

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 826**

51 Int. Cl.:

A61K 9/06 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61K 47/30 (2006.01)
A61P 27/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2011 PCT/US2011/020531**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11085209**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2011 E 11732210 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017 EP 2521547**

54 Título: **Métodos y composiciones para aplicar moxifloxacino en el oído**

30 Prioridad:

07.01.2010 US 293019 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.11.2017

73 Titular/es:

**REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MINNESOTA
(50.0%)
1000 Westgate Drive, Suite 160
St. Paul, Minnesota 55114-8658, US y
NOVARTIS AG (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SAWCHUK, RONALD J.;
CHEUNG, BELINDA W.Y. y
WALL, G. MICHAEL**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 644 826 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

Métodos y composiciones para aplicar moxifloxacino en el oído

5 Campo técnico

La invención se refiere a formulaciones para aplicar moxifloxacino en el oído. Más particularmente, la invención muestra métodos y materiales para aplicar moxifloxacino a la superficie epidérmica, externa, de una membrana timpánica para tratar trastornos del oído medio.

10

Antecedentes

La otitis media (OM) es muy común, especialmente en niños. La OM se inicia con frecuencia con una infección viral de las vías respiratorias superiores que altera el microentorno de las vías respiratorias superiores, la trompa de Eustaquio y el oído medio de tal forma que las bacterias residentes en la nasofaringe invaden y pueblan el oído medio. Esta invasión puede inflamarse y bloquear la trompa de Eustaquio, interfiriendo con la ventilación del oído medio, el equilibrio de presión y el drenaje. Los fluidos se acumulan y la presión aumenta en el espacio del oído medio normalmente relleno con aire, provocando un gran dolor. En casos graves de OM, se pueden dañar las estructuras de la percepción de sonidos. La OM persistente o recurrente puede estar provocada por bacterias que emergen tras latencia en el oído medio, que se han blindado frente a los antibióticos mediante una biopelícula viscosa.

15

20

25

30

35

La OM actualmente se trata utilizando antibióticos y/o insertando un tubo para timpanostomía a través de una incisión quirúrgica en la membrana timpánica para drenar y despresurizar el espacio del oído medio. La eficacia del tratamiento con antibióticos se ve limitada por la vía de administración. Los antibióticos se pueden administrar sistémicamente, aunque con frecuencia se requiere una dosis alta para alcanzar niveles terapéuticos (es decir, por encima de la concentración inhibidora mínima) en el oído medio, y estos niveles con frecuencia se alcanzan después de un tiempo de desfase significativo. Los antibióticos también se pueden administrar mediante el lavado, o mediante gotas en el canal auditivo. Estas vías de administración pueden ser difíciles de controlar, y con frecuencia no son efectivas para alcanzar los niveles terapéuticos prolongados del antibiótico en el oído medio. Los antibióticos también se pueden administrar mediante inyección en el oído medio, o insertando materiales impregnados con antibióticos en el oído medio, aunque estos métodos implican perforar o cortar la membrana timpánica, lo cual requiere anestesia general y puede dañar la membrana timpánica. La inserción quirúrgica de tubos para timpanostomía también implica riesgos, entre los que se incluyen la timpanooclrosis (es decir, la calcificación de la membrana timpánica y los tejidos del oído medio), la pérdida de la audición, otorrea persistente (es decir, secreción de pus de la trompa) e infección.

40

45

50

55

El Instituto Nacional de la Sordera y Otros Trastornos de Comunicación (NIDCD), que pertenece a los Institutos Nacionales de Salud, recientemente lanzó una iniciativa de financiación de 2.000.000 de dólares para apoyar en el desarrollo de estrategias alternativas y nuevos enfoques para prevenir y tratar la OM. En su petición de solicitudes (RFA-DC-02-002), el NIDCD estableció que: (1) la OM provoca morbilidad infantil significativa y está afectando cada vez más a la salud pública general, (2) la OM es la razón principal de las visitas a urgencias, (3) la OM es la segunda razón principal de las visitas al ambulatorio, (4) la OM es la razón principal de prescripciones de antibióticos infantiles y que representan más del 40 % de todas las prescripciones de antibióticos a pacientes ambulatorios, (5) la OM es la razón principal de la pérdida de audición infantil y (6) la OM es la razón principal de anestesia general en niños. Además, el NIDCD culpa al uso de antibióticos de amplio espectro para tratar la OM de la emergencia alarmante de múltiples bacterias resistentes a los antibióticos en tres de los géneros que provocan la OM (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* no tipificable y *Moraxella catarrhalis*). Como consecuencia, muchos antibióticos de primera y segunda línea se vuelven cada vez menos efectivos contra la OM y otras enfermedades, incluyendo neumonía y meningitis. El NIDCD concluyó que "se necesita urgentemente el desarrollo de enfoques novedosos para el estudio, tratamiento y prevención de la OM para: 1) reducir la morbilidad de la OM y los costos asociados, y 2) mantener la eficacia de los antibióticos utilizados para el tratamiento de la OM y otras enfermedades graves comunes". El documento WO 2009/142719 A divulga formulaciones de hidrogel *in situ* que comprenden ciprofloxacino para la aplicación en la membrana timpánica.

Sumario

El objeto para el que se busca protección es como se define en las reivindicaciones. La invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que se pueden formular composiciones que contienen moxifloxacino de tal forma que se puedan administrar a la superficie epidérmica externa de la membrana timpánica en una forma similar a un líquido, y posteriormente, una vez administradas, se transforman a un estado de gel similar a sólido de tal forma que la composición permanece localizada contra la membrana timpánica. La administración de estas composiciones a la membrana timpánica puede proporcionar formas más efectivas para tratar los trastornos del oído medio e interno (por ejemplo, OM).

65

En un aspecto, la invención proporciona una formulación para su uso mediante administración a la membrana timpánica,

en el que dicha formulación es acuosa y comprende un agente viscosogénico y moxifloxacino o una sal del mismo;

en el que dicha formulación es fluida y tiene una viscosidad inferior a 100 Pa*s a 25 °C;

5 en la que dicha formulación, después de su aplicación a dicha membrana timpánica, forma un gel que tiene una tensión elástica suficiente para mantener dicha formulación contra dicha membrana timpánica; y

en la que dicho moxifloxacino se transfiere a través de la membrana timpánica y hacia el espacio del oído medio cuando la formulación se aplica a la membrana timpánica.

10 El agente viscosogénico puede ser goma gellan, N-isopropilacrilamida con acrilato de sodio y n-N-alkilacrilamida, ácido poliacrílico con polietilenglicol, ácido polimetacrílico con polietilenglicol, CARBOPOL® (ácido poliacrílico) con hidroxipropilmetilcelulosa, látex de acetato de celulosa y ftalato de hidrógeno, alginato sódico o un gel termoendurecible inverso tal como un poloxámero o una poloxamina. El moxifloxacino puede transferirse a través de la membrana timpánica hacia el espacio del oído medio. El al menos un agente farmacológico puede incluir un

15 antibiótico y la formulación puede incluir además un agente antiinflamatorio, un anestésico, un facilitador de la adhesión, un potenciador de la permeabilidad o de la penetración, un bioadhesivo, un agente higroscópico, un suavizante del cerumen del oído o un conservante.

En otro aspecto, la invención proporciona una formulación acuosa que comprende un agente viscosogénico, moxifloxacino o una sal del mismo, y miristato de isopropilo (IPM),

en la que dicha formulación es fluida y tiene una viscosidad inferior a 100 Pa*s a 25 °C;

en la que dicha formulación, después de su aplicación a la membrana timpánica de la oreja de un sujeto, forma un gel que tiene una tensión elástica suficiente para mantener dicha formulación contra la membrana timpánica; y

25 en la que dicho moxifloxacino se transfiere a través de la membrana timpánica y hacia el espacio del oído medio cuando la formulación se aplica a la membrana timpánica.

A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente invención tienen los mismos significados que se entiende comúnmente por alguien con experiencia normal en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque se pueden utilizar para poner en práctica la invención métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente memoria, más adelante se describen los métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son ilustrativos únicamente y no pretenden ser limitantes.

35 Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, y a partir de las reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

La Figura 1 es una gráfica que muestra el porcentaje acumulado del contenido de moxifloxacino liberado *in vitro*.

40 La Figura 2 es una gráfica que muestra la función de respuesta para la desconvolución a partir de dos niveles de dosis intra-bulla (N = 9).

La Figura 3 es una gráfica que muestra la función de respuesta para la desconvolución de un nivel de dosis intra-bulla (N = 3).

45 La Figura 4A son gráficas que muestran las concentraciones de moxifloxacino en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 % para la cohorte 1 y la cohorte 2.

La Figura 4B son gráficas que muestran las concentraciones de moxifloxacino en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 % para la cohorte 3 y la cohorte 4.

La Figura 5 son gráficas que muestran las concentraciones de moxifloxacino (media, DE) en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 % (N = 23).

50 La Figura 6 son gráficas que muestran las concentraciones de moxifloxacino en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 3 % para la cohorte 1 y la cohorte 2.

La Figura 7 son gráficas que muestran las concentraciones de moxifloxacino (media, DE) en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 3 % (N = 13).

55 La Figura 8 es una gráfica que muestra las concentraciones de moxifloxacino (media, DE) en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 % y 3 %.

La Figura 9 son gráficas que muestran una comparación de Cmáx y Tmáx para moxigel 1% y 3 %.

La Figura 10 es una gráfica que muestra la cantidad acumulada administrada en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 % (N = 23).

60 La Figura 11A son gráficas que muestran la velocidad de entrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 %. 1ª cohorte, N = 6; 2ª cohorte, N = 6.

La Figura 11B son gráficas que muestran la velocidad de entrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 %. 3ª cohorte, N = 6, 4ª cohorte, N = 5.

La Figura 12 es una gráfica que muestra la cantidad acumulada administrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 3 % (N = 13).

65 La Figura 13 son gráficas que muestran la velocidad de entrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 3 %. 1ª cohorte, N = 6, 2ª cohorte, N = 7.

La Figura 14 es una gráfica que muestra la velocidad de entrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 % y 3 %.

La Figura 15 son gráficas que muestran el tiempo hasta alcanzar la concentración objetivo y la duración por encima de la misma en el fluido del oído medio después de la administración al oído externo de moxigel 1 %.

La Figura 16 son gráficas que muestran el tiempo hasta alcanzar la concentración objetivo y la duración por encima de la misma en el fluido del oído medio después de la administración al oído externo de moxigel 3 %.

La Figura 17 es una gráfica que muestra el AUC en el MEF durante 3 días después de la administración al oído externo.

La Figura 18 es una gráfica que muestra la $C_{m\acute{a}x}/MIC$ en el MEF después de la administración al oído externo.

La Figura 19A es una gráfica que muestra las concentraciones de moxifloxacino en el MEF (media, EEM) después de un tratamiento con IPM 50 % (n = 9).

La Figura 19B muestra los mismos datos en forma logarítmica.

Descripción detallada

En general, la invención proporciona formulaciones para su uso mediante la administración a la membrana timpánica, conteniendo las formulaciones moxifloxacino y uno o más agentes viscosogénicos.

La invención también proporciona una formulación de combinación específica que comprende adicionalmente miristato de isopropilo (IPM) como potenciador de la penetración. Las composiciones se formulan específicamente de tal forma que se puedan administrar a la superficie epidérmica, externa, de la membrana timpánica en un estado similar a un líquido, es decir, en una forma de fluido. Después de la administración, sin embargo, la composición se transforma en un estado similar a un sólido de tal forma que la composición permanece en contacto con la membrana timpánica. Como resultado, la composición permanece localizada contra la membrana timpánica y el moxifloxacino se puede transferir a través de la membrana timpánica en, por ejemplo, en el espacio del oído medio, proporcionando una forma más efectiva para tratar los trastornos del oído medio e interno (por ejemplo, la OM). Las composiciones adecuadas también pueden contener otros constituyentes, por ejemplo, para facilitar la adhesión de la formulación a la membrana timpánica y/o aumentar la permeabilidad de la membrana timpánica para aumentar con esto la penetración del moxifloxacino.

Los patógenos comunes asociados con la otitis media incluyen *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*. Estos organismos son sensibles a moxifloxacino que tiene valores MIC₉₀ de 0,13, 0,06 y 0,06 µg/ml, respectivamente. Como entienden aquellos expertos en la materia, MIC₉₀ se refiere a la concentración inhibidora mínima requerida para inhibir el crecimiento del 90 % del organismo. El objetivo terapéutico al utilizar la administración transtimpánica de moxifloxacino descrita en la presente memoria es alcanzar unos niveles en el fluido del oído medio >10 veces mayores que los valores MIC₉₀ (por ejemplo, mayores de aproximadamente 0,6 µg/ml; entre aproximadamente 0,6 y aproximadamente 1,3 µg/ml) y mantener este nivel durante >24 horas. Esta concentración objetivo, se ha alcanzado con las formulaciones en gel de moxifloxacino descritas en la presente memoria utilizando una sola aplicación.

Las composiciones de, y usadas en, la invención tienen una viscosidad menor de 100.000 mPa*s a 25 °C. La viscosidad se refiere a la resistencia de la composición para fluir. Las composiciones que tienen un volumen de 0,5 ml que pueden pasar a través de una aguja de calibre 19 unida a una jeringuilla de tuberculina de 1 ml en menos de 1 minuto a 25 °C, mediante una fuerza razonable y sin la ayuda de dispositivos mecánicos, generalmente tienen una viscosidad menor de 100.000 mPa*s. La viscosidad de una composición se puede determinar utilizando un viscosímetro (por ejemplo, de Brookfield) calibrado con patrones de viscosidad comercializados.

Las composiciones de, y usadas en, la invención también tienen una tensión elástica mínima que es suficiente para mantener la formulación contra la membrana timpánica. La tensión elástica se refiere a la cantidad de fuerza que, cuando se aplica a un material sólido, provoca que el material sólido exhiba un comportamiento similar a un líquido ya que continua deformarse sin aumentar adicionalmente la tensión. La tensión elástica mínima de las composiciones de, o para su uso en, la invención depende del espesor del gel aplicado, aunque es independiente de la geometría del gel y de la temperatura del entorno. Como se usa en la presente memoria, la tensión elástica mínima de la composición se refiere a un gel aplicado que tiene un espesor de 4 mm y una densidad de 1 g/l. La tensión elástica (σ_0) se representa como $\sigma_0 = pgh$, en donde p es la densidad, g es la aceleración debida a la gravedad, y h es el espesor de la capa. Generalmente, una tensión elástica mínima es de aproximadamente 39 pascuales (Pa). Los métodos descritos en la presente memoria también se pueden utilizar para estimar si una composición tiene una tensión elástica suficiente para que se mantenga contra la membrana timpánica. Por ejemplo, una composición de prueba se puede administrar al oído de un animal tal como, una chinchilla y el oído del animal se puede controlar para determinar si la composición se transforma a un estado más similar a un sólido y se mantiene contra la membrana timpánica. Véase, por ejemplo, la sección de Ejemplos en la presente memoria.

Agentes viscosogénicos

Como se usa en la presente memoria, el agente viscosogénico se refiere a un polímero u otra porción química que aumente la viscosidad de un fluido. Los agentes viscosogénicos adecuados, cuando se incluyen en una composición

de, o para uso en, la invención, permiten que la composición se transforme de un estado similar a un líquido (por ejemplo, fluido) a 25 °C a un estado similar a un sólido (por ejemplo, un gel) después del contacto con la membrana timpánica, y puede ser no biodegradable, es decir, no se descompone mediante sustancias químicas ni enzimas presentes naturalmente en un mamífero, o biodegradables. Las composiciones incluyen una cantidad de un agente viscosogénico efectiva para proporcionar una viscosidad de la composición menor de 100.000 mPa*s a 25 °C (por ejemplo, menor de 90.000, 60.000, 30.000, 20.000 o 10.000 Pa*s) y, en general, una tensión elástica mínima de 39 Pa después de la aplicación a la membrana timpánica. Generalmente, una composición incluye de 0,05 a 50 % de un agente viscosogénico (por ejemplo, 0,15 hasta 25, 5 hasta 45, 10 hasta 40, 12 hasta 37, 15 hasta 35, 17 hasta 33, o 20 hasta 30 % de un agente viscosogénico).

Ejemplos de agentes viscosogénicos ilustrativos incluyen goma gellan (GELRITE® o KELCOGEN®), CARBOPOL® 940 (ácido poliacrílico) con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), N-isopropilacrilamida (NiPAAm) con acrilato de sodio y n,N-alquilacrilamida, ácido poliacrílico con polietilenglicol (PEG) o ácido polimetacrílico con PEG, látex de acetato de celulosa y ftalato de hidrógeno (CAP), alginato de sodio y tensioactivos no iónicos tales como poloxámeros (PLURONIC®) y polioxamino (TETRONIC®) sistemas gelificantes dependientes de la temperatura reversibles. La goma gellan es un polímero natural, polisacárido exocelular desacetilado aniónico, secretado por *Pseudomonas elodea*. La unidad de repetición de tetrasacáridos consiste en una alfa-L-ramnosa, un ácido beta-D-glucurónico y dos porciones de beta-D-glucosa. El mecanismo de gelificación *in situ* de la goma gellan es inducido por cationes (por ejemplo, presencia de iones de calcio) y depende de la temperatura (por ejemplo, temperatura fisiológica). La gelificación es reversible térmicamente. CARBOPOL® 940 con HPMC se gelifica *in situ* de una forma dependiente del pH. CARBOPOL® es el agente gelificante y la HPMC se utiliza para aumentar la viscosidad del gel. NiPAAm con acrilato de sodio y n,N-alquilacrilamida es un hidrogel terpolimérico que puede experimentar una transformación de sol-gel reversible dependiente de la temperatura. El acrilato de sodio y la n,N-alquilacrilamida se utilizan para modificar las propiedades del hidrogel y, en particular, la temperatura de transición. Se cree que el ácido poliacrílico con PEG o ácido polimetacrílico con PEG se gelificará utilizando los enlaces de hidrógeno. El ácido poliacrílico se puede disolver en solución hidroalcohólica y después de ser inyectado, el alcohol se difunde provocando la precipitación de los polímeros y la gelificación de la solución. El CAP es un sistema de nanopartículas que se gelifica de una forma dependiente del pH. El compuesto activo (moxifloxacino) se puede adsorber parcialmente sobre la superficie de las partículas poliméricas. El alginato de sodio se gelifica en presencia de calcio u otros iones polivalentes.

Son particularmente útiles tensioactivos no iónicos tales como poloxámeros y poloxaminas. Los poloxámeros son bien conocidos en las técnicas farmacéuticas y se describen, por ejemplo, por Irving R. Schmolka, Poloxamers in the Pharmaceutical Industry, in Polymers for Controlled Drug Delivery, Capítulo 10 (Peter J. Tarcha ed., 1990). Los poloxámeros son copolímeros tri-bloque, debido a que están compuestos de dos bloques poliméricos diferentes (es decir, bloques de poli(oxietileno) hidrófilos y bloques de poli(oxipropileno) hidrófobos), configurados como un tribloque de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno)-poli(oxietileno). Los poloxámeros son una clase de tensioactivos de tipo copolímeros en bloque que tienen un bloque de óxido de propileno hidrófobo y un bloque de óxido de etileno hidrófilo. Los poloxámeros están comercializados (por ejemplo, los polioles PLURONIC® están comercializados por BASF Corporation). Como alternativa, los poloxámeros se pueden sintetizar mediante técnicas conocidas.

Antes se pensaba que los poloxámeros carecían de utilidad para su administración como agentes farmacológicos, dada su falta de biodegradabilidad, su solubilidad en agua y su cinética de liberación de fármacos relativamente rápida (véase, por ejemplo, la patente US-6.201.072). No obstante, como se describe en la presente memoria, los poloxámeros comparten una propiedad que es ventajosa para aplicar las formulaciones a la membrana timpánica: las formulaciones acuosas de poloxámeros exhiben gelificación térmica inversa, o termoendurecimiento inverso.

Cuando una formulación acuosa de poloxámero se calienta por encima de su temperatura de gelificación, su viscosidad aumenta y se transforma en un gel. Cuando una formulación acuosa de poloxámero se enfría por debajo de su temperatura de gelificación, su viscosidad disminuye y se transforma en un líquido. La transición entre gel y líquido no implica un cambio en la composición química de la formulación, y es reversible y repetible. La temperatura de transición gel-líquido de una formulación acuosa de poloxámero se puede ajustar por alguien con experiencia normal en la materia utilizando experimentación de rutina (por ejemplo, manipulando la concentración de poloxámero, el pH y la presencia de otros ingredientes en la formulación). En algunas realizaciones, las composiciones tienen una temperatura de gelificación que es mayor que la temperatura ambiente y menor o igual a la temperatura de la membrana timpánica. Estas composiciones se pueden aplicar convenientemente a través de un canal auditivo del individuo como un líquido y después transformarse en un gel contra la membrana timpánica, manteniendo así el moxifloxacino en la formulación en proximidad cercana a la membrana timpánica.

Moxifloxacino

Una composición como se describe en la presente memoria también contiene moxifloxacino o una sal del mismo. El moxifloxacino es una fluoroquinolona sintética de tercera generación que tiene la fórmula química $C_{21}H_{24}FN_3O_4$. El moxifloxacino se une e inhibe las enzimas bacterianas ADN girasa (topoisomerasa II) y topoisomerasa IV, dando como resultado la inhibición de la replicación y reparación del ADN y en último término la muerte celular en especies bacterianas sensibles. La cantidad de moxifloxacino o una sal del mismo en una composición como se describe en

la presente memoria puede variar de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 50 % (por ejemplo, de aproximadamente 0,25 % a aproximadamente 45 %; de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 25 %; de aproximadamente 0,75 % a aproximadamente 10 %; de aproximadamente 1 % a aproximadamente 5 %, o de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 %). Las sales de moxifloxacino incluyen, por ejemplo y sin limitación,

Otros constituyentes de las composiciones de moxigel

En algunas realizaciones, las composiciones como se describe en la presente memoria incluyen uno o más compuestos, además del agente viscosogénico y moxifloxacino. Por ejemplo, una composición puede incluir uno o más agentes farmacológicos, incluyendo, por ejemplo, un adrenocorticoide (por ejemplo, corticoesteroide, esferoide), un analgésico, un analgésico adyuvante, un analgésico-anestésico, un anestésico, antibióticos distintos a moxifloxacino, agentes antibacterianos, anti-infecciosos, adyuvantes para terapia con antibióticos, antidotos, anti-eméticos, anti-fúngicos, anti-inflamatorios, anti-vértigo, anti-virales, modificadores de la respuesta biológica, citotóxicos, auxiliares de diagnóstico, un agente inmunizante, inmunomoduladores, proteínas, péptidos, y otros agentes que puedan ser útiles para tratar trastornos del oído. Además de moxifloxacino, una composición como se describe en la presente memoria puede incluir uno o una pluralidad de agentes farmacológicos. Por ejemplo, para combatir una infección bacteriana, reducir la inflamación de tejidos y aliviar la irritación, una composición puede contener moxifloxacino, un anti-inflamatorio y un anestésico o analgésico. Aquellos expertos en la materia pueden identificar agentes farmacológicos y combinarlos según sea necesario para alcanzar un efecto deseado. Lo siguiente proporciona simplemente una lista representativa de posibles agentes farmacológicos.

Ejemplos de adrenocorticoides incluyen betametasona, cortisona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, parametasona, prednisolona, prednisona y triamcinolona. Ejemplos de analgésicos incluyen paracetamol, aspirina, buprenorfina, butalbital, butorfanol, codeína, dezocina, diflunisal, dihidrocodeína, etodolac, fenoprefeno, fentanilo, floctafenina, hidrocodona, hidromorfona, ibuprofeno, ketoprofeno, ketorolaco, levorfanol, salicilato de magnesio, meclofenamato, ácido mefenámico, meperidina, meprobamato, metadona, metotrimoprazina, morfina, nalbufina, naproxeno, opio, oxicodona, oximorfona, pentazocina, fenobarbital, propoxifeno, salsalato y salicilato de sodio. Un ejemplo de adyuvante analgésico es cafeína. Ejemplos de anestésicos incluyen articaína-epinefrina, bupivacaína, cloroprocaina, etidocaína, ketamina, lidocaína, mepivacaína, metohexital, prilocaína, propofol, propoxicaína, tetracaína, y tiopental. Un ejemplo de analgésico-anestésico es antipirina, benzocaína.

Ejemplos de antibióticos (distintos a moxifloxacino), antibacterianos y anti-infecciosos incluyen sulfonamidas (por ejemplo, sulfanilamida, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfisoxazol, ácido para-aminobenzoico o sulfacetamida), trimetoprim-sulfametoxazol, quinolonas (por ejemplo, ciprofloxacino, ofloxacino o ácido nalidíxico), antibióticos beta-lactámicos tales como penicilinas o cefalosporinas, aminoglucósidos (por ejemplo, kanamicina, tobramicina, gentamicina, C, amikacina, neomicina, netilmicina, estreptomicina o vancomicina), tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos (por ejemplo, eritromicina, claritromicina o azitromicina). Ejemplos no limitantes de penicilinas adecuadas incluyen penicilina G, penicilina V, metilicina, oxacilina, nafcilina, ampicilina y amoxicilina. Ejemplos no limitantes de cefalosporinas adecuadas incluyen cefalotina, cefdinir, cefazolina, cefalexina, cefadroxal, cefamandol, cefoxitina, cefaclor, cefonicida, cefoletan, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefditoren, y cefepima. Ejemplos de antibióticos útiles para el tratamiento de la OM incluyen penicilinas tales como, amoxicilina y amoxicilina-clavulanato (AUGMENTIN®), combinaciones a base de sulfas tales como, eritromicina-sulfisoxazol (pediazol), trimetoprim-sulfametoxazol (BACTRIM® SEPTRA®), macrólidos/azálidos tales como azitromicina (ZITHROMAX®) o claritromicina (BIAXIN®), cefalosporinas de segunda generación tales como cefaclor (CECLOR®), cefprozil (CEFZIL®), cefuroxima axetilo (CEFTIN®) o loracarbef (LORABID®) y cefalosporinas de tercera generación, tales como cefdinir (OMNICEF®), cefixima (SUPRAX®), cefpodoxima proxetil (VANTIN®), ceftibuteno (CEDAX®), cefditoren (SPECTRACEF™) y ceftriaxona (ROCEPHIN®).

Antieméticos adecuados incluyen buclizina, clorpromazina, ciclizina dimenhidrinato, difenhidramina, difenidol, domperidona, dronabinol, haloperidol, hidroxizina, meclizina, metoclopramina, nabilona, ondansetrón, perfenazina, proclorperazina, prometazina, escopolamina, tietilperazina, triflupromazina y trimetobenzamina. Ejemplos de antifúngicos incluyen anfotericina B, clioquinol, clotrimazol, fluconazol, flucitosina, griseofulvina, ketoconazol, miconazol y yoduro de potasio. Ejemplos de agentes anti-inflamatorios incluyen acetato de aluminio, aspirina, betametasona, buprenorfina, celecoxib, dexametasona, diclofenaco, etodolac, flurbiprofeno, hidrocortisona, indometacina, salicilato de magnesio, naproxeno, prednisolona, rofecoxib, salsalato, sulindac y triamcinolona. Ejemplos de agentes anti-vértigo adecuados incluyen belladona, dimenhidrinato, difenhidramina, difenidol, meclizina, prometazina y escopolamina. Ejemplos de agentes antivirales adecuados incluyen: aciclovir, amantadina, delavirdina, didanosina, efavirenz, foscarnet, ganciclovir, indinavir, nelfinavir, ribavirina, ritonavir, zalcitabina y zidovudina. Ejemplos de modificadores de la respuesta biológica incluyen aldesleuquina, interferón α -2a, interferón α -2b, interferón α -n1, interferón α -n3, interferón γ , y levamisol. Ejemplos de agentes citotóxicos incluyen podofilox y podófilo. Ejemplos de agentes inmunizantes incluyen vacuna antigripal, vacuna neumocócica polivalente e inmunoglobulina. Un ejemplo de inmunomodulador es el interferón γ . Otros agentes farmacológicos adecuados para, o para uso en, la invención incluyen betahistina (por ejemplo, para tratar las náuseas, el mareo y el zumbido en los oídos que se producen en la enfermedad de Menière), proclorperazina e hioscina.

En otra alternativa o adicionalmente, una composición puede incluir uno o más de los siguientes compuestos: un disolvente o diluyente tal como solución salina, un bioadhesivo, un potenciador de la permeabilidad o la penetración, un agente higroscópico, un suavizante de cerumen, un conservante (por ejemplo, un antioxidante) u otros aditivos.

Estos compuestos pueden estar presentes en la composición en cantidades que varían de 0,01 % a 99 % (por ejemplo, de 0,01 a 1, de 0,01 a 10, de 0,01 a 40, de 0,01 a 60, de 0,01 a 80, de 0,5 a 10, de 0,5 a 40, de 0,5 a 60, de 0,5 a 80, de 1 a 10, de 1 a 40, de 1 a 60, de 1 a 80, de 5 a 10, de 5 a 40, de 5 a 60, de 5 a 80, de 10 a 20, de 10 a 40, de 10 a 60, de 10 a 80, de 20 a 30, de 30 a 40, de 40 a 50, de 50 a 60, de 60 a 70, de 70 a 80 %). Por ejemplo, una composición puede incluir uno o más agentes viscosogénicos (por ejemplo, PLURONIC® F-127 y CARBOPOL®), moxifloxacino, y uno o más potenciadores de la permeabilidad o la penetración (por ejemplo, vitamina E). En otras realizaciones, una composición puede incluir uno o más agentes viscosogénicos, moxifloxacino y uno o más suavizantes de cerumen. Las composiciones también pueden incluir uno o más agentes viscosogénicos, moxifloxacino, uno o más agentes higroscópicos, y uno o más conservantes. Hay que señalar que ciertos agentes pueden cumplir diferentes funciones dentro de la formulación. Por ejemplo, CARBOPOL® puede funcionar como un agente viscosogénico o un bioadhesivo, dependiendo de su concentración. La vitamina E puede funcionar como un potenciador de la permeabilidad o la penetración, un conservante y un antioxidante.

Un bioadhesivo facilita la adhesión de la composición a la membrana timpánica. Los bioadhesivos adecuados incluyen hidrocoloides tales como: goma arábiga; agar agar; alginatos (por ejemplo, ácido alginico y alginato de sodio); CABOPOL®, carboximetilcelulosa sódica; carboximetilcelulosa cálcica; dextrano; gelatina; goma guar; heparina, ácido hialurónico; hidroxietilcelulosa; goma de karaya; metilcelulosa; pectina, ácido poliacrílico; polietilenglicol; poli-N-vinil-2-pirrolidona y tragacanto.

Los potenciadores de la permeabilidad o la penetración aumentan la permeabilidad de la membrana timpánica para hacerla más permeable al moxifloxacino. Ejemplos de potenciadores de la permeabilidad o la penetración incluyen: alcoholes (por ejemplo, etanol e isopropanol); polioles (por ejemplo, n-alcanoles, limoneno, terpeno, dioxolano, propilenglicol, etilenglicol y glicerol); sulfóxidos (por ejemplo, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, metildodecilsulfóxido y dimetilacetamida); ésteres (por ejemplo, miristato/palmitato de isopropilo, acetato de etilo, acetato de butilo, propionato de metilo y triglicéridos cáprico/caprílico); cetonas; amidas (por ejemplo, acetamidas); oleatos (por ejemplo, trioleína); tensioactivos (por ejemplo, laurilsulfato de sodio), ácidos alcanolicos (por ejemplo, ácido caprílico); lactamas (por ejemplo, azona); alcanolicos (por ejemplo, alcohol oleílico); dialquilamino acetatos; ácidos grasos poliinsaturados (por ejemplo, linoleico, alfa-linolénico, y araquidónico); ácido oleico; aceite de hígado de bacalao; derivados de mentol (por ejemplo, 1-mentol); escualeno; monoéteres de glicerol derivados de alcoholes grasos saturados lineales; flavonas (por ejemplo, apigenina manzanilla, luteolina y apigenina 7-O-beta-glucósido), vitamina E (α -tocoferol) y ésteres y análogos de los mismos y extracto de éter Senkyu (Ligustici Chuanxiong Rhizome).

Los agentes higroscópicos tales como fructosa, ácido ftálico, y sorbitol, facilitan la transferencia de fluido desde el oído medio a través de la membrana timpánica en la matriz de gel. Los agentes higroscópicos pueden ayudar a aliviar el dolor asociado con la acumulación de fluido y la presurización en el oído medio y pueden concentrar el moxifloxacino en un volumen de fluido más pequeño en el oído medio.

Los ablandadores de cerumen (por ejemplo, docusato, aceite de oliva, bicarbonato de sodio, urea o peróxido de hidrógeno) facilitan el contacto entre la membrana timpánica y la composición. Un antioxidante tal como ácido ascórbico y ácido benzoico u otros conservantes se pueden utilizar para prolongar la vida útil de la formulación durante el almacenamiento.

Métodos para aplicar una composición a la membrana timpánica

Una composición de, o usada en, la invención se puede aplicar a la superficie epidérmica de una membrana timpánica a través del canal auditivo externo, por ejemplo, para tratar un trastorno del oído medio o interno (por ejemplo, la OM). Las composiciones de, o usadas en, la invención se pueden aplicar profilácticamente (por ejemplo, para prevenir el desarrollo de un trastorno del oído medio o interno). Una composición se puede dirigir a cualquier parte de la membrana timpánica, incluyendo la *pars tensa*, la parte inferior de la membrana timpánica, o la *pars flaccida*, la parte superior de la membrana timpánica. En humanos adultos, la membrana timpánica tiene aproximadamente de nueve a diez milímetros de diámetro y tiene un grosor que varía de 30 a 230 μm (aproximadamente 100 μm en promedio). La *pars flaccida* constituye menos del 3 % del área de la membrana timpánica en seres humanos y animales, tales como gatos, cobayas y chinchillas. En otros mamíferos (por ejemplo, jerbos, conejos, ratas y ratones), la *pars flaccida* constituye del 10 % al 25 % del área de la membrana timpánica.

Una capa epidérmica fina (de aproximadamente 15 a 30 μm de espesor) cubre la membrana timpánica humana, mientras que una capa epidérmica gruesa (de aproximadamente 75 a 150 μm de espesor) cubre otras áreas del cuerpo humano. De cinco a diez capas de células cubren la *pars flaccida*, mientras que de tres a cinco capas de células cubren la *pars tensa*. De esta forma, la *pars tensa* con frecuencia es más delgada que las otras partes de la membrana timpánica y puede ser más permeable al moxifloxacino u otro agente farmacológico. Se podría entender

por aquellos expertos en la materia que la porción central de la *pars tensa* proporciona el área de vibración activa en respuesta al sonido.

Cualquier método conocido en la materia se puede utilizar para aplicar una composición de, usada en, la invención a la membrana timpánica. Por ejemplo, se puede aplicar una composición a la membrana timpánica utilizando un dispositivo para administración de fluidos. Un dispositivo para administración generalmente tiene un depósito acoplado a un tubo conductor que recibe directa o indirectamente una composición de fluido desde el depósito y conduce la composición hacia una salida de dispensación. Alguien con experiencia normal podría fabricar un dispositivo de administración simple como una cuestión de rutina a partir de una jeringa conectada a un conducto flexible. Un dispositivo de administración también se puede fabricar sustituyendo la aguja de un dispositivo para timpanocentesis tal como, el CDT[®] Speculum (Walls Precision Instruments LLC, Casper, WY, EE.UU.) con un tubo conductor de fluidos. Un dispositivo de administración puede estar unido a un cabezal de otoscopio neumático o de diagnóstico (por ejemplo, de Welch Allyn[®], Skaneateles Falls, NY, EE.UU.) para crear una plataforma precisa para aplicar una composición a la membrana timpánica.

Dependiendo de la composición y el trastorno del oído medio o interno, puede ser conveniente retirar la composición del oído después de que se haya transferido el moxifloxacino a través de la membrana timpánica. Esto se puede llevar a cabo manualmente utilizando una torunda de algodón o fórceps. También se puede utilizar una jeringa o ampolla para inyectar agua, solución salina u otras soluciones acuosas biocompatibles para ablandar, disolver y/o lavar la formulación. En otras realizaciones, las composiciones simplemente pueden salir de la membrana timpánica después de un período de tiempo y salir del oído (por ejemplo, durante el ejercicio o la ducha). En otra alternativa, puede no ser necesario que las formulaciones biodegradables salgan del oído.

Artículos manufacturados

Las composiciones descritas en la presente memoria se pueden combinar con material de envasado y vender como artículos manufacturados o kits. Los componentes y métodos para producir los artículos manufacturados son bien conocidos. Los artículos manufacturados pueden combinar una o más composiciones descritas en la presente memoria. Además, los artículos manufacturados pueden incluir además uno o más agentes farmacológicos, agua estéril o solución salina, vehículos farmacéuticos, tampones, o dispositivos para administración de fluidos. En estos kits se puede incluir un texto o instrucciones que describan cómo se puede administrar la composición al oído para el tratamiento de trastornos del oído interno o medio. Las composiciones se pueden proporcionar en una forma pre-ensvasada en cantidad suficiente para administraciones individuales o múltiples.

La invención se describirá ahora en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance de la invención descrita en las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1 – Compuestos químicos y reactivos

El clorhidrato de moxifloxacino fue suministrado por Alcon Labs, Inc. (Fort Worth, TX). Pluronic F-127, clorhidrato de ciprofloxacino, albúmina bovina, ácido fórmico, miristato de isopropilo y fosfato monobásico de amonio se adquirieron en Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Los siguientes compuestos químicos se adquirieron y se utilizaron como se recibieron: acetonitrilo y metanol de Burdick and Jackson Laboratories (Muskegon, MI) o Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ); cloruro de sodio de Mallinckrodt, Inc. (Paris, Kentucky); fosfato dibásico de sodio, heptahidrato de United States Biochemical (Cleveland, OH); fosfato monobásico de sodio de Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ); propilenglicol de la Universidad of Minnesota (Minneapolis, MN); PEG 4000 y PEG 6000 de Ruger Chemical Co, Inc. (Linden, NJ). Los disolventes eran de calidad HPLC y el resto de los compuestos químicos eran de calidad analítica.

Ejemplo 2 - Sonidas para microdiálisis

Se utilizaron sondas para microdiálisis CMA/20 (CMA/Microdialysis, North Chelmsford, MA) para obtener muestras dializadas de fluido del oído medio. La membrana de policarbonato de la sonda tenía un corte de peso molecular de 20.000 Dalton. La longitud de la membrana para dializado de la sonda fue de 10 mm. El diámetro externo de la membrana de la sonda fue 0,5 mm.

Ejemplo 3 - Fluido artificial del oído medio (AMEF)

El volumen del fluido seroso del oído medio (MEF) que se acumula en las chinchillas no infectadas con obstrucción de la trompa de Eustaquio varía en gran medida. El índice de éxito para acumular bastante MEF para microdiálisis es significativamente menor del 50 %, haciéndose necesario formular un fluido artificial del oído medio (AMEF) que imite el MEF. Para la administración de la formulación en gel al oído externo, se instiló una solución salina tamponada con fosfato (PBS, fosfato 0,015 M, pH = 7,4) con albúmina bovina 3 % en la bulla del oído medio de la chinchilla inmediatamente antes de la implantación de la sonda.

Ejemplo 4 - Validación de ciprofloxacino como un calibrador de retrodiálisis del moxifloxacino

El ciprofloxacino es un análogo químico del moxifloxacino y ambos son antibióticos quinolona. El ciprofloxacino tiene propiedades físicas y químicas en parte similares a las del moxifloxacino. Por lo tanto, se seleccionó como un calibrador potencial para retrodiálisis. Se llevó a cabo un estudio de pérdida simultánea *in vitro* de AMEF a caudales de perfusión bajos de 0,4, 0,5, 0,6 y 0,7 µl/min con intervalos de recogida de dializado de 10 minutos. La perfusión contenía 1 µg/ml de moxifloxacino y ciprofloxacino. La pérdida de cada compuesto se determinó restando la proporción de la concentración en el dializado de la del perfundido de la unidad. Se determinó que la pérdida de moxifloxacino *in vitro* no era significativamente diferente de la de ciprofloxacino a las 4 velocidades de flujo, lo que valida la utilidad de ciprofloxacino como un calibrador para microdiálisis.

Ejemplo 5 - Determinación de la fracción libre (no unida) de moxifloxacino en fluido del oído medio de chinchilla artificial e incubado

Estudios internos anteriores han mostrado que el fluido artificial del oído medio (AMEF) comienza a parecerse a MEF natural y soporta crecimiento bacteriano de 18 a 24 horas después de la instilación en el oído medio de la chinchilla. Con el fin de determinar la fracción libre, se recogió el fluido proveniente del oído medio después de la instilación del AMEF en el día anterior y este fluido se denominó como fluido del oído medio incubado (IMEF).

La unión a proteínas de moxifloxacino en el AMEF y el IMEF se determinó mediante ultrafiltración. El estudio se condujo a temperatura fisiológica (37 °C) con concentraciones nominales de 220 y 492 µg/ml. Una alícuota de 120 µl de la solución de AMEF o IMEF añadida se colocó en la parte superior del dispositivo para centrifuga Microcon® (Millipore Corporation, Bedford, MA) y se centrifugó utilizando una centrifuga de rotor con álabes fluctuante Clay Adams Triac 0200 (Becton, Dickinson and Company, Parsippany, NJ) a 2.000 xg durante 15 a 20 minutos. Para examinar el grado de unión no específica, dado el caso, de moxifloxacino al dispositivo Microcon®, se añadieron las mismas concentraciones de fármaco en solución salina tamponada con fosfato y se sometieron a centrifugación a través del dispositivo de forma similar a como se procedió con las alícuotas de MEF. La proporción entre la concentración en el ultrafiltrado y la concentración total en el MEF se calculó como la fracción libre para moxifloxacino.

Ejemplo 6 - Desarrollo de la formulación*Formulación base*

Pluronic® F-127 (PF-127) se seleccionó como el polímero para formar la base de gel para el termoendurecido. PF-127 se disuelve en agua formando soluciones a temperaturas más bajas y gelifica cuando la temperatura aumenta por encima de la temperatura de transición sol-gel. Las soluciones de PF-127 fluyen muy bien a temperatura ambiente y siguen el contorno de la superficie sobre la cual se aplican. Las formulaciones iniciales estudiadas estaban comprendidas por PF-127 20 % (p/v) en agua.

La solución de PF-127 se preparó mediante el método en frío. Se añadió lentamente una cantidad pesada de PF-127 a la cantidad requerida de agua fría (en peso), se agitó suavemente y se almacenó durante la noche a 4 °C para permitir que el polímero se hidratara y disolviera totalmente.

Determinación de la temperatura de transición

Una pequeña alícuota (100 a 200 µl) de la formulación final se transfirió a un tubo para microcentrifuga. El tubo se incubó después en un baño de agua a temperatura ambiente. La temperatura del baño de agua se aumentó gradualmente. Se dice que la gelificación se produce cuando el menisco de la solución de gel en el tubo de microcentrifuga no se distorsiona cuando se inclina en un ángulo de 90° o más. Se registró la temperatura de transición como los dos valores de temperatura entre los cuales se presentó la gelificación. La temperatura de transición de la formulación base (PF-127 20 %) fue de 22 a 23 °C. La temperatura de transición objetivo para la formulación final fue entre 28 °C y 32 °C.

Aditivos

Se probaron diversos aditivos para evaluar sus efectos sobre la temperatura de transición y otras propiedades del gel, estos incluyen etanol, propilenglicol, polietilenglicol 4000 (PEG 4000), PEG 6000 y miristato de isopropilo (IPM). Se observó que solo PEG 6000 y etanol aumentan la temperatura de transición de gel base significativamente. Las Tablas 1 y 2 muestran el efecto de PEG 6000 y etanol sobre la temperatura de transición de la solución de PF-127 20 %.

Tabla 1. Temperaturas de transición de soluciones de PF-127 20 % que contienen diversas concentraciones de PEG 6000

Concentración de PEG 6000	Temperatura de transición (°C)
0,10%	22 - 23
0,30%	22 - 23
0,50%	22 - 23
1%	22 - 23
2%	23 - 24
3%	26 - 27
5%	>37 (no gelificaba)

5 Tabla 2. Temperaturas de transición de soluciones de PF-127 20 % que contienen diversas concentraciones de alcohol y PEG 4000 2 %

Concentración de etanol	Temperatura de transición (°C)
2%	30 - 31
4%	31 - 32
6%	35 - 36
8%	>37

10 También se probaron concentraciones más altas de PF-127 (21 y 22 %) aunque estas formulaciones tomaron un periodo de tiempo prolongado para hidratarse totalmente (hasta 3 días) y fueron difíciles de manipular debido a las altas viscosidades. También exhibieron temperaturas de transición muy por debajo de la temperatura ambiente, que varía de la temperatura sub-cero para el gel de base a menos de 10 °C después de la adición de PEG 6000 para el 22 % de gel, y 23 hasta 24 °C para el 21 % de gel.

15 La formulación de gel base más prometedora tuvo una temperatura de transición de 23 a 24 °C, buena capacidad de fluidez a temperatura ambiente y tuvo la siguiente composición:

PEG 6000	2% (v/p)
Propilenglicol	20% (v/p)
PF-127	20% (w/p)

20 En la base de gel se incorporaron dos concentraciones de clorhidrato de moxifloxacino: 1 y 3 % (p/p). Moxigel 1 % es una solución clara con un color amarillo brillante, mientras que moxigel 3 % es una suspensión fina con un polvo blanco disperso en el líquido amarillo. Ambos moxigel presentaban un intervalo de temperatura de transición final de 29 hasta 31 °C.

Para preparar un lote de 10 ml de moxigel 1 %, se establecieron los siguientes procedimientos:

- 25 1. A un vial de centelleo, añadir 5,0 ml de PEG 6000 en solución acuosa (40 mg/ml);
2. Añadir 2,0 ml de propilenglicol;
3. Añadir lentamente 100 mg de clorhidrato de moxifloxacino;
4. Sonicar la mezcla durante 3 a 5 minutos;
5. Añadir 1,3 ml de agua;
30 6. Añadir 2 gramos de PF-127;
7. Agitar suavemente el vial para centelleo para humedecer el polvo de PF-127;
8. Mantener la mezcla en la nevera durante la noche para una hidratación completa y
9. Agitar en vórtice la solución completamente antes de usarla.

35 Los procedimientos para la preparación de moxigel 3 % son casi idénticos a los de moxigel 1 % excepto que se añadieron 300 mg de clorhidrato de moxifloxacino y que solamente se precisó 1,1 ml de agua.

Estudios de liberación in vitro

40 El propósito de estudiar la liberación *in vitro* de moxifloxacino era determinar la velocidad y el grado de liberación de las formulaciones de gel. Para cada estudio de liberación, se colocaron celdas de difusión Franz en un aparato Hanson Microette (Hanson Research, Chatsworth, CA). Los compartimientos receptores se rellenaron con 8,0 ml de medio de liberación, PF-127 15 % en agua que se agitó magnéticamente a 250 rpm. La temperatura se mantuvo a 37 °C con una camisa para circulación de agua rodeando la parte inferior de cada celda Franz. Se cortaron hojas de
45 membrana para diálisis de celulosa (Scienceware®, corte PM = 6 kD, Bel-Art Products, Pequannock, NJ, EE.UU.) en pequeños círculos (3 cm de diámetro) y se montaron en la parte superior de cada compartimento receptor. Se colocó un disco de teflón con forma de donut sobre la parte superior de la membrana para formar un compartimento donador. A continuación se cargó una alícuota de 350 µl de cada formulación de gel de moxifloxacino en el compartimiento de administración. Se dejó un tiempo de espera de 5 minutos antes de sellar la celda Franz para
50 garantizar la formación completa del gel. El brazo para muestra se cubrió con película para evitar la evaporación.

Cada muestra de 40 µl se extrajo del compartimiento receptor a 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 horas después de la administración del gel. Las muestras se conservaron a -20 °C hasta el análisis.

Se determinaron las concentraciones de moxifloxacin en muestras *in vitro* mediante un método de fluorescencia de HPLC fuera de línea como se describe en la presente memoria. A una alícuota de 10 µl de cada muestra, se añadieron 125 µl de solución salina tamponada con fosfato (PBS) hasta alcanzar volúmenes iguales con las muestras de la curva patrón. A continuación se añadió el patrón interno (65 µl de ciprofloxacino 100 µg/ml) antes de diluirse a un volumen final de 5,0 ml utilizando una fase móvil. Las muestras de patrón de moxifloxacin de 0,05 a 20,0 µg/ml se prepararon a partir de las soluciones madre de 1000, 100, 10 y 1 µg/ml en PBS. A cada muestra de curva patrón se añadieron 65 µl de patrón interno, 10 µl de PF-127 15 % y un volumen variable de PBS hasta alcanzar volúmenes iguales con las muestras *in vitro* antes de diluirse a un volumen final de 5,0 ml utilizando una fase móvil. La mezcla se agitó en vórtice a alta velocidad durante 30 segundos. El volumen de inyección fue 50 µl.

Ejemplo 7 - Cirugía

Animales

En este estudio se utilizaron *Chinchilla laniger* macho (Ryerson, Plymouth, OH o Dan Moulton, Rochester, MN), 390 a 670 g. El protocolo fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (IACUC) de la Universidad de Minnesota.

Obstrucción de la trompa de Eustaquio (ETO)

El propósito del procedimiento ETO es evitar que el fluido del oído medio artificial drene en la nasofaringe para garantizar que el fluido adecuado permanece en la bulla durante la microdiálisis. Se cortó la porción media de un punto gutapercha (tamaño 15, DiaDent®, DiaDent Grupo International Inc., Corea) a una longitud de 4 mm y se utilizó para obstruir la trompa de Eustaquio.

La cirugía de ETO se realizó de acuerdo a Jossart et al. (Jossart et al., 1990, Pharm Res., 7:1242-7) con una modificación. En resumen, los animales se anestesiaron con ketamina (40 a 50 mg/kg, IM) y pentobarbital (5 a 10 mg/kg, IP). Luego se realizó una pequeña incisión en el paladar blando para exponer las trompas de Eustaquio. La abertura de cada una de las trompas de Eustaquio se obstruyó con un segmento de 4 mm del punto. Al término de la cirugía, la incisión se cerró utilizando tejido adhesivo (Vetbond®, 3M, St. Paul, MN).

Instilación del fluido artificial del oído medio

La instilación del fluido artificial del oído medio (AMEF) en cada bulla se realizó el día de administración antes de la implantación de la sonda para microdiálisis. El acceso a la cavidad del oído medio de la chinchilla se realizó a través de la bulla cefálica sobre el lado dorsal del cráneo. Se perforó manualmente un pequeño orificio con una aguja hipodérmica 15 GA 1½ (Sherwood Medical Company, St. Louis, OM) en el vértice de la bulla derecha e izquierda donde se adelgaza el hueso. Se instiló el AMEF adecuado en cada bulla mediante una longitud de tubo de PE-50 hasta que se llenó completamente hasta el tope. Utilizando un otoscopio se examinó la integridad de la membrana timpánica. Los oídos con evidencia de fuga de AMEF en el canal auditivo externo no recibieron administración.

Implantación de sondas para microdiálisis

Inmediatamente después de la instilación del AMEF tuvo lugar la implantación de una sonda para microdiálisis. El acceso a la cavidad del oído medio de la chinchilla fue a través del mismo orificio de la bulla cefálica. A continuación se insertó cuidadosamente a través del orificio una sonda para microdiálisis CMA/20 en cada cavidad del oído medio. Las sondas se fijaron sobre el cráneo de la chinchilla de acuerdo con el método desarrollado por Huang et al. (Huang et al, 2001, J. Pharm. Sci., 90:2088-98) utilizando una corona de plástico fijada con cemento dental y agujas de sujeción.

Ejemplo 8 - Métodos analíticos

Análisis HPLC-MS-MS en línea de moxifloxacin y ciprofloxacino en microdializados

Se estableció un sistema HPLC-MS-MS para microdiálisis en línea. Los caudales de perfusión de microdiálisis se controlaron con una bomba de microinyección Harvard (modelo 22; Harvard Apparatus Inc., South Natick, MA) equipada con microjeringas de 1 ml, 2,5 ml (CMA/Microdialysis, North Chelmsford, MA) o 5 ml (Hamilton Company, Reno, NV). Los microdializados provenientes de ambos oídos se recogieron alternativamente en dos sitios de muestra de 10 µl o 25 µl del cuerpo de válvula de 10 puertos controlado mediante un programador de secuencia (Valco Instruments Co. Inc., Houston, TX). En el estudio se utilizó un caudal de perfusión de microdiálisis de 0,5 µl/min. La columna de HPLC era una columna de fase inversa de 4 µm, YMC J'sphere® M80 (2 x 100 mm, 4 µm, Waters Corporation, Milford, MA). La fase móvil consistió en ácido fórmico 0,1 % en agua (pH = 2,8 - 2,9, 80 % v/v) y acetonitrilo, (20 % v/v) con un caudal de 0,1 ml/min. Dado que el rendimiento de la columna cambiaba con el tiempo,

se utilizó un porcentaje diferente de acetonitrilo (que varía de 19 a 25 %) para optimizar la forma y los tiempos de retención máximos a la vez que se mantenía la temperatura de la columna a 40 °C. Se empleó un sistema de HPLC Shimadzu 10-A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) para intercomunicación con el sistema para recolección de muestras Valco en línea. Este consistía en una bomba LC-10ADvp, un controlador de sistema SIL-10A, un calentador de columna CTO-10A, un proporcionador FCV-10ALvp y un desgasificador DGU-14A. El efluente de HPLC entró en la fuente Turbo Ionspray (400 °C, 7 l/min de nitrógeno) de un espectrómetro de masas MS-MS triple cuadrupolar PE-Sciex API-365 (Perkin-Elmer Sciex Instruments, Concord, ON, Canadá). La detección se llevó a cabo en modo de monitorización de reacción múltiple (MRM) para el par iónico del producto original a 402,5 - 358,2 para moxifloxacin y 332 - 288 para el calibrador de retrodiálisis, ciprofloxacino. El intervalo de concentración aplicado para cada experimento varió dependiendo de las concentraciones observadas en los dializados del fluido del oído medio. La concentración estándar más baja utilizada fue 0,1 µg/ml, mientras que la más alta fue 118 µg/ml. A medida que aumentaba la variación de concentración estándar, parecía que existía una ligera no linealidad, aumentando la señal menos que aumentaba proporcionalmente la concentración. Para resolver este problema, se aplicó una transformación logarítmica tanto a la señal (área máxima) como a la concentración estándar antes de realizar la regresión lineal con peso uniforme.

Análisis de fluorescencia mediante HPLC en línea de moxifloxacin y ciprofloxacino en microdializados

Para mejorar la productividad, se desarrolló un análisis en línea adicional para permitir la realización simultánea de múltiples experimentos con animales, así como también para servir como respaldo cuando se produzca un fallo del equipo. Este análisis implicaba el uso de detección por fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 295 nm y una longitud de onda de emisión de 490 nm. Se empleó una columna YMC ODS-A 5 µm, 120 Å (4,6 x 100 mm, Waters Corporation, Milford, MA) con una composición de fase móvil de fosfato de amonio (20 mM, pH = 2,8, 76 o 78 %) y acetonitrilo (24 o 22 %) y un caudal de 0,5 ml/min. Se empleó una temperatura de la columna de 45 °C para alcanzar tiempos de retención de 7,4 min para moxifloxacin y 3,6 min para ciprofloxacino. El detector de fluorescencia fue el Shimadzu RF 535 (Shimadzu, Kyoto, Japón) o el Jasco 821FP (Jasco, Easton, MD). Los otros componentes y la configuración del sistema en línea son idénticos a los descritos en la presente memoria. La variación de la concentración de patrón utilizada para este análisis fue de 0,1 a 205 µg/ml. Aunque parecía no existir ninguna no linealidad en la señal de respuesta para este ensayo, se realizó la transformación logarítmica de la señal (área del pico) y la concentración del patrón por motivos de coherencia antes de la regresión lineal para obtener la pendiente y el corte con y.

Precisión y exactitud en el análisis de las muestras de microdiálisis del fluido del oído medio de moxifloxacin mediante HPLC-MS-MS en línea y fluorescencia mediante HPLC en línea

La precisión y exactitud de ambos métodos de ensayo para moxifloxacin en microdializados del fluido del oído medio se evaluaron a partir de las retrolecturas de la curva patrón. Se utilizaron generalmente seis patrones en el análisis HPLC-MS-MS en línea, donde la concentración variaba de 0,5 a 100 (0,1 a 118) µg/ml. La exactitud se calculó para que variase de 96 a 105 % en el intervalo de 0,5 a 50 µg/ml. La exactitud a 100 µg/ml fue del 91 %, lo que indica una ligera desviación descendente en la determinación de los niveles de microdializado en esta variación.

La precisión varió (% CV) de 1,1 a 6,2 % en todo el intervalo de la curva patrón de HPLC-MS-MS. Se utilizaron generalmente cinco o seis patrones en el análisis de fluorescencia mediante HPLC en línea, variando la concentración de 0,1 a 200 µg/ml. La exactitud se calculó para que variase de 98 a 102 % en todo el intervalo de la curva patrón. La precisión varió (% CV) de 0,3 a 3,6 % en el intervalo de 0,5 a 200 µg/ml y fue de 13,3 % a 0,1 µg/ml.

Ensayo de las concentraciones totales y no unidas en el fluido del oído medio y en muestras de liberación in vitro

Las concentraciones de moxifloxacin en las muestras de estudio de unión a proteínas y las muestras de liberación *in vitro* se determinaron mediante HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japón) con detección de fluorescencia. Los componentes y las condiciones cromatográficas fueron similares a las descritas en la presente memoria. El procesamiento de las muestras de liberación *in vitro* fue como se describe en la presente memoria. Para las muestras del estudio de unión a proteínas, se utilizaron tres curvas patrón independientes, una para las muestras de ultrafiltrado y PBS y las otra dos para la determinación de la concentración total del fármaco en las muestras de AMEF e IMEF utilizando sus matrices blanco respectivas. Las muestras que tienen la mayor concentración de PBS, AMEF e IMEF añadido se diluyeron tres veces con las matrices blanco correspondientes, y los ultrafiltrados provenientes del grupo de mayor concentración se diluyeron dos veces con PBS antes de extraer una alícuota de 50 µl para análisis. A todas las muestras se les añadió un patrón interno (125 µl de ciprofloxacino 10 µg/ml), incluyendo las muestras de patrón. A cada muestra, se añadieron 200 µl de acetonitrilo para precipitar las proteínas. Las muestras se agitaron a continuación en vórtice y se sometieron a centrifugación a 2.000 xg durante 10 min antes de añadirse 100 µl del sobrenadante a 300 µl del fosfato monobásico de amonio 20 mM filtrado de tal forma que la muestra final será semejante a la fase móvil. Se utilizó un volumen de inyección de 25 µl.

Ejemplo 9 - Estudios de administración intra-bulla

Estos estudios se realizaron para determinar una función de respuesta a impulsos unitarios que se utilizará en el análisis de desconvolución. Para ello, se estimó la concentración inicial de moxifloxacin y la semivida en el oído medio a partir de estudios de administración en bolo intra-bulla. Todos los animales se sometieron al procedimiento de obstrucción de las trompas de Eustaquio como se describe en la presente memoria antes de la administración intra-bulla. Las chinchillas se anestesiaron con cetamina (40 a 50 mg/kg, IM) y pentobarbital (20 a 30 mg/kg, IP) durante la administración de la dosis y la implantación de la sonda de microdialisis, aunque antes se permitió que se recuperaran de la anestesia durante el resto del experimento. Se seleccionaron dos niveles de dosis. Se administraron dosis en bolo de 50 y 150 µg de moxifloxacin en 1 ml de AMEF directamente en el oído medio (n = 9 oídos) utilizando los procedimientos como se describe en la presente memoria. Las concentraciones de moxifloxacin no unido provenientes de cada oído (oído medio) se controlaron cada 20 minutos durante hasta 845 minutos después de la dosis utilizando microdialisis acoplada con HPLC-MS-MS o fluorescencia mediante HPLC durante un periodo de 4 hasta 5 semividas.

Ejemplo 10 - Estudios de administración de la formulación de gel en el oído externo

Los animales se sometieron a cirugía para obstrucción de la trompa de Eustaquio (ETO) bilateral 1 día antes de la administración (excepto en un animal donde la ETO se realizó en el día de administración). Los animales que muestran una lectura de presión negativa en la timpanometría eran indicación del éxito de la obstrucción de las trompas de Eustaquio. En la chinchilla (N.º 638) en la que se realizó la ETO en el día de la administración no se realizó la timpanometría. La integridad de las membranas timpánicas se verificó visualmente utilizando un otoscopio después de la instilación de AMEF, la implantación de la sonda y antes de la administración. La administración no se realizó en los oídos que muestran membranas timpánicas comprometidas.

En el día de la administración, el animal se anestesió con ketamina (40 a 50 mg/kg, IM) y pentobarbital (20 a 30 mg/kg, IP) y se colocó en una almohadilla de calentamiento para mantener la temperatura normal del cuerpo. Después de la timpanometría, la chinchilla se colocó en una barra de mordaza bucal para permitir la instilación del AMEF y la implantación de la sonda como se describe en la presente memoria. Una vez que se aseguraron las coronas mediante cemento dental, el animal se retiró de la barra de mordaza y se colocó sobre su costado. La integridad de las membranas timpánicas se confirmó una vez más con un otoscopio.

El pretratamiento con un potenciador de la penetración en la forma de 50 µl de miristato de isopropilo (IPM) 100 % se aplicó a la membrana timpánica utilizando un trozo de tubo de polietileno (PE-50) unido a una jeringuilla de tuberculina de 1 ml. El tubo de PE-50 se hizo avanzar en el oído externo a través de la punta del otoscopio y se colocó cerca de la membrana timpánica con la ayuda del otoscopio. Una vez que se aplicó al oído el miristato de isopropilo, se activó un cronómetro y se retiró el tubo de PE-50. Se incluyeron cuatro tiempos de pretratamiento, 0,5 (inmediatamente después de la instilación de miristato de isopropilo), 2, 5, y 20 min. Una vez que se alcanzó el tiempo de pretratamiento, se hizo avanzar otro trozo de tubo de PE (PE-50 para moxigel 1 % y PE-160 para moxigel 3 %) unido a una jeringuilla de tuberculina de 1 ml rellena con la formulación de gel en el canal auditivo externo cerca de la membrana timpánica con la ayuda del otoscopio. La formulación de gel se aplicó lentamente hasta que alcanzó la punta del otoscopio. Se inició el cronómetro, el tubo de PE y el otoscopio se retiraron mientras que el pabellón del oído externo se empujó hacia arriba suavemente durante al menos minutos para permitir la formulación de gel. El pabellón del oído externo se liberó y se permitió un tiempo de gelificación de 10 minutos antes de administrar el oído contralateral. El ritmo cardíaco del animal, la velocidad de respiración, la temperatura corporal, y la profundidad de la anestesia se controlaron continuamente a lo largo de los procedimientos.

Una vez que se completó la administración de uno o ambos oídos, se sujetó un collar estilo isabelino sobre el animal antes de colocarlo dentro del sistema de jaulas para animales de movimiento libre Rattan® (Bioanalytical Systems, Inc., West Lafayette, IN) y se permitió la recuperación total de la anestesia. Se recogieron muestras del microdializado de fluidos del oído medio cada 20 minutos a partir de cada oído y se inyectó en línea para análisis en el sistema HPLC-MS-MS o en el sistema de fluorescencia mediante HPLC. Se permitió que los animales tuvieran libre acceso al alimento y agua a lo largo de todo el experimento. Se proporcionó buprenorfina (0,05 mg/kg IM) y la suplementación subcutánea de fluidos (6 ml de solución salina normal) cada 10 a 14 horas. Se controlaron las concentraciones de moxifloxacin en los microdializados de fluido del oído medio hasta 5.375 minutos después de la administración del oído externo con moxigel 1 % y hasta 6.180 minutos después de la administración con moxigel 3 %.

Ejemplo 11 - Análisis de los datos

Corrección de la concentración de microdializado de fluido del oído medio para la recuperación de la sonda y el tiempo de desfase

El tiempo de desfase se estimó basándose en la longitud del tubo que conecta la sonda para microdialisis con el bucle de muestras y el caudal de perfusión para microdialisis. Este valor representa el tiempo de tránsito del dializado desde la punta de la sonda hasta el bucle para recogida de muestras. Los tiempos de desfase típicos

fueron de aproximadamente 45 minutos. El tiempo de muestreo real fue el punto medio de un intervalo de recogida de 10 minutos, corregido para el tiempo de desfase y redondeado a los 5 minutos más cercanos.

Para cada muestra de dializado, la recuperación de la sonda se determinó restando la relación entre el área del pico del calibrador en el dializado y el del perfusado a partir de la unidad. Para reducir la desviación y reflejar el cambio en el rendimiento de la sonda durante el transcurso del experimento, se utilizó un promedio variable de 5 estimaciones para corregir la recuperación de la sonda en lugar del método de corrección "punto a punto". Para obtener la concentración real del fármaco en el fluido del oído medio, la concentración de moxifloxacino en cada dializado se dividió entre la recuperación promediada de la sonda.

Datos del tiempo de concentración de moxifloxacino en el fluido del oído medio después de la administración intra-bulla

Las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio en cada uno de los nueve (9) conjuntos de datos se analizaron de acuerdo con una declinación monoexponencial, donde el volumen inicial y la constante de velocidad de eliminación fueron los parámetros estimados. Se utilizó el análisis de regresión no lineal (SAAM II, v 1.2.1, Universidad de Washington, Seattle, WA) para caracterizar los parámetros de un modelo no compartimental. La función de ponderado supuso un coeficiente de variación del 5 % y el modelo de la varianza seleccionado se asoció con los datos en lugar de la función ajustada.

Análisis de las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio después de la administración al oído externo de formulaciones de moxifloxacino 1 % y 3 % (Moxigel)

El examen de los datos implica un análisis cuidadoso de los conjuntos de datos, donde las concentraciones en el fluido del oído medio fueron mucho mayores que las esperadas. Cuando los datos confirmatorios sugirieron que estos eran los resultados de un tímpano comprometido, los datos ajustados se excluyeron del análisis adicional. Había 23 conjuntos de datos útiles para las aplicaciones de moxigel 1 %, y 13 conjuntos para las aplicaciones de moxigel 3 %. Los datos de concentración de moxifloxacino en el fluido del oído medio-tiempo se ajustaron en el tiempo a los 10 minutos más cercanos para descartar los datos para un análisis no compartimental posterior y los procedimientos de desconvolución. Este paso "de descartado" requirió un ajuste de no más de 10 minutos desde el tiempo real hasta un tiempo nominal.

El análisis no compartimental de cada conjunto de datos de concentraciones en el fluido del oído medio se realizó con WinNonlin Professional (v 5.2, Pharsight Corporation, Mountain View, CA). Se seleccionó una administración extravascular (Modelo 200), con la opción de interpolación lineal trapezoidal y lineal. Se seleccionó la opción de "mejor ajuste para λ_z " (la constante de velocidad terminal), con la regresión logarítmica y ponderación uniforme. Se calculó el grado de entrada (biodisponibilidad, % F de moxifloxacino en el fluido del oído medio para cada conjunto de datos de la dosis en el oído externo, el área bajo la curva desde el tiempo 0 hasta el infinito (AUC_{inf}) y el aclaramiento medio del fluido del oído medio (CL) determinado a partir de los estudios de administración intra-bulla, como:

$$\%F = \frac{CL \cdot AUC_{inf}}{Dosis} \quad \text{ec. 1}$$

La desconvolución se realizó con el WinNonlin Professional (v 5.2, Pharsight Corporation, Mountain View, CA) para determinar la función de entrada (la velocidad de penetración de moxifloxacino en el fluido del oído medio), donde se definió la función de respuesta a impulsos unitarios de doble término utilizando el volumen medio de distribución y la constante de velocidad de eliminación media determinada a partir de los análisis de los datos de administración intra-bulla. Las pruebas t no pareadas mostraron que el volumen y los parámetros de las constantes de velocidad no fueron significativamente diferentes en los dos niveles de administración intra-bulla.

Ejemplo 12 - Liberación de moxifloxacino a partir de moxigel 1 % y moxigel 3 % *in vitro*

En la figura 1 se muestran las gráficas del porcentaje acumulado de moxifloxacino liberado de las formulaciones de gel, expresado con referencia a la concentración analizada de moxifloxacino en el gel. Después de una modesta velocidad de liberación inicial, ambas formulaciones presentaban velocidades de liberación máxima *in vitro* que se producían entre aproximadamente 2 hasta 6 horas. Las velocidades de liberación disminuyeron lentamente después.

La interpolación de los datos reveló que el moxigel 1 % liberaba aproximadamente el 50 % de su contenido en 5 horas, el 75 % en 9,5 horas y el 90 % en 16 horas. La velocidad de liberación máxima observada con la formulación de moxigel 1 % fue de aproximadamente 12 % por hora, lo que corresponde a una velocidad de liberación de aproximadamente 9,4 µg/min a partir de 500 µl de la formulación, un volumen típico de gel administrado en el oído externo con moxigel 1 %.

El moxigel 3 % liberado, liberó aproximadamente el 50 % de su contenido en 7,5 horas, 75 % en 15 horas y 90 % en 26 horas. La velocidad máxima de liberación observada en la formulación de moxigel 3 % fue de aproximadamente 9,1 % por hora, lo que corresponde a una velocidad de liberación de aproximadamente 15 µg/min a partir de 350 µl de la formulación, un volumen típico de gel administrado en el oído externo con moxigel 3 %.

Aunque la formulación de moxigel 3 % presentaba mayores velocidades absolutas de liberación de moxifloxacino que moxigel 1 % *in vitro*, las velocidades de liberación fraccionadas más lentas de moxigel 3 % probablemente son debidas a que una parte de la dosis está presente en suspensión, requiriendo así algo de tiempo para la disolución antes de la liberación del gel.

Ejemplo 13 - Fracción libre de moxifloxacino en el fluido del oído medio artificial e incubado

En la Tabla 3 se resumen los resultados del estudio de unión a proteínas. Las fracciones libres observadas para PBS fueron todas cercanas al 100 %, lo que indica poca o ninguna adsorción del fármaco a la membrana del dispositivo de ultrafiltración. Para el AMEF, se calculó un porcentaje no unido muy alto (84 a 92 %) en el intervalo de concentración, lo que indica una unión mínima de moxifloxacino a la albúmina bovina. En el IMEF, las fracciones libres de moxifloxacino fueron menores que las observadas en el AMEF a concentraciones similares, lo que sugiere la presencia de otra proteína de unión en esta matriz.

En general, la fracción libre de moxifloxacino permaneció relativamente alta en el intervalo de concentración probado. Así, las concentraciones de fármaco medidas mediante microdiálisis representan una gran parte del nivel total de moxifloxacino presente en el fluido del oído medio. Durante las primeras pocas horas después de la administración, la matriz de muestra se asemejaba mucho al AMEF. Cuando el tiempo experimental alcanzó las 18 horas o más, se consideró que la matriz de muestra se representa mejor mediante el IMEF. A partir de los resultados presentados en la Tabla 3, se observa que hubo una diferencia significativa entre las fracciones libres en las dos matrices. Sin embargo, esta diferencia probablemente no tenga ningún impacto significativo sobre la interpretación de los datos de microdiálisis del MEF.

Tabla 3. Porcentaje de moxifloxacino no unido en fluido del oído medio incubado (IMEF), fluido del oído medio artificial (AMEF) y solución salina tamponada con fosfato (PBS)

Matriz con muestra añadida	Concentración nominal de la sustancia añadida (µg/ml)	Promedio de la concentración medida (µg/ml)	Porcentaje no unido (%) (media ± DE)
IMEF	220	175	68 ± 0,4
	492	387	75 ± 2,0
AMEF	220	182	84 ± 6,3
	492	369	92 ± 1,3
PBS	220	200	97 ± 2,6
	492	421	105 ± 6,0

Ejemplo 14 - Concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio después de la administración intra-bulla

En las figuras 2 y 3, se muestran gráficas de las concentraciones de moxifloxacino no unido en el fluido del oído medio (C_{mef}) determinadas mediante microdiálisis, después de la administración directamente en el oído medio a aproximadamente 50 y 150 µg. Las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio disminuyeron mono- exponencialmente, lo que demuestra la existencia de una variabilidad entre sujetos relativamente modesta.

Estos perfiles de concentración-tiempo se utilizaron para definir la función de respuesta de impulso unitario (UIRF) en el análisis de desconvolución de los datos C_{mef} después de la administración trans-membrana timpánica. Se estimó que los volúmenes de distribución de moxifloxacino en el fluido del oído medio eran 1,75 ± 0,79 y 1,90 ± 0,43 ml (media ± DE) para las dosis intra-bulla baja y alta, respectivamente. Las constantes de velocidad de eliminación estimadas eran 0,0102 ± 0,0040 y 0,0075 ± 0,0010 min⁻¹, respectivamente. Ni el volumen, ni la constante de velocidad de eliminación dependieron de la dosis. Por lo tanto, se utilizaron los valores medios para estos dos parámetros para definir la UIRF en el procedimiento de desconvolución.

Ejemplo 15 - Concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio después de la administración al oído externo de moxigel 1 % y 3 %

Administración al oído externo de moxigel 1 %

En las figuras 4A y 4B, se muestran las gráficas de las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio (C_{mef}) después de la administración al oído externo de moxigel 1 %. Se obtuvieron niveles mensurables durante 4

días (5.375 minutos) después de la administración. La duración del tiempo de pretratamiento con IPM (0,5, 2, 5 o 20 minutos) no tuvo ningún efecto sobre los valores $C_{m\acute{a}x}$ o AUC_{inf} determinados en estos estudios.

Estos datos se presentan como la media $\pm$ EE en escalas de concentración lineal y logarítmica en la figura 5. Las concentraciones medias máximas de moxifloxacino fueron de aproximadamente 48 $\mu\text{g/ml}$, y se presentaron aproximadamente a los 900 minutos (15 horas) después de la administración. Las concentraciones medias de 10 $\mu\text{g/ml}$ se alcanzaron a aproximadamente los 90 minutos y permanecieron por encima de este nivel hasta aproximadamente 2.100 minutos (35 horas) después de la administración. Se alcanzaron concentraciones medias de 20 $\mu\text{g/ml}$ aproximadamente a los 230 minutos y permanecieron por encima de ese nivel hasta aproximadamente 1.610 minutos (27 horas) después de la administración.

En la Tabla 4, se resumen los resultados de los análisis no compartimentales de los datos de concentración en el fluido del oído medio no unido (libre)-tiempo. Se observó una variabilidad significativa en la $C_{m\acute{a}x}$ y en la constante de velocidad terminal, λ_z . Este último parámetro describe la velocidad fraccional de disminución de C_{mef} y refleja el paso limitante de la velocidad en entrada y salida de moxifloxacino en/desde el oído medio. Aquí, el paso limitante de la velocidad es la velocidad de penetración del antibiótico a través de la membrana timpánica. Esto es evidente dado que la constante de velocidad media asociada con la eliminación del fluido del oído medio que se determinó en el estudio de administración intra-bulla, estaba en el intervalo de 0,008 a 0,010 min^{-1} , valor que es sustancialmente mayor que el valor medio de 0,0043 determinado aquí.

Tabla 4. Parámetros de moxifloxacino a partir de los datos de NCA de C_{mef} después de la administración al oído externo de moxigel 1 % (N=23)

	λ_z 1/min	semivida (min)	$T_{m\acute{a}x}$ (min)	$C_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{g/ml}$)	AUC_{inf} $\text{min} \cdot \mu\text{g/ml}$	% F
media	0,00403	381	870	57,8	65712	23,7
DE	0,00424	323	239	36,9	34760	12,6
% CV	105,4	84,9	27,5	63,7	52,9	53,2
mín	0,001	41	400	12,1	12889	3,8
máx	0,017	1101	1220	153,1	143175	46,2

El valor máximo medio de C_{mef} no unido, 57,8 $\mu\text{g/ml}$, es de 20 a 30 veces mayor que el observado en plasma (2,0 $\mu\text{g/ml}$) después de una administración oral de 400 mg en seres humanos (Owens & Ambrose, 2002, Pharmacodynamics of Quinolones, en "Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice, pg. 162, Eds, Nightingale, Marakawa and Ambrose, Marcel Dekker, Basel, CH). La biodisponibilidad (% F) de moxifloxacino de moxigel 1 % en el fluido del oído medio se calculó como se describe en la ecuación 1.

La Tabla 5A, resume el tiempo requerido para que la C_{mef} alcance, caiga por debajo de 10 $\mu\text{g/ml}$ y la duración de tiempo por encima de este valor. Los valores tabulados se obtuvieron examinando cada conjunto de datos después de la administración de moxigel 1 % (N = 23). El tiempo promedio durante el cual los niveles de C_{mef} permanecieron por encima de 10 $\mu\text{g/ml}$ fue de 1.700 minutos (aproximadamente 29 horas).

Tabla 5A. Tiempo hasta alcanzar, caer por debajo de 10 $\mu\text{g/ml}$ y la duración de tiempo por encima de este valor después de la administración al oído externo de moxigel 1 %

	tiempo hasta alcanzar 10 $\mu\text{g/ml}$ (min)	tiempo hasta caer por debajo de 10 $\mu\text{g/ml}$ (min)	tiempo por encima de 10 $\mu\text{g/ml}$ (min)
Media	223	1971	1749
DE	202	675	719
% CV	90,8	34,2	41,1
Mediana	180	1780	1660
Mín	20	1200	460
Máx	800	4060	3720

La Tabla 5B, resume el tiempo requerido para que la C_{mef} alcance, caiga por debajo de 20 $\mu\text{g/ml}$ y la duración de tiempo por encima de este valor. Los valores tabulados se obtuvieron examinando cada conjunto de datos después de la administración de moxigel 1 % (N = 23). El tiempo promedio durante el cual los niveles de C_{mef} permanecieron por encima de 20 $\mu\text{g/ml}$ fue de 1.100 minutos (aproximadamente 19 horas). La C_{mef} en dos de los conjuntos de datos no aumentó hasta 20 $\mu\text{g/ml}$, dando por resultado un valor de 0 minutos para 2 conjuntos de datos, para el "tiempo por encima de 20 $\mu\text{g/ml}$ ".

Tabla 5B. Tiempo hasta alcanzar, caer por debajo de 20 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor después de la administración al oído externo de moxigel 1 %

	tiempo hasta alcanzar 20 µg/ml (min)	tiempo hasta caer por debajo de 20 µg/ml (min)	tiempo por encima de 20 µg/ml (min)
Media	326	1569	1135
DE	218	407	573
% CV	67,0	26,0	50,5
Mediana	300	1520	1160
Mín	60	1020	0
Máx	860	2620	2340

5 Administración al oído externo de moxigel 3 %

En la figura 6 se muestra, por grupo, las gráficas de las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio (C_{mef}) después de la administración al oído externo de moxigel 3 %. Se obtuvieron niveles mensurables durante 4 días (6.180 minutos) después de la administración. Como en el caso de los datos de administración de moxigel 1 %, la duración del tiempo de pretratamiento con IPM no tuvo ningún efecto sobre los valores C_{máx} o AUC_{inf} determinados en estos estudios.

Estos datos se presentan como la media ± EE en escalas de concentración lineal y logarítmica en la figura 7. Las concentraciones medias máximas de moxifloxacino fueron de aproximadamente 120 µg/ml, y se presentaron aproximadamente a los 1.300 minutos (22 horas) después de la administración. Las concentraciones medias de 10 µg/ml se alcanzaron a aproximadamente los 60 minutos y permanecieron por encima de este nivel durante todo el período de estudio (durante 5.000 minutos) después de la administración. Se alcanzaron concentraciones medias de 20 µg/ml aproximadamente a los 230 minutos y permanecieron por encima de ese nivel hasta aproximadamente 5.340 minutos (89 horas). Dado que solo había 2 conjuntos de datos que presentaban niveles mensurables más allá de las 57 h, esta observación no refleja la tendencia global de los datos.

En la Tabla 6, se resumen los resultados de los análisis no compartimentales de los datos de concentración en el fluido del oído medio no unido (libre)-tiempo tras la administración al oído externo de moxigel 3 %.

Tabla 6. Parámetros de moxifloxacino a partir de los datos de NCA de C_{mef} después de la administración al oído externo de moxigel 3 % (N=13)

	λ _z 1/min	semivida (min)	T _{máx} (min)	C _{máx} (µg/ml)	AUC _{inf} min*µg/ml	% F
media	0,00288	493	1049	130,4	206398	34,8
DE	0,00203	470	534	79,5	130684	21,7
% CV	70,5	95,4	50,9	61,0	63,3	62,4
mín	0,00040	116	200	27,2	12311	2,9
máx	0,00600	1623	1900	273,6	493290	77,5

Al igual que con moxigel 1 %, se observó una variabilidad significativa en la C_{máx} y en la constante de velocidad terminal λ_z. El valor medio de esta constante de velocidad fue 0,0029 min⁻¹, sustancialmente menor que la constante de velocidad de eliminación determinada después de la administración intra-bulla. Esto corresponde a una semivida media geométrica de aproximadamente 350 minutos, mucho mayor que la semivida media de eliminación observada cuando moxifloxacino se administraba directamente en el fluido del oído medio. Esto es una prueba de que, al igual que en el caso de los estudios con moxigel 1 %, la penetración de moxifloxacino a través de la membrana timpánica es limitante de la velocidad de desaparición del fluido del oído medio. Esta biodisponibilidad media de la administración al oído externo dentro del fluido del oído medio fue de aproximadamente el 35 %, aunque fue muy variable. Esto probablemente fue debido a la variabilidad en contacto del gel con la membrana timpánica, dando por resultado quizás en parte debido al contacto inadecuado entre el gel y la membrana. A pesar de esta variabilidad en % F, en este estudio se observaron concentraciones máximas muy altas de moxifloxacino en el fluido del oído medio, con un promedio de 130 µg/ml. De hecho, el conjunto de datos que mostró una biodisponibilidad de 2,9 % exhibió una C_{máx} de 27,7 µg/ml, más de 10 veces la concentración plasmática máxima de fármaco no unido observada habitualmente después de una administración oral de 400 mg de moxifloxacino (Owens et al., *supra*).

La Tabla 7A, resume el tiempo requerido para que la C_{mef} alcance, caiga por debajo de 10 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor. Los valores tabulados se obtuvieron examinando cada conjunto de datos después de la administración de moxigel 3 % (N = 13). El tiempo promedio durante el cual los niveles de C_{mef} permanecieron por encima de 10 µg/ml fue de 2.800 minutos (aproximadamente 48 horas).

Tabla 7A. Tiempo hasta alcanzar, caer por debajo de 10 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor después de la administración al oído externo de moxigel 3 %

	tiempo hasta alcanzar 10 µg/ml (min)	tiempo hasta caer por debajo de 10 µg/ml (min)	tiempo por encima de 10 µg/ml (min)
Media	172	3020	2848
DE	107	1762	1750
% CV	62	58	61
Mediana	180	3140	2740
Mín	20	580	500
Máx	400	6180	5960

5 La Tabla 7B, resume el tiempo requerido para que la C_{mef} alcance, caiga por debajo de 20 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor. Los valores tabulados se obtuvieron examinando cada conjunto de datos después de la administración de moxigel 3 % (N = 13). El tiempo promedio durante el cual los niveles de C_{mef} permanecieron por encima de 20 µg/ml fue de 2.500 minutos (aproximadamente 42 horas).

10 Tabla 7B. Tiempo hasta alcanzar, caer por debajo de 20 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor después de la administración al oído externo de moxigel 3 %

	tiempo hasta alcanzar 20 µg/ml (min)	tiempo hasta caer por debajo de 20 µg/ml (min)	tiempo por encima de 20 µg/ml (min)
Media	237	2769	2532
DE	127	1600	1583
% CV	53	58	63
Mediana	240	2920	2420
Mín	20	580	220
Máx	500	5520	5300

Ejemplo 16 – Mediciones comparativas para moxifloxacino después de la administración al oído externo de moxigel 1 % y 3 %

15 En la figura 8, se proporciona una comparación de los perfiles de concentración en fluido del oído medio (C_{mef})-tiempo después de la administración al oído externo de moxigel 1 y 3 %, donde se representan las medias y las DE las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio frente al tiempo. Debido a que los volúmenes de las formulaciones respectivas introducidas en el oído externo no son las mismas (promedio aproximadamente 500 y 350 µl para moxigel 1 % y moxigel 3 %, respectivamente), las dosis colocadas en el oído externo fueron, en promedio, aproximadamente dos veces mayores en las cohortes de moxigel 3 % que en el grupo de moxigel 1 % (9.900 en comparación con 4.800 µg). Además, el período de tiempo de penetración se prolongó significativamente en la

20 cohorte de moxigel 3 %, probablemente como resultado de sus velocidades de liberación relativas de moxifloxacino más lentas (véase la figura 1). Estas diferencias en las velocidades de administración y liberación son evidentes en la

25 figura 8, lo cual demuestra valores C_{máx} promedio superiores para moxigel 3 % y los tiempos aparentemente más tardíos en los que se alcanzaban los valores C_{mef} medios.

En la figura 9, en el recuadro comparativo y en las gráficas de distribución de datos, se muestra una comparación de los valores C_{máx} y T_{máx} para las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio observadas para estas dos formulaciones. Estas gráficas muestran la mediana y el intervalo intercuartil de estas dos mediciones.

30 Estas gráficas también indican que, aunque los valores de la mediana de T_{máx} para las dos formulaciones (900 frente a 1.180 minutos para moxigel 1 % y moxigel 3 %, respectivamente) no eran diferentes en la prueba de Mann-Whitney no paramétrica, los valores de la mediana de C_{máx} diferían significativamente (41,2 frente a 109 µg/ml para moxigel 1 % y moxigel 3 %, respectivamente) con un valor p de 0,0084.

Ejemplo 17 - Velocidad y grado de penetración de moxifloxacino en el fluido del oído medio

40 Utilizando los resultados de los estudios de administración intra-bulla y el período de tiempo de C_{mef} después de la administración al oído externo de moxigel, se utilizó la desconvolución para calcular la velocidad y el grado de penetración trans-membrana timpánica de moxifloxacino.

Penetración de moxifloxacino en el fluido del oído medio utilizando moxigel 1 %

45 En la figura 10 se muestra el período de tiempo de la cantidad acumulada de moxifloxacino que alcanza el fluido del oído medio después de la administración al oído externo de moxigel 1 %. Las cantidades acumuladas administradas al fluido del oído medio variaron de aproximadamente 250 a 2.300 µg y esta variación es un reflejo de la variación de los valores AUC_{inf} observados con la administración de moxigel 1 %.

Las correspondientes velocidades de penetración (velocidades de entrada), calculadas mediante desconvolución, se presentan gráficamente, por grupo, en las figuras 11A y 11B. Se ajustó una función spline a cada cohorte para reflejar la tendencia general de la velocidad de entrada en ese grupo de conjuntos de datos. Esto se hizo utilizando la nivelación de diagramas de puntos ponderados localmente, empleando un tramo de 10 puntos de datos en el procedimiento. El examen de splines en las figuras 11A y 11B indica que las velocidades de penetración máximas de moxifloxacino en el fluido del oído medio varían de aproximadamente 0,2 a 2 $\mu\text{g}/\text{min}$, significativamente menos que la velocidad de liberación correspondiente estimada para una administración comparable de moxigel 1 % en condiciones *in vitro* (9,4 $\mu\text{g}/\text{min}$). Estas velocidades de penetración máxima corresponden aproximadamente a las velocidades de administración de moxifloxacino *in vivo* de aproximadamente 12 a 120 $\mu\text{g}/\text{h}$.

Penetración de moxifloxacino en el fluido del oído medio utilizando moxigel 3 %

En la figura 12 se muestra el período de tiempo de la cantidad acumulada de moxifloxacino que alcanza el fluido del oído medio después de la administración al oído externo de moxigel 3 %. Las cantidades acumuladas administradas al fluido del oído medio variaron de aproximadamente 200 a 6.300 μg y esta variación refleja aproximadamente el intervalo de los valores de AUCinf observados con la administración de moxigel 3 %.

Las correspondientes velocidades de penetración (velocidades de entrada), calculadas mediante desconvolución, se presentan gráficamente, por grupo, en la figura 13. También se muestran las funciones spline ajustadas a cada cohorte para reflejar la tendencia general de la velocidad de entrada en estos datos. El examen de splines en la figura 13 indica que las velocidades de penetración máximas de moxifloxacino en el fluido del oído medio varían de aproximadamente 0,5 a 5 $\mu\text{g}/\text{min}$, significativamente menos que la velocidad de liberación correspondiente estimada para una administración comparable de moxigel 3 % en condiciones *in vitro* (15 $\mu\text{g}/\text{min}$). Estas velocidades de penetración máxima corresponden aproximadamente a las velocidades de administración de moxifloxacino *in vivo* de aproximadamente 30 a 330 $\mu\text{g}/\text{h}$.

Velocidades de penetración comparativas de moxifloxacino en el fluido del oído medio para moxigel 1 % moxigel 3 %

Las velocidades de penetración (velocidades de entrada) estimadas mediante desconvolución para cada uno de los conjuntos de datos de moxigel 1 % y moxigel 3 % (N = 36) se ajustaron a los datos, agrupados por dosis, mediante funciones spline como se describió anteriormente. Los datos y los splines de la velocidad de entrada correspondientes se presentan gráficamente en la figura 14. Estas gráficas muestran que la velocidad de penetración máxima típica (entrada) para moxigel 1 % es de aproximadamente 0,7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y ocurre aproximadamente a los 700 a 800 minutos (aproximadamente 12 a 13 horas). La velocidad de penetración máxima correspondiente a moxigel 3 % es de aproximadamente 2 $\mu\text{g}/\text{min}$, y ocurre en el intervalo de 1.600 a 2.000 minutos (aproximadamente 27 a 33 horas). La mayor velocidad de entrada máxima observada con moxigel 3 % concuerda con la mayor dosis asociada con esta formulación. Se debe observar que la administración típica en el oído externo utilizando moxigel 1 % fue de aproximadamente 4.800 μg y la administración correspondiente utilizando moxigel 3 %, que se administró generalmente en un volumen menor, fue de aproximadamente 9.900 μg . Así, la dosis asociada con moxigel 3 % era aproximadamente el doble que para moxigel 1 %. La velocidad de penetración pico posterior observada con moxigel 3 % refleja el hecho de que el moxifloxacino se libera más lentamente desde esta formulación *in vitro*, y supuestamente *in vivo*, ya que está parcialmente en suspensión en la formulación de gel de 3 %.

Ejemplo 18 - Tiempo hasta alcanzar las concentraciones objetivo de moxifloxacino y la duración de tiempo por encima de este valor en el fluido del oído medio

Un objetivo específico de esta investigación era desarrollar un sistema para administración trans-membrana timpánica para mantener las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio por encima de 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ durante un mínimo de 24 a 48 horas. La figura 15, muestra la mediana y los intervalos intercuartil para el tiempo requerido para alcanzar los 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ observados en los estudios que implican la administración al oído externo de moxigel 1 %. La mediana de los tiempos requeridos para alcanzar las concentraciones en el fluido del oído medio, de 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ fueron 180 y 300 minutos, respectivamente. La figura también muestra la mediana del tiempo durante el cual se mantuvieron estos niveles. Estos fueron 1.660 y 1.160 minutos, o aproximadamente 28 y 19 horas, respectivamente. Así, este objetivo parece haberse cumplido con la formulación de moxigel 1 %.

Además, la figura 16 muestra las medianas y los intervalos intercuartil para el tiempo requerido hasta alcanzar tanto 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ observado en los estudios con moxigel 3 %. La mediana de los medios requeridos hasta alcanzar las concentraciones en el fluido del oído medio, de 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ fueron 180 y 240 minutos, respectivamente. La figura también muestra la mediana del tiempo durante el cual se mantienen estos niveles. Estos fueron 2.740 y 2.420 minutos, o aproximadamente 46 y 40 horas, respectivamente. El objetivo descrito anteriormente, que se refiere a la duración por encima de 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, también se había alcanzado con la formulación de moxigel 3 %. Además, aunque esto no se estableció explícitamente como un objetivo, la formulación con moxigel 3 % proporcionó una duración media de tiempo por encima de 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de casi dos días. Esta formulación parecía incluir moxifloxacino en suspensión, así como en solución probablemente producida como una velocidad de liberación prolongada *in vivo*, de acuerdo con su velocidad de liberación relativa más lenta *in vitro*.

Los tiempos y duraciones mostrados en las figuras 15 y 16, se resumen en las Tablas 8A y 8B, así como en las Tablas 9A y 9B para moxigel 1 % y moxigel 3 %, respectivamente. Los tiempos medios, así como los tiempos mínimos y máximos observados en los conjuntos de datos individuales también se tabulan.

5 Tabla 8A. Tiempo hasta alcanzar, caer por debajo de 10 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor después de la administración al oído externo de moxigel 1 %

	tiempo hasta alcanzar 10 µg/ml (min)	tiempo hasta caer por debajo de 10 µg/ml (min)	tiempo por encima de 10 µg/ml (min)
Media	223	1971	1749
DE	202	675	719
% CV	90,8	34,2	41,1
Mediana	180	1780	1660
Mín	20	1200	460
Máx	800	4060	3720

Tabla 8B. Tiempo hasta alcanzar, caer por debajo de 20 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor después de la administración al oído externo con moxigel 1 %

	tiempo hasta alcanzar 20 µg/ml (min)	tiempo hasta caer por debajo de 20 µg/ml (min)	tiempo por encima de 20 µg/ml (min)
Media	326	1569	1135
DE	218	407	573
% CV	67,0	26,0	50,5
Mediana	300	1520	1160
Mín	60	1020	0
Máx	860	2620	2340

10 Tabla 9A. Tiempo hasta alcanzar, caer por debajo de 10 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor después de la administración al oído externo de moxigel 3 %

	tiempo hasta alcanzar 10 µg/ml (min)	tiempo hasta caer por debajo de 10 µg/ml (min)	tiempo por encima de 10 µg/ml (min)
Media	172	3020	2848
DE	107	1762	1750
% CV	62	58	61
Mediana	180	3140	2740
Mín	20	580	500
Máx	400	6180	5960

15 Tabla 9B. Tiempo hasta alcanzar, caer por debajo de 20 µg/ml y la duración de tiempo por encima de este valor después de la administración al oído externo de moxigel 3 %

	tiempo hasta alcanzar 20 µg/ml (min)	tiempo hasta caer por debajo de 20 µg/ml (min)	tiempo por encima de 20 µg/ml (min)
Media	237	2769	2532
DE	127	1600	1583
% CV	53	58	63
Mediana	240	2920	2420
Mín	20	580	220
Máx	500	5520	5300

Ejemplo 19 – Proporciones AUIC para moxifloxacino después de la administración al oído externo de moxigel 1 % y 3 %

20 Se han propuesto tres puntos de corte importantes para las fluoroquinolonas, asociados a las velocidades de destrucción bacteriana según Schentag et al. (2003, Ann. Pharmacother. , 37:1287-1298). Estos puntos de corte se han establecido *in vitro* y en modelos animales en vista de la evidente destrucción dependiente de la concentración de esta clase de antibióticos. AUIC se define como el área bajo la curva (concentraciones en plasma o suero) durante 24 horas, dividido por la concentración inhibidora mínima de la fluoroquinolona en cuestión para un organismo particular. Schentag et al. (*supra*) han descrito los siguientes puntos de corte para las fluoroquinolonas:

- 25 a. a valores AUIC <30-50 o proporciones pico:MIC en el intervalo de 5:1, las fluoroquinolonas son bacteriostáticas

- b. a valores AUIC >100, pero <250 los organismos se destruyen a una velocidad más lenta, por lo general en el día 7 de tratamiento
- c. a AUIC >250 o pico:MIC de 25:1, las fluoroquinolonas demuestran una destrucción dependiente de la concentración rápida y la erradicación bacteriana se produce en 24 horas.

Los valores AUIC para todos los conjuntos de datos en los estudios con moxigel 1 % y moxigel 3 % se calcularon para cada periodo consecutivo de 24 horas después de la administración al oído externo. Estos cálculos suponían una MIC para moxifloxacino de 0,25 µg/ml. Los valores AUIC medios en el fluido del oído medio después de la administración de moxigel 1 % (N = 23) fueron 2.398, 7.756 y 62 en los días 1, 2 y 3, respectivamente, como se muestra en la figura 17. Estos valores para moxigel 1 % quedan dentro de la categoría c, identificada anteriormente, para el día 1 y el día 2, es decir, la erradicación de las bacterias en un periodo de 24 horas. La mediana de AUIC determinada en el día 3 para los estudios con moxigel 1 % queda entre las categorías b y a.

La mediana de los valores AUIC en el fluido del oído medio después de la administración de moxigel 3 % (N = 13) fueron 5.930, 4.901 y 570 en los días 1, 2 y 3, respectivamente, también mostrado en la figura 17. Estos valores para moxigel 3 % quedan dentro de la categoría c, identificada anteriormente, durante los 3 días después de la administración al oído externo, es decir, la erradicación de bacterias en un periodo de 24 horas. Este hallazgo sugiere que la evolución temporal de las concentraciones de moxifloxacino en el fluido del oído medio de la chinchilla después de moxigel 3 % podría proporcionar una ventaja real con respecto a aquellos observados con la aplicación de moxigel 1 %. Sin embargo, si Schentag et al., están en lo correcto en sus recomendaciones, pueden ser adecuadas las concentraciones de moxifloxacino producidas con la administración al oído externo de moxigel 1 %, ya que las AUIC asociadas en el día 1 y el día 2 parecen ser suficientes para dar por resultado una erradicación bacteriana en un plazo de 24 horas.

Una MIC para moxifloxacino de 0,25 µg/ml en los cálculos de AUIC anteriores es razonable y quizás conservadora. En un documento posterior, Schentag et al. (2003, Ann Pharmacother., 37:1478-1488) se centran en el uso de puntos de corte para la evaluación de los efectos bactericidas de las fluoroquinolonas y describen una MIC₉₀ de 0,125 µg/ml para moxifloxacino contra las cepas de *S. pneumoniae*, un patógeno común encontrado en la otitis media. Es interesante señalar que esta publicación examina los resultados de ensayos clínicos en seres humanos y confirma los puntos de corte descritos anteriormente. De hecho, los autores establecen que la destrucción bacteriana dependiente de la concentración por las fluoroquinolonas tiene como resultado la erradicación bacteriana en 1 a 2 horas en seres humanos, donde la AUIC es mayor que 250, o las proporciones entre C_{máx} y MIC están en exceso de 15:1.

Estos puntos de corte publicados no parecen considerar la unión a proteínas. Las concentraciones medidas en el fluido del oído medio en los estudios actuales son concentraciones sin unir, y, si se utilizan las concentraciones totales para calcular las AUIC producidas, estas podrían ser algo mayores, colocándolas más firmemente en la clase c, donde las fluoroquinolonas demuestran una destrucción rápida dependiente de la concentración y la erradicación bacteriana se produce en el término de 24 horas.

Ejemplo 20 - Proporciones C_{máx}/MIC para moxifloxacino después de la administración al oído externo de moxigel 1 % y moxigel 3 %

Los puntos de corte analizados en el Ejemplo 19 anterior también incluían los criterios relacionados con las proporciones C_{máx}/MIC ("pico:MIC"). Centrándonos en estas proporciones en las clases a y c, a partir de lo anterior, Schentag et al. (2003, Ann. Pharmacother. , 37:1287- 1298), establecen que:

- a. a las proporciones pico:MIC en el intervalo de 5:1, las fluoroquinolonas eran bacteriostáticas,
- c. a las proporciones pico: MIC de 25:1, las fluoroquinolonas demuestran una destrucción rápida dependiente de la concentración, y la erradicación bacteriana se produce en 24 horas.

Los puntos de corte se revisaron ligeramente en la segunda publicación (Schentag et al, 2003, Ann. Pharmacother., 37:1478-1488), donde se describen proporciones C_{máx}/MIC para las clases a, b, y c, que son 3:1, 6:1 y 15:1, respectivamente. C_{máx}/MIC para todos los conjuntos de datos en los estudios con moxigel 1 % y moxigel 3 % se calcularon para cada periodo consecutivo de 24 horas después de la administración al oído externo. Al igual que antes, estos cálculos suponían una MIC para moxifloxacino de 0,25 µg/ml. La mediana del valor C_{máx}/MIC en el fluido del oído medio después de la administración de moxigel 1 % (N = 23) fue 165:1, como se muestra en la figura 18. Este valor es varias veces el identificado para la clase c (descrito en otra alternativa como 25:1 o 15:1) donde se espera que la erradicación de bacterias se produzca en un plazo de 24 horas.

La mediana del valor C_{máx}/MIC en el fluido del oído medio después de la administración de moxigel 3 % (N = 13) fue 436:1, como se muestra en la figura 18. Este valor es muchas veces mayor que el identificado para la clase c, lo que de nuevo sugiere la erradicación de las bacterias en un plazo de 24 horas.

Como se observó anteriormente, los puntos de corte publicados no consideran la unión a proteínas. Las concentraciones medidas en el fluido del oído medio en los estudios actuales son niveles sin unir, y, si se utilizaron

niveles totales para calcular las proporciones $C_{\text{máx}}/\text{MIC}$ consideradas en los puntos de corte descritos, estas proporciones podrían ser algo mayores, colocándolas incluso más firmemente en la clase c, donde las fluoroquinolonas demuestran una destrucción rápida dependiente de la concentración y la erradicación bacteriana se produce en un plazo de 24 horas.

Ejemplo 21 - Métodos para comparar el pretratamiento, con un potenciador de la penetración 10 % frente a 50 %

Los animales se sometieron a cirugía de obstrucción de la trompa de Eustaquio bilateral (ETO) un día antes de la administración. Los oídos que muestran una lectura de presión negativa en la timpanometría indicaban una obstrucción exitosa de las trompas de Eustaquio. La integridad de las membranas timpánicas se verificó visualmente utilizando un otoscopio después de la instilación del fluido del oído medio artificial (AMEF) en la bulla, la implantación de la sonda, y antes de la administración. La administración no se realizó en los oídos que mostraban membranas timpánicas comprometidas.

En el día de la administración, los animales se anestesiaron con ketamina (40 a 50 mg/kg, IM) y pentobarbital (20 a 30 mg/kg, IP) y se colocaron en una almohadilla de calentamiento para mantener la temperatura corporal normal. Después de la timpanometría, la chinchilla se colocó en una barra/mordaza bucal para permitir la instilación de AMEF y la implantación de la sonda de microdialisis. El acceso a la cavidad del oído medio de la chinchilla fue a través de la bulla cefálica sobre el lado dorsal del cráneo. Se perforó manualmente un pequeño orificio con una aguja hipodérmica 15 GA en el ápice de la bulla derecha e izquierda donde se adelgaza el hueso. Se instiló AMEF en cada bulla mediante una longitud de tubo PE-50 hasta que se rellenó completamente hasta el tope.

La implantación de las sondas de microdialisis (MD-2310) con membranas de 10 mm (BASi, West Lafayette, IN) en las bullas del oído medio izquierdo y derecho fue seguida inmediatamente de la instilación de AMEF. El acceso a la cavidad del oído medio de la chinchilla fue a través del mismo orificio en la bulla cefálica. Se insertó cuidadosamente una sonda en cada cavidad del oído medio a través del orificio de acceso. Utilizando un otoscopio se examinó la integridad de la membrana timpánica. Las sondas se aseguraron sobre el cráneo de la chinchilla utilizando una corona de plástico asegurada mediante cemento dental y agujas de sujeción.

Antes de la administración de una solución de moxigel 3 % en el oído externo como se describió anteriormente, se realizó un pretratamiento con un potenciador de la penetración, en la forma de una solución de miristato de isopropilo (IPM) 10 % o 50% v/v en aceite mineral. Esto consistió en aplicar 50 μl de la solución de pretratamiento en la región de la membrana timpánica a través del oído externo con la ayuda de un otoscopio. Esto se llevó a cabo utilizando un trozo de tubo de polietileno (PE-50) unido a una jeringuilla de tuberculina de 1 ml. La solución de pretratamiento se dejó sobre la membrana timpánica durante 0,5 minutos antes de la administración.

Un pequeño volumen (0,3 ml) de la formulación de moxifloxacino 3 % se instiló como un líquido en la región de la membrana timpánica a través del oído externo con la ayuda de un otoscopio. La formulación líquida, que tuvo una temperatura de transición de sol-gel de aproximadamente 29 a 31 °C, se gelificó a medida que su temperatura aumentaba lentamente. Se permitió un tiempo de gelificación total de 10 minutos antes de la administración al oído contralateral. La frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria, la temperatura corporal y la profundidad de la anestesia del animal se controlaron continuamente durante todo el procedimiento.

Después de la aplicación de una dosis individual de 9 mg (0,3 ml de una formulación que contenía 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$), se controlaron las concentraciones de moxifloxacino no unido en el fluido del oído medio utilizando microdialisis en línea durante hasta 7.200 minutos después de la dosis, como se describirá más adelante.

Se utilizó un sistema de HPLC de microdialisis en línea para cuantificar el moxifloxacino y ciprofloxacino en el dializado. Los caudales de perfusión de microdialisis se controlaron con una bomba de microinyección Harvard (modelo H11; Harvard Apparatus Inc.; South Natick, MA) ajustada con microjeringas de 5 ml (Hamilton Company, Reno, NV). Los microdializados provenientes de ambos oídos se recogieron alternadamente en dos ciclos de muestreo de 25 μl del cuerpo de válvula de 10 puertos controlado mediante un programador de secuencia (Valco Instruments Co. Inc., Houston, TX). Las sondas se perfundieron con un calibrador para retrodialisis (ciprofloxacino, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en PBS) a un caudal de 0,5 $\mu\text{l}/\text{minuto}$.

Se empleó un sistema Shimadzu 10-A HPLC (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) para interactuar con el sistema de recogida de muestras Valco en línea. Esto consiste en una bomba LC-10ADvp, un controlador de sistema SIL-10A, un calentador de columna CTO-10A, un proporcionador FCV-10ALvp y un desgasificador DGU-14A. También se utilizó un detector espectrofluorométrico Shimadzu (RF-10A) con una longitud de onda de excitación de 295 nm y una longitud de onda de emisión de 490 nm. Se utilizó una columna YMC ODS-A 5 μm , 120 Å (4,6 x 100 mm, Waters Corporation, Milford, MA) para la separación de los compuestos y se eluyó con una fase móvil compuesta de 76 % de fosfato de amonio (20 mM, pH = 2,8) y 24 % de acetonitrilo a un caudal de 0,5 ml/min. Una temperatura de la columna de 40 °C dio por resultado tiempos de retención de aproximadamente 6 minutos para moxifloxacino y 3 minutos para el calibrador, ciprofloxacino.

Ejemplo 22 - Resultado de la comparación entre el pretratamiento con un potenciador de la penetración 10 % y pretratamiento con un potenciador de la penetración 50 %

Después de la administración al oído externo de moxigel 3 % donde se pretrataron las membranas timpánicas con IPM 10 %, las concentraciones de moxifloxacino sin unir en el fluido del oído medio (C_{mef}) fueron generalmente menores que el límite de cuantificación. En vista de los muy pocos niveles mensurables observados cuando se utilizaba pretratamiento con IPM 10 %, no se pudo calcular los parámetros relacionados con la administración de moxifloxacino.

Por el contrario, después de la administración al oído externo de moxigel 3 % donde las membranas timpánicas se pretrataron con IPM 50 %, las concentraciones de moxifloxacino sin unir en el fluido del oído medio fueron mensurables durante períodos de hasta 7.200 minutos o 5 días. En los nueve oídos estudiados, la C_{máx} (las concentraciones máximas de moxifloxacino sin unir) en el fluido del oído medio (media ± DE) fue 33,3 ± 23,3 µg/ml. El moxifloxacino, cuya unión a proteínas séricas descrita es del 30 % al 50 % en seres humanos, exhibe una concentración máxima total (unida más no unido) observada en plasma de 3,1 µg/ml después de una administración oral de 400 mg. La C_{máx} sin unir correspondiente en plasma es de aproximadamente 1,9 µg/ml. Las concentraciones máximas medias de moxifloxacino sin unir observadas en el fluido del oído medio de la chinchilla después de una administración única de 9 mg en el oído externo en el presente estudio por lo tanto, es de aproximadamente 15 a 20 veces la C_{máx} media no unido observada en plasma en seres humanos que reciben una administración de 400 mg.

T_{máx}, el tiempo en el cual se observaron las concentraciones máximas, fue 1.410 ± 486 minutos. La AUC desde 0 hasta t_{último} fue aproximadamente 74.400 ± 52.100 µg-min/ml y la AUC desde 0 hasta infinito (AUC inf) fue aproximadamente 93.400 ± 79.200 µg-min/ml. La AUC media en seres humanos sanos que recibieron una sola administración oral de 400 mg descrita era 2.170 µg-min/ml. La AUC del fármaco no unido correspondiente es aproximadamente el 60 % de esta, o aproximadamente 1.300 µg-min/ml. Por lo tanto, la exposición media del fluido del oído medio a niveles de moxifloxacino no unido después de una administración individual de 9 mg en el oído externo de la chinchilla es aproximadamente 75 veces la observada en el plasma de un ser humano sano que recibía una sola administración oral de 400 mg de moxifloxacino.

El grado de administración trans-membrana timpánica de moxifloxacino en el fluido del oído medio se calculó a partir de los perfiles de concentración mono-exponencial-tiempo medidos utilizando microdiálisis, después de la administración de moxifloxacino directamente en el espacio del oído medio (administración intra-bulla). Los volúmenes de distribución de moxifloxacino en el fluido del oído medio se estimaron en 1,8 ml. La constante de velocidad de eliminación se estimó en 0,0093 min⁻¹. El aclaramiento medio (CL) de moxifloxacino a partir del fluido del oído medio se calculó en 0,0167 ml/min. El grado de administración (biodisponibilidad, % F) de moxifloxacino en el fluido del oído medio se calculó para cada conjunto de datos a partir de la dosis en el oído externo, el área bajo la curva desde el tiempo 0 hasta infinito (AUC_{inf}), y el aclaramiento medio del fluido del oído medio (CL) determinado a partir de los estudios de administración intra-bulla, como:

$$\%F = \frac{CL \cdot AUC_{inf}}{Dosis} \quad \text{ec. 1}$$

La fracción de la dosis administrada en el oído externo que se administró al espacio del oído medio (media ± SD) se determinó en 17,4 ± 14,7 %.

Los resultados de los presentes estudios que examinaron la administración transtimpánica de moxifloxacino en el fluido del oído medio (MEF) de la chinchilla después de una dosis de 9 mg de moxifloxacino, y el pretratamiento de la membrana timpánica con miristato de isopropilo 50 %, se muestran en las figuras 19A y 19B. En la Tabla 10 se muestran los parámetros y mediciones correspondientes.

Tabla 10. Administración de moxifloxacino después del pretratamiento con un potenciador de la penetración

	Media	DE	% CV
C _{máx} (µg/ml)	33,3	23,3	69,9
T _{máx} (min)	1409	486	34,5
AUC _{último} (min*µg/ml)	74374	52067	70,0
AUC _{inf} (min*µg/ml)	93381	79183	84,8
Tiempo hasta alcanzar 10 µg/ml (min)	618	296	47,9
Tiempo por encima de 10 µg/ml (min)	2847	1750	61,5
% F	17,4	14,7	84,8

OTRAS REALIZACIONES

- 5 Debe entenderse que aunque la invención se ha descrito junto con su descripción detallada, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que está definida por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación para su uso mediante administración en la membrana timpánica, en la que dicha formulación es acuosa y comprende un agente viscosogénico y moxifloxacino o una sal del mismo; en la que dicha formulación es fluida y tiene una viscosidad inferior a 100 Pa*s a 25 °C; en la que dicha formulación, después de su aplicación a dicha membrana timpánica, forma un gel que tiene una tensión elástica suficiente para mantener dicha formulación contra dicha membrana timpánica; y en la que dicho moxifloxacino se transfiere a través de la membrana timpánica y hacia el espacio del oído medio cuando la formulación se aplica a la membrana timpánica.

2. La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho agente viscosogénico es:

- (a) goma gellan;
- (b) N-isopropilacrilamida con acrilato de sodio y n-N-alquilacrilamida;
- (c) ácido poliacrílico con polietilenglicol;
- (d) ácido polimetacrílico con polietilenglicol;
- (e) CARBOPOL® (ácido poliacrílico) con hidroxipropilmetilcelulosa;
- (f) látex de acetato de celulosa y ftalato de hidrógeno o
- (g) alginato de sodio.

3. La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho agente viscosogénico es un gel termoendurecible inverso.

4. La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que dicho agente viscosogénico es un poloxámero o una poloxamina.

5. La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además un agente anti-inflamatorio, un anestésico, un facilitador de la adhesión, un potenciador de la permeabilidad o de la penetración, un bioadhesivo, un agente higroscópico, un ablandador del cerumen o un conservante.

6. La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además un potenciador de la penetración.

7. La para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el potenciador de la penetración es miristato de isopropilo (IPM).

8. La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la formulación es para su uso en combinación con un potenciador de la penetración como un pretratamiento y en la que el potenciador de la penetración es miristato de isopropilo (IPM).

9. Una formulación acuosa que comprende un agente viscosogénico, moxifloxacino o una sal del mismo, y miristato de isopropilo (IPM),

en la que dicha formulación es fluida y tiene una viscosidad inferior a 100 Pa*s a 25 °C; en la que dicha formulación, después de la aplicación a dicha membrana timpánica del oído de un sujeto, forma un gel que tiene una tensión elástica suficiente para mantener dicha formulación contra dicha membrana timpánica; y en la que dicho moxifloxacino se transfiere a través de la membrana timpánica y hacia el espacio del oído medio cuando la formulación se aplica a la membrana timpánica

10. La formulación de la reivindicación 9, en la que dicho agente viscosogénico es:

- (a) goma gellan;
- (b) N-isopropilacrilamida con acrilato de sodio y n-N-alquilacrilamida;
- (c) ácido poliacrílico con polietilenglicol;
- (d) ácido polimetacrílico con polietilenglicol;
- (e) CARBOPOL® (ácido poliacrílico) con hidroxipropilmetilcelulosa;
- (f) látex de acetato de celulosa y ftalato de hidrógeno o
- (g) alginato de sodio.

11. La formulación de la reivindicación 9, en la que dicho agente viscosogénico es un gel termoendurecible inverso.

12. La formulación de la reivindicación 11, en la que dicho agente viscosogénico es un poloxámero o una poloxamina.

13. La formulación de la reivindicación 9, o la formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la formulación comprende de 10 % a 40 % de agente viscosogénico.

14. La formulación de la reivindicación 9, o la formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la formulación comprende de 20 % a 30 % de agente viscosogénico.

5 15. La formulación de la reivindicación 9, o la formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la formulación comprende de 1 % a 3 % de moxifloxacino o una sal del mismo.

Figura 1. Porcentaje acumulado del contenido de moxifloxacino liberado *in vitro*

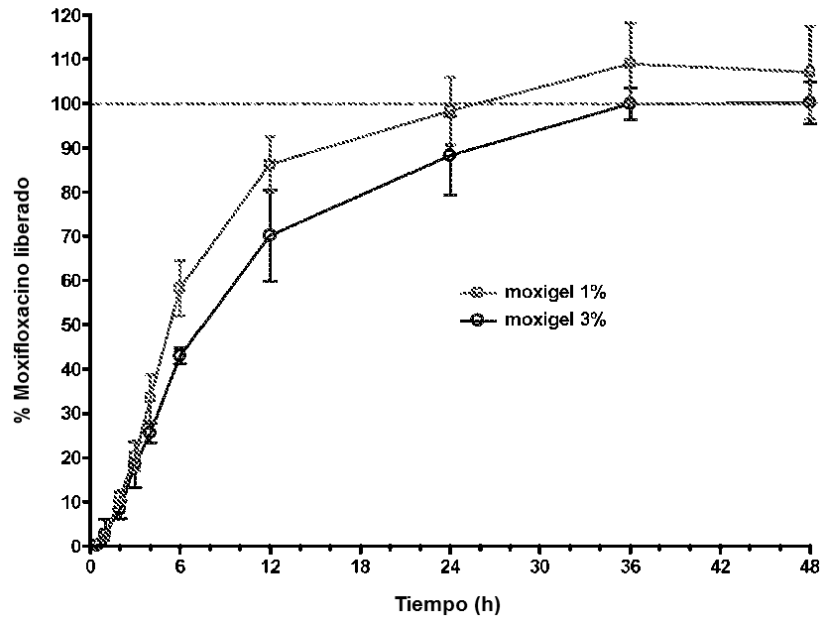


Figura 2. Función de respuesta para la desconvolución, a partir de dos niveles de dosis intra-bulla (N = 9).

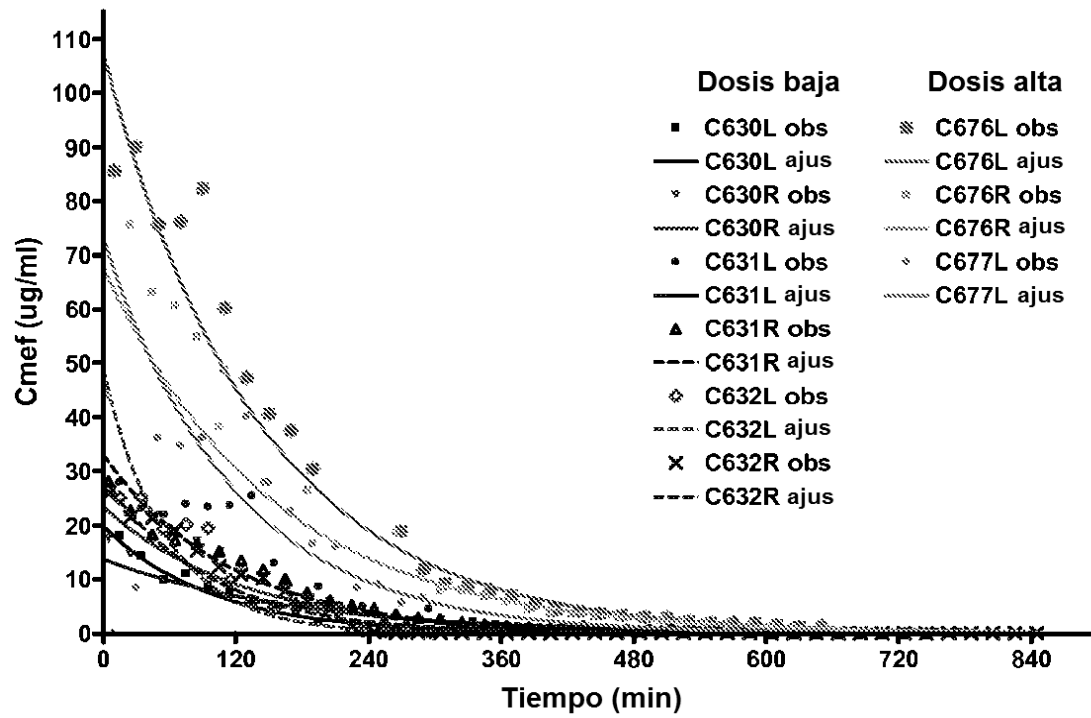


Figura 3: Función de respuesta para la desconvolución a partir de un alto nivel de dosis intra-bulla alto (N = 3).

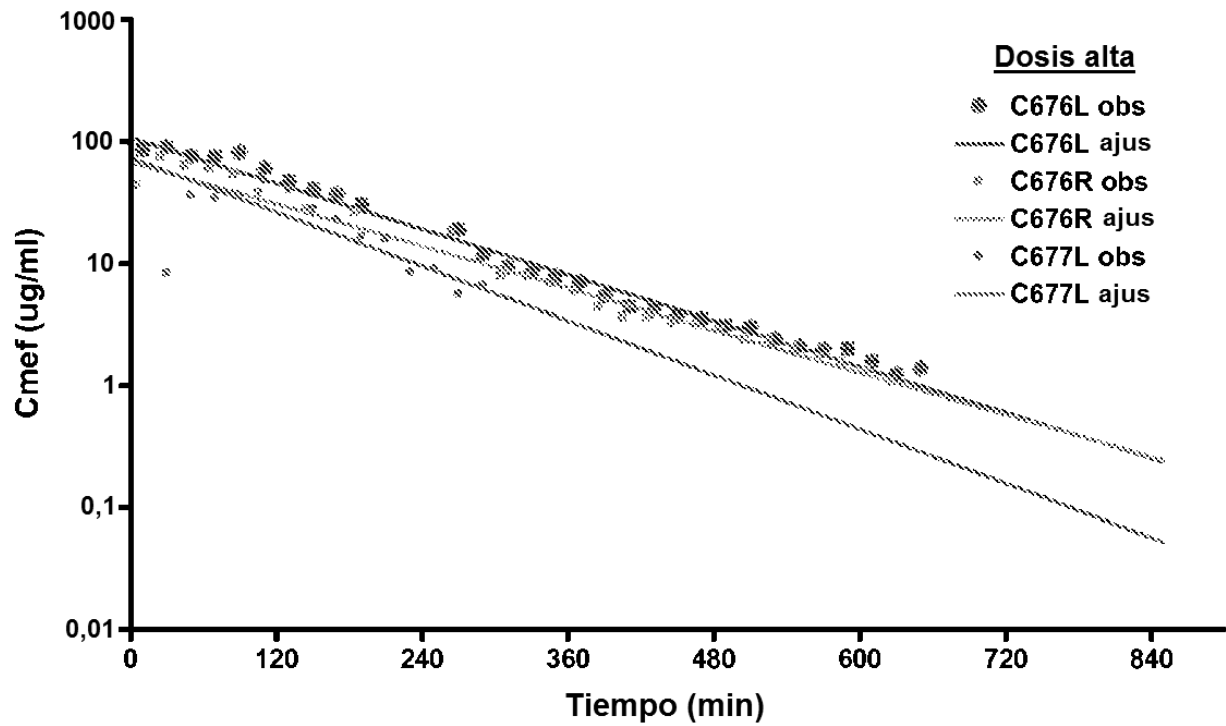


Figura 4A. Concentraciones de moxifloxacino en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1%

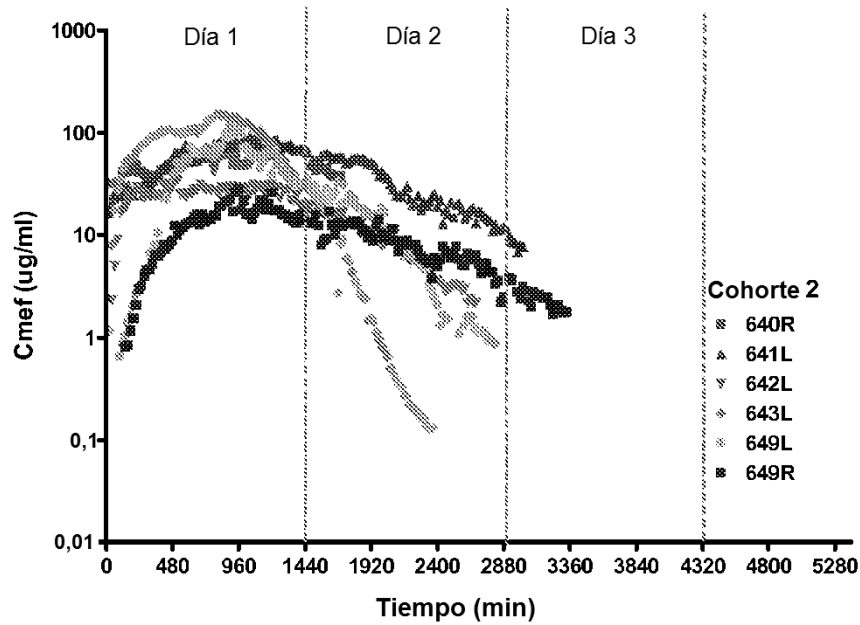
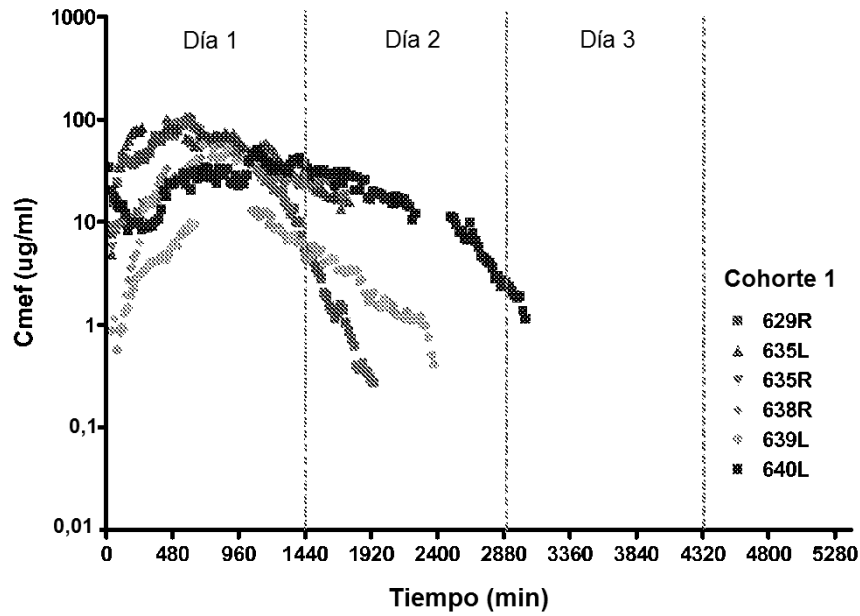


Figura 4B. Concentraciones de moxifloxacino en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1%

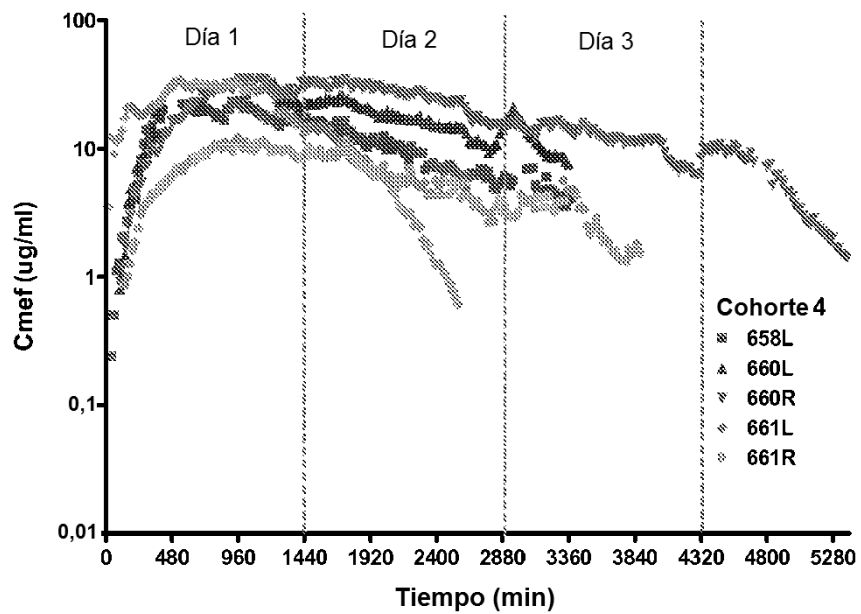
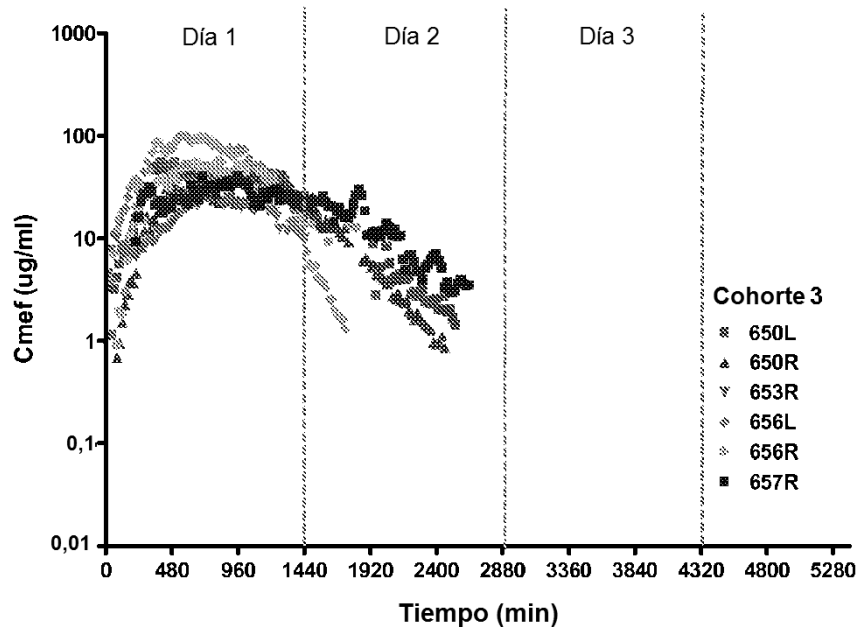


Figura 5. Concentraciones de moxifloxacino (media, DE) en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1 % (N = 23)

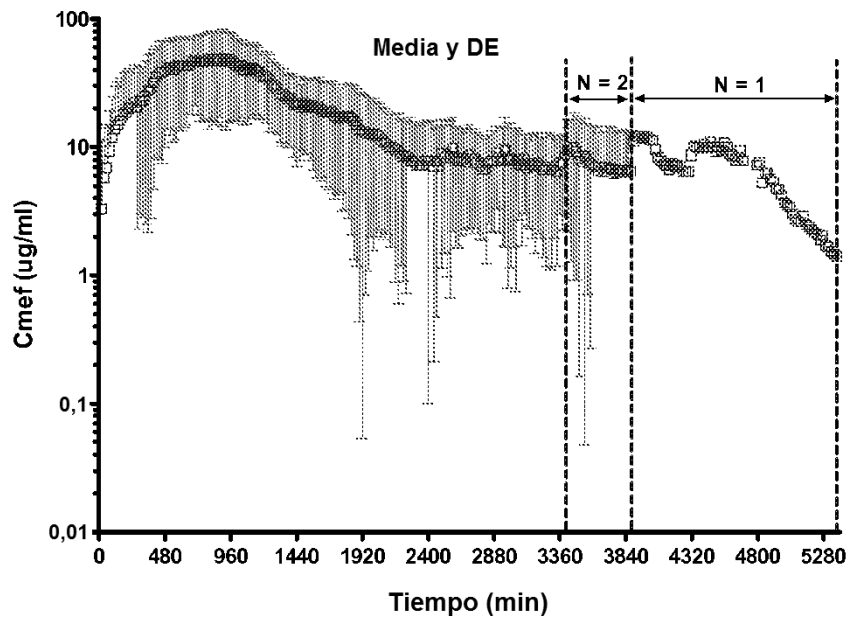
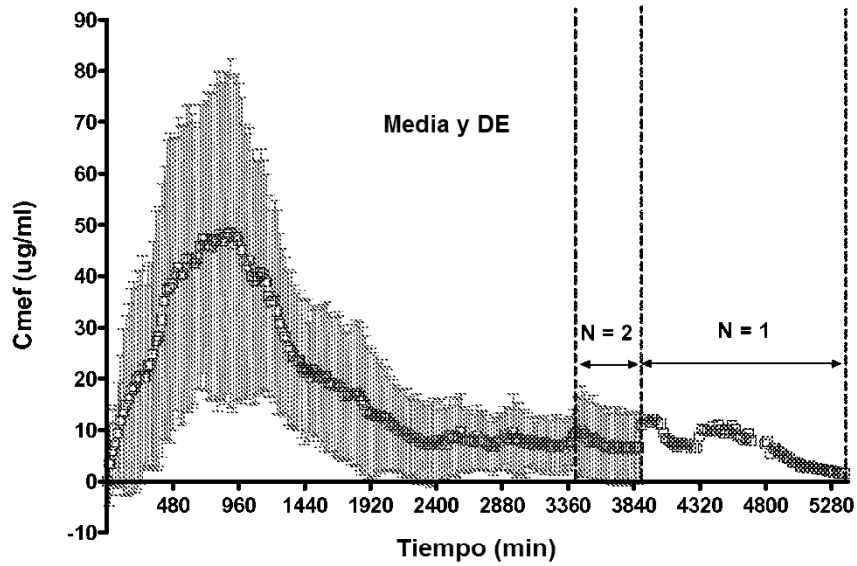


Figura 6. Concentraciones de moxifloxacino en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 3 %

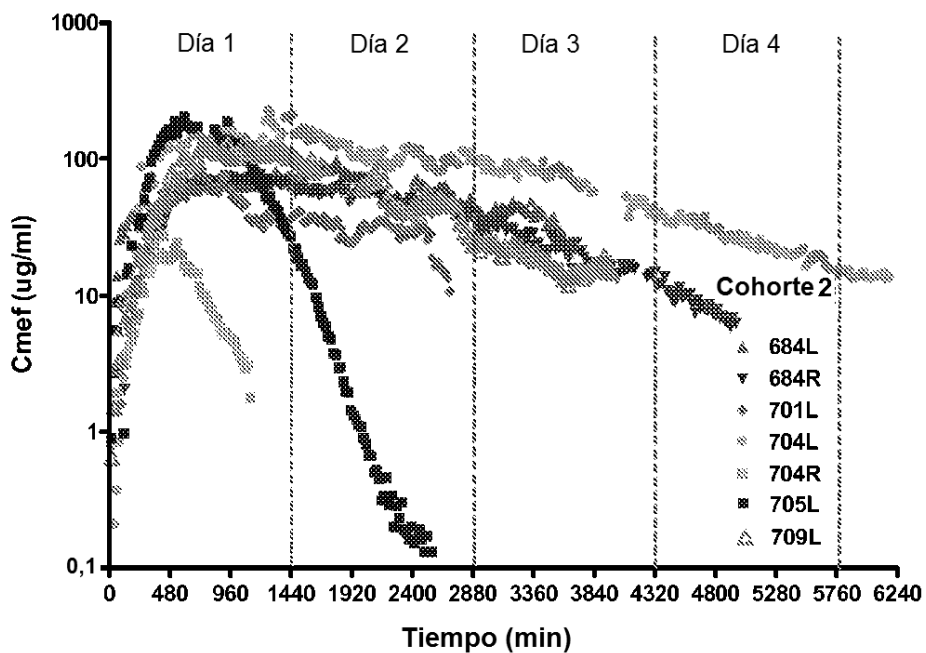
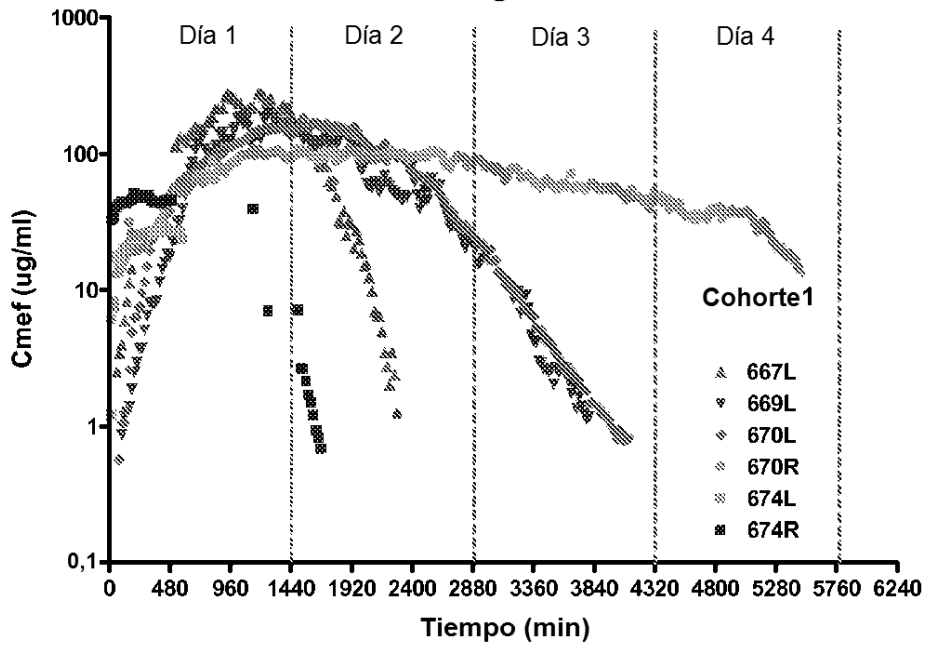


Figura 7. Concentraciones de moxifloxacin (media, DE) en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 3% (N=13)

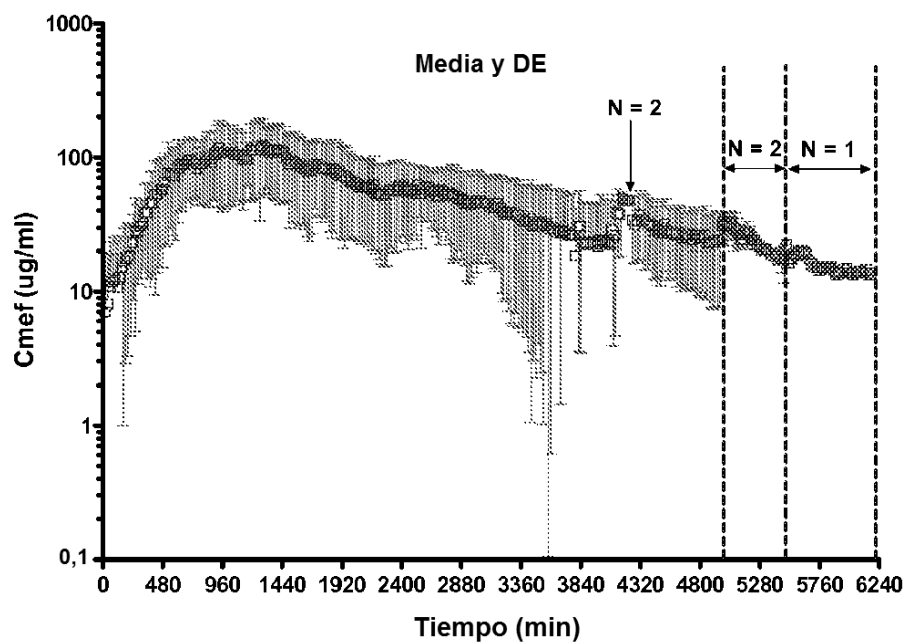
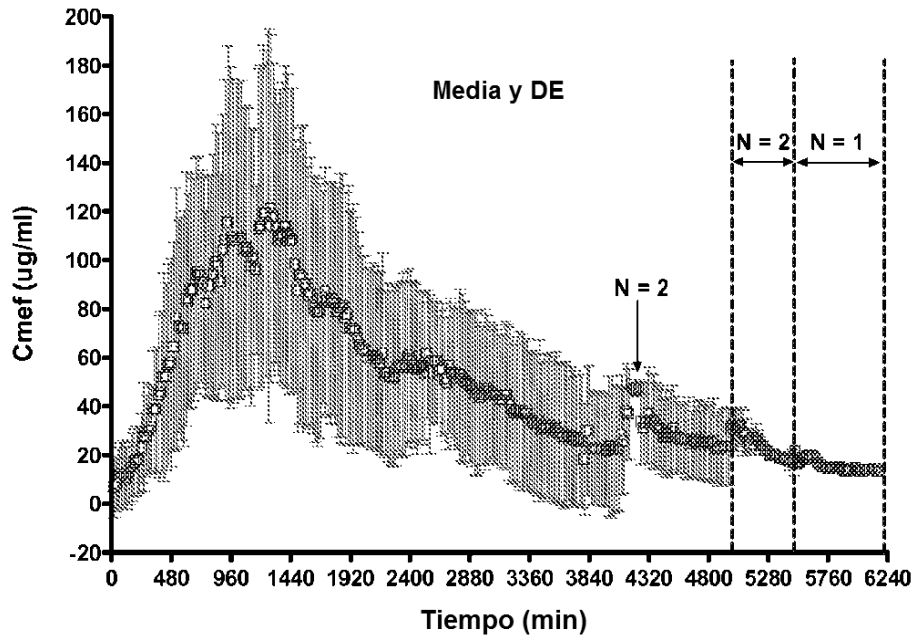


Figura 8. Concentraciones de moxifloxacino (media, DE) en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1% y 3%

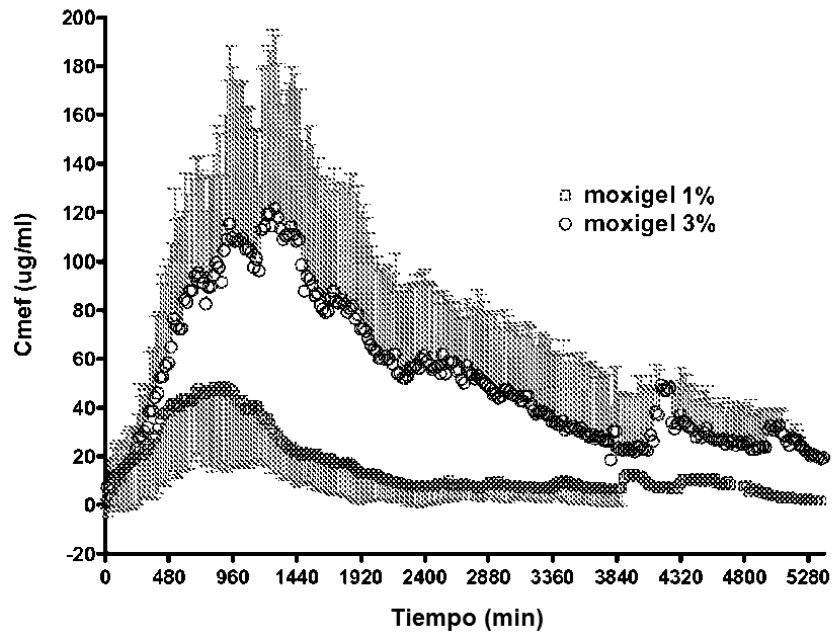


Figura 9. Comparación de C_{máx} y T_{máx} para moxigel 1% y 3%

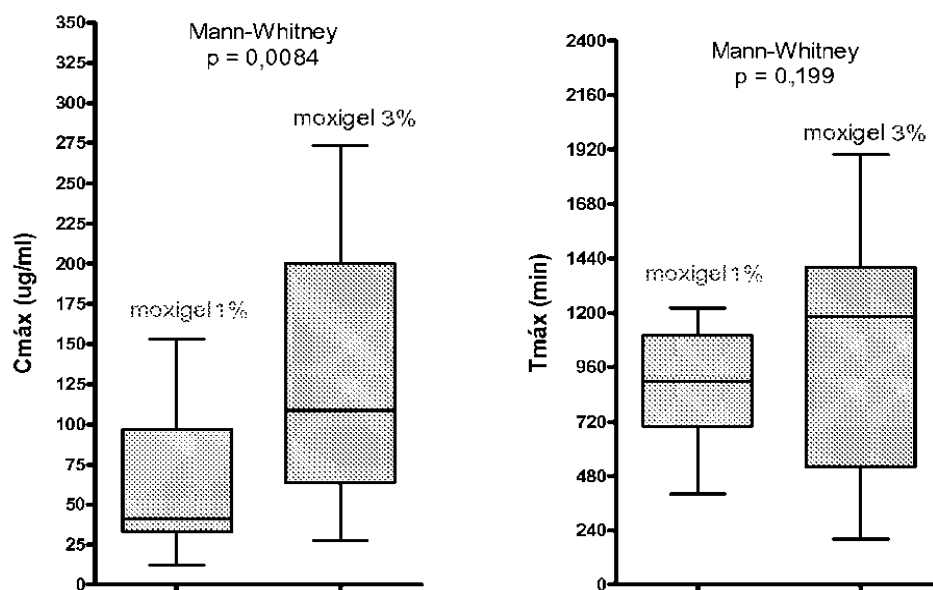


Figura 10. Cantidad acumulada administrada en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1% (N=23)

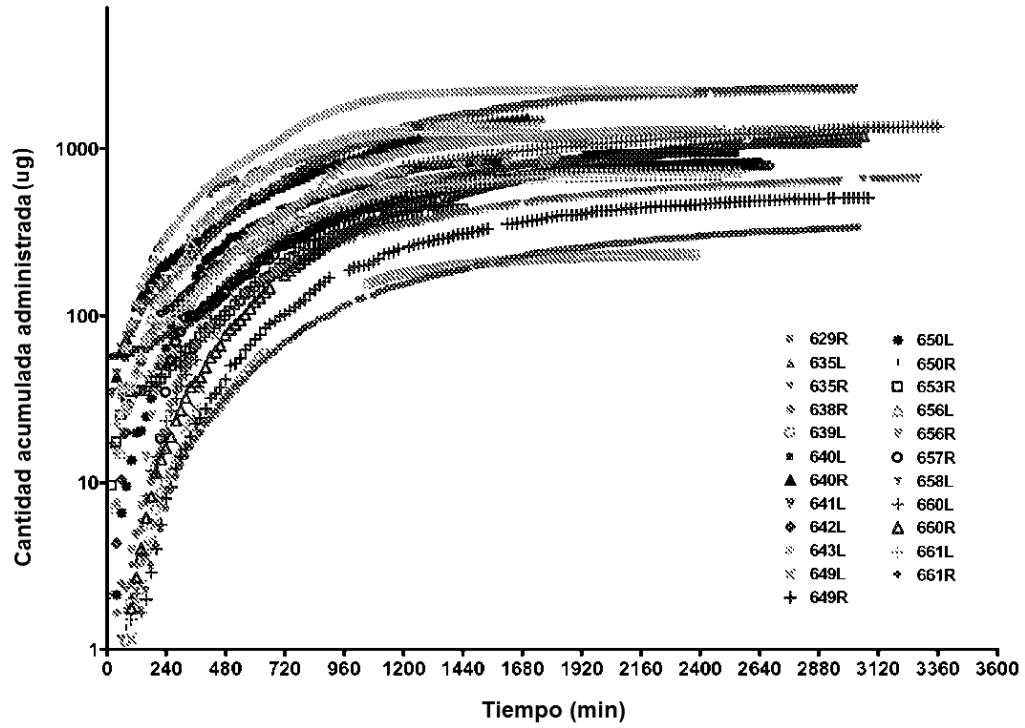


Figura 11A. Velocidad de entrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1%

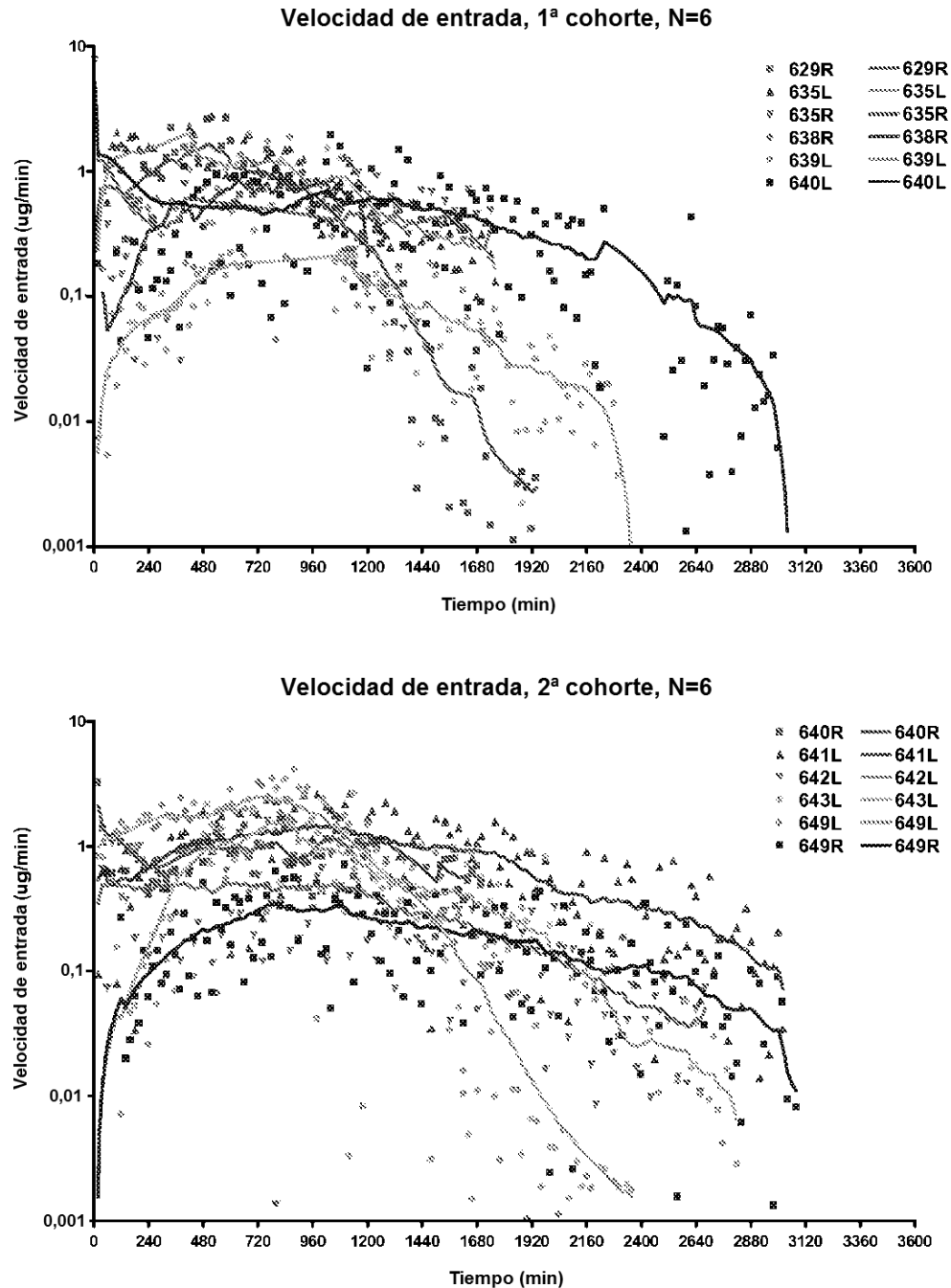


Figura 11B. Velocidad de entrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1%

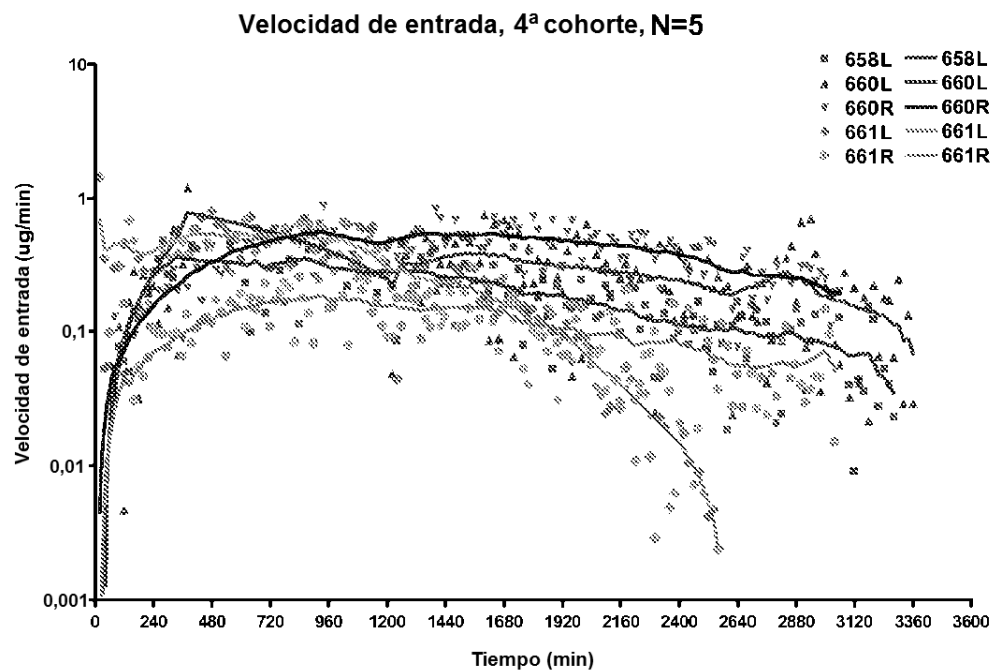
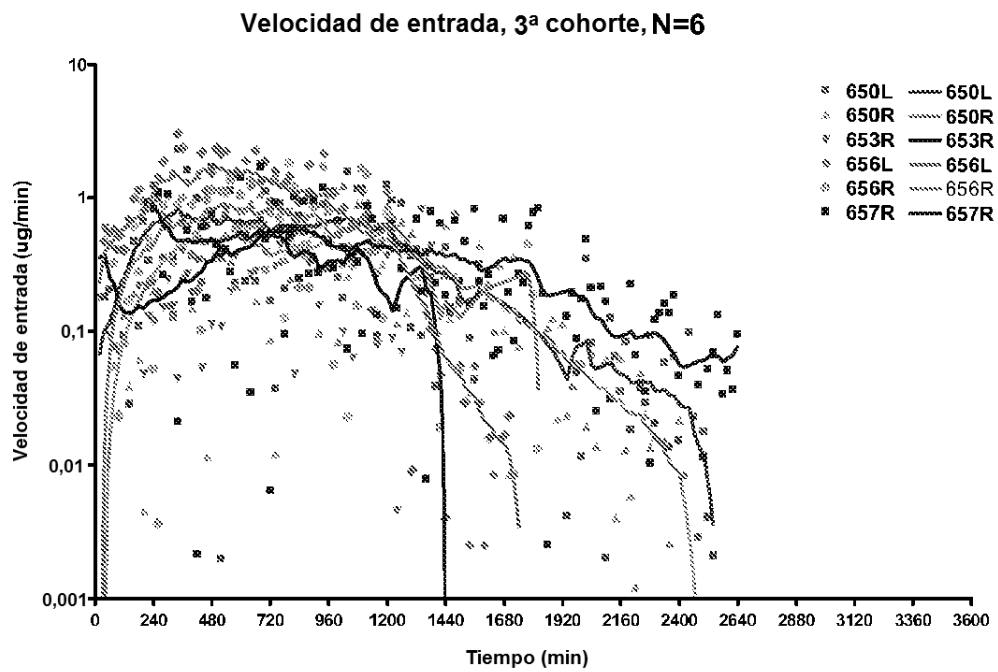


Figura 12. Cantidad acumulada administrada en MEF después de la administración al oído externo de moxigel 3% (N=13)

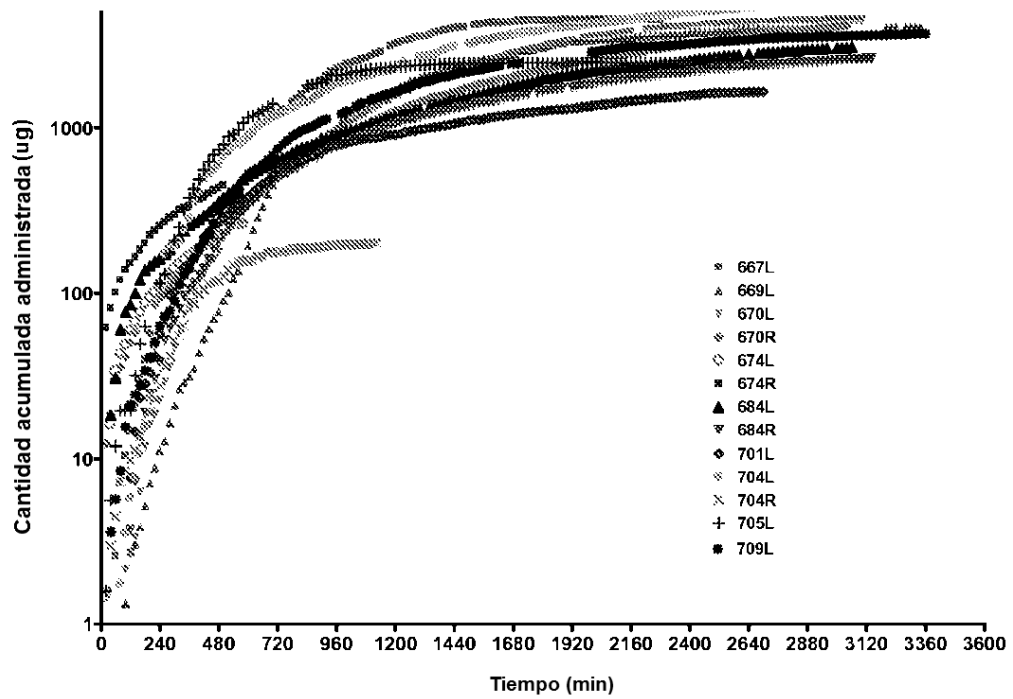


Figura 13. Velocidad de entrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 3%

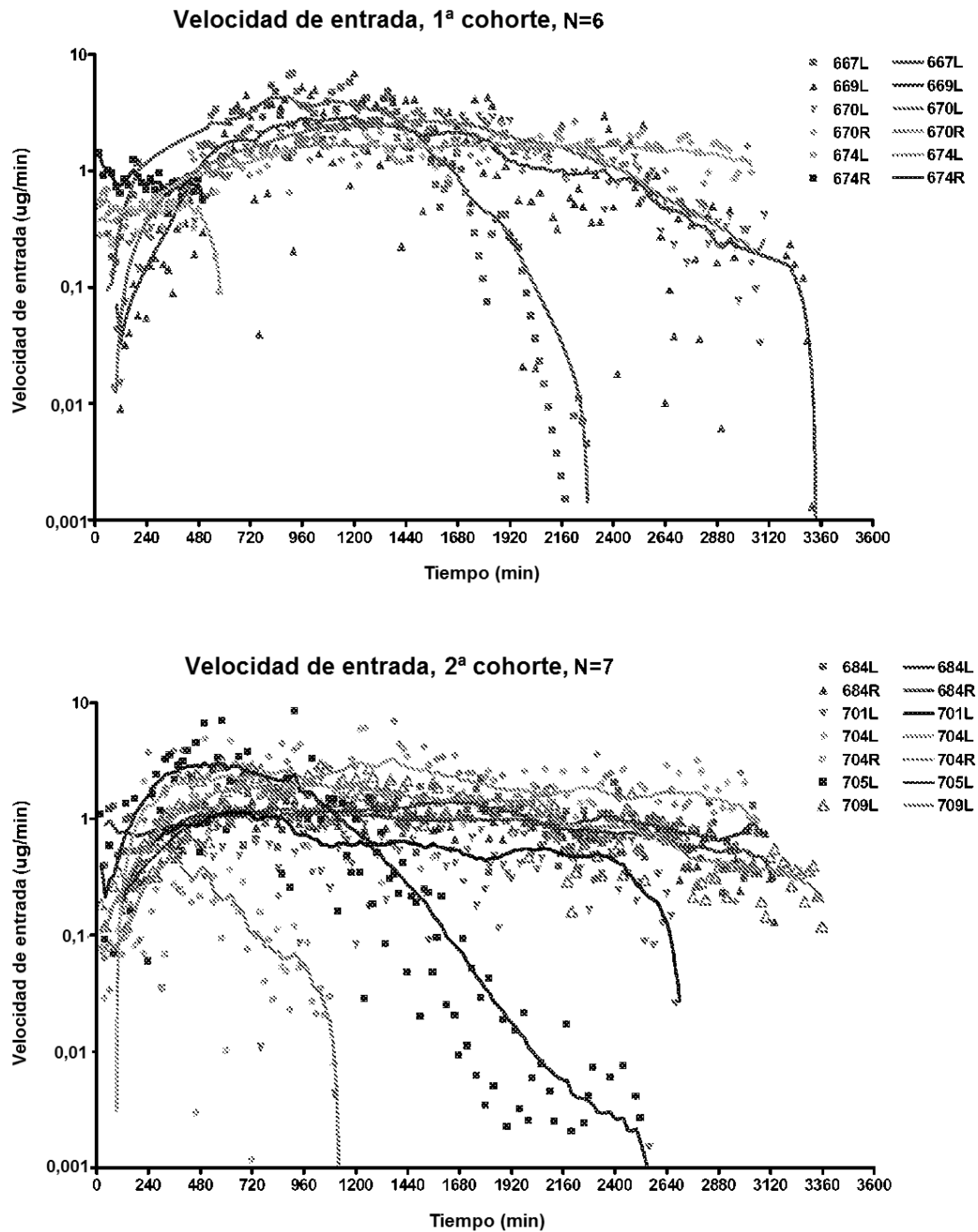


Figura 14. Velocidad de entrada en el MEF después de la administración al oído externo de moxigel 1% y 3%

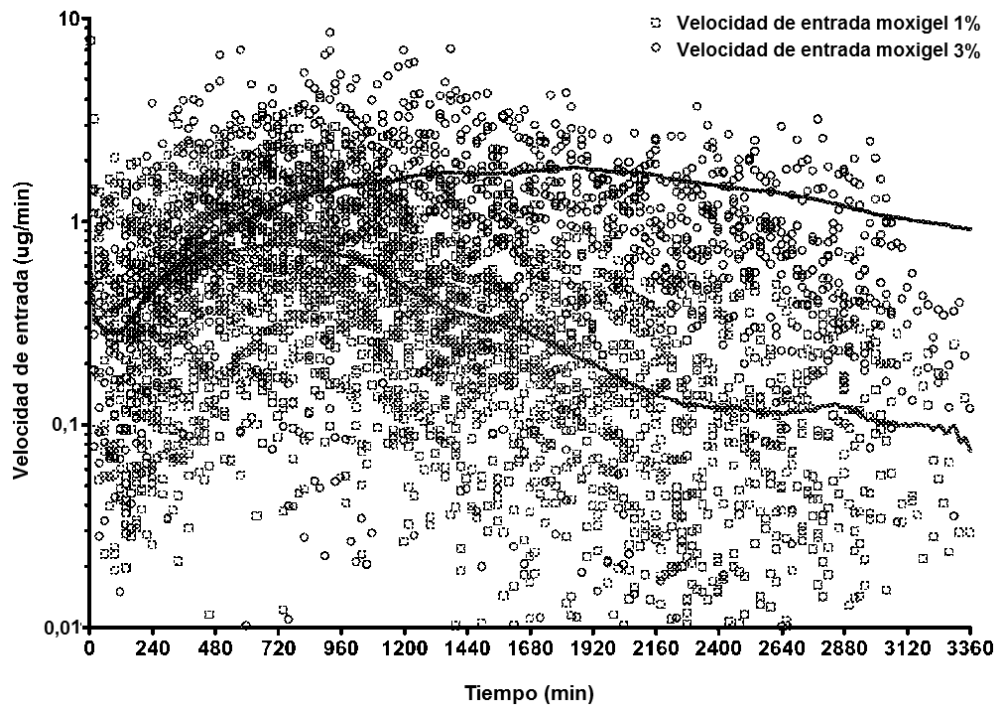


Figura 15. Tiempo hasta alcanzar la concentración objetivo y la duración por encima de la misma en el fluido del oído medio después de la administración al oído externo de moxigel 1%

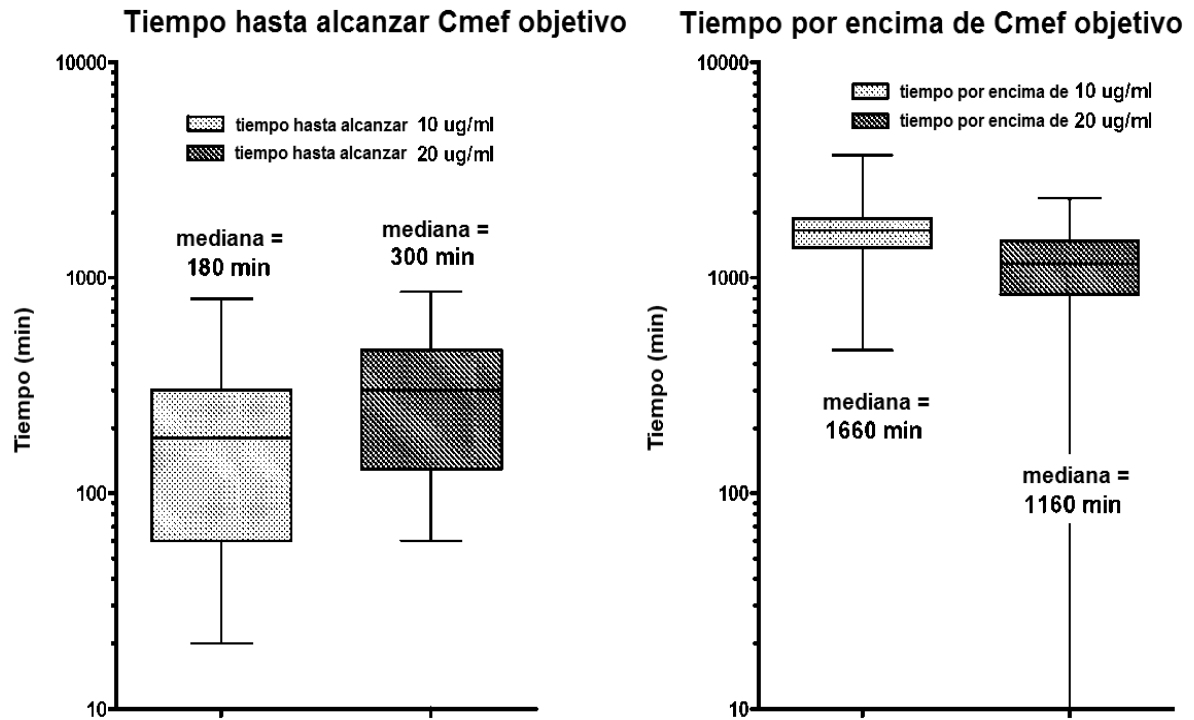


Figura 16. Tiempo hasta alcanzar la concentración objetivo y la duración por encima de la misma en el fluido del oído medio después de la administración al oído externo de moxigel 3%

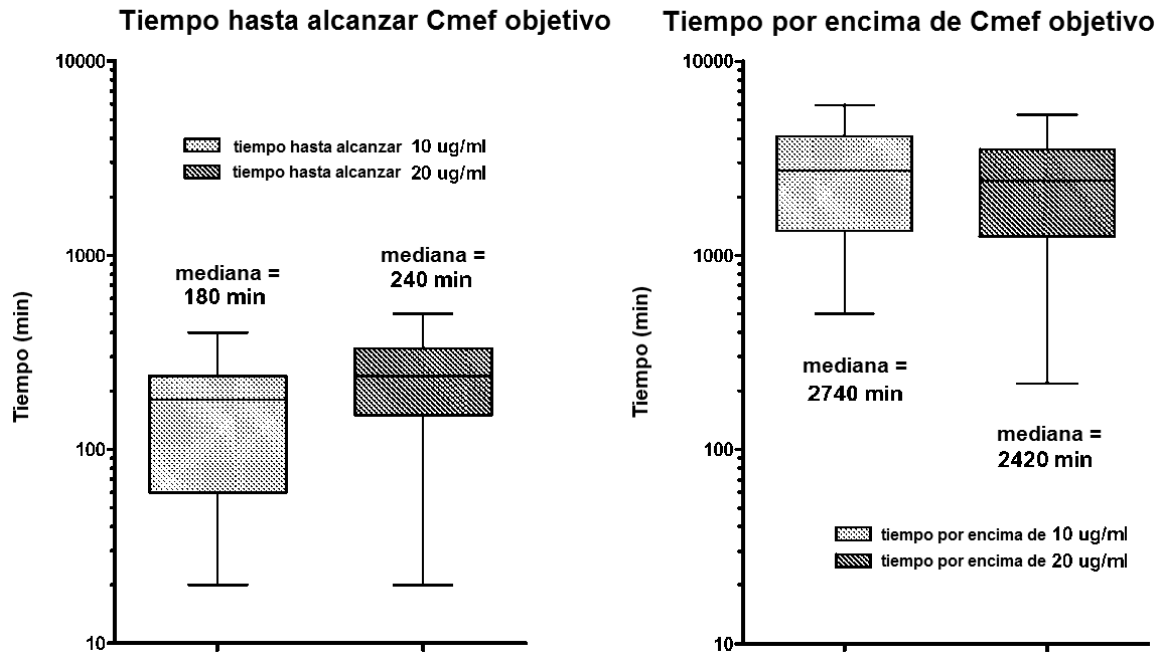


Figura 17. AUIC en el MEF durante 3 días después de la administración al oído externo

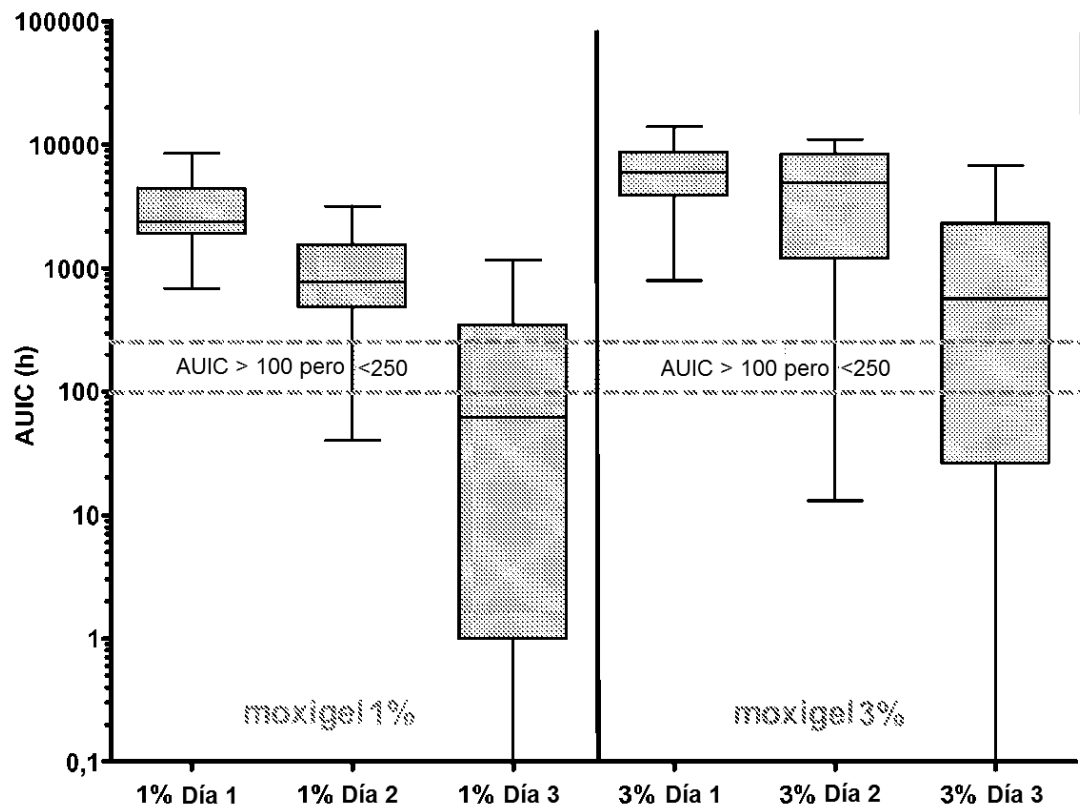


Figura 18. Cm_{max}/MIC en el MEF después de la administración al oído externo

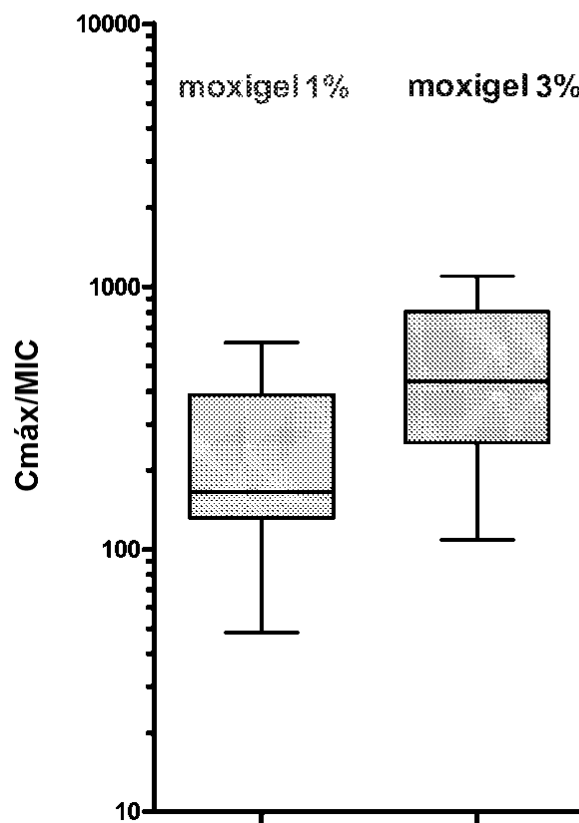


Figura 19A

Concentraciones de moxifloxacino en el MEF (media, EEM)
después de un tratamiento con IPM 50 % (N = 9)

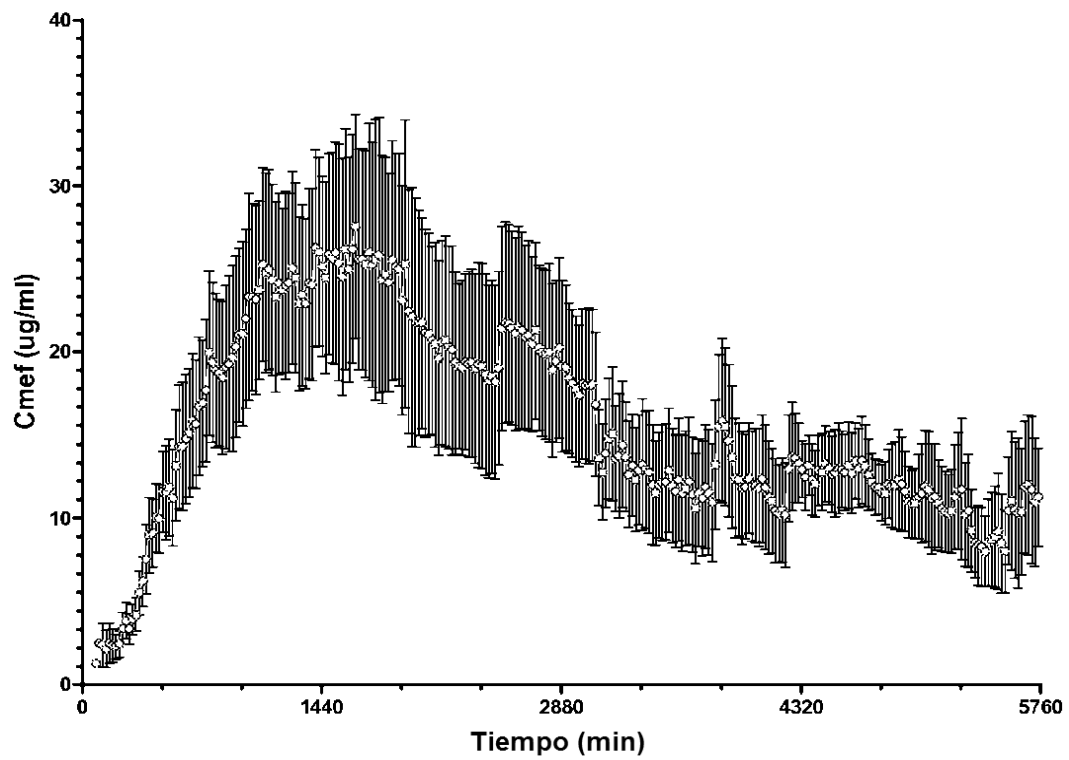


Figura 19B

