preparada usando el mismo método descrito en el Ejemplo 8) cada una a una dosis de 500 microgramos, separadas por un intervalo de 15 minutos. Se administró epinefrina en polvo seco a cada uno de los sujetos al menos dos días después de la administración de un placebo o se inyectó epinefrina como se ha descrito anteriormente. Las partículas de epinefrina en polvo seco tenían un DGMV de 6,3 micrómetros a 1 bar como se determinó mediante RODOS y una PPF (<3,3) del 31 % que se mide usando ACI-3 con tamices húmedos.

40

Se usaron parámetros farmacodinámicos, que incluían la presión arterial sistólica y los niveles de potasio sérico, correspondientes a las acciones terapéuticas de la epinefrina en el tratamiento de la anafilaxia como indicadores de la eficacia de la epinefrina en polvo seco, por ejemplo, para medir la magnitud y la duración de las actividades de beta agonistas provocadas por la epinefrina. La epinefrina se absorbió rápidamente de la formulación de epinefrina en polvo seco, presentándose concentraciones plasmáticas máximas aproximadamente 1 minuto después de la inhalación. En general, se observaron cambios relacionados con la dosis en las variables de PD con inicio rápido después de la administración de la formulación de epinefrina en polvo seco. Los eventos adversos consistentes con el agonismo alfa y beta-adrenérgico (por ejemplo, palpitations, temblor y palidez) parecían estar relacionados con la dosis. La mayoría de los eventos adversos reflejaron los efectos basados en un mecanismo debido a la estimulación alfa y beta-adrenérgica.

50

Las Figuras 12 y 13 muestran los cambios medios en la presión arterial sistólica humana (en mm Hg) y las concentraciones de potasio en suero sanguíneo (en mmol/l), respectivamente, en función del tiempo (en minutos) tras (1) la administración de una dosis inicial de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) con administración de una dosis posterior de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) a los 15 minutos (n = 12), (2) administración de placebo en polvo seco (n = 23), (3) una inyección subcutánea de 300 microgramos de epinefrina (n = 23), y (4) administración de EpiPen<sup>®</sup> a una dosis de 300 microgramos (n = 23). Las Figuras 14 y 15 muestran el cambio del placebo y el intervalo de confianza del 95 % de la presión arterial sistólica humana (en mm Hg) y concentraciones de potasio en suero sanguíneo (en mmol/l) respectivamente, en función del tiempo (en

60

minutos) tras (1) la administración de una dosis inicial de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) con administración de una dosis posterior de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) a los 15 minutos, (2) una inyección subcutánea de epinefrina de 300 microgramos, y (3) la administración de EpiPen<sup>®</sup> a una dosis de 300 microgramos.

5

Las Figuras 12 a 15 demuestran que la administración de una segunda dosis de epinefrina en polvo seco (500 microgramos de epinefrina) 15 minutos después de una administración inicial de una dosis de 500 mg de epinefrina a través de polvo seco dio lugar a cambios en la presión arterial sistólica y la concentración de potasio en suero que se aproximaron o superaron la duración y la magnitud de los cambios observados con la administración inyectable

10 de epinefrina.

Aunque esta invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencias a realizaciones preferidas de la misma, los expertos en la técnica entenderán que pueden hacerse diversos cambios en la forma y en los detalles en la misma sin apartarse del alcance de la invención incluido por las reivindicaciones adjuntas.

15

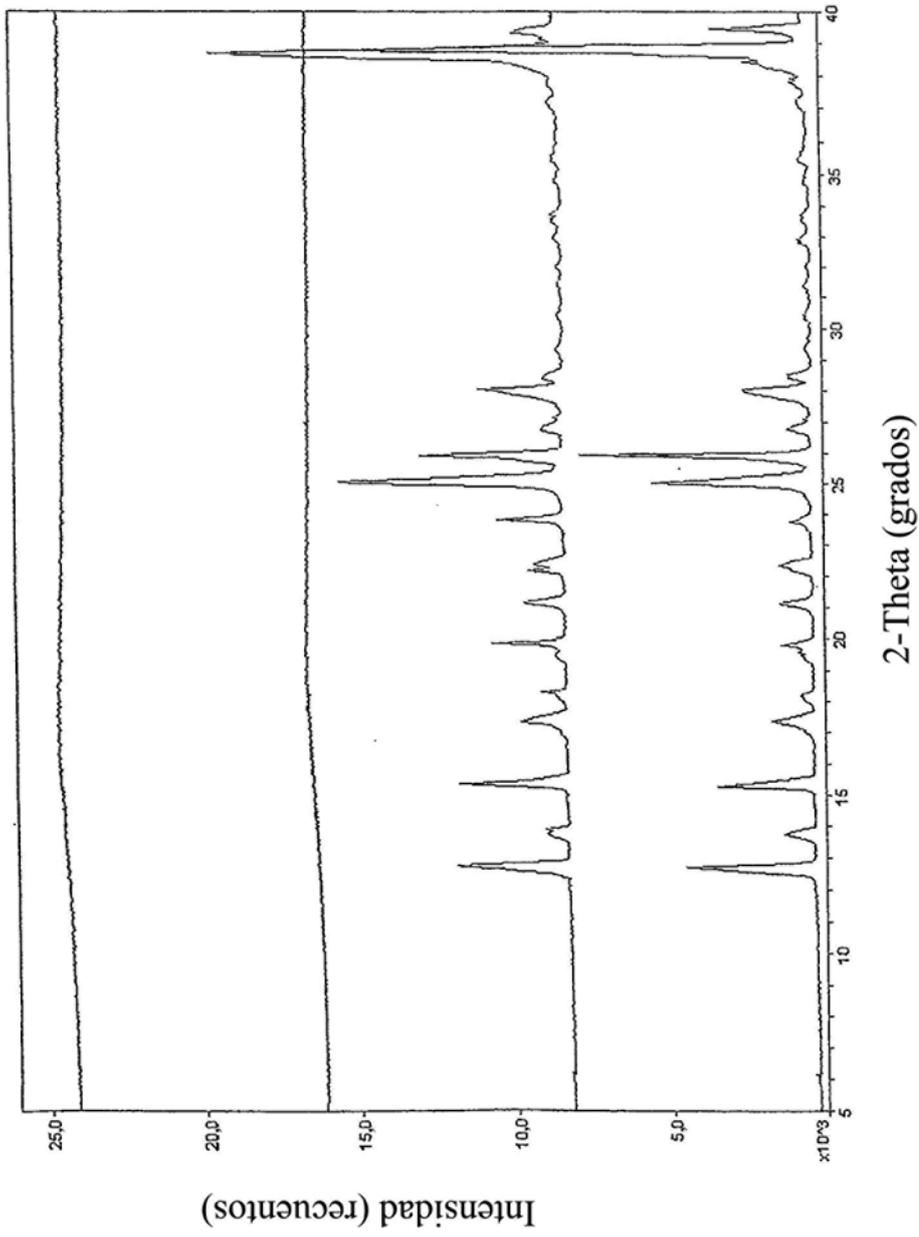
**REIVINDICACIONES**

1. El uso de partículas que contienen no más del 10 % en peso de líquido, cuyas partículas comprenden:
  - 5 a) epinefrina, o una sal de la misma; y
  - b) al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable

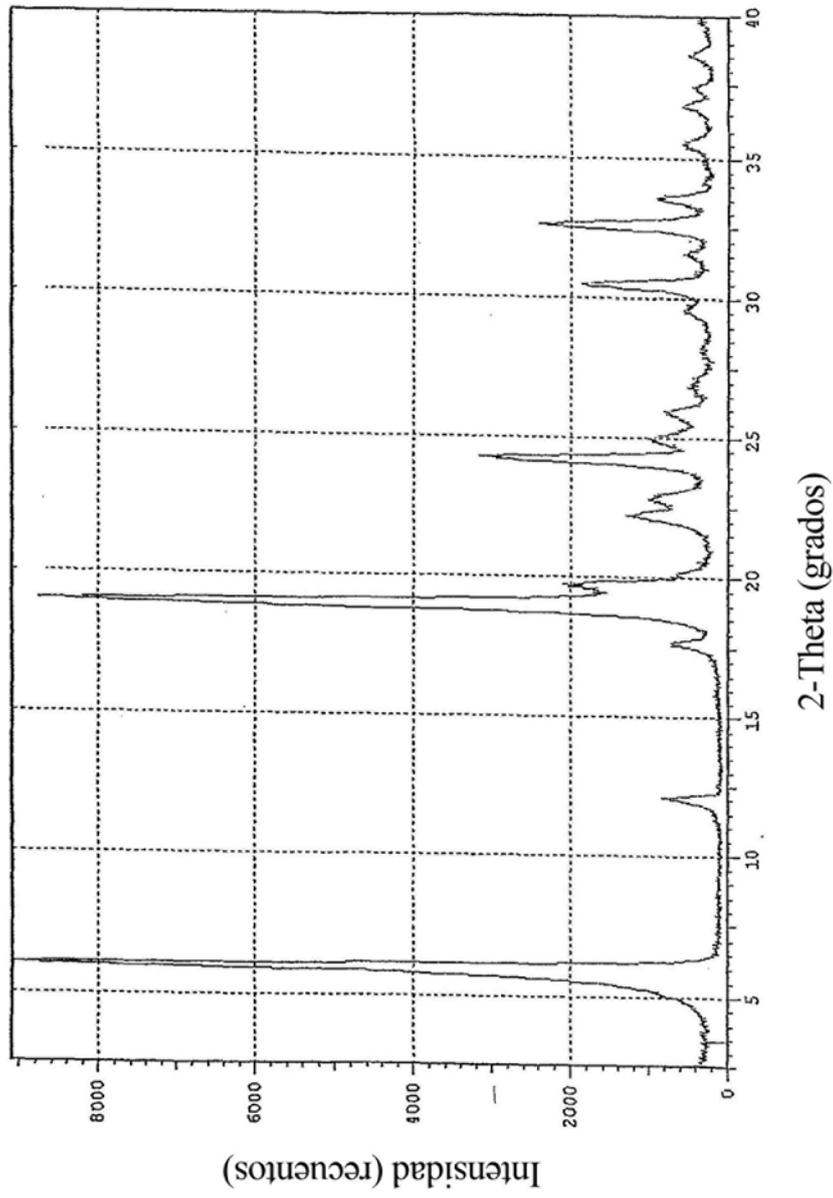
para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar un paciente que necesita epinefrina, donde dichas partículas se administrarán en una única etapa activada por la respiración de un inhalador de polvo seco al sistema
- 10 respiratorio de un paciente como partículas que comprenden al menos 50 microgramos de epinefrina, que tiene una densidad compactada inferior a  $0,4 \text{ g/cm}^3$ , y que posee una fracción de partícula fina de menos de  $5,6 \mu\text{m}$  de al menos el 45 por ciento.
2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde la epinefrina, o sal de la misma, está presente en las
- 15 partículas en una cantidad que varía del 1 al 95 por ciento en peso.
3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, donde la epinefrina, o sal de la misma, está presente en las partículas en una cantidad que varía del 1 al 45 por ciento en peso.
- 20 4. El uso de acuerdo con la reivindicación 3, donde la epinefrina, o sal de la misma, está presente en las partículas en una cantidad que varía del 1 al 30 por ciento en peso.
5. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde las partículas se secan por pulverización.
- 25 6. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde las partículas son amorfas.
7. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la epinefrina, o sal de la misma, contenida en las partículas es amorfa o cristalina.
- 30 8. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el excipiente farmacéuticamente aceptable contenido en las partículas es amorfo o cristalino.
9. El uso de acuerdo con la reivindicación 8, donde las partículas comprenden de 250 microgramos a 5
- 35 miligramos de epinefrina y se administrarán en una única inhalación.
10. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde una primera porción de las partículas debe depositarse en las vías respiratorias del sistema respiratorio y una segunda porción de las partículas debe depositarse en la región alveolar de los pulmones.
- 40 11. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde una porción de las partículas se administrará a la región alveolar de los pulmones.
12. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde una porción de las
- 45 partículas se administrará a las vías aéreas superiores.
13. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la epinefrina se libera de las partículas y actúa sistémica o localmente.
- 50 14. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde dicho medicamento es para tratar la anafilaxia.
15. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, donde dicho medicamento es para tratar una afección seleccionada del grupo que consiste en broncoconstricción, broncoespasmo, constricción de
- 55 las vías respiratorias y edema.
16. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, donde la epinefrina se libera de las partículas de una manera sostenida.
- 60 17. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde las partículas poseen una

fracción de partículas finas de menos de 3,4  $\mu\text{m}$  de al menos el 15 por ciento.

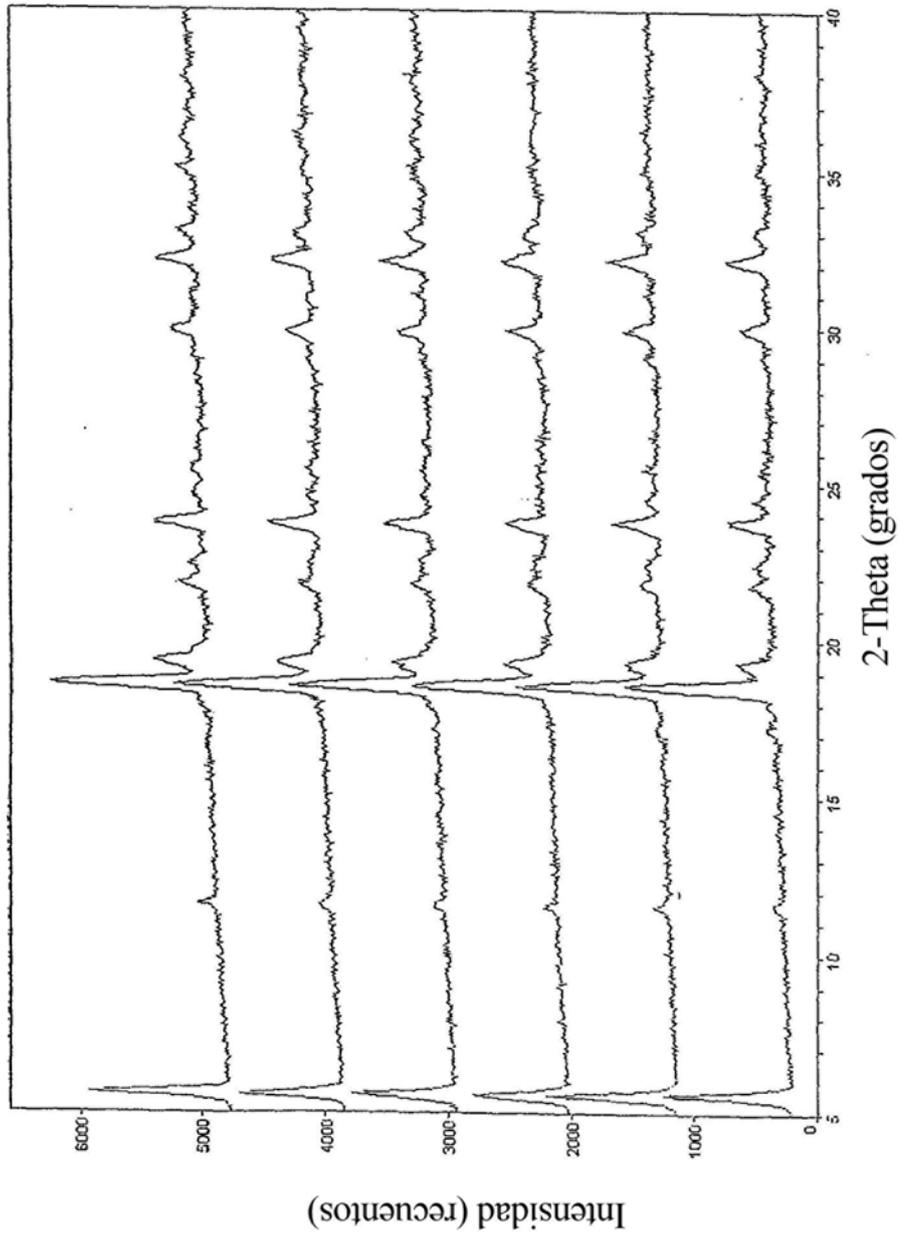
18. El uso de acuerdo con la reivindicación 14, donde las partículas se suministrarán al sistema respiratorio y la epinefrina alcanza su sitio de acción dentro de un tiempo suficientemente corto para proporcionar dicha terapia de rescate.



**Figura 1A**



**FIGURA 1B**



**Figura 1C**

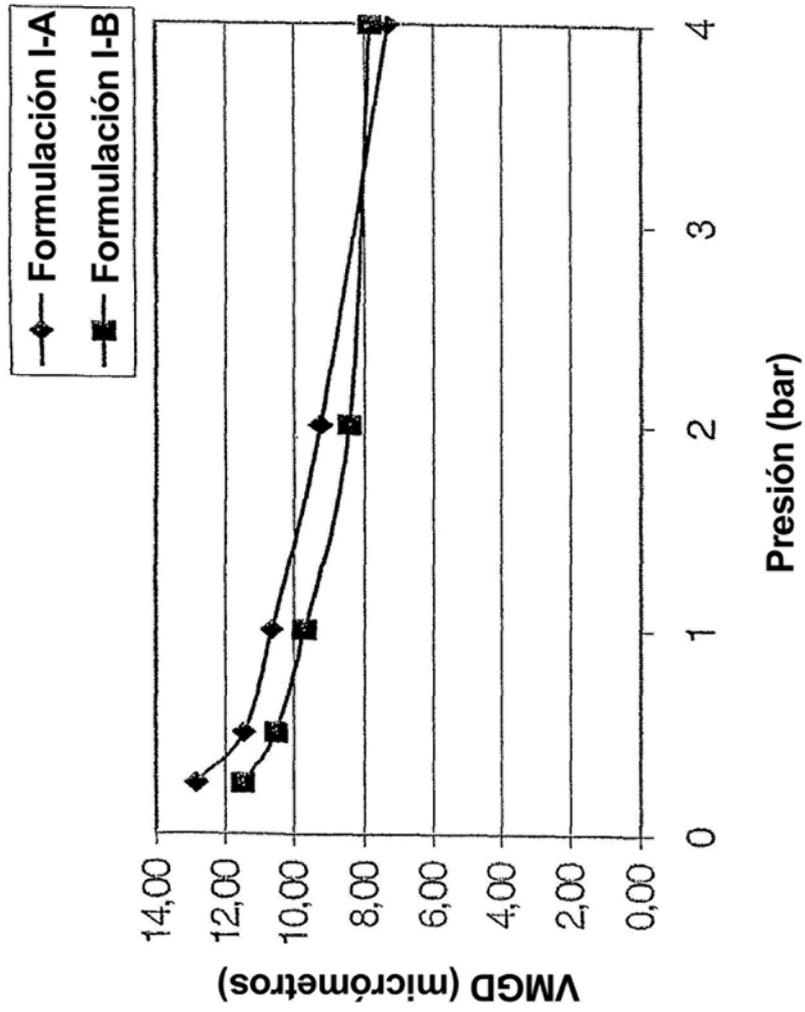


Figura 2

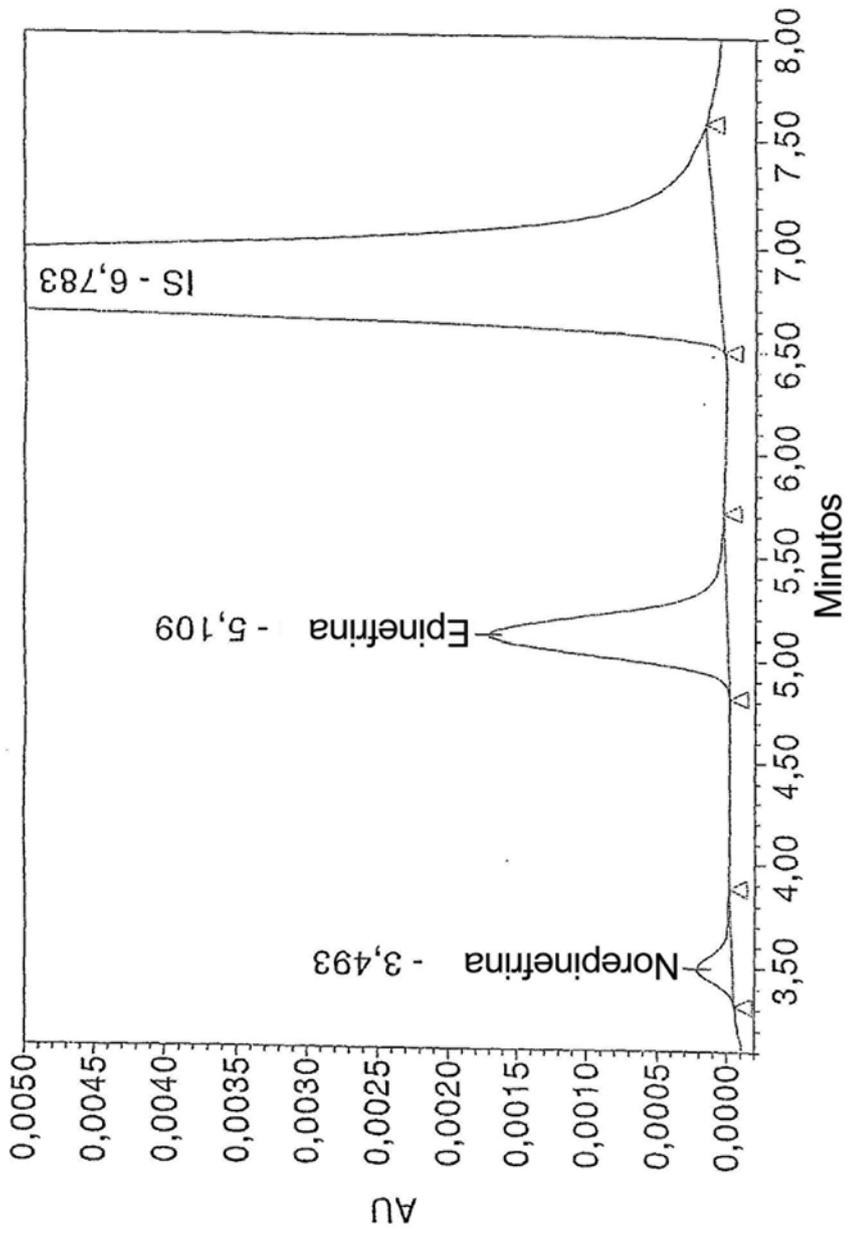


Figura 3A

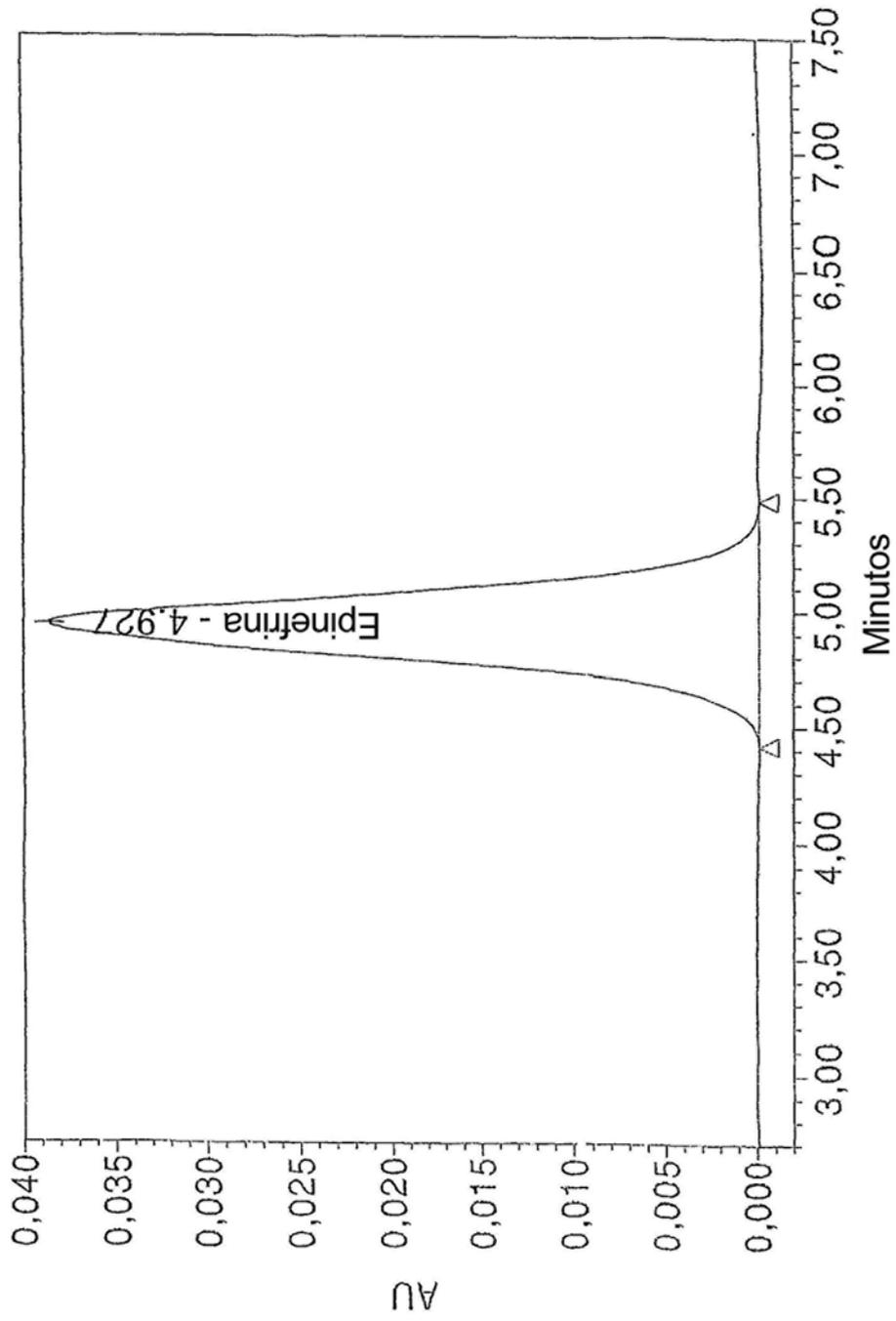


Figura 3B

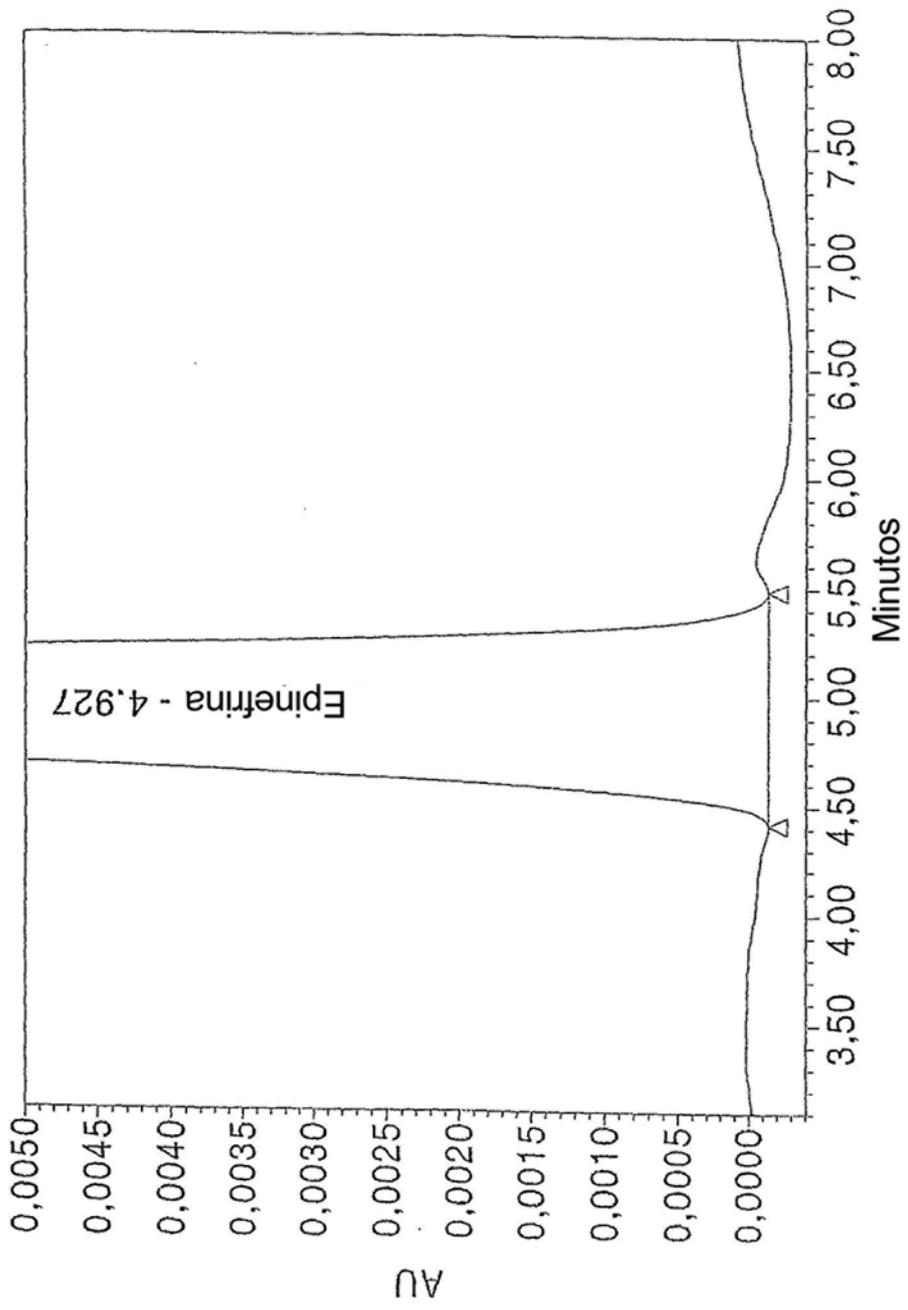


Figura 3C

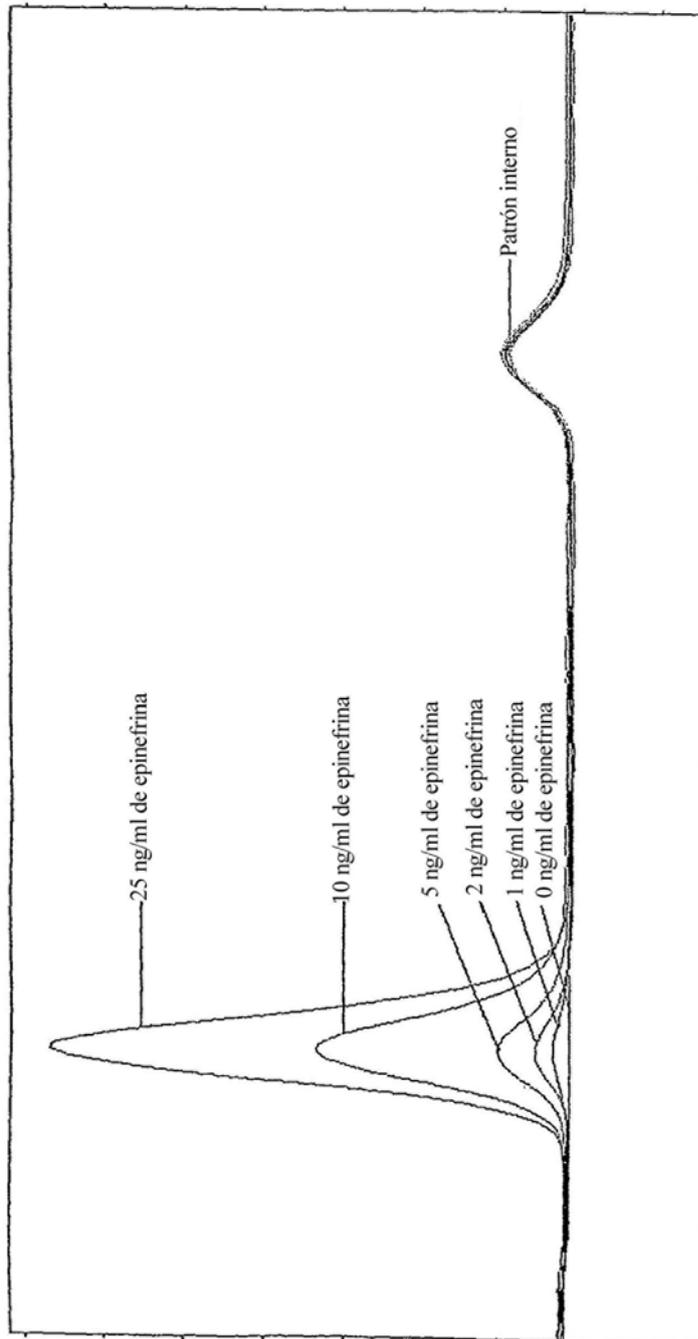


Figura 4A

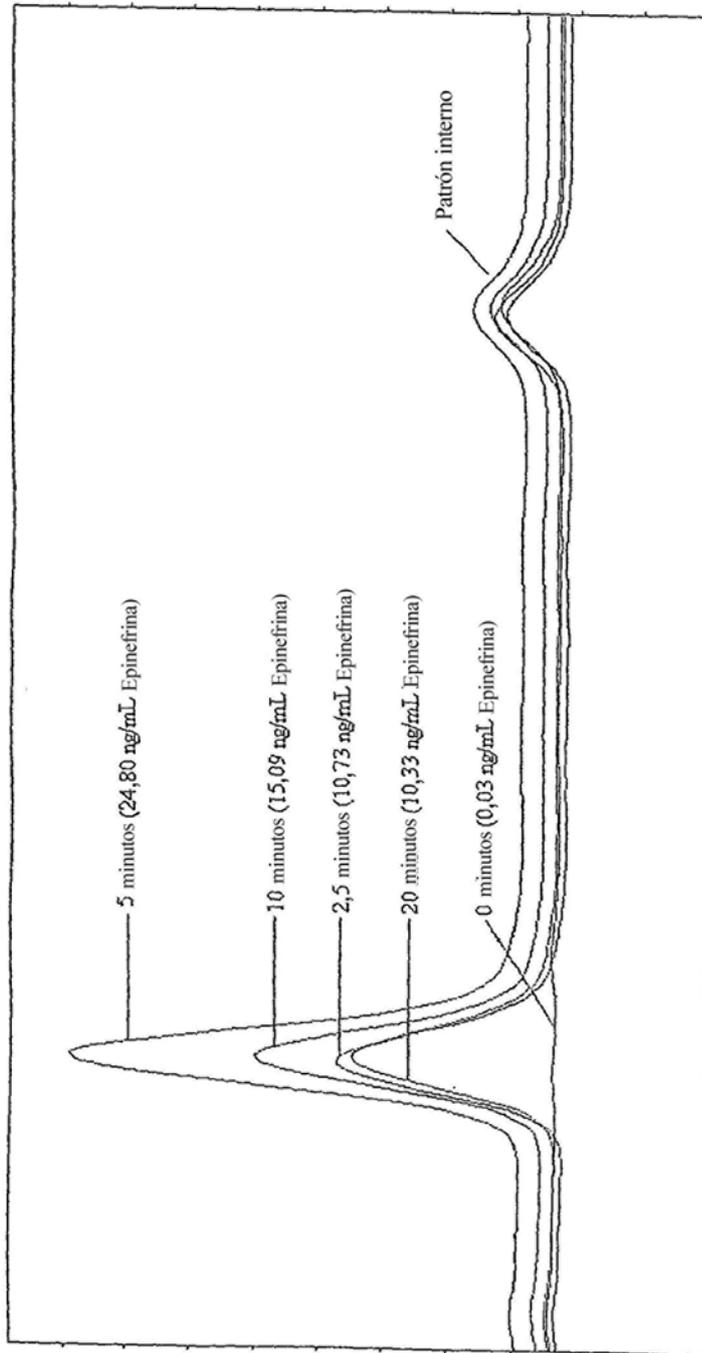


Figura 4B

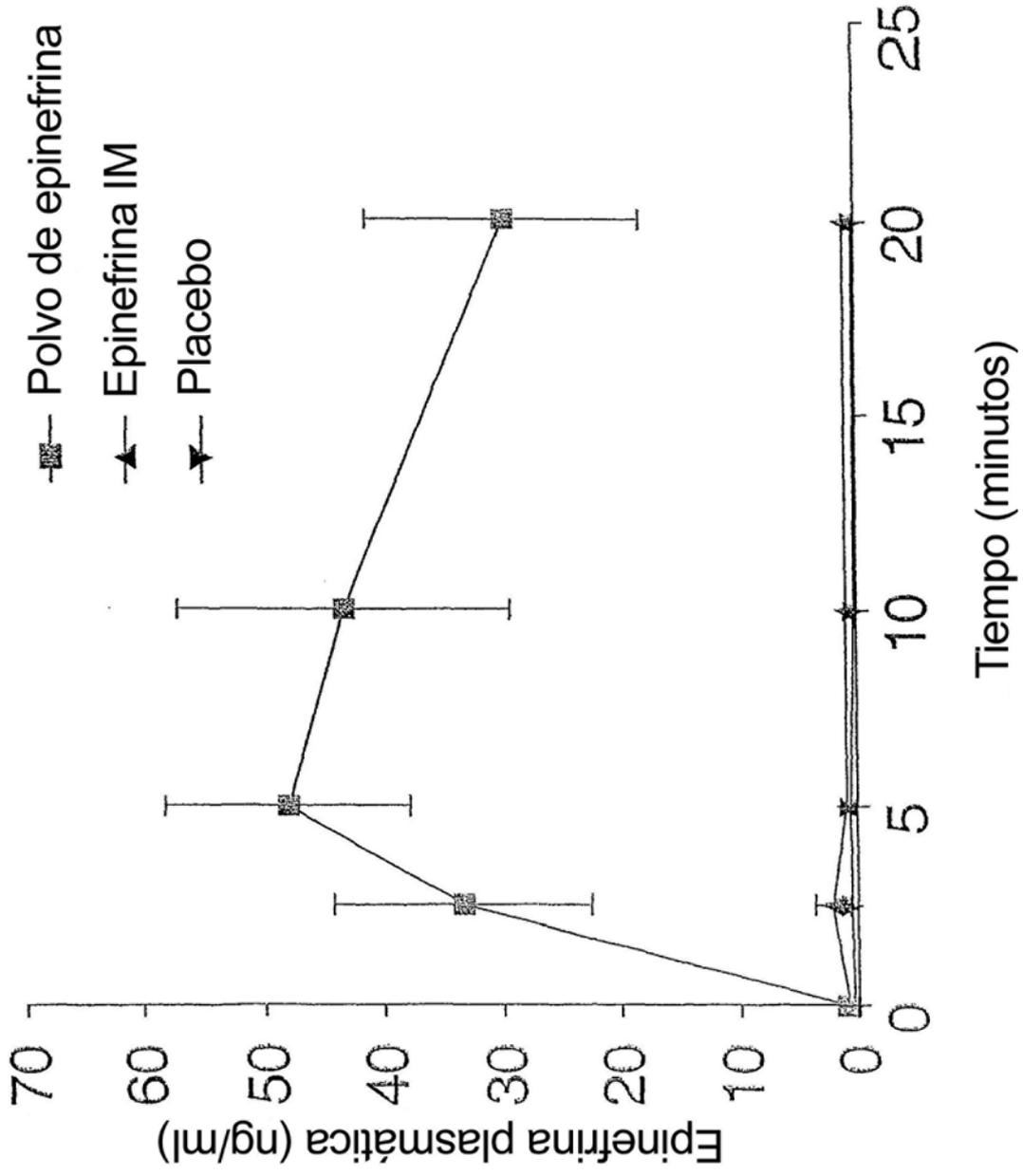


Figura 5

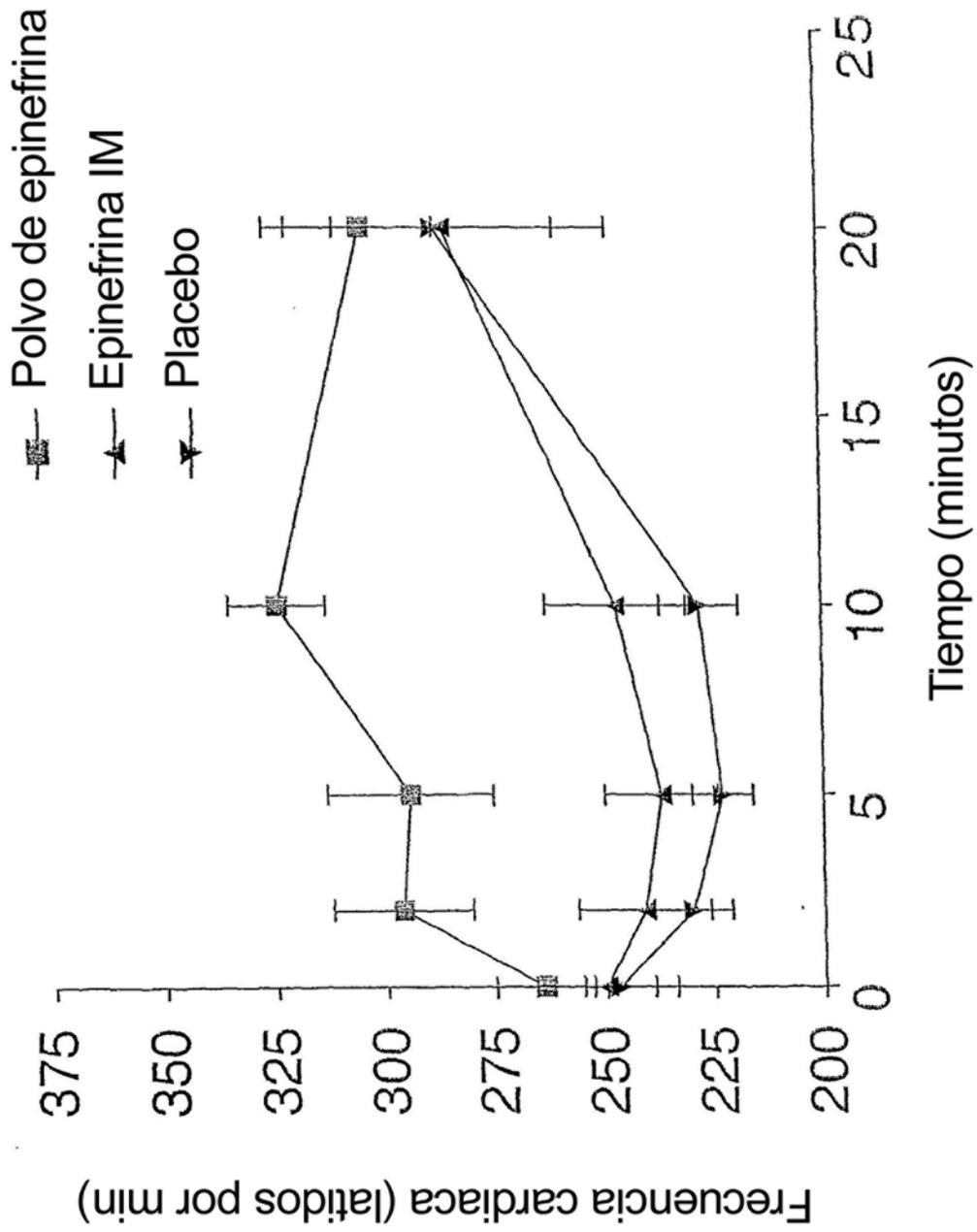


Figura 6

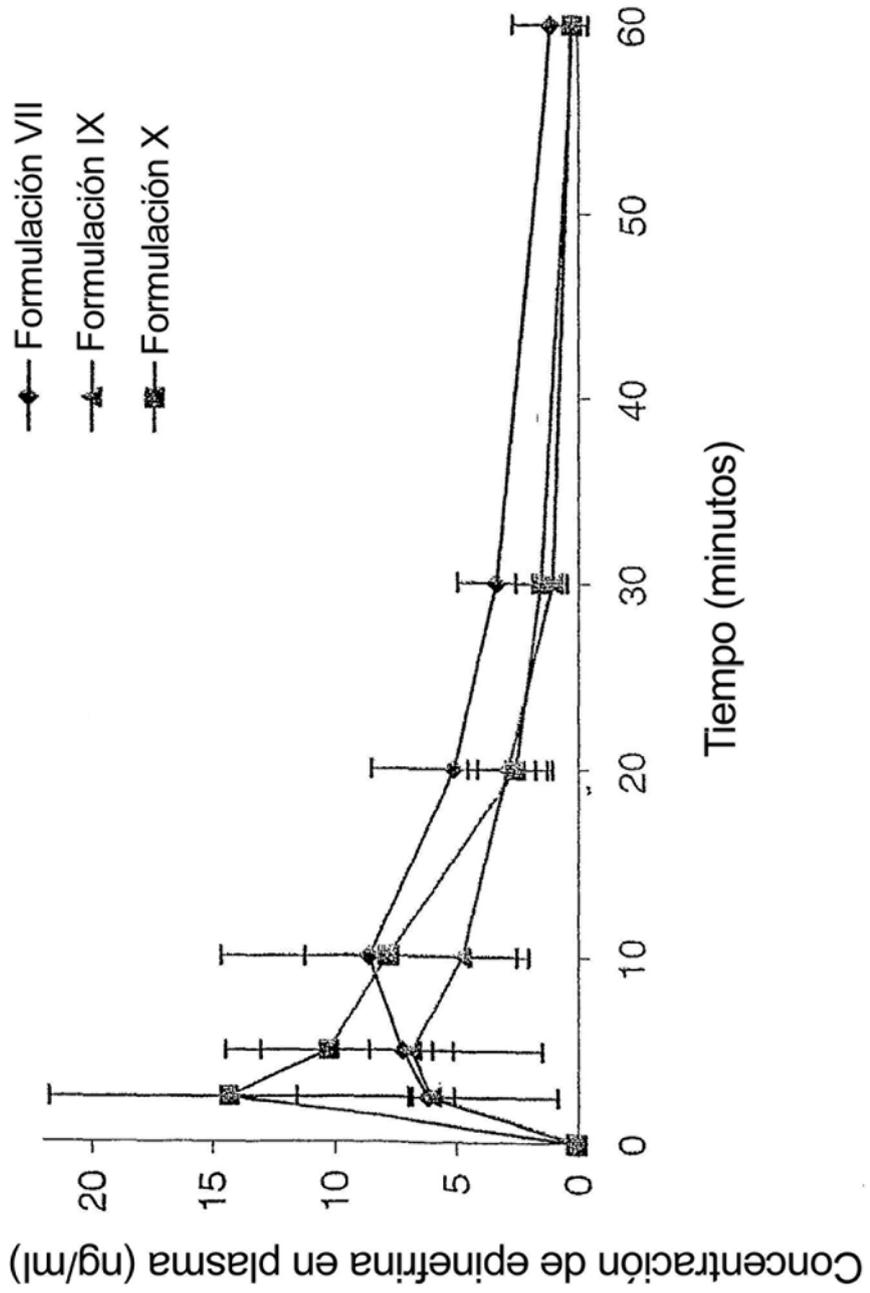


Figura 7

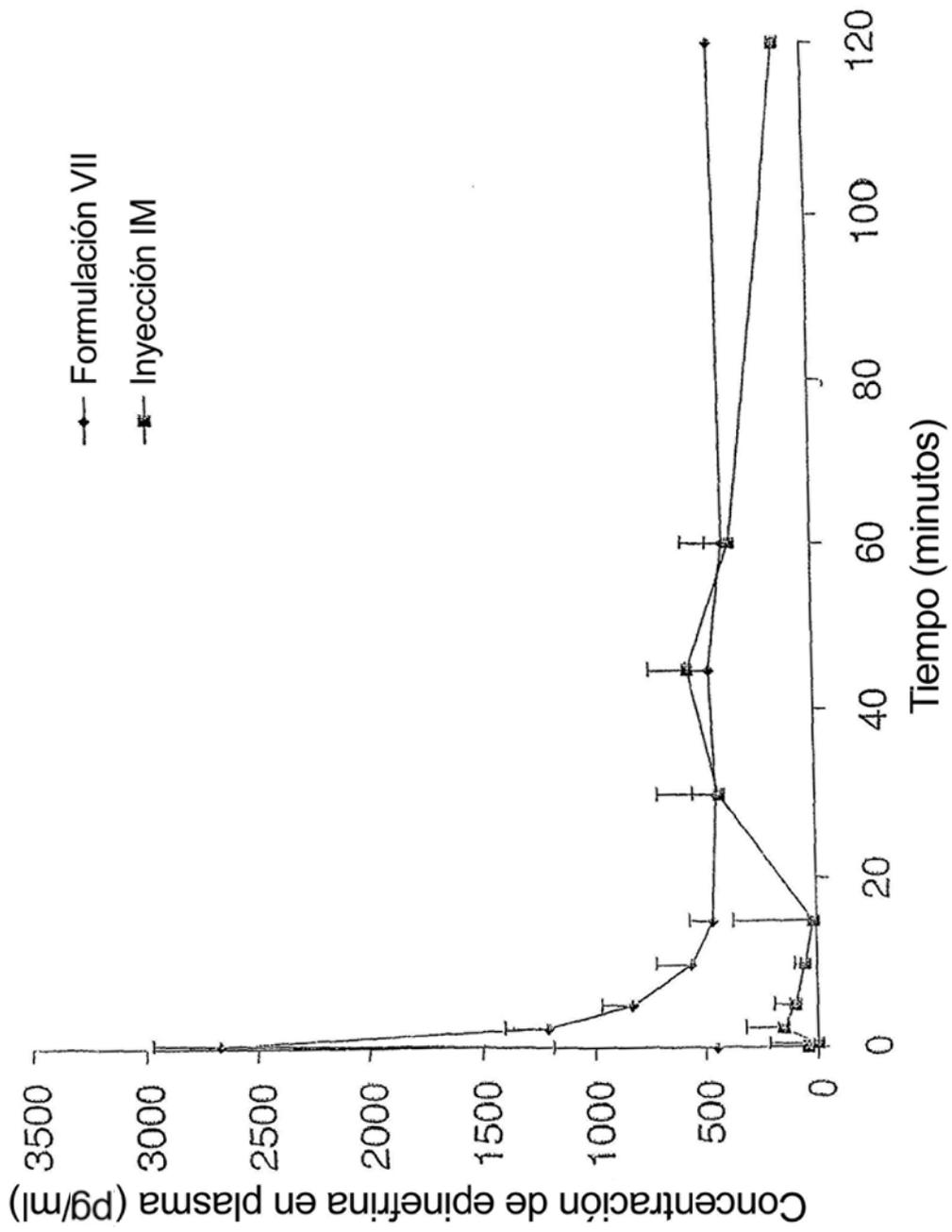


Figura 8

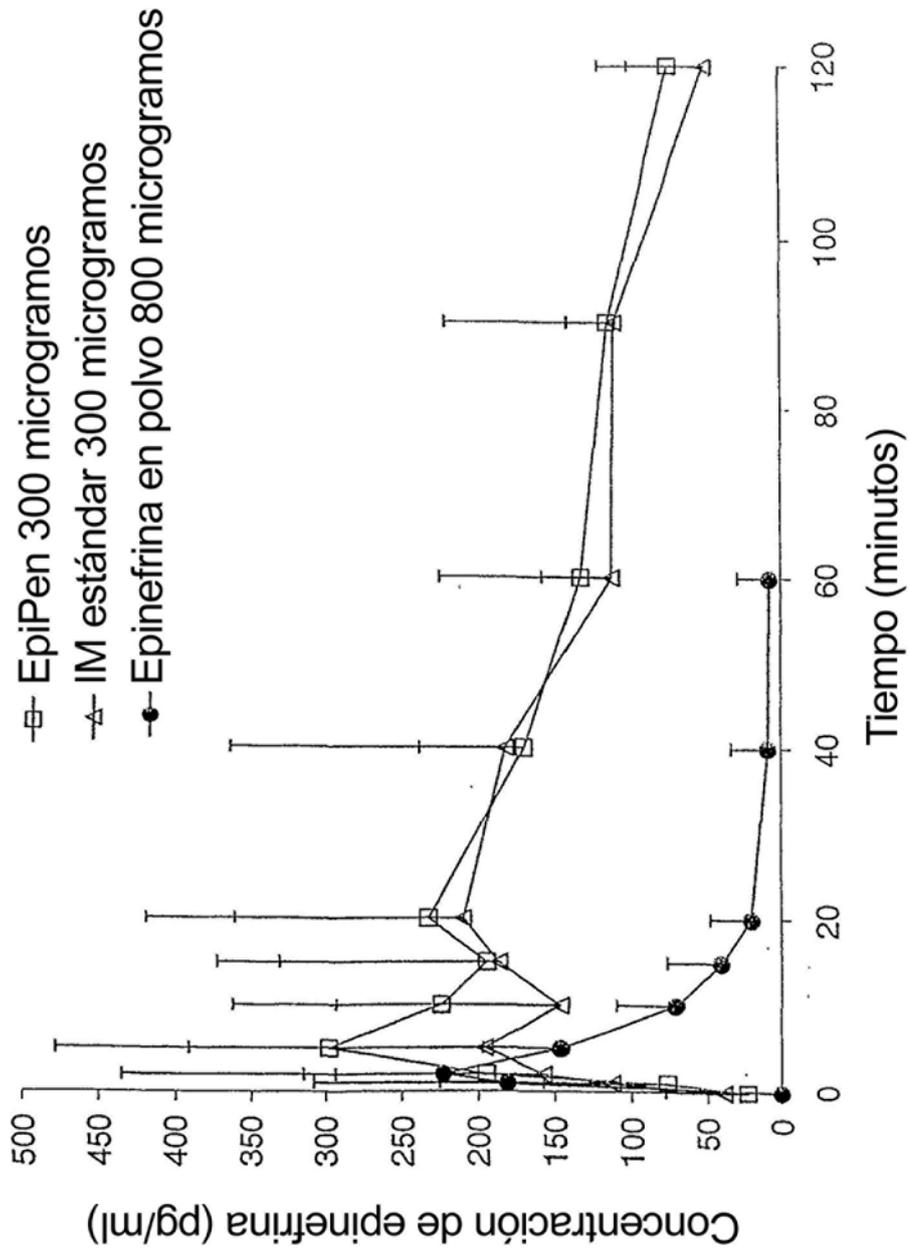


Figura 9

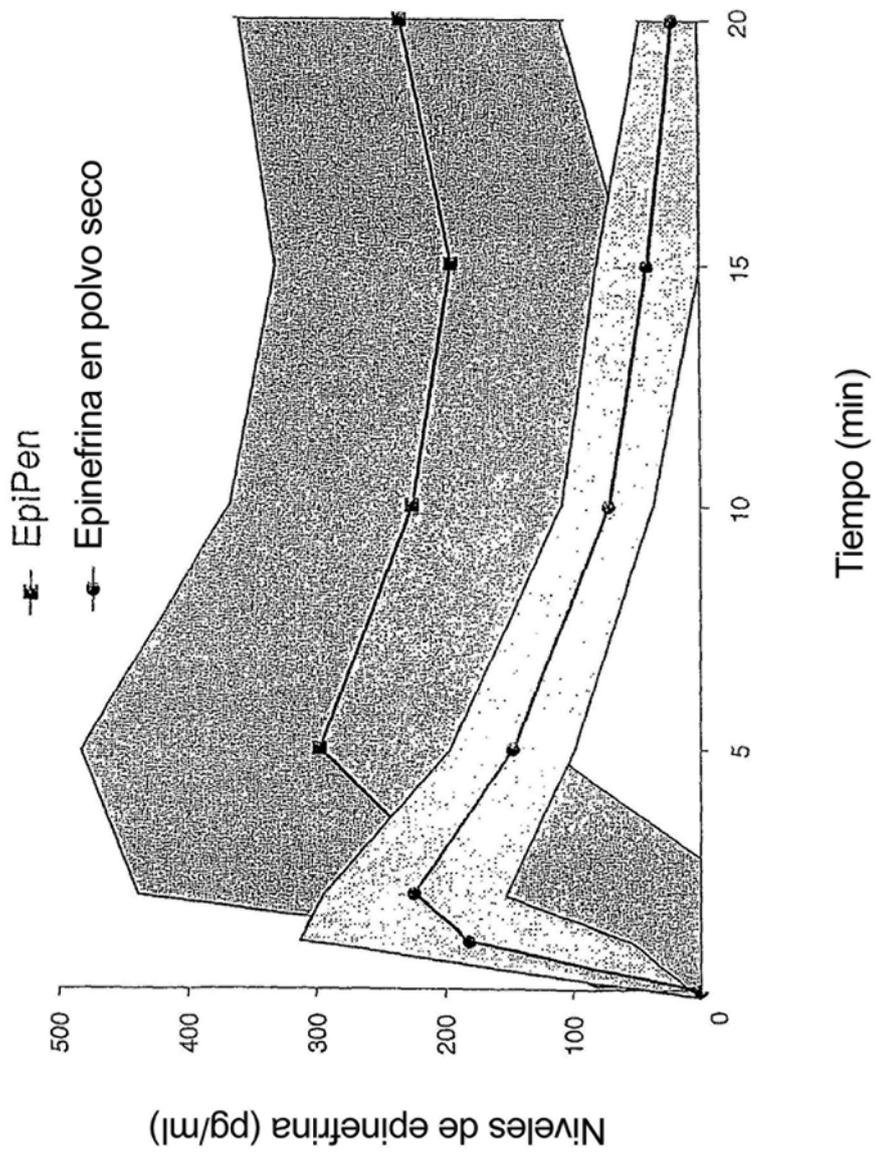


Figura 10

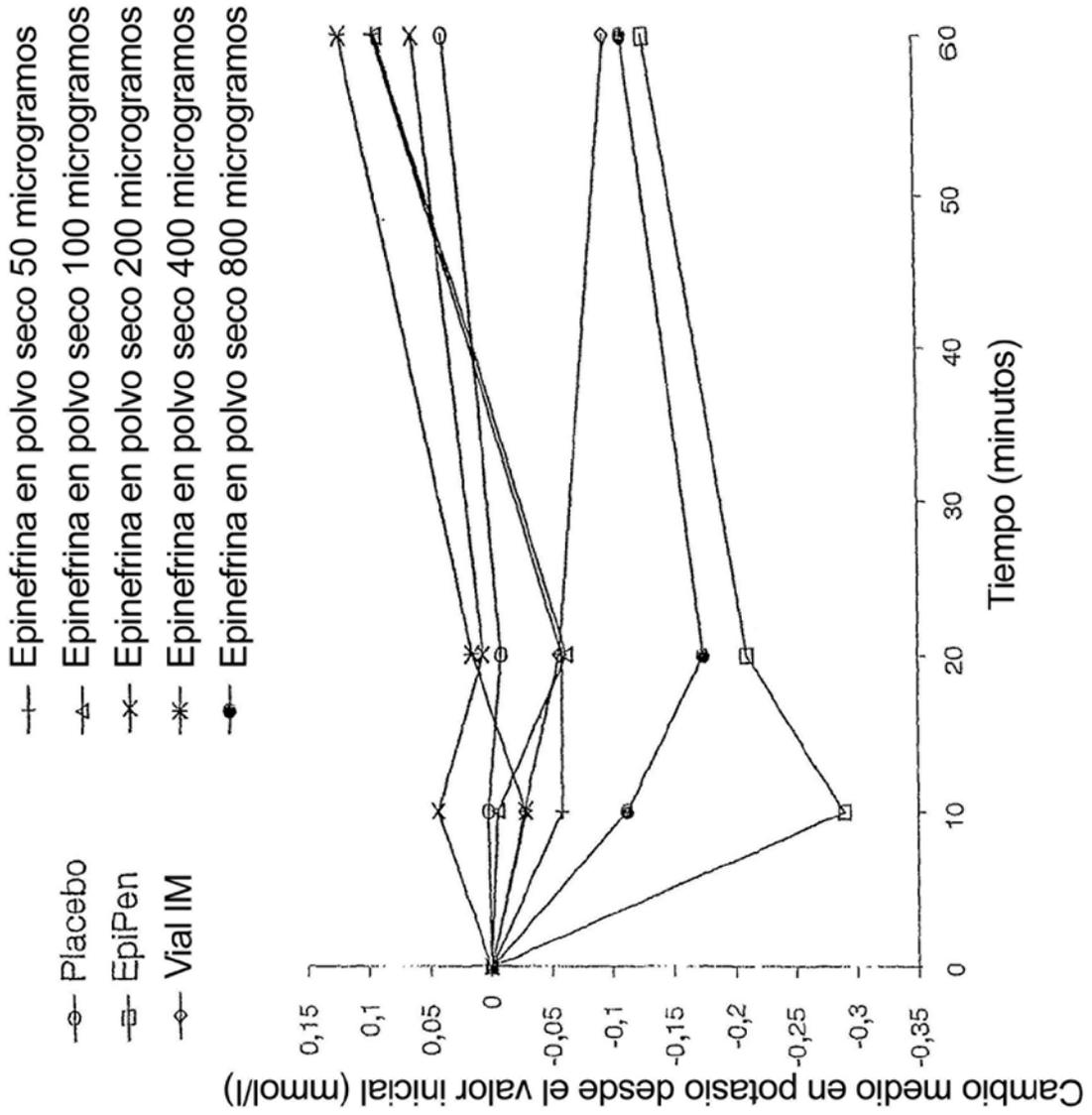


Figura 11

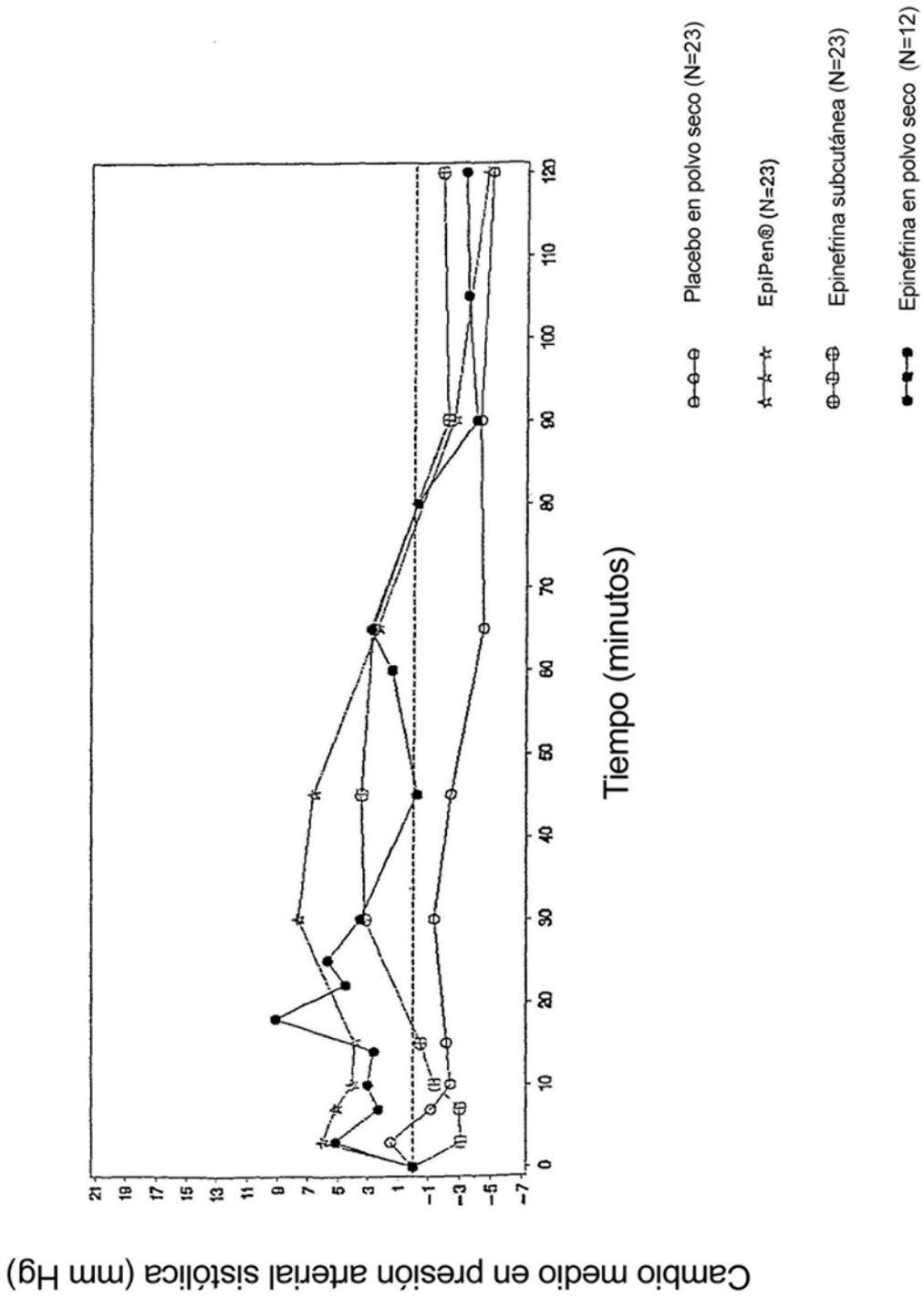


Figura 12

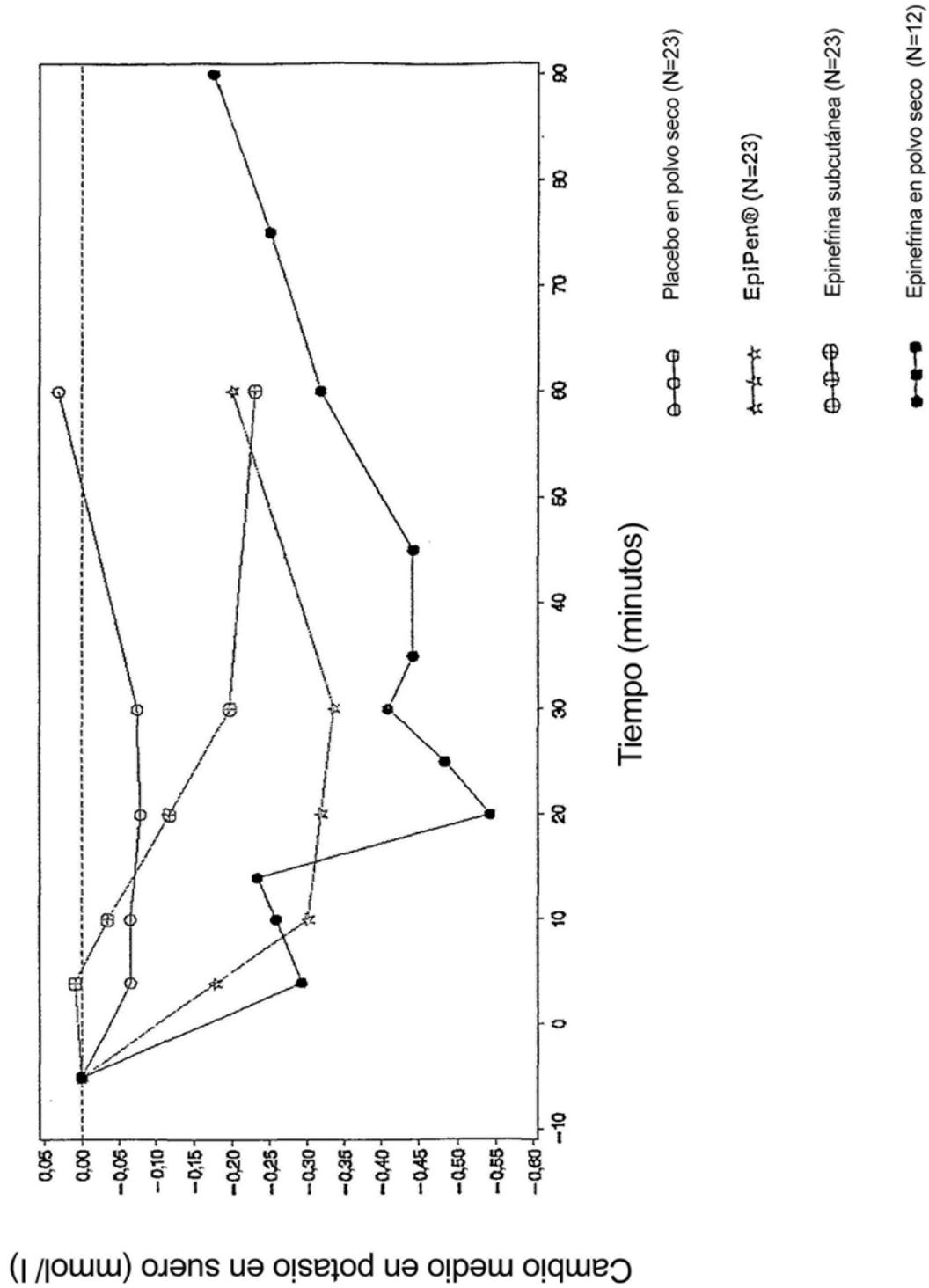


Figura 13

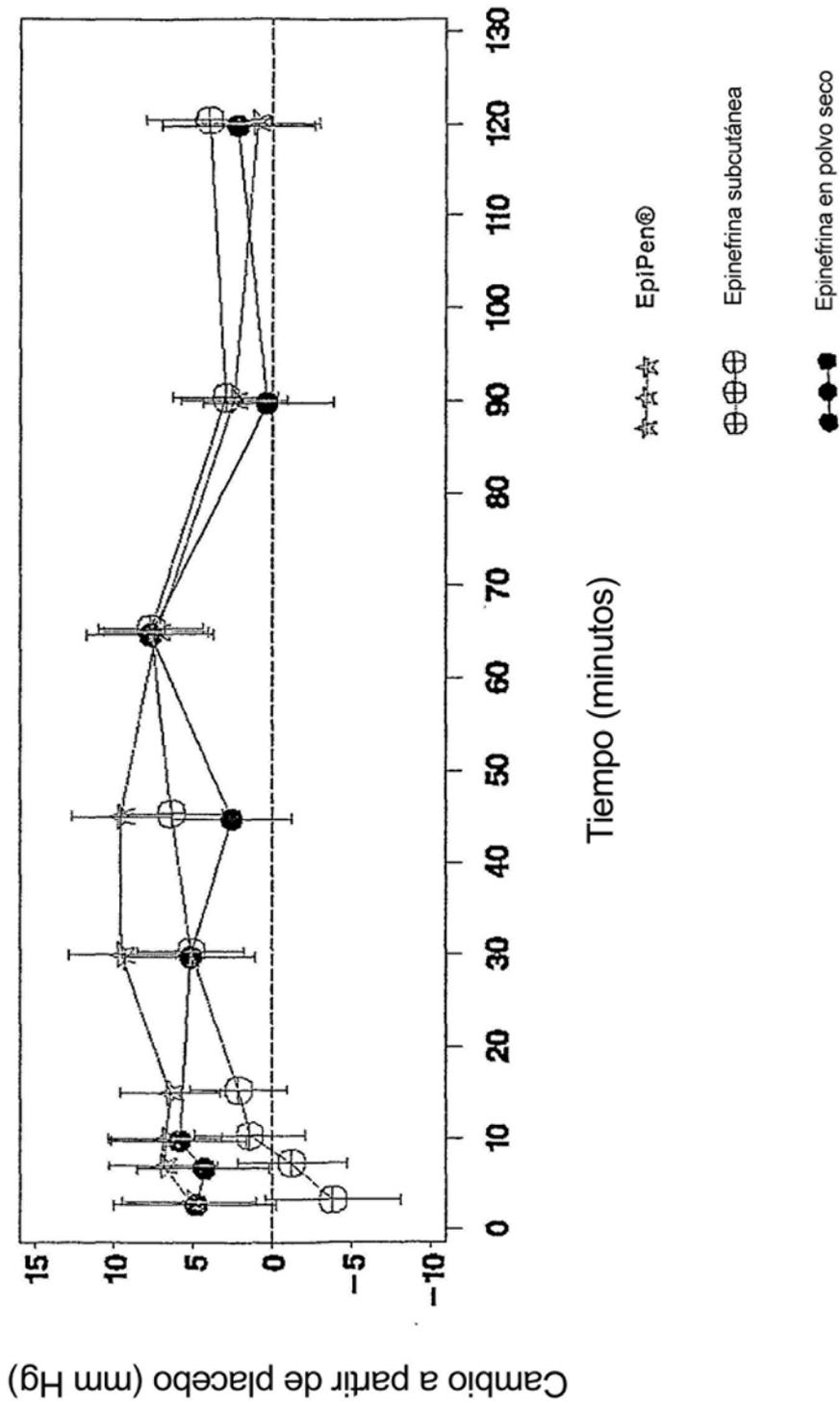


Figura 14

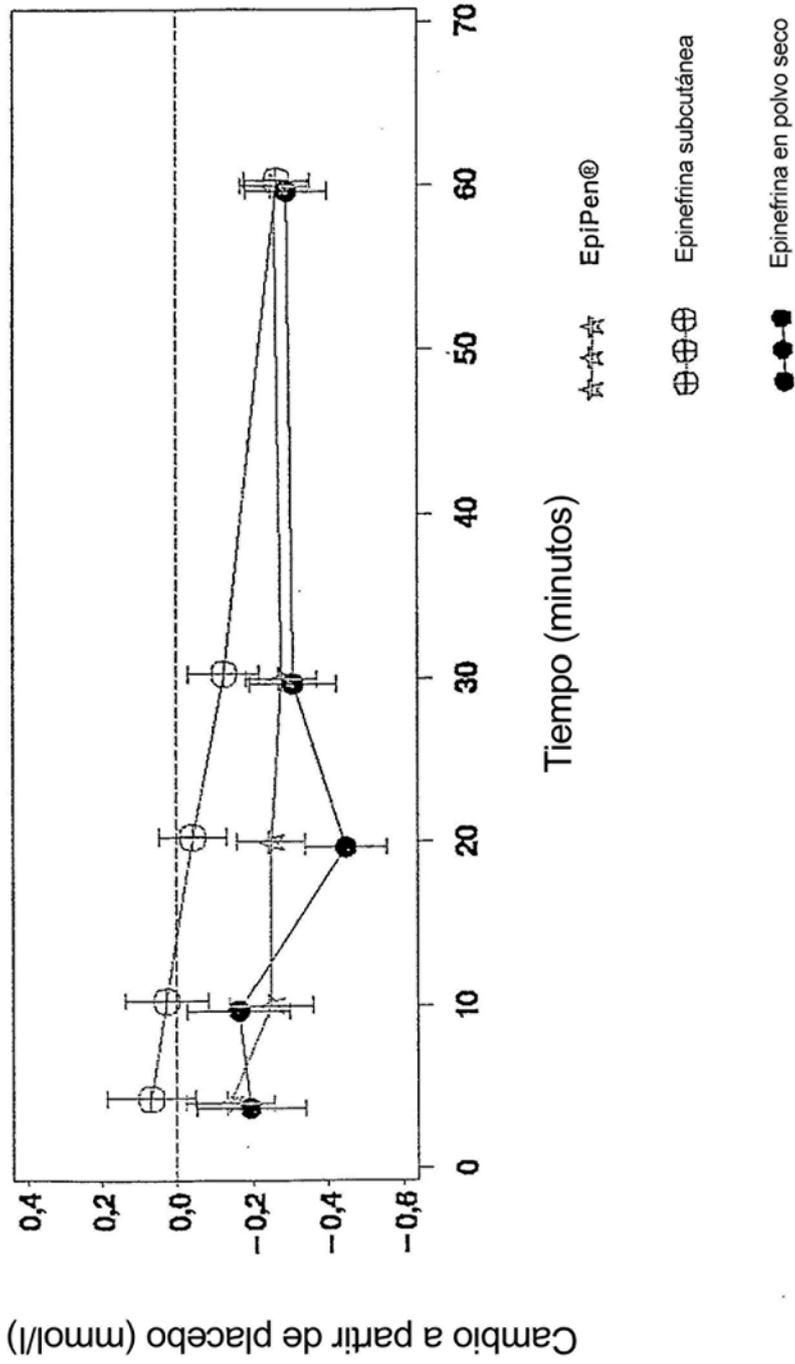


Figura 15