

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 230**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61K 31/5383 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01)
A61K 31/538 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.10.2009 PCT/US2009/059744**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.04.2010 WO10042553**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2009 E 09793326 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 2344129**

54 Título: **Formulaciones de fluoroquinolonas en aerosol para mejorar la farmacocinética**

30 Prioridad:

07.10.2008 US 103501 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.05.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 666 230 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

Formulaciones de fluoroquinolonas en aerosol para mejorar la farmacocinética

Aplicaciones relacionadas

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de Estados Unidos No. 61/103,501 presentada el 7 de octubre de 2008.

Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de los agentes antimicrobianos. En particular, la presente invención se refiere al uso de fluoroquinolonas en forma de aerosol formuladas con cationes divalentes o trivalentes con disponibilidad pulmonar mejorada para el tratamiento y manejo de infecciones bacterianas del pulmón y el tracto respiratorio superior.

10 Antecedentes

Las bacterias gramnegativas son intrínsecamente más resistentes a los antibióticos que las bacterias grampositivas debido a la presencia de una segunda membrana externa, que proporciona una barrera eficaz para ambos compuestos hidrófilos e hidrófobos. En consecuencia, hay pocas clases de antibióticos disponibles para tratar las infecciones gramnegativas. De hecho, solo varios representantes de betalactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas tienen actividad antibacteriana in vitro contra *Pseudomonas aeruginosa* y se ha demostrado que tienen utilidad clínica, como es lógico, el desarrollo de resistencia a tales antibióticos está bien documentado.

15 Las enfermedades respiratorias afectan a millones de personas en todo el mundo y provocan sufrimiento, pérdidas económicas y muerte prematura, incluidas las infecciones de duración aguda, subaguda y crónica de la cavidad nasal o cuatro senos (cada que tiene mitades izquierda y derecha, el frontal, el maxilar, el etmoide y el esfenoides), o la laringe, la tráquea o el pulmón (bronquios, bronquiolos, alvéolos).

20 Las infecciones pulmonares causadas por bacterias gramnegativas representan un desafío particular. Los agentes causativos generalmente se encuentran en el esputo, el líquido del revestimiento epitelial pulmonar, los macrófagos alveolares y la mucosa bronquial. Las exacerbaciones agudas de la infección pulmonar, observadas periódicamente en pacientes con fibrosis quística, COPD, bronquitis crónica, bronquiectasias, neumonías agudas y crónicas, y muchas otras infecciones pulmonares. La prevención de estas exacerbaciones, así como su tratamiento a menudo es difícil, especialmente cuando están involucrados patógenos altamente resistentes tal como el complejo de *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia cepacia*. Para la mayoría de los protocolos de tratamiento, se requieren altas dosis para mantener concentraciones eficaces en el sitio de la infección. En el caso de los aminoglucósidos, la nefrotoxicidad y la ototoxicidad también están directamente relacionadas con las elevaciones prolongadas de las concentraciones en suero de antibióticos. En un intento por lograr un resultado óptimo para el paciente, los médicos utilizan rutinariamente una combinación de dos o más antibióticos, tales como ceftazidima y tobramicina, que se administran en dosis altas durante 25 2 semanas, con el objetivo de lograr la sinergia antibiótica (J. G. den Hollander, et al., "Synergism between tobramycin and ceftazidime against a resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain, tested in an in vitro pharmacokinetic model" Antimicrob. Agents Chemother. (1997), 41, 95-100). Por ejemplo, los tratamientos exitosos requieren que la ceftazidima se administre ya sea cada 8 horas o mediante infusión continua para maximizar el tiempo en que la concentración sérica está por encima de la concentración mínima inhibitoria (M. Cazzola, et al., "Delivering antibacterials to the lungs: Considerations for optimizing outcomes" Am. J. Respir. Med. (2002), 1, 261-272).

30 La administración en aerosol de antibióticos directamente al sitio de infección, asegurando altas concentraciones locales junto con una baja exposición sistémica representan una alternativa atractiva para el tratamiento de infecciones pulmonares. La tobramicina en aerosol se usa para el tratamiento de infecciones bacterianas pseudomonas en pacientes con fibrosis quística. La razón de ser de esta técnica es administrar el medicamento directamente al sitio de infección y de ese modo aliviar la necesidad de producir altas concentraciones en suero por el procedimiento intravenoso estándar. Una ventaja de la administración con aerosoles es que muchos pacientes se pueden autoadministrar el antibiótico, y este procedimiento de tratamiento puede anular la necesidad de una hospitalización prolongada (M. E. Hodson "Antibiotic treatment: Aerosol therapy", Chest (1988), 94, 156S-160S; y M. S. Zach "Antibiotic aerosol treatment" Chest (1988), 94, 160S-162S). Sin embargo, la tobramicina es actualmente el único antibiótico en aerosol aprobado por la FDA en los Estados Unidos. Y si bien continúa desempeñando un papel importante en el tratamiento de infecciones recurrentes en pacientes con fibrosis quística, su utilidad clínica se reduce inadvertidamente debido al desarrollo de resistencia. Además, el impacto de las altas concentraciones totales logradas después de la administración con aerosoles está disminuyendo de alguna manera debido a la alta unión de la tobramicina a los componentes del esputo de fibrosis quística. De este modo, existe una necesidad de antibióticos en forma de aerosol mejorados.

40 El documento WO2006/125132 describe formulaciones de fluoroquinolonas, que incluyen levofloxacina apropiada para la administración en aerosol. Las formulaciones se describen como útiles para el tratamiento de infecciones bacterianas pulmonares.

El documento WO2008/025560 describe aerosoles farmacéuticos con sabor enmascarado apropiados para administración nasal, sinus nasal o pulmonar.

Resumen

5 La presente invención se refiere a fluoroquinolonas en forma de aerosol formuladas con cationes divalentes o trivalentes que tienen disponibilidad pulmonar mejorada para uso en el tratamiento y manejo de infecciones bacterianas del pulmón y el tracto respiratorio superior. De acuerdo con la invención, se proporciona un aerosol de una solución acuosa, comprendiendo la solución desde 80 mg/ml a 120 mg/ml de levofloxacin u ofloxacin y de 160 mM a 220 mM de un catión divalente o trivalente, en donde la solución tiene un pH de 5 a 7 y una osmolalidad de 300 mOsmol/kg a 500 mOsmol/kg, para uso en el tratamiento de una infección pulmonar en un ser humano, en el que la levofloxacin u ofloxacin se administra en una dosis de 20 a 300 mg dos veces al día.

10 También se describen procedimientos de tratamiento de una infección pulmonar. Algunos de tales procedimientos incluyen administrar a un humano que tiene una infección pulmonar un aerosol de una solución que comprende levofloxacin u ofloxacin y un catión divalente o trivalente para lograr una concentración máxima (C_{max}) en esputo pulmonar de al menos 1200 mg/L y un área bajo la curva (AUC) en esputo pulmonar de al menos 1500 h·mg/L. En más realizaciones, se proporcionan procedimientos de tratamiento de una infección pulmonar crónica. Algunos de tales procedimientos pueden incluir administrar a un sujeto que tiene una infección pulmonar crónica un aerosol de una solución que comprende levofloxacin u ofloxacin y un catión divalente o trivalente. En más realizaciones, se proporcionan composiciones farmacéuticas. Algunas de tales composiciones pueden incluir una solución acuosa que consiste esencialmente de 80 mg/ml a 120 mg/ml de levofloxacin u ofloxacin y de 160 mM a 220 mM de un catión divalente o trivalente, en el que la solución tiene un pH de 5 a 7 y una osmolalidad desde 300 mOsmol/kg a 500 mOsmol/kg.

15 También se describen procedimientos de tratamiento de una infección pulmonar que incluyen administrar a un ser humano que tiene dicha infección pulmonar un aerosol de una solución que contiene levofloxacin u ofloxacin y un catión divalente o trivalente para lograr una concentración máxima (C_{max}) en esputo pulmonar de al menos alrededor de 1200 mg/L y un área bajo la curva (AUC) en esputo pulmonar de al menos aproximadamente 1500 h·mg/L.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un gráfico de la concentración de levofloxacin en plasma en ratas después de la administración intravenosa, la administración en aerosol de levofloxacin (LVX) formulada en solución salina, o la administración en aerosol de levofloxacin formulada con $MgCl_2$.

30 La figura 2 muestra un gráfico de la recuperación de levofloxacin del homogeneizado de pulmón en ratas después de una dosis única de 10 mg/kg de levofloxacin en aerosol formulada en solución salina, Ca^{+2} , Mg^{+2} o Zn^{+2} .

La figura 3 muestra un esquema de un modelo farmacocinético para la deconvolución de las concentraciones de levofloxacin en suero después de la administración en aerosol de un fármaco.

35 La figura 4 muestra un gráfico de las concentraciones de levofloxacin en plasma (LVX) después de la administración de 50 mg de LVX en solución salina por vía intravenosa o mediante aerosol.

La figura 5 muestra un gráfico de la cantidad estimada de fármaco que permanece en el compartimento pulmonar después de la administración en aerosol de 50 mg de dosis de fármaco respirable levofloxacin en solución salina, donde se estima la cantidad de fármaco que permanece usando deconvolución de datos en suero.

40 La figura 6 muestra un gráfico de concentraciones de levofloxacin en suero en voluntarios sanos normales y pacientes con fibrosis quística después de una única dosis intravenosa o en aerosol de levofloxacin administrada en solución salina. Las dosis se muestran como RDD estimadas; las RDD de 20 mg y 40 mg representan dosis cargadas con nebulizador de 43.3 y 86.6 mg, respectivamente.

45 La figura 7 muestra un gráfico de las estimaciones de deconvolución de la cantidad promedio de levofloxacin que permanece en el pulmón en 7 voluntarios sanos y 9 pacientes con CF después de una dosis única en aerosol de 43.3 mg cargada en el nebulizador (dosis entregada respirable estimada (RDD) de 20 mg, y una dosis de 86.6 mg cargada en el nebulizador (RDD estimada de 40 mg) formulada en solución salina normal.

50 La figura 8A muestra un gráfico de las concentraciones estimadas de levofloxacin en el fluido del revestimiento epitelial pulmonar después de una única dosis de fármaco respirable de 20 mg (43.3 mg de levofloxacin cargada en el nebulizador) formulado en solución salina normal en pacientes con CF. La figura 8B muestra un gráfico de las concentraciones estimadas de levofloxacin en el fluido del revestimiento epitelial pulmonar después de una sola dosis de fármaco respirable de 40 mg (86.6 mg cargados en el nebulizador) formulado en solución salina normal en pacientes con CF.

La figura 9 muestra un gráfico de las concentraciones de levofloxacin en esputo en sujetos con CF después de una sola dosis de infusión IV o en aerosol de levofloxacin formulada en solución salina normal. Las dosis se muestran

como RDD estimada; las RDD de 20 mg y 40 mg representan dosis cargadas con nebulizador de 43.3 y 86.6 mg, respectivamente.

5 La figura 10 muestra un gráfico que representa concentraciones modeladas de levofloxacin en esputo en sujetos con CF después de diversas dosis y vías de administración (dosis de aerosol formuladas en solución salina normal) de levofloxacin.

La figura 11 muestra un gráfico de la concentración de levofloxacin en esputo (LVX) en pacientes con fibrosis quística, después de la administración en aerosol de 50 mg/ml de LVX formulada con MgCl₂ o con solución salina usando una dosis de fármaco respirable (RDD) estimada de 40 mg que corresponde a 86.6 mg dosis de fármaco cargado.

10 La figura 12 muestra un gráfico de las concentraciones en suero medias aritméticas de levofloxacin en pacientes con fibrosis quística, después de la administración en aerosol de una dosis de 180 mg con 50 mg/ml o 100 mg/ml de solución de levofloxacin, o una dosis de 240 mg con una solución de levofloxacin de 100 mg/ml. El tratamiento fue una vez al día durante 7 días. La formulación de 50 mg/ml de levofloxacin contenía cloruro de magnesio 100 mM y lactosa 150 mM, y la levofloxacin de 100 mg/ml contenía cloruro de magnesio 200 mM y sin lactosa.

15 La figura 13 muestra un gráfico de las concentraciones aritméticas medias en esputo de levofloxacin en pacientes con fibrosis quística, después de la administración en aerosol de una dosis de 180 mg con 50 mg/ml o 100 mg/ml de solución de levofloxacin, o una dosis de 240 mg con una solución 100 mg/ml de levofloxacin. El tratamiento fue una vez al día durante 7 días. La formulación de 50 mg/ml de levofloxacin contenía cloruro de magnesio 100 mM y lactosa 150 mM, y la levofloxacin de 100 mg/ml contenía cloruro de magnesio 200 mM y sin lactosa.

20 La figura 14 muestra un gráfico de los niveles medios de levofloxacin en esputo en pacientes con fibrosis quística después de una única dosis nebulizada de levofloxacin formulada en solución salina en comparación con la formulación en una solución de cloruro de magnesio. Ambas formulaciones se nebulizaron usando un nebulizador Pari eFlow usando tecnología de malla vibratoria con el mismo diseño de cabeza de malla y tamaño de poro. La dosis cargada en el nebulizador de levofloxacin en solución salina fue de 87 mg y la dosis cargada en el nebulizador de levofloxacin fue de 180 mg para la formulación que usa cloruro de magnesio. Los datos se normalizaron a una dosis de 87 mg multiplicando las concentraciones observadas de levofloxacin en esputo obtenidas con la formulación de cloruro de magnesio por 87/180 (0.48).

La figura 15 muestra un gráfico del cambio en unidades formadoras de colonias log (CFU) de *K. pneumoniae* ATCC 43816/pulmón en ratones, después de la administración en aerosol de dosis de 10 mg/kg o 20 mg/kg de levofloxacin (LVX) formuladas con y sin MgCl₂.

30 La figura 16 muestra un gráfico de las unidades formadoras de colonias log (CFU) de *P. aeruginosa* ATCC 27853/pulmón en un modelo de infección pulmonar aguda en ratón, después de la administración en aerosol de 125 mg/kg, 63 mg/kg o 32 mg/kg de levofloxacin (LVX) con MgCl₂ o administración intraperitoneal (IP) de 125 mg/kg, 63 mg/kg o 32 mg/kg de levofloxacin. Los valores mostrados son la media ± SD de log de CFU/pulmón. Los grupos de tratamiento (n = 8) recibieron 2 dosis de antibióticos durante 24 h. (p <0.05 para las comparaciones de la administración con aerosol frente a IP para cada dosis).

35 La figura 17 muestra un gráfico de unidades formadoras de colonias (CFU) log de *P. aeruginosa* NH57388A/pulmón en un modelo murino de infección pulmonar crónica, después de dos veces al día la administración en aerosol de 60 mg/kg, 30 mg/kg o 15 mg/kg de levofloxacin (LVX) con MgCl₂, o administración intraperitoneal dos veces al día de 60 mg/kg, 30 mg/kg o 15 mg/kg de levofloxacin. Las dosis en aerosol de levofloxacin fueron formuladas en cloruro de magnesio. Los valores mostrados son la media ± SD de log de CFU/pulmón. Los grupos de tratamiento (n=8) recibieron 2 dosis de antibióticos por día durante 72 h. (p <0.05 para la comparación de aerosol versus intraperitoneal para la misma dosis).

40 La figura 18 muestra un gráfico de unidades formadoras de colonias log (CFU) de *P. aeruginosa* ATCC 27853/pulmón en un modelo murino de infección pulmonar letal aguda, después de dos veces al día la administración en aerosol de 60 mg/kg de levofloxacin, 60 mg/kg de tobramicina o 400 mg/kg de aztreonam, o administración con aerosoles una vez al día de 120 mg/kg de levofloxacin. Las dosis en aerosol de levofloxacin fueron formuladas en cloruro de magnesio. Los grupos de tratamiento (n = 8) recibieron el fármaco durante 48 h. Los valores mostrados son la media ± SD de log de CFU/pulmón. (p<0.05).

45 La figura 19 muestra un gráfico del porcentaje de supervivencia en el tiempo de ratones infectados con *P. aeruginosa* ATCC 27853 en un modelo murino de infección letal pulmonar, y se trató con dos veces al día la administración en aerosol de 60 mg/kg de levofloxacin, 60 mg/kg de tobramicina o 400 mg/kg de aztreonam, o administración con aerosoles una vez al día de 120 mg/kg de levofloxacin. Las dosis en aerosol de levofloxacin fueron formuladas en cloruro de magnesio. Los grupos de tratamiento de ratones (n = 10) recibieron el fármaco durante 48 h. La supervivencia se controló hasta el día 9 después de la infección.

50 La figura 20 muestra un gráfico de las unidades formadoras de colonias log (CFU) de *P. aeruginosa* NH57388A/pulmón en un modelo murino de infección pulmonar crónica, después de dos veces al día la administración en aerosol de 60 mg/kg de levofloxacin, 60 mg/kg de tobramicina o 400 mg/kg de aztreonam. Los grupos de tratamiento fueron tratados

dos veces al día durante tres días consecutivos. Las dosis en aerosol de levofloxacin fueron formuladas en cloruro de magnesio. Los valores mostrados son la media \pm SD de log de CFU/pulmón. La levofloxacin en aerosol produjo recuentos bacterianos más bajos que aztreonam o ratones de control no tratados ($p < 0.05$).

Descripción detallada

5 La presente invención se refiere al campo de los agentes antimicrobianos. En particular, la presente invención se refiere al uso de fluoroquinolonas en forma de aerosol formuladas con cationes divalentes o trivalentes que tienen una disponibilidad pulmonar mejorada y, de este modo, una mejor actividad bactericida para el tratamiento y manejo de infecciones bacterianas del pulmón y el tracto respiratorio superior.

10 Muchos de los problemas asociados con patógenos resistentes a los agentes antimicrobianos podrían aliviarse si la concentración del antimicrobiano se pudiera aumentar de forma segura en el sitio de la infección. Por ejemplo, las infecciones pulmonares se pueden tratar mediante la administración del agente antimicrobiano, en altas concentraciones directamente al sitio de infección sin incurrir en grandes concentraciones sistémicas del antimicrobiano. De acuerdo con lo anterior, algunas realizaciones descritas en este documento son procedimientos mejorados para administrar composiciones de fármacos para tratar infecciones bacterianas pulmonares. Más específicamente, se describen en este documento formulaciones de fluoroquinolonas con cationes divalentes o trivalentes que logran un perfil farmacocinético deseable de la fluoroquinolona en humanos beneficioso para aumentar la eficacia y reducir la aparición de resistencia a los fármacos.

20 De acuerdo con lo anterior, los descritos en este documento son procedimientos y composiciones que incluyen fluoroquinolonas cuando la absorción desde el tejido pulmonar o la vía aérea superior a la circulación sistémica después del aerosol se retrasa. En algunas de tales realizaciones, se forman complejos de las fluoroquinolonas con cationes divalentes de una manera que no disminuye significativamente su actividad antimicrobiana. Tales complejos pueden ser para el tratamiento, mantenimiento o prevención de la infección. Además, tales complejos pueden mostrar concentraciones más altas de fármaco en los sitios de infección (por ejemplo, el sistema respiratorio superior y/o inferior), y una mayor eficacia, en comparación con una fluoroquinolona no combinada con cationes divalentes o trivalentes.

25 Se ha descubierto que los procedimientos y las composiciones particulares descritos en este documento logran una disponibilidad mejorada de levofloxacin u ofloxacin en los pulmones de los sujetos. Una mayor disponibilidad en los pulmones de agentes antimicrobianos es útil en el tratamiento de infecciones pulmonares, y es particularmente ventajoso en el tratamiento de condiciones tales como fibrosis quística y trastornos pulmonares obstructivos crónicos, que incluyen, por ejemplo, bronquitis crónica, bronquiectasias y algunas asmas.

30 Se puede indicar una disponibilidad mejorada en el pulmón usando una variedad de parámetros farmacodinámicos-farmacocinéticos relacionados con factores tales como la concentración incrementada de un fármaco en el pulmón y/o la duración del tiempo en que un fármaco se retiene en el pulmón. Tales factores pueden incluir el área bajo la curva (AUC) en esputo pulmonar y la concentración máxima (C_{max}) en esputo pulmonar.

35 Por lo general, la administración de agentes antimicrobianos en forma de aerosol a los pulmones puede proporcionar altas concentraciones en los pulmones sin incurrir en altas concentraciones sistémicas. Sin embargo, los procedimientos y composiciones proporcionados en este documento logran una disponibilidad inesperadamente aumentada en los pulmones.

40 Las composiciones de aerosol proporcionadas en este documento comprenden soluciones de levofloxacin u ofloxacin formuladas con un catión divalente o trivalente, tal como Mg^{2+} . En algunas realizaciones, las composiciones pueden carecer de un excipiente particular, tal como lactosa. Las composiciones se pueden administrar usando dispositivos tales como nebulizadores o un dispositivo microdifusor de aerosol insertado directamente en la tráquea de animales, y se pueden usar para tratar una amplia variedad de bacterias. Además, los procedimientos y composiciones proporcionados en este documento pueden incluir agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de infecciones pulmonares, y trastornos asociados con infecciones pulmonares, tales como fibrosis quística y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que incluyen bronquitis crónica y algunas asmas.

Definiciones

50 El término "administración" o "suministro" se refiere a un procedimiento para dar una dosificación de una composición farmacéutica antimicrobiana a un vertebrado. El procedimiento preferido de administración puede variar dependiendo de diversos factores, por ejemplo, los componentes de la composición farmacéutica, el sitio de la infección bacteriana potencial o real, el microbio implicado y la gravedad de una infección microbiana real.

55 Un "portador" o "excipiente" es un compuesto o material usado para facilitar la administración del compuesto, por ejemplo, para aumentar la solubilidad del compuesto. Los portadores sólidos incluyen, por ejemplo, almidón, lactosa, fosfato dicálcico, sacarosa y caolín. Los portadores líquidos incluyen, por ejemplo, agua estéril, solución salina, soluciones reguladoras, surfactantes no iónicos y aceites comestibles tales como aceite, maní y aceites de sésamo. Además, se pueden incluir diversos adyuvantes, tales como los que se usan comúnmente en la técnica. Estos y otros tales compuestos se describen en la bibliografía, por ejemplo, en the Merck Index, Merck & Company, Rahway, NJ. Las

consideraciones para la inclusión de diversos componentes en composiciones farmacéuticas se describen, por ejemplo, en Gilman et al. (Eds.) (1990); Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th Ed., Pergamon Press.

5 Un "diagnóstico" como se usa en este documento es un compuesto, procedimiento, sistema o dispositivo que ayuda a la identificación y caracterización de un estado de salud o enfermedad. El diagnóstico se puede usar en ensayos estándar como se conoce en la técnica.

El término "mamífero" se usa en su sentido biológico habitual. De este modo, incluye específicamente humanos, ganado, caballos, perros y gatos, pero también incluye muchas otras especies.

10 El término "infección microbiana" se refiere a la proliferación o presencia no deseada de la invasión de microbios patógenos en un organismo huésped. Esto incluye el crecimiento excesivo de microbios que normalmente están presentes en o sobre el cuerpo de un mamífero u otro organismo. De manera más general, una infección microbiana puede ser cualquier situación en la que la presencia de una (s) población (es) microbiana (s) es dañina para un mamífero huésped. De este modo, existe una infección microbiana cuando un número excesivo de una población microbiana está presente en o sobre el cuerpo de un mamífero, o cuando los efectos de la presencia de una (s) población (es) microbiana (es) dañan las células u otro tejido de un mamífero.

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

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

"Solvato" se refiere al compuesto formado por la interacción de un solvente y fluoroquinolona antimicrobiana, un metabolito o una sal del mismo. Los solvatos apropiados son solvatos farmacéuticamente aceptables que incluyen hidratos.

45 En el contexto de la respuesta de un microbio, tal como una bacteria, a un agente antimicrobiano, el término "susceptibilidad" se refiere a la sensibilidad del microbio a la presencia del agente antimicrobiano. Entonces, aumentar la susceptibilidad significa que el microbio será inhibido por una menor concentración del agente antimicrobiano en el medio que rodea las células microbianas. Esto es equivalente a decir que el microbio es más sensible al agente antimicrobiano. En la mayoría de los casos, la concentración mínima inhibitoria (MIC) de ese agente antimicrobiano se habrá reducido. El MIC₉₀ puede incluir la concentración para inhibir el crecimiento en el 90% de los organismos.

50 Por "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" se entiende un agente antimicrobiano de fluoroquinolona, como se describe para esta invención, que tiene un efecto terapéutico. Las dosis de agente antimicrobiano fluoroquinolona que son útiles en el tratamiento son cantidades terapéuticamente eficaces. De este modo, como se usa en este documento, una cantidad terapéuticamente eficaz significa las cantidades de agente antimicrobiano de fluoroquinolona que producen el efecto terapéutico deseado según se juzga por los resultados de ensayos clínicos y/o estudios de infección de animal modelo. En realizaciones particulares, el agente antimicrobiano de fluoroquinolona se administra en una dosis predeterminada, y de este modo una cantidad terapéuticamente eficaz sería una cantidad de la dosis administrada. Esta cantidad y la cantidad del agente antimicrobiano de fluoroquinolona se pueden determinar rutinariamente por un experto en el arte, y variará, dependiendo de varios factores, tales como la cepa microbiana particular implicada. Esta cantidad puede depender aún más de la altura, el peso, el sexo, la edad y el

historial médico del paciente. Para los tratamientos profilácticos, una cantidad terapéuticamente eficaz es aquella cantidad que sería eficaz para prevenir una infección microbiana.

5 Un "efecto terapéutico" alivia, hasta cierto punto, uno o más de los síntomas de la infección, e incluye curar una infección. "Curado" significa que se eliminan los síntomas de la infección activa, incluida la eliminación total o sustancial de miembros excesivos de microbios viables de los implicados en la infección hasta un punto en o por debajo del umbral de detección de medidas tradicionales. Sin embargo, ciertos efectos a largo plazo o permanentes de la infección aguda o crónica pueden existir incluso después de que se obtiene una cura (tal como un extenso daño tisular). Como se usa en este documento, un "efecto terapéutico" se define como una reducción estadísticamente significativa en la carga bacteriana en un huésped, aparición de resistencia, función pulmonar o mejora en los síntomas de infección o estado funcional según se mide mediante resultados clínicos humanos o estudios en animales.

10 "Tratar", "tratamiento" o "que trata", como se usa en este documento, se refiere a administrar una composición farmacéutica con fines profilácticos y/o terapéuticos. El término "tratamiento profiláctico" se refiere al tratamiento de un paciente que aún no está infectado, pero que es susceptible, o de otro modo corre el riesgo de, una infección particular de manera que existe una aparición de infección reducida. El término "tratamiento terapéutico" se refiere a administrar tratamiento a un paciente que ya padece una infección que puede ser aguda o crónica. El tratamiento puede eliminar el patógeno, o puede reducir la carga de patógenos en los tejidos que da como resultado mejoras medidas por los síntomas de los pacientes o las medidas de la función pulmonar. De este modo, en realizaciones preferidas, el tratamiento es la administración a un mamífero (ya sea con fines terapéuticos o profilácticos) de cantidades terapéuticamente eficaces de un agente antimicrobiano de fluoroquinolona.

15 La farmacocinética (PK) se refiere al curso temporal de la concentración de antimicrobianos en el cuerpo. La farmacodinamia (PD) se refiere a la relación entre la farmacocinética y la eficacia antimicrobiana in vivo. Los parámetros PK/PD correlacionan la exposición antimicrobiana con la actividad antimicrobiana. La tasa de muerte por antimicrobianos depende del modo de acción antimicrobiano y está determinada por ya sea el tiempo necesario para matar (dependiente del tiempo) o por el efecto de aumentar las concentraciones solo (dependiente de la concentración) o integrado a lo largo del tiempo como área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC). Para predecir la eficacia terapéutica de antimicrobianos con diversos mecanismos de acción, se pueden usar diferentes parámetros PK/PD. Los parámetros PK/PD se pueden usar para determinar la disponibilidad de composiciones antimicrobianas, por ejemplo, la disponibilidad de un agente antimicrobiano en una composición en el sistema pulmonar, y/o la biodisponibilidad de un agente antimicrobiano en una composición en plasma/suero.

20 La "proporción AUC/MIC" es un ejemplo de un parámetro PK/PD. AUC se define como el área bajo la curva de concentración-tiempo en plasma/suero o sitio de infección de un agente antimicrobiano in vivo (en animales o humanos). Por ejemplo, el sitio de infección y/o el sitio donde se mide la concentración pueden incluir partes del sistema pulmonar, tal como el líquido bronquial y/o el esputo. De acuerdo con lo anterior, la AUC puede ser un AUC en suero, o un AUC pulmonar basado en concentraciones en suero y tejidos pulmonares (esputo, fluido de revestimiento epitelial u homogeneizado del tejido completo). $AUC_{(0-t)}$ puede incluir el área bajo la curva para el tiempo cero a un tiempo específico 't'. $AUC_{(0-inf)}$ puede incluir el área bajo la curva desde el tiempo cero hasta el infinito. La proporción AUC/MIC se determina dividiendo la AUC de 24 horas para un antimicrobiano individual por la MIC para el mismo antimicrobiano determinado in vitro. La actividad de los antimicrobianos con la muerte dependiente de la dosis (tal como las fluoroquinolonas) está bien predicha por la magnitud de la proporción AUC/MIC. La proporción AUC:MIC también puede prevenir la selección de bacterias resistentes a los fármacos.

25 La proporción " C_{max} :MIC" es otro parámetro PK:PD. Describe la concentración máxima de fármaco en plasma o tejido en relación con la MIC. Las fluoroquinolonas y aminoglucósidos son ejemplos donde C_{max} :MIC puede predecir la muerte bacteriana in vivo donde la resistencia puede ser suprimida.

30 "Tiempo por encima de MIC" ($T > MIC$) es otro parámetro PK/PD. Se expresa un porcentaje de un intervalo de dosificación en el que el nivel en plasma o del sitio de infección excede la MIC. La actividad de los antimicrobianos con la muerte dependiente del tiempo (tal como los betalactámicos o los antibióticos monobactam) está bien predicha por la magnitud de la proporción $T > MIC$.

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

40 Como se usa en este documento, el "período pico" de la concentración in vivo de un fármaco se define como el tiempo del intervalo de dosificación farmacéutica cuando la concentración farmacéutica no es inferior al 50% de su concentración máxima en plasma o sitio de infección. En algunas realizaciones, el "período máximo" se usa para describir un intervalo de dosificación antimicrobiana.

45 La "dosis entregada respirable" estimada es la dosis o cantidad de fármaco administrado al pulmón de un paciente que usa un nebulizador u otro dispositivo de administración con aerosol. El RDD se estima a partir de la fase inspiratoria de un dispositivo de simulación de respiración programado según el patrón estándar europeo de 15 respiraciones por

minuto, con una proporción de inspiración a espiración de 1: 1, y la medición de partículas emitidas por un nebulizador con un tamaño desde aproximadamente 5 micrones o menos

Mejora de la disponibilidad

5 La velocidad de muerte del antibiótico depende del modo de acción antibiótico y se determina por ya sea la duración de tiempo necesaria para que el antibiótico mate (dependiente del tiempo) o el efecto de aumentar la concentración de antibiótico (dependiente de la concentración). Las fluoroquinolonas se caracterizan por una actividad de muerte dependiente de la concentración, donde un efecto terapéutico requiere una alta concentración pico local por encima de las MIC del patógeno infectante.

10 La eficacia de la fluoroquinolona en humanos, animales y modelos de infección in vitro está relacionada con la proporción AUC: MIC y la proporción C_{max} : MIC. Se ha realizado una serie de estudios in vitro para determinar si las altas concentraciones de levofloxacina con vidas medias extremadamente cortas (como se predice a partir de un modelo de PK humano y de rata) en los tejidos diana dieron como resultado una muerte bacteriana superior a la observada en condiciones con tiempos de residencia más prolongados. En estos estudios, las concentraciones de levofloxacina que fueron 0.018 veces - 1024 veces la MIC se evaluaron en una curva de muerte estándar y un ensayo de fibra hueca in vitro. En ambos de estos ensayos, las altas concentraciones de levofloxacina fueron rápidamente bactericidas y alcanzaron sus niveles máximos de muerte en 10-20 minutos. Este nivel de muerte se mantuvo si la levofloxacina se mantuvo a ese nivel o si se le dio una vida media de 10 minutos. Además, no se observó resistencia. De acuerdo con lo anterior, las dosis altas y la administración rápida de levofloxacina especialmente formulada son rápidamente bactericidas para organismos susceptibles y organismos resistentes.

20 En una realización, la concentración de levofloxacina en el sitio de la infección se incrementa administrando levofloxacina en combinación con cationes divalentes o trivalentes directamente al pulmón usando terapia de inhalación, disminuyendo así la cantidad de tiempo que la levofloxacina se encuentra en la "ventana de selección de mutantes". "(MSW). Dicho enfoque terapéutico logra una cobertura más amplia de patógenos (incluidas las cepas resistentes a la levofloxacina), previene el desarrollo de resistencia adicional y da como resultado cursos más cortos de terapia con levofloxacina.

30 Algunas realizaciones incluyen composiciones de levofloxacina u ofloxacina que tienen una disponibilidad pulmonar mejorada, en la que una AUC pulmonar incrementada es indicativo de la disponibilidad pulmonar mejorada de la levofloxacina u ofloxacina. En algunas realizaciones, el aumento puede ser al menos aproximadamente 10%, 20, 30, 40%, 50%, 75%, 100%, 150%, 200%, 250%, 300%, y 500%. Un aumento puede ser relativo a, por ejemplo, una composición que carece de un catión divalente o trivalente, y/o una composición que tiene ciertos excipientes (por ejemplo, lactosa), y/o una composición administrada al pulmón a una velocidad determinada, y/o una cierta dosis administrada respirable. En algunas realizaciones, se proporcionan procedimientos que incluyen lograr una disponibilidad pulmonar mejorada indicada por una AUC pulmonar mayor que aproximadamente 400 h.mg/L, aproximadamente 500 h.mg/L, aproximadamente 600 h.mg/L, aproximadamente 700 h.mg/L, aproximadamente 800 h.mg/L, aproximadamente 900 h.mg/L, aproximadamente 1000 h.mg/L, aproximadamente 1100 h.mg/L, aproximadamente 1200 h.mg/L, aproximadamente 1300 h.mg/L, aproximadamente 1400 h.mg/L, aproximadamente 1500 h.mg/L, aproximadamente 1600 h.mg/L, aproximadamente 1700 h.mg/L, aproximadamente 1800 h.mg/L, aproximadamente 1900 h.mg/L, aproximadamente 2000 h.mg/L, aproximadamente 2100 h.mg/L, aproximadamente 2200 h.mg/L, aproximadamente 2300 h.mg/L, aproximadamente 2400 h.mg/L, aproximadamente 2500 h.mg/L, aproximadamente 2600 h.mg/L, aproximadamente 2700 h.mg/L, aproximadamente 2800 h.mg/L, aproximadamente 2900 h.mg/L, aproximadamente 3000 h.mg/L, aproximadamente 3100 h.mg/L, aproximadamente 3200 h.mg/L, aproximadamente 3300 h.mg/L, aproximadamente 3400 h.mg/L, aproximadamente 3500 h.mg/L, aproximadamente 3600 h.mg/L, aproximadamente 3700 h.mg/L, aproximadamente 3800 h.mg/L, aproximadamente 3900 h.mg/L, aproximadamente 4000 h.mg/L, aproximadamente 4100 h.mg/L, aproximadamente 4200 h.mg/L, aproximadamente 4300 h.mg/L, aproximadamente 4400 h.mg/L, y aproximadamente 4500 h.mg/L. El aumento se puede medir, por ejemplo, en fluido bronquial, homogeneizado de tejido pulmonar completo o en esputo.

50 En más realizaciones, un aumento de C_{max} pulmonar puede ser indicativo de una disponibilidad pulmonar mejorada para una formulación de levofloxacina u ofloxacina. En algunas de tales realizaciones, el aumento puede ser al menos aproximadamente 50%, 75%, 100%, y 150%. Un aumento puede ser relativo a una composición, por ejemplo, que carece de un catión divalente o trivalente, y/o una composición que tiene ciertos excipientes (por ejemplo, lactosa), y/o una composición administrada al pulmón a una determinada velocidad, y/o una cierta dosis administrada respirable. En algunas realizaciones, se proporcionan procedimientos que incluyen lograr una disponibilidad pulmonar mejorada indicada por una C_{max} pulmonar mayor que aproximadamente 300 mg/L, aproximadamente 400 mg/L, aproximadamente 500 mg/L, aproximadamente 600 mg/L, aproximadamente 700 mg/L, aproximadamente 800 mg/L, aproximadamente 900 mg/L, aproximadamente 1000 mg/L, aproximadamente 1100 mg/L, aproximadamente 1200 mg/L, aproximadamente 1300 mg/L, aproximadamente 1400 mg/L, aproximadamente 1500 mg/L, aproximadamente 1600 mg/L, aproximadamente 1700 mg/L, aproximadamente 1800 mg/L, aproximadamente 1900 mg/L, aproximadamente 2000 mg/L, aproximadamente 2100 mg/L, aproximadamente 2200 mg/L, aproximadamente 2300 mg/L, aproximadamente 2400 mg/L, aproximadamente 2500 mg/L, aproximadamente 2600 mg/L, aproximadamente 2700 mg/L, aproximadamente 2800 mg/L, aproximadamente 2900 mg/L, aproximadamente 3000 mg/L, aproximadamente 3100 mg/L, aproximadamente 3200 mg/L, aproximadamente 3300 mg/L, aproximadamente 3400 mg/L, aproximadamente

3500 mg/L, aproximadamente 3600 mg/L, aproximadamente 3700 mg/L, aproximadamente 3800 mg/L, aproximadamente 3900 mg/L, aproximadamente 4000 mg/L, aproximadamente 4100 mg/L, aproximadamente 4200 mg/L, aproximadamente 4300 mg/L, aproximadamente 4400 mg/L, aproximadamente 4500 mg/L, aproximadamente 4600 mg/L, aproximadamente 4700 mg/L, aproximadamente 4800 mg/L, aproximadamente 4900 mg/L, y 5000 mg/L. El aumento se puede medir, por ejemplo, en secreciones bronquiales, líquido de revestimiento epitelial, homogeneizados de pulmón y en esputo.

En incluso más realizaciones, una disminución en la AUC en suero o la C_{max} en suero puede ser indicativa de un aumento en la disponibilidad pulmonar y una exposición prolongada de una levofloxacina u ofloxacina usando una formulación. En algunas de tales realizaciones, la disminución puede ser de al menos aproximadamente 1%, 5%, 10, 20% o 50%. Una disminución puede ser relativa a una composición, por ejemplo, que carece de un catión divalente o trivalente, y/o una composición que tiene ciertos excipientes (por ejemplo, lactosa), y/o una composición administrada al pulmón a una velocidad determinada como una solución u otra composición. En algunas realizaciones, una formulación de levofloxacina se puede caracterizar por un AUC: MIC_{90} mayor que aproximadamente 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 y 1000. En algunas de tales realizaciones, la AUC puede ser AUC pulmonar.

En algunas realizaciones, las concentraciones en tejido pulmonar (esputo, ELF, homogeneizados tisulares) se pueden caracterizar por el índice PK-PD C_{max} : MIC_{90} mayor que aproximadamente 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 340, 360, 380, 400, 420, 440, 460, 480, 500, 520, 540, 560, 580, y 600.

El aumento o disminución de un parámetro para medir la disponibilidad mejorada de una formulación de levofloxacina u ofloxacina puede ser relativa a una formulación de levofloxacina u ofloxacina que carece de cationes divalentes o trivalentes, en relación con una formulación de levofloxacina u ofloxacina que carece de lactosa, y/o en relación con una formulación o con una concentración más baja de levofloxacina u ofloxacina.

Métodos de tratamiento o profilaxis

También se describe un procedimiento para tratar una infección microbiana en un animal, que incluye específicamente en un mamífero, tratando un animal que padece dicha infección pulmonar con una fluoroquinolona antimicrobiana formulada con un catión divalente o trivalente y que tiene una disponibilidad pulmonar mejorada. Las fluoroquinolonas antimicrobianas se pueden administrar después de la formación de aerosol y la inhalación. De este modo, este procedimiento de tratamiento es especialmente apropiado para el tratamiento de infecciones pulmonares que implican cepas microbianas que son difíciles de tratar usando un agente antimicrobiano administrado por vía oral o parenteral debido a la necesidad de altos niveles de dosis (que pueden causar efectos secundarios indeseables), o debido a falta de cualquiera de los agentes antimicrobianos clínicamente eficaces. Este procedimiento se puede usar para administrar una fluoroquinolona antimicrobiana directamente en el sitio de la infección. Dicho procedimiento puede reducir la exposición sistémica y maximiza la cantidad de agente antimicrobiano en el sitio de la infección microbiana. Este procedimiento también es apropiado para tratar infecciones que implican microbios que son susceptibles a la fluoroquinolona antimicrobiana como una forma de reducir la frecuencia de selección de microbios resistentes. Este procedimiento también es apropiado para tratar infecciones que implican microbios que de otra manera son resistentes a la fluoroquinolona antimicrobiana como una forma de aumentar la cantidad de antimicrobianos en el sitio de la infección microbiana. Un sujeto se puede identificar como infectado con bacterias que son capaces de desarrollar resistencia al diagnosticar al sujeto que tiene síntomas que son característicos de una infección bacteriana con una especie de bacteria conocida por tener cepas resistentes o con una bacteria que es miembro de un grupo que se sabe que tienen cepas resistentes. Alternativamente, las bacterias se pueden cultivar e identificar como una especie que se sabe que tiene cepas resistentes o una bacteria que es un miembro del grupo que se sabe que tiene cepas resistentes.

En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano de fluoroquinolona en aerosol formulado con cationes divalentes o trivalentes se administra a un nivel suficiente para superar la resistencia a la emergencia en bacterias o aumentar la eficacia de muerte de manera que la resistencia no tenga la oportunidad de desarrollarse.

En algunas realizaciones, la terapia con fluoroquinolona en aerosol se puede administrar como un tratamiento o profilaxis en combinación o secuencia terapéutica alterna con otros antibióticos en aerosol, orales o parenterales. Por ejemplo, esto puede incluir tobramicina en aerosol y/u otros aminoglucósidos, aztreonam aerosol y/u otras beta o monobactamas, ciprofloxacina en aerosol y/u otras fluoroquinolonas, azitromicina en aerosol y/u otros macrólidos o cetólidos, tetraciclina y/u otras tetraciclinas, quinupristina y/u otras estreptograminas, linezolid y/u otras oxazolidinonas, vancomicina y/u otros glucopéptidos, y cloranfenicol y/u otros fenicoles, y colisitina y/u otras polimixinas.

Además, las composiciones y procedimientos de la presente pueden incluir la terapia con fluoroquinolona en aerosol administrada como un tratamiento o profilaxis en combinación o secuencia terapéutica alterna con un agente activo adicional. Como se discutió anteriormente, algunos de tales agentes adicionales pueden incluir antibióticos. Otros agentes adicionales pueden incluir broncodilatadores, anticolinérgicos, glucocorticoides, inhibidores de eicosanoides y combinaciones de los mismos. Los ejemplos de broncodilatadores incluyen salbutamol, levosalbuterol, terbutalina, fenoterol, terbutalina, pirbuterol, procateterol, bitolterol, rimiterol, carbuterol, tulobuterol, reproterol, salmeterol, formoterol, arformoterol, bambuterol, clembuterol, indacterol, teofilina, roflumilast, cilomilast. Los ejemplos de anticolinérgicos incluyen ipratropio y tiotropio. Los ejemplos de glucocorticoides incluyen prednisona, fluticasona, budesonida, mometasona, ciclesonida y beclometasona. Los ejemplos de eicosanoides incluyen montelukast, pranlukast, zafirlukast, zileuton, ramatroban y seratrodist. Otros agentes adicionales pueden incluir pulmozima, solución salina hipertónica,

agentes que restauran la función del canal de cloruro en la CF, beta-agonistas inhalados, agentes antimuscarínicos inhalados, corticosteroides inhalados e inhibidores de la fosfodiesterasa inhalados u orales. Otros agentes adicionales pueden incluir moduladores del CFTR, por ejemplo, VX-770, atluren, VX-809. Otros agentes adicionales pueden incluir agentes para restaurar el líquido de la superficie de las vías respiratorias, por ejemplo, denufosol, manitol, GS-9411 y SPI-8811. Otros agentes adicionales pueden incluir agentes antiinflamatorios, por ejemplo, ibuprofeno, sildenafil y simvastatina.

Composiciones farmacéuticas

En algunas realizaciones, una fluoroquinolona antimicrobiana descrita en este documento se produce como una composición farmacéutica apropiada para la formación de aerosoles, buen sabor, estabilidad de almacenamiento y seguridad y tolerancia del paciente. En algunas realizaciones, el contenido de isoforma de la fluoroquinolona fabricada se puede optimizar para la tolerancia a, la actividad antimicrobiana y la estabilidad.

Las formulaciones incluyen un catión divalente o trivalente. El catión divalente o trivalente puede incluir, por ejemplo, magnesio, calcio, zinc, cobre, aluminio y hierro. En algunas realizaciones, la solución comprende cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de zinc o cloruro de cobre. En algunas realizaciones, el cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de zinc o cloruro de cobre puede tener una concentración desde aproximadamente 5% a aproximadamente 25%, desde aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y desde aproximadamente 15% a aproximadamente 20%.

Las fluoroquinolonas como se describen en este documento incluyen levofloxacin, ofloxacin, ciprofloxacina, enoxacin, gatifloxacina, gemifloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, pefloxacina, esparfloxacina, garenoxacin, sitafloxacina y DX-619.

La formulación puede tener una concentración de fluoroquinolona (levofloxacina u ofloxacina) mayor que aproximadamente 80 mg/ml, aproximadamente 90 mg/ml, aproximadamente 100 mg/ml y aproximadamente 110 mg/ml. De acuerdo con la presente invención, la formulación tiene una concentración de fluoroquinolona (levofloxacina u ofloxacina), desde 80 mg/ml a 120 mg/ml, por ejemplo, desde 90 mg/ml a 120 mg/ml, y desde 90 mg/ml a 110 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración es 100 mg/ml.

La formulación tiene una osmolalidad desde 300 mOsmol/kg a 500 mOsmol/kg por ejemplo, desde aproximadamente 325 mOsmol/kg a aproximadamente 450 mOsmol/kg, desde aproximadamente 350 mOsmol/kg a aproximadamente 425 mOsmol/kg, y desde aproximadamente 350 mOsmol/kg a aproximadamente 400 mOsmol/kg. En algunas realizaciones, la osmolalidad de la formulación es mayor que aproximadamente 300 mOsmol/kg, aproximadamente 325 mOsmol/kg, aproximadamente 350 mOsmol/kg, aproximadamente 375 mOsmol/kg, aproximadamente 400 mOsmol/kg, aproximadamente 425 mOsmol/kg, aproximadamente 450 mOsmol/kg y aproximadamente 475 mOsmol/kg.

La formulación tiene un pH desde 5.0 a 7.0 por ejemplo, desde 5.0 a aproximadamente 6.5, desde aproximadamente 5.5 a aproximadamente 6.5, y desde 6.0 a aproximadamente 6.5.

Algunas realizaciones incluyen una formulación que carece de lactosa. Algunas realizaciones comprenden lactosa en una concentración inferior a aproximadamente 10%, 5%, 1% u 0.1%. En algunas realizaciones, la formulación puede consistir esencialmente en levofloxacina u ofloxacina y un catión divalente o trivalente.

En algunas realizaciones, una formulación comprende una concentración de levofloxacina de aproximadamente 100 mg/ml, una concentración de cloruro de magnesio de aproximadamente 200 mM, un pH de aproximadamente 6.2, una osmolalidad de aproximadamente 383 mOsmol/kg, y carece de lactosa. En algunas realizaciones, una formulación consiste esencialmente en una concentración de levofloxacina de 90 mg/ml a 110 mg/ml, una concentración de cloruro de magnesio de 180 mM a 220 mM, un pH de 5 a 7, una osmolalidad de 300 mOsmol/kg a 500 mOsmol/kg, y carece de lactosa.

Administración

La fluoroquinolona antimicrobiana formulada con cationes divalentes o trivalentes y que tienen disponibilidad pulmonar mejorada se pueden administrar a una dosificación terapéuticamente eficaz, por ejemplo, una dosificación suficiente para proporcionar el tratamiento de los estados de enfermedad descritos previamente. La cantidad de compuesto activo administrada dependerá, por supuesto, del sujeto y el estado de la enfermedad que se trate, la gravedad de la afección, la manera y el programa de administración y el juicio del médico que prescribe; por ejemplo, un intervalo de dosis probable para la administración en aerosol de levofloxacina sería desde aproximadamente 20 a 300 mg por día, seleccionándose los agentes activos para vidas medias pulmonares más largas o más cortas, respectivamente. De acuerdo con la presente invención, el intervalo de dosis para la administración en aerosol de levofloxacina es de 20 a 300 mg BID (dos veces al día).

La administración de los agentes antimicrobianos de fluoroquinolona descritos en este documento o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden ser mediante inhalación de aerosol. Los procedimientos, dispositivos y composiciones para la administración se describen en la Publicación de la Solicitud de la Patente de Estados Unidos No. 2006-0276483.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables incluyen formas de dosificación sólidas, semisólidas, líquidas y en aerosol, tales como, por ejemplo, polvos, líquidos, suspensiones, complejos, liposomas, partículas o similares. Preferiblemente, las composiciones se proporcionan en formas de dosificación unitaria apropiadas para administración única de una dosis precisa.

5 El agente antimicrobiano de fluoroquinolona se puede administrar ya sea solo o en algunas alternativas, en combinación con un portador, excipiente farmacéutico convencional o similares (por ejemplo, manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, talco, celulosa, croscarmelosa de sodio, glucosa, gelatina, sacarosa, carbonato de magnesio, y similares). Si se desea, la composición farmacéutica también puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes solubilizantes, 10 agentes reguladores del pH y similares (por ejemplo, acetato de sodio, citrato de sodio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitán, acetato de trietanolamina, oleato de trietanolamina y similares). En general, dependiendo del modo de administración pronosticado, la formulación farmacéutica contendrá de aproximadamente 0.005% a 95%, preferiblemente de aproximadamente 0.5% a 50% en peso de un compuesto de la invención. Los procedimientos reales de preparación de tales formas de dosificación son conocidos, o serán evidentes, para los expertos en esta técnica; por 15 ejemplo, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.

Administración en aerosol

Para la administración pulmonar, se evitan las vías respiratorias superiores a favor de las vías respiratorias medias y bajas. La administración de un medicamento pulmonar se puede lograr mediante la inhalación de un aerosol a través de la boca y la garganta. Las partículas que tienen un diámetro aerodinámico mediano másico (MMAD) de más de 20 aproximadamente 5 micras generalmente no alcanzan el pulmón; en cambio, tienden a afectar la parte posterior de la garganta y se ingieren y posiblemente se absorben por vía oral. Las partículas que tienen diámetros de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 micras son lo suficientemente pequeñas para alcanzar la región pulmonar superior a media (conducción de las vías respiratorias), pero son demasiado grandes para alcanzar los alvéolos. Las partículas más pequeñas, esto es, de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 2 micras, son capaces de alcanzar la 25 región alveolar. Las partículas que tienen diámetros menores de aproximadamente 0.5 micras también pueden se depositar en la región alveolar por sedimentación, aunque se pueden exhalar partículas muy pequeñas.

En una realización, se selecciona un nebulizador sobre la base de permitir la formación de un aerosol de un agente antimicrobiano de fluoroquinolona descrito en este documento que tiene un MMAD predominantemente entre 30 aproximadamente 2 y aproximadamente 5 micras. En una realización, la cantidad administrada del agente antimicrobiano de fluoroquinolona proporciona un efecto terapéutico para infecciones respiratorias. El nebulizador puede suministrar un aerosol que comprende un diámetro aerodinámico mediano másico desde aproximadamente 2 micras a aproximadamente 5 micras con una desviación estándar geométrica menor o igual a aproximadamente 2.5 micras, un diámetro aerodinámico medio másico desde aproximadamente 2.5 micras a aproximadamente 4.5 micras con una desviación estándar geométrica menor o igual a aproximadamente 1.8 micras, y un diámetro aerodinámico medio másico desde aproximadamente 2.8 micras a aproximadamente 4,3 micras con una desviación estándar geométrica menor o igual a aproximadamente 2 micras. En algunas realizaciones, el aerosol se puede producir usando un nebulizador de malla vibrante. Un ejemplo de un nebulizador de malla vibrante incluye el nebulizador PARI E-FLOW® o un nebulizador usando la tecnología PARI eFlow. Se proporcionan más ejemplos de nebulizadores en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 4,268,460; 4,253,468; 4,046,146; 3,826,255; 4,649,911; 4,510,929; 4,624,251; 5,164,740; 5,586,550; 5,758,637; 6,644,304; 6,338,443; 5,906,202; 5,934,272; 5,960,792; 5,971,951; 6,070,575; 6,192,876; 6,230,706; 6,349,719; 6,367,470; 6,543,442; 6,584,971; 6,601,581; 4,263,907; 5,709,202; 5,823,179; 6,192,876; 6,644,304; 5,549,102; 6,083,922; 6,161,536; 6,264,922; 6,557,549; y 6,612,303. Ejemplos más comerciales de nebulizadores que se pueden usar con las formulaciones descritas en este documento incluyen Respigard II®, Aeroneb®, Aeroneb® Pro, y Aeroneb® Go producidos por Aerogen; AERx® y AERx Essence™ producidos por 40 Aradigm; Porta-Neb®, Freeway Freedom™, Sidestream, Ventstream y I-neb producidos por Respironics, Inc.; y PARI LC-Plus®, PARI LC-Star®, producidos por PARI, GmbH. Un ejemplo adicional es la Patente de los Estados Unidos No. 6,196,219.

La cantidad de levofloxacina u ofloxacina que se puede administrar a los pulmones con una dosis de aerosol, tal como una dosis de fármaco respirable (RDD), que puede incluir al menos 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, 55 aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg y 300 mg. En algunas realizaciones, la cantidad de levofloxacina o ofloxacina que se puede administrar a los pulmones con una dosis de aerosol, tal como una dosis de fármaco respirable (RDD), que puede incluir al menos 20 mg, 50, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg y 300 mg.

El aerosol se puede administrar a los pulmones en menos desde aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 4 minutos, aproximadamente 3 minutos, aproximadamente 2 minutos y aproximadamente 1 minuto. 60

Indicaciones

Los procedimientos y composiciones descritos en este documento se pueden usar para tratar infecciones y trastornos pulmonares. Los ejemplos de tales trastornos pueden incluir fibrosis quística, neumonía y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que incluyen bronquitis crónica y algunos asma. Algunas realizaciones incluyen tratar una infección que comprende una o más bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas acidovorans*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophilia*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia intermedia*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus haemolyticus*, *Haemophilus parahaemolyticus*, *Haemophilus ducreyi*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Borrelia burgdorferi*, *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia*, *Francisella tularensis*, *Kingella*, y *Moraxella*. En algunas realizaciones, la infección pulmonar es causada por una bacteria anaerobia gramnegativa. En más realizaciones, la infección pulmonar comprende una o más bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides distasonis*, grupo de homología *Bacteroides 3452A*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides ovalus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides eggerthii*, y *Bacteroides splanchnicus*. En algunas realizaciones, la infección pulmonar es causada por una bacteria grampositiva. En algunas realizaciones, la infección pulmonar comprende una o más de las bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus milleri*; *Streptococcus* (Grupo G); *Streptococcus* (Grupo C/F); *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus subsp. hyicus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, y *Staphylococcus saccharolyticus*. En algunas realizaciones, la infección pulmonar es causada por una bacteria anaerobia grampositiva. En algunas realizaciones, la infección pulmonar es causada por una o más bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetini*, y *Clostridium botulinum*. En algunas realizaciones, la infección pulmonar es causada por una bacteria acidorresistente. En algunas realizaciones, la infección pulmonar está causada por una o más bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, y *Mycobacterium leprae*. En algunas realizaciones, la infección pulmonar es causada por una bacteria atípica. En algunas realizaciones, la infección pulmonar es causada por una o más bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *n Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*.

Ejemplos

Ejemplo comparativo 1-Administración de fluoroquinolonas en un modelo farmacocinético de rata

Este ejemplo se refiere a la administración en aerosol y por vía intravenosa de fluoroquinolonas en solución salina. Se usó un modelo farmacocinético de rata para comparar la administración intravenosa y pulmonar de fluoroquinolonas. A las ratas macho Sprague-Dawley (Charles Rivers) se les administraron dosis de 10 mg/kg de levofloxacin, ciprofloxacina, gatifloxacina, norfloxacina o gemifloxacina. Las dosis se administraron a través de la vena lateral de la cola, o al pulmón justo por encima de la bifurcación traqueal usando un dispositivo microdifusor de aerosol (Penn Century, Philadelphia, PA). La levofloxacin se preparó en solución salina estéril al 0.9% a concentraciones de 5 mg/ml (IV) y 60 mg/ml (aerosol).

Se tomaron aproximadamente 0.3 ml de muestras de sangre de 2 - 6 ratas en cada punto de tiempo a través de una cánula de vena yugular permanente, y se recogieron en tubos de heparina de litio. El lavado broncoalveolar (BAL) y el tejido pulmonar se recogieron después de la eutanasia. Las concentraciones de levofloxacin en plasma, tejido pulmonar y BAL se determinaron usando un ensayo de HPLC, y los datos se analizaron usando WinNonlin (Pharsight Corporation, v 5.0). Las concentraciones de muestra se determinaron contra una curva estándar.

Se determinaron AUC_(0-inf) en suero (área bajo la curva de tiempo de concentración, para el tiempo cero hasta el infinito), MRT sérica (tiempo de retención medio), t_{1/2} (vida media) sérica, AUC de BAL, MAT (tiempo medio de absorción) y F (biodisponibilidad) y se muestran en la tabla 1.

Tabla 1

Fármaco	Vía	AUC (0-inf) en suero	MRT en suero	t _{1/2} en suero	AUC de BAL	MAT (h)	F, % de Pulmón vs IV
Levofloxacin	IV	3.8	0.7	0.5	1.6	NA	NA
Levofloxacin	Aerosol	3.7	0.7	0.5	3.0	0	97%

Ciprofloxacina	IV	2.6	0.76	0.53	3.9	NA	NA
Ciprofloxacina	Aerosol	0.8	1.35	0.93	78.4	0.59	82%
Gatifloxacina	IV	5.31	1.39	1.06	0.35	NA	NA
Gatifloxacina	Aerosol	5.83	1.34	1.13	3.12	0	100%
Norfloxacina	IV	4.65	1.59	1.21	0.8	NA	NA
Norfloxacina	Aerosol	4.46	1.29	1.13	24.6	0	100%
Gemifloxacina	IV	4.54	1.41	1.04	0.9	NA	NA
Gemifloxacina	Aerosol	5.86	2.06	1.68	140.4	0.65	86%

5 La administración en aerosol de ciprofloxacina, gatifloxacina, norfloxacina o gemifloxacina dio como resultado un aumento significativo del AUC de BAL, en comparación con la administración intravenosa. La administración en aerosol de levofloxacina no mostró un aumento tan significativo en la AUC de BAL, en comparación con la administración intravenosa. Además, la levofloxacina mostró una rápida absorción del pulmón al suero. De este modo, la administración en aerosol de levofloxacina en solución salina no dio como resultado una disponibilidad significativamente mayor de fármaco al pulmón.

Ejemplo comparativo 2-Administración en aerosol de levofloxacina con cationes divalentes en ratas

10 Este ejemplo se refiere a una serie de estudios que incluyeron la administración en aerosol de levofloxacina con cationes divalentes y lactosa y la administración IV o en aerosol de levofloxacina en solución salina. A las ratas se les administraron 10 mg/kg de levofloxacina (LVX) en solución salina o LVX formulado con CaCl₂, MgCl₂ o Zn²⁺. La tabla 2 muestra las formulaciones de levofloxacina usadas en estos estudios.

Tabla 2

	Levofloxacina (IV)	Levofloxacina (Aerosol)	Levofloxacina (MgCl ₂)	Levofloxacina (CaCl ₂)	Levofloxacina (ZnCl ₂)
Levofloxacina	5 mg/ml	60 mg/ml	60 mg/ml	60 mg/ml	60 mg/ml
MgCl ₂	-	-	120 mM	-	-
CaCl ₂	-	-	-	120 mM	-
ZnCl ₂	-	-	-	-	120 mM
Lactosa	-	-	150 mM	-	-

15 En un estudio, se midieron los parámetros farmacocinéticos que incluyen C_{max} (concentración sérica máxima), CL/F (depuración corporal total/biodisponibilidad) y se muestran en la tabla 3. En la figura 1 se muestra un gráfico de la concentración plasmática de levofloxacina con el tiempo, donde la levofloxacina se administró por aerosol, por inyección intravenosa o por aerosol con MgCl₂.

Tabla 3

Parámetro	Unidad	Media (+/- SD)		
		LVX IV	LVX Aerosol	LVX MgCl ₂
AUC en plasma	h.mg/L	3.79 (± 0.89)	3.69 (± 0.14)	3.72 (± 0.24)
Vida media en plasma	h	0.49 (± 0.10)	0.52 (± 0.09)	0.73 (± 0.07)
C _{max} en plasma	mg/L	5.54 (± 1.51)	6.01 (± 1.54)	6.66 (± 1.70)
CL/F en plasma	L/h/kg	2.81 (± 0.54)	2.83 (± 0.11)	2.68 (± 0.17)
MRT en plasma	h	0.70 (± 0.14)	0.71 (± 0.08)	0.88 (± 0.06)

MAT en plasma	h	NA	0.01	0.18
Plasma F (Biodisponibilidad)	%	NA	97.4	98.2
AUC de BAL _(0-6 h)	h.mg/L	1.6	3.0	8.3

Se puede usar un modelo farmacocinético de dos compartimentos para describir la diferencia en los gráficos de la levofloxacina en plasma con el tiempo para la administración intravenosa y en aerosol. El AUC en plasma después de la administración intravenosa fue similar al AUC en plasma después de la administración en aerosol con Mg⁺² (3.79 h.mg/L frente a 3.72 h.mg/L, respectivamente). Esto sugiere una biodisponibilidad cercana al 100% del antibiótico de complejo divalente del pulmón. El tiempo de residencia promedio (MRT) de levofloxacina fue mayor después de la administración con aerosol en comparación con la administración intravenosa (0.88 frente a 0.70 horas). Este retraso en la absorción se asoció con un aumento en la AUC_(0-6 h) de levofloxacina BAL en BAL (1.6 h.mg/L frente a 8.3 h.mg/L para la dosificación intravenosa frente a aerosol, respectivamente), y un aumento de 18 veces en el tiempo medio de absorción (MAT)

En otro estudio, se midieron los niveles de levofloxacina después de la administración en aerosol para formulaciones que contienen solución salina, Zn²⁺, Ca⁺² o Mg⁺² y se determinaron los parámetros farmacocinéticos. La tabla 4 y la figura 2 resumen los resultados.

Tabla 4

Fármaco	Vía	AUC en suero (0-inf)	MRT en suero	t _{1/2} en suero	AUC de BAL	MAT (h)	F, % de Pulmón vs IV
Levofloxacina	IV	3.8	0.7	0.5	1.6	NA	NA
Levofloxacina	Aerosol	3.7	0.7	0.5	3.0	0	97%
Levofloxacina (MgCl ₂)	Aerosol	4.4	1.35	1.2	29.6	0.7	116%
Levofloxacina (CaCl ₂)	Aerosol	4.3	1.17	0.8	8.3	0.5	116%
Levofloxacina (ZnCl ₂)	Aerosol	4.4	1.6	1.8	55.6	0.9	100%

La administración en aerosol de levofloxacina en complejo con Ca⁺² y Mg⁺² dio como resultado una vida media en plasma más larga y MAT más prolongada en comparación con levofloxacina formulada en solución salina, lo que indica una depuración pulmonar más lenta al plasma (Tabla 4). La levofloxacina formulada con Ca⁺² o Mg⁺² produjo una C_{max} de levofloxacina de 2 a 5 veces mayor y AUC en BAL y tejido pulmonar en comparación con levofloxacina intravenosa o levofloxacina en forma de aerosol formulada en solución salina (Tabla 4, Figura 2). Estos datos sugieren que la levofloxacina en aerosol en complejo con catión divalente debería dar como resultado una mayor eficacia en el tratamiento de infecciones pulmonares.

Ejemplo 3: modelado farmacocinético y análisis de deconvolución

Este ejemplo se refiere al modelado de concentraciones de fármaco en pulmón. Los procedimientos de deconvolución farmacocinética son útiles para determinar la cantidad de fármaco que permanece en el pulmón después de la administración. Tales procedimientos son particularmente útiles cuando las mediciones directas son difíciles y/o producen resultados variables, por ejemplo, midiendo concentraciones de fármaco en pulmón usando muestras de esputo.

Los parámetros farmacocinéticos en suero y en orina se pueden determinar usando procedimientos no compartimentales y compartimentales, y las concentraciones de fármaco en el pulmón a lo largo del tiempo se pueden calcular usando deconvolución. Este enfoque ha sido reportado para la administración en aerosol de tobramicina, donde una dosis de 5.6 mg/kg mostró una biodisponibilidad desde aproximadamente 9% y absorción durante un período de 3 horas, consistente con datos derivados empíricamente (Cooney G.F., et al, "Absolute bioavailability and absorption characteristics of aerosolized tobramycin in adults with cystic fibrosis." J. Clinical Pharmacol. (1994), 34, 255-259

Un ejemplo de procedimiento de deconvolución se resume en la figura 3. Este análisis compara el aspecto y la eliminación del fármaco después de dosis en aerosol y por vía intravenosa para determinar la cantidad de fármaco que permanece en el pulmón (compartimento de absorción) a lo largo del tiempo. Para estimar las concentraciones de fármaco en el pulmón, las cantidades se dividieron por las estimaciones del volumen del líquido pulmonar epitelial (ELF)

(25 ml) para cada sujeto. El análisis farmacocinético no compartimental se aplicó posteriormente a estas concentraciones proyectadas de fármaco en el pulmón para determinar las AUC.

5 La aplicación de la metodología de deconvolución se puede lograr mediante la dosificación en aerosol humano o animal de 50 mg de dosis del fármaco levofloxacina respirable en solución salina o formando complejo con Mg^{+2} , administrados en un nebulizador u otro dispositivo de administración respiratoria, con los perfiles resultantes de concentración de fármaco en plasma y parámetros farmacocinéticos calculados como se ilustra en la figura 4 y las tablas 5 y 6. Las concentraciones en suero de levofloxacina después de una infusión IV de 5 minutos de levofloxacina a un único voluntario sano se analizaron usando WinNonlin y los parámetros farmacocinéticos presentados en la tabla 5. En una ocasión separada, este voluntario recibió una dosis única de aerosol de levofloxacina (RDD = 50 mg) con un nebulizador de malla vibratoria PARI eFlow. La figura 4 muestra una comparación de las concentraciones en suero de levofloxacina después de una dosis IV o en aerosol. Usando el modelo de PK representado en la figura 3, las concentraciones en suero de levofloxacina medidas en suero después de una dosis de aerosol se deconvolucionaron usando los datos séricos de PK para una dosis IV de levofloxacina (los parámetros PK se muestran en la tabla 5). Los resultados se muestran en la tabla 6, que muestra la cantidad estimada de levofloxacina (en mg) que permanece en el pulmón a lo largo del tiempo.

Tabla 5

Parámetro	Unidad	Estimación
AUC	h.mg/L	3.14
K10_HL	h	0.92
Alfa	1/h	6.85
Beta	1/h	0.11
Alfa_HL	h	0.10
Beta_HL	h	6.50
A	mg/L	2.05
B	mg/L	0.30
C_{max}	mg/L	1.88
CL	L/h	15.93
AUMC	h.h.mg/L	26.78
MRT	h	8.49
Vss	L	135.29
V2	L	114.03
CLD2	L/h	111.26

20

Tabla 6

Horas	Velocidad de entrada (mg/h)	Entrada acumulada en el compartimento de suero (mg)	Fracción de entrada	Fármaco que permanece en el pulmón (mg)	Fracción que permanece
0.24	35.79	26.67	0.53	23.33	0.47
0.48	13.80	31.16	0.62	18.84	0.38

0.72	18.25	34.84	0.70	15.16	0.30
0.96	20.55	39.88	0.80	10.12	0.20
1.2	14.98	44.14	0.88	5.86	0.12
1.44	9.21	47.03	0.94	2.97	0.06
1.68	5.13	48.68	0.97	1.32	0.03
1.92	1.81	49.51	0.99	0.49	0.01
2.16	0.45	49.69	0.99	0.31	0.01
2.4	0.36	49.79	1.00	0.21	0.00
2.64	0.27	49.86	1.00	0.14	0.00
2.88	0.18	49.92	1.00	0.08	0.00
3.12	0.11	49.95	1.00	0.05	0.00
3.36	0.08	49.97	1.00	0.03	0.00
3.6	0.05	49.99	1.00	0.01	0.00
3.84	0.02	50.00	1.00	0.00	0.00

Estos datos se pueden usar para calcular la cantidad (en mg) de levofloxacin que permanece en el pulmón en función del tiempo. La figura 5 y la Tabla 6 muestran un ejemplo de la cantidad estimada de fármaco que permanece en el pulmón a lo largo del tiempo, mientras que solo el 10% de la dosis de 50 mg de fármaco respirable administrada durante un período de 5 minutos permanece en el pulmón después de 1.2 horas. Este experimento demuestra la utilidad del procedimiento de deconvolución.

Ejemplo comparativo 4 - Administración sistémica y en aerosol de levofloxacin con solución salina

Este ejemplo se refiere a la administración sistémica y en aerosol de levofloxacin formulada en una solución salina usando dosis estimadas de fármaco respirable de 20 mg o 40 mg (dosis cargadas con nebulizador de 43.3 y 86.6 mg, respectivamente) de levofloxacin. Se administraron dosis únicas en aerosol de dos niveles de dosis de levofloxacin (usando la formulación IV Levaquin®) a voluntarios sanos normales y sujetos estables con CF usando el nebulizador de alta eficiencia PARI eFlow.

Se recogieron datos de seguridad, tolerancia y farmacocinética (suero, esputo y excreción urinaria) después de cada dosis. El nebulizador se cargó con 3.6 ml de una solución de Levaquin® diluida en solución salina a isotonicidad, a una concentración de 11.9 mg/ml para el grupo de 20 mg de dosis de fármaco respirable, y a una concentración de 23.8 mg/ml para el grupo de dosis de 40 mg de fármaco respirable. Estos volúmenes corresponden a dosis de "carga" de 43.3 mg y 86.6 mg de levofloxacin para las RDD de 20 y 40 mg, respectivamente. La tabla 7 resume las dosis cargadas de nebulizador con la RDD estimada correspondiente para la levofloxacin formulada en solución salina.

Tabla 7

Concentración de levofloxacin en solución salina (mg/L)	Dosis cargada en el nebulizador (mg)	RDD (basado en partículas < 5 µm) (mg)
12	43.3	20
23.8	86.6	40

Se coadministraba Novaluzid® (AstraZeneca) para minimizar la absorción oral de cualquier levofloxacin que se trague durante la inhalación. Cada sujeto recibió una dosis intravenosa de levofloxacin y una dosis de solución salina en aerosol en la primera visita para generar datos farmacocinéticos para la comparación con dosis de aerosol levofloxacin, y para evaluar la tolerancia de la administración de soluciones usando el dispositivo eFlow.

Las concentraciones de levofloxacina en suero y orina se analizaron usando un ensayo de HPLC validado por Anapharm (Quebec City, Canadá). Los ensayos de levofloxacina en esputo se desarrollaron y se validaron cruzados usando el ensayo de suero.

5 Datos de suero: las concentraciones de levofloxacina en suero después de la infusión intravenosa se ajustaron a un modelo farmacocinético abierto de dos compartimentos usando regresión de mínimos cuadrados iterativamente reponderados (WinNonlin). Se aplicó un peso de 1/y observado en la regresión. La bondad de ajuste se evaluó mediante la función objetivo minimizada y la inspección de parcelas residuales ponderadas. Las concentraciones en suero de levofloxacina resultantes de la administración con aerosol se analizaron usando procedimientos de deconvolución para estimar el tiempo de residencia de la dosis de aerosol en el pulmón (Gibaldi M. and Perrier D. Pharmacokinetics, 2ª edición. Marcel Dekker: Nueva York, 1982). El modelo farmacocinético y el enfoque usado para el análisis de deconvolución se describe en el ejemplo 3. En resumen, este análisis compara la apariencia y eliminación del fármaco después de la dosis en aerosol y por vía intravenosa para determinar la cantidad de fármaco que permanece en el pulmón (compartimento de absorción) a lo largo del tiempo. Para estimar las concentraciones del fármaco en el pulmón, las cantidades se dividieron por las estimaciones del volumen del líquido pulmonar epitelial (ELF) (25 ml) para cada sujeto. El análisis farmacocinético no compartimental se aplicó posteriormente a estas concentraciones proyectadas de fármaco en el pulmón para determinar los valores de AUC.

20 Datos de esputo: los datos de concentración en esputo se analizaron usando procedimientos farmacocinéticos no compartimentales (Gibaldi M. and Perrier D. Pharmacokinetics, 2ª Edición, Marcel Dekker: Nueva York, 1982). El área bajo la curva de concentración en esputo frente al tiempo se estimó usando la regla trapezoidal lineal. Como el esputo solo se recolectó entre 0.5 y 8 horas, se realizó una extrapolación directa e inversa de las fases terminal e inicial para generar estimaciones de parámetros farmacocinéticos secundarios (C_{max} , AUC).

25 Se generaron parámetros de PK-PD tales como AUC: MIC y C_{max} . MIC para las exposiciones pulmonares estimadas a partir de la deconvolución de los datos de concentración de levofloxacina en suero. Se calcularon ejemplos de parámetros a diferentes valores de MIC de levofloxacina para *P. aeruginosa* a dosis respirables estimadas de levofloxacina que varían desde 20-120 mg administrados dos veces al día en sujetos con CF. Se midieron distribuciones MIC de levofloxacina (MIC₅₀, MIC₉₀, y modo MIC) para aislamientos clínicos de aislados de CF (Traczewski MM and Brown SD. In Vitro activity of doripenem against *P. aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* isolates from both cystic fibrosis and non-cystic fibrosis patients. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:819-21.

30 Resumen de dosificación: Un total de 7 voluntarios normales sanos (NHV) y 9 sujetos con CF se inscribieron en el estudio. Todos los sujetos completaron todas las fases del protocolo; el resumen de la dosis se proporciona en la tabla 8. Siete de 9 sujetos con fibrosis quística recibieron los niveles de dosificación de fármaco respirable de 20 y 40 mg, mientras que 2 sujetos se volvieron a dosificar con el nivel de dosis de 20 mg con pretratamiento con salbutamol. Volumen espiratorio forzado durante 1 segundo (FEV₁)

Tabla 8

Sujeto	Género	FEV ₁ de referencia (% pred)	Dosis de levofloxacina estudiadas		
			20 mg	40 mg	20 mg A*
Voluntarios sanos normales					
001	M	83%	X	X	
002	M	100%	X	X	
003	M	109%	X	X	
004	M	130%	X	X	
006	M	119%	X	X	
008	M	82%	X	X	
009	F	104%	X	X	
Pacientes con fibrosis quística					
010	F	58%	X	X	
012	M	67%	X		X
013	F	40%	X	X	

ES 2 666 230 T3

014	F	40%	X	X	
015	M	74%	X	X	
016	F	66%	X	X	
018	M	63%	X	X	
019	M	42%	X	X	
022	M	48%	X		X
*: A = Estudio repetido usando pretratamiento con salbutamol					

5 Farmacocinética de levofloxacina en suero: la figura 6 muestra las concentraciones medias de levofloxacina en suero en sujetos normales y con CF después de dosis IV y en aerosol. La depuración total de levofloxacina fue de 17.2 y 14.1 L/h en los sujetos NHV y CF, respectivamente. Las concentraciones en suero de levofloxacina después de la administración con aerosol generalmente son paralelas a las observadas con la dosis intravenosa, particularmente después de 1 hora después de la dosificación. La comparación de las AUC de levofloxacina de la dosificación intravenosa o en aerosol usando un análisis independiente del modelo mostró que la exposición a levofloxacina de las dosis de aerosol con respecto a la dosis intravenosa de 50 mg fue (media \pm SD) 35.6 \pm 9.4 % y 59.4 \pm 16.6% para las dosis bajas y altas de aerosol, respectivamente para los voluntarios normales, y 27.9 \pm 3.3 % y 51.1 \pm 11.2 % para sujetos con CF.

10 Análisis de deconvolución en suero: las concentraciones en suero de levofloxacina después de la administración con aerosol se deconvolucionaron con éxito en todos los sujetos, permitiendo la estimación de la cantidad de fármaco en el compartimento de absorción (pulmón) a lo largo del tiempo (Figura 7). La absorción del pulmón en el suero se produjo significativamente más lentamente en sujetos con CF que en voluntarios sanos normales; El 50% de la dosis pulmonar pareció permanecer en el pulmón durante al menos 0.5 horas después de la dosis. Usando un valor de la literatura para la estimación del volumen de fluido de revestimiento epitelial pulmonar (ELF) de 25 ml, las concentraciones estimadas de levofloxacina en ELF de pacientes con CF después de una sola dosis de aerosol se muestran en las figuras 8A y 8B (Rennard, S, G. et al., Estimation of volume of epithelial lining fluid recovered by lavage using urea as a marker of dilution. J. Appl. Physio. 60: 532-8. Las concentraciones medias proyectadas de C_{max} en el ELF de pacientes con CF al final de las dosis baja y alta superiores a 500 μ g/ml y 1000 μ g/ml, respectivamente. Cuando se integró en el tiempo, la AUC de levofloxacina media \pm SD proyectada en el líquido pulmonar fue de 365 \pm 338 y 710 \pm 471 para la dosis baja y alta en sujetos sanos, y 354 \pm 274 y 1,199 \pm 1,147 para dosis bajas y altas en pacientes con CF.

25 Farmacocinética de levofloxacina en el esputo: la figura 9 muestra las concentraciones de levofloxacina en el esputo después de la administración de la dosis de aerosol baja y alta en sujetos con CF. Las concentraciones de levofloxacina en el esputo después de los dos niveles de dosis de aerosol fueron marcadamente más altas durante al menos 1 hora después de la dosis con levofloxacina en aerosol que las obtenidas con la dosis IV de 50 mg. Las concentraciones tendieron a disminuir rápidamente durante las primeras 2 horas de administración, lo que concuerda con la absorción del fármaco desde el pulmón. Las concentraciones de levofloxacina en el esputo fueron variables dentro y entre los pacientes, pero en general la dosis cargada de 86.6 mg sí proporcionó concentraciones más altas durante el período de observaciones.

30 Las concentraciones de levofloxacina en el esputo de sujetos con CF después de la administración con aerosol se promediaron y se compararon con las concentraciones obtenidas por otras vías de administración. La figura 10 representa las concentraciones en el esputo modeladas en sujetos con CF para ambos niveles de dosis de aerosol, la dosis IV de 50 mg para los mismos sujetos infundidos durante 5 minutos, y una dosis oral de 750 mg (otro estudio no descrito en este documento); La tabla 9 muestra los valores de C_{max} , AUC y vida media para las concentraciones medidas de levofloxacina en el esputo.

Tabla 9

Parámetro	IV 50 mg	Aerosol 20 mg	Aerosol 40 mg	Oral 750 mg
C_{max} (mg/L)	0.8	86.2	211.5	8.7
AUC (h.mg/L)	2.5	67.1	171.4	93.4
$T_{1/2}$ (h)	3.8	0.9	1.3	6.7

Mientras que una dosis oral de 750 mg de levofloxacina da como resultado concentraciones más prolongadas de fármaco en el esputo, las dosis en aerosol tan bajas como 20 mg producen concentraciones pico 10 veces mayores.

La figura 6 muestra las concentraciones de levofloxacin en suero después de RDD únicos de 20 o 40 mg de levofloxacin formulados en solución salina, y dosis IV de Levaquin para voluntarios sanos normales y pacientes con CF. Estos datos se usaron para realizar deconvolución farmacocinética como se describió previamente. La figura 7 muestra los resultados de la deconvolución, que muestra la cantidad estimada de levofloxacin que permanece en el pulmón a lo largo del tiempo. La levofloxacin permaneció en el pulmón durante un período más prolongado en pacientes con CF en comparación con voluntarios sanos normales (Figura 7). Notablemente, las concentraciones de levofloxacin observadas en el esputo son consistentes con las concentraciones de ELF proyectadas a partir del análisis de deconvolución (Figuras 8A y 8B frente a la figura 9 y la tabla 9).

Análisis de PK-PD: la integración de la farmacocinética con los datos de susceptibilidad para *P. aeruginosa* permite la evaluación de los efectos farmacodinámicos esperados in vivo. Los parámetros de PK-PD para fluoroquinolonas incluyen las proporciones de AUC:MIC y C_{max} :MIC 24 horas. Las proporciones C_{max} : MIC muy elevadas parecen ser importantes para la muerte bacteriana rápida y la supresión de la resistencia a los fármacos.

Los resultados del análisis de PK-PD con datos de ELF PK simulados (generados a partir de la cantidad de levofloxacin en el pulmón dividido por el volumen de ELF) del análisis de deconvolución para la dosificación diaria de levofloxacin junto con los datos de MIC para *P. aeruginosa* pueden ser utilizado para calcular los índices PK-PD de levofloxacin para *P. aeruginosa*. La tabla 10 muestra los índices de PKPD pronosticados (C_{max} : MIC; AUC: MIC24 horas) para regímenes de dosificación particulares de levofloxacin.

Tabla 10

Levofloxacin MIC* (mg/L)	valores C_{max} :MIC (AUC:MIC24 h) para los regímenes de dosificación de levofloxacin			
	20 mg BID	40 mg BID	80 mg BID	120 mg BID
32	16 (22)	31 (44)	62 (88)	94 (131)
16 (MIC ₉₀)	31 (44)	62 (88)	124 (175)	188 (263)
8	62 (88)	124 (175)	248 (350)	375 (525)
4	124 (175)	248 (350)	496 (700)	750 (1,050)
2	248 (350)	496 (700)	992 (1,400)	1,500 (2,100)
1 (MIC ₅₀)	496 (700)	992 (1,400)	1,884 (2,800)	3,000 (4,200)
0.5 (modo)	992 (1,400)	1,884 (2,800)	3,768 (4,200)	6,000 (8,400)
AUC 24 h (h.mg/L)	700	1,400	2,800	4,200
C_{max} (mg/L)	500	1,000	2,000	3,000

*, MIC₅₀, MIC₉₀, y valores de modo Traczewski MM and Brown SD (2006)

Por ejemplo, una dosis diaria de 20 mg BID de levofloxacin, C_{max} : MIC = 248; AUC: MIC 24 h = 350; y una MIC de levofloxacin = 2 mg/L. Las simulaciones muestran que el valor objetivo primario de C_{max} : MIC > 20 se obtendría mediante todos los regímenes en más del 90% de los aislados de CF de *P. aeruginosa*. Además, el valor objetivo secundario de PK-PD de AUC: MIC 24 h > 300 se obtendría para la mayoría de las cepas en las dosis más bajas, pero también podría cubrir más del 90% de los aislados en las dosis más altas proyectadas para ser evaluadas en próximos estudios clínicos.

Ejemplo comparativo 5-Administración de aerosoles de soluciones de levofloxacin de 30 mg/ml y 50 mg/ml formuladas con MgCl₂

Este ejemplo se refiere a la administración en aerosol a pacientes con CF de soluciones de 30 mg/ml y 50 mg/ml de levofloxacin formulada con MgCl₂. La tabla 11 muestra las formulaciones de levofloxacin con MgCl₂ y lactosa.

Tabla 11

	30 mg/ml	50 mg/ml
Levofloxacin, mg/ml (mM)	30 (81.6)	50 (136)
Magnesio, mg/ml (mM)	1.5 (60)	2.4 (100)

Cloruro, mg/ml (mM)	4.3 (120)	7.1 (200)
Lactosa, mg/ml (mM)	51.4 (150)	51.4 (150)
pH	6.3	6.3
Osmolalidad, mOsm/kg	314	400

Ocho pacientes con CF estables recibieron dosis cargadas de 78 mg, 175 mg y 260 mg (correspondientes a RDD de 40 mg, 80 mg y 120 mg, respectivamente) de levofloxacin formulada con MgCl₂ usando un nebulizador eFlow de alta eficacia (PARI Pharma, Munich, Alemania). Las dosis escalonadas se administraron con una semana de diferencia. A un grupo separado de 7 pacientes con CF se les administró una dosis única de 750 mg de levofloxacin por vía oral a intervalos semanales, durante 4 semanas consecutivas. Las muestras de suero y esputo se analizaron para determinar la levofloxacin por HPLC. Los datos de concentración de levofloxacin en suero y esputo se analizaron usando procedimientos farmacocinéticos no compartimentales. Los parámetros farmacocinéticos medios se muestran en la tabla 12.

Tabla 12

Parámetro		Dosis				
		Aerosol 78 mg RDD: 40 mg	Aerosol 175 mg RDD: 80 mg	Aerosol 260 mg RDD: 120 mg	Oral 750 mg	IV 50 mg
Esputo	C _{max} (mg/L)	388	714	1112	8.7	1.05
	C _{max} : MIC ₉₀ *	49	89	139	1.1	0.1
	AUC _(0-inf) (h.mg/L)	851	656	1448	93.4	5.70
	t _{1/2} (h)	3.09	1.61	2.51	6.70	3.5
Suero	C _{max} (mg/L)	0.48	0.95	1.30	7.30	2.55
	AUC _(0-inf) (h.mg/L)	2.08	4.45	6.54	76.6	3.91
	t _{1/2} (h)	5.69	6.50	6.20	7.60	5.89
	MAT**	1.06	1.61	1.30	ND	ND

*: *P. aeruginosa* MIC₉₀ para aislados de CF es 8 µg/ml

MAT = Tiempo medio de absorción del pulmón.

Los datos de PK-PD han mostrado previamente que, para las fluoroquinolonas, la proporción C_{max}: MIC es un parámetro de PK-PD asociado con la muerte bacteriana óptima y la prevención de la resistencia. La administración en aerosol de levofloxacin con MgCl₂ proporciona concentraciones en esputo que alcanzan proporciones C_{max}: MIC para *P. aeruginosa* > 40. Por el contrario, una dosis oral de levofloxacin de 750 mg produce una proporción de 1.1. Estos datos muestran que las dosis en forma de aerosol de levofloxacin con MgCl₂ proporcionan altas exposiciones en el esputo que son mayores que las que se pueden lograr con la levofloxacin oral.

Ejemplo comparativo 6 - Comparación de la administración en aerosol de RDD de 40 mg de levofloxacin formulada en solución salina o MgCl₂ en pacientes con CF

Este ejemplo se refiere a la administración en aerosol de levofloxacin con MgCl₂ o en solución salina usando dosis estimadas de fármaco respirable (RDD) de 40 mg de levofloxacin. Las concentraciones de levofloxacin en solución salina son de 23.8 mg/ml y 30 mg/ml en una formulación que contiene MgCl₂/lactosa (véase la tabla 11). Pacientes con CF recibieron 40 mg de dosis de fármaco respirable de levofloxacin por administración en aerosol: 7 pacientes recibieron levofloxacin formulada en solución salina; 10 pacientes recibieron la misma RDD estimada recibida con levofloxacin formulada con MgCl₂. Se tomaron muestras de esputo varias veces hasta 24 horas y se determinaron las concentraciones de levofloxacin usando un procedimiento de HPLC/fluorescencia. Las concentraciones medias de levofloxacin medidas en esputo a lo largo del tiempo se muestran en la figura 11. La levofloxacin administrada con MgCl₂ se retiene en el esputo durante un período más prolongado y en concentraciones mayores que la misma dosis de levofloxacin administrada en solución salina.

5 La comparación adicional de los parámetros PK en el esputo de CF para la administración en aerosol de levofloxacin en solución salina (Ejemplo 4-Tabla 8) indica que tanto una C_{max} como la AUC del esputo significativamente mayores se logran mediante la formación de complejos con magnesio (por ejemplo, C_{max} es 211.5 mg/L de levofloxacin contra 388 para levofloxacin:Mg y la AUC es 171.4 h.mg/L de levofloxacin/solución salina frente a 851 h.mg/L de levofloxacin:Mg para 40 mg de dosis respirable).

Ejemplo comparativo 7: Farmacocinética de levofloxacin en pacientes con CF después de la administración en aerosol de formulaciones que contienen $MgCl_2$ más lactosa durante hasta 14 días

10 Los pacientes con CF recibieron dosis administradas respirables de aproximadamente 40 mg, 80 mg o 120 mg por tratamiento (dosis cargadas de 78 mg, 175 mg o 260 mg por tratamiento) el día 1 seguido de dosificación dos veces al día durante 14 días. Las formulaciones mostradas en la tabla 11 se usaron. Se usaron procedimientos PK compartidos y no compartimentales estándar para generar parámetros de PK en suero, esputo y orina (Gibaldi M, Perrier B. Pharmacokinetics. 2nd ed. New York: Marcel-Dekker; 1982. Se determinaron los parámetros de PK para suero y esputo y se muestran en las tablas 13 y 14, respectivamente. La comparación con la administración de levofloxacin en solución salina (Ejemplo 4) indica que tanto una C_{max} como la AUC en el esputo significativamente mayores se logran mediante la formación de complejos con magnesio (por ejemplo, C_{max} es 211.5 mg/L de levofloxacin frente a 448.97 para levofloxacin:Mg y la AUC es 171.4 h.mg/L de levofloxacin frente a 420.54 h.mg/L de levofloxacin:Mg (día 1) para 40 mg de dosis respirable).

Tabla 13

Parámetro		Dosis de levofloxacin cargada (Media \pm SD)		
		78 mg (n=10) RDD: 40 mg	175 mg (n=10) RDD: 80 mg	260 mg (n=10) RDD: 120 mg
Día 1	C_{max} en suero (mg/L)	0.36 \pm 0.6	1.05 \pm 0.29	1.34 \pm 0.42
	T_{max} en suero (h)	0.21	1.00	0.29
	AUC _(0-t) en suero (h.mg/L)	2.2.61 \pm 1.81	9.12 \pm 1.89	10.24 \pm 3.08
	AUC _(inf) en suero (h.mg/L)	3.40 \pm 1.69	9.94 \pm 2.30	11.44 \pm 2.86
	Suero $t_{1/2}$ (h)	7.21 \pm 1.89	6.60 \pm 0.91	7.36 \pm 2.42
Día 15	C_{max} en suero (mg/L)	0.58 \pm 0.35	1.37 \pm 0.56	2.39 \pm 0.56
	T_{max} en suero (h)	0.53	0.98	0.22
	AUC _(0-t) en suero (h.mg/L)	5.16 \pm 1.22	12.95 \pm 5.75	18.12 \pm 12.00
	Suero $t_{1/2}$ (h)	8.48 \pm 2.42	6.52 \pm 0.87	6.62 \pm 1.16

20

Tabla 14

Parámetro		Dosis de levofloxacin cargada (Media \pm SD)		
		RDD 78 mg (n=10): 40 mg	RDD 175 mg (n=10): 80 mg	RDD 260 mg (n=10): 120 mg
Día 1	C_{max} en esputo (mg/L)	448.97 \pm 875.02	1333.96 \pm 1146.55	1766.23 \pm 1493.52
	T_{max} en esputo (h)	0.52	0.53	0.54
	AUC _(0-t) en esputo (h.mg/L)	420.54 \pm 994.99	1468.60 \pm 1420.04	1779.23 \pm 1223.12

ES 2 666 230 T3

	Esputo t _{1/2} (h)	1.54 ±0.56	2.56 ±1.94	5.04
Día 15	C _{max} en esputo (mg/L)	612.06 ±1440.13	1258.82 ± 1888.15	1721.51 ±1511.15
	T _{max} en esputo (h)	0.52	0.53	0.50
	AUC _(0-t) en esputo (h.mg/L)	637.56 ±1280.39	1642.81 ±2849.76	1272.76 ±795.19
	Esputo t _{1/2} (h)	9.96 ±13.9	4.10 ±1.93	2.73 ±1.58

Ejemplo 8 - Administración en aerosol de soluciones de 50 mg/ml y de 100 mg/ml de levofloxacin formuladas con MgCl₂

5 Este ejemplo se refiere a la administración en aerosol a pacientes con CF de soluciones de 50 mg/ml y de 100 mg/ml de levofloxacin formuladas con MgCl₂ a dosis de 180 mg y 240 mg. La tabla 15 muestra las formulaciones de levofloxacin con MgCl₂.

Tabla 15

	50 mg/ml	100 mg/ml
Levofloxacin, mg/ml	50	100
Magnesio, mg/ml (mM)	2.4 (100)	4.9 (200)
Cloruro, mg/ml (mM)	7.1 (200)	14.2 (400)
Lactosa, mg/ml (mM)	51.4 (150)	0(0)
pH	6-8	6-8
Osmolalidad, mOsm/kg	300-500	300-500

10 Se administró levofloxacin con MgCl₂ por inhalación usando un nebulizador PARI eFlow usando tecnología de malla vibratoria con la configuración de cabeza de 35L. Los sujetos recibieron, en un orden especificado por un programa de aleatorización, una dosis única de 180 mg de una formulación particular (50 mg/ml o 100 mg/ml) en el período 1 del estudio, seguido de un período de lavado de 7 días y una sola dosis de 180 mg de la otra formulación (50 mg/ml o 100 mg/ml) en el período 2. Esto fue seguido por 7 días consecutivos de una dosis de 240 mg una vez al día durante el período 3. Las concentraciones en suero y en esputo de levofloxacin fueron medidas usando un procedimiento de HPLC/fluorescencia.

20 Con respecto a las concentraciones en suero de levofloxacin, las concentraciones en suero medias aritméticas de levofloxacin después de la administración de 180 mg con la formulación de 100 mg/ml fueron ligeramente mayores que después de la administración con la formulación de 50 mg/ml (Figura 12). La tabla 16 resume los parámetros farmacocinéticos para levofloxacin después de la administración de dosis únicas de 180 mg como una solución de inhalación de 50 mg/ml o 100 mg/ml y después de la administración de 240 mg como una solución de 100 mg/ml para inhalación una vez al día durante 7 días para pacientes con CF. La C_{max} media y la AUC_(inf) para la formulación de 100 mg/ml fueron un 35% y un 22% mayores que los valores correspondientes para la formulación de 50 mg/ml.

Tabla 16

Parámetro ¹	Dosis: 180 mg		Dosis: 240 mg
	50 mg/ml	100 mg/ml	100 mg/ml
C _{max} en suero (ng/ml)	952 ± 617 (10)	1,284 ± 642 (10)	1,707 ± 624 (10)
T _{max} en suero (h)	0.25 (10)	0.17 (10)	0.3 (10)
C _{min} en suero (ng/ml)	58.5 ± 60.4 (10)	73.5 ± 45.8 (10)	145 ± 172 (10)
AUC _(0-t) en suero (h.ng/ml)	7,074 ± 3,625 (10)	9,054 ± 3,411 (10)	14,771 ± 9,969 (10)

AUC _(inf) en suero (h.ng/ml)	8,058 ± 3,704 (9)	9,848 ± 3,813 (10)	16,930 ± 13,631 (10)
Suero t _{1/2} (h)	6.40 ± 1.27 (9)	6.78 ± 1.61 (10)	7.49 ± 2.89 (10)
¹ Media aritmética ± desviación estándar (N) excepto para T _{max} para la cual se reporta la mediana (N).			

5 En base a una media de t_{1/2} de 6.78 h después de la administración de 180 mg con la formulación de 100 mg/ml, la acumulación con una dosis de una vez al día debería ser de aproximadamente 9%. Hubo un aumento de 1.33 veces en la C_{max} media después de la administración de 240 mg con la formulación de 100 mg/ml, similar al aumento en el nivel de dosis. La AUC_(0-t) en el día 7 después de la administración de 240 mg QD x 7 días es AUC₍₀₋₂₄₎, o la AUC durante el intervalo de dosificación, que debería ser equivalente a AUC_(inf) después de una dosis única. La corrección de 14,771 h.ng/ml AUC_(0-t) media del nivel de dosis de 240 mg al nivel de dosis de 180 mg, da como resultado una estimación de 11,078 h.ng/ml, comparable a la AUC_(inf) observada de 9,848 ± 3,813 h.ng/ml después de la administración de una única dosis de 180 mg de la misma formulación. Esto demuestra la linealidad de la farmacocinética de la levofloxacin después de dosis únicas y múltiples en aerosol de levofloxacin con la formulación de 100 mg/ml. La media aritmética de t_{1/2} fue comparable para los tres tratamientos, que oscilaron desde 6.40 h a 7.49 h.

15 Con respecto a las concentraciones de levofloxacin en el esputo, los valores medios para la concentración aritmética en esputo, C_{max} y AUC fueron similares después de la administración de 180 mg con ya sea la formulación de 50 mg/ml o 100 mg/ml (Figura 13). La tabla 17 resume los parámetros farmacocinéticos del esputo para levofloxacin después de la administración de dosis únicas de 180 mg como una solución de 50 mg/ml o 100 mg/ml de inhalación y después de la administración de 240 mg como solución de 100 mg/ml para inhalación una vez al día durante 7 días a pacientes con CF

Tabla 17

Parámetro ¹	Dosis cargada: 180 mg		Dosis cargada: 240 mg
	50 mg/ml	100 mg/ml	100 mg/ml
C _{max} en esputo (ng/ml)	2,563,119 ± 1,411,715 (10)	2,932,121 ± 2,559,422 (10)	4,690,808 ± 4,515,727 (10)
T _{max} en esputo (h)	0.27 (10)	0.28 (10)	0.29 (10)
C _{min} en esputo (ng/ml)	398 ± 482 (10)	278 ± 192 (10)	697 ± 939 (10)
AUC _(0-t) en suero (h.ng/ml)	1,889,669 ± 1,252,341 (10)	1,958,819 ± 2,109,909 (10)	4,507,180 ± 6,593,884 (10)
AUC _(inf) en suero (h.ng/ml)	1,890,699 ± 1,252,486 (10)	1,960,771 ± 2,110,392 (10)	4,517,439 ± 6,611,353 (10)
t _{1/2} en esputo (h)	3.55 ± 2.69 (10)	4.34 ± 1.80 (10)	4.58 ± 2.54 (10)
¹ Media aritmética ± desviación estándar (N) excepto para T _{max} para la cual se reporta la mediana (N).			

20 Se produjo un aumento de 1.6 veces en C_{max} entre las dosis de 180 mg y 240 mg de la formulación de 100 mg/ml, de 2,932,121 ng/ml a 4,690,808 ng/ml (Tabla 17). En vista del pequeño número de pacientes y la variabilidad entre los sujetos, este aumento es razonablemente consistente con un aumento pronosticado de aproximadamente 1.33 veces. Por el contrario, hubo un aumento de 2.3 veces en la AUC, desde 1,960,771 h.ng/ml [AUC_(inf)] a 4,507,180 h.ng/ml [AUC₍₀₋₂₄₎]. La media aritmética t_{1/2} fue comparable para los tres tratamientos, que oscilaron desde 3.55 h a 4.58 h (Tabla 16).

25 Estos resultados muestran que la exposición a levofloxacin en el esputo fue de órdenes de magnitud mayor que la del suero (Tablas 16 y 17). Sin embargo, la proporción de exposición de levofloxacin en esputo a la del suero fue relativamente independiente de la formulación y la dosis, y promedió aproximadamente 260,000% para C_{max}, y 25,000% para AUC (Tabla 18).

Tabla 18

Parámetro	Proporción Esputo/Suero	
	Dosis: 180 mg	Dosis: 240 mg

	50 mg/ml	100 mg/ml	100 mg/ml
C _{max} (ng/ml)	269,336	228,271	274,796
AUC (h.ng/ml) ¹	23,462	19,911	30,514
¹ AUC _(inf) para las dosis únicas de 180 mg y AUC _(0-t) para la dosis múltiple de 240 mg.			

La exposición al esputo es similar para ambas formulaciones. Teniendo en cuenta la acumulación potencial del régimen de 240 mg QD x 7 días, la exposición sistémica y en esputo después de la administración de 180 mg y 240 mg como la formulación de 100 mg/ml parece ser proporcional a la dosis y consistente entre dosis únicas y múltiples.

- 5 La tabla 19 compara los resultados de AUC y C_{max} de levofloxacina después de la nebulización de las formulaciones mostradas en los ejemplos 4 y 8 como los resultados en bruto o normalizados a la dosis cargada de RDD o nebulizador para cada formulación probada.

Tabla 19

Parámetros PK de levofloxacina en esputo normalizados en dosis en pacientes con CF					
Ejemplo	Formulaciones del ejemplo 4		Formulaciones del ejemplo 8		
Formulación/Dosis	Nivel de dosis A de levofloxacina (12 mg/ml)	Nivel de dosis B de levofloxacina (23.8 mg/ml)	Nivel de dosis C de levofloxacina (50 mg/ml) con MgCl ₂ y lactosa	Nivel de dosis C de levofloxacina (100 mg/ml) con MgCl ₂	Nivel de dosis D de levofloxacina (100 mg/ml) con MgCl ₂
Dosis cargada	43.3	86.6	180	180	240
RDD estimada	20	40	92	98	131
C _{max} (ng/ml)	86,200	211,500	2,563,119	2,932,121	4,690,808
AUC (h.ng/ml)	67,100	171,400	1,890,699	1,960,771	4,517,439
Dosis cargada-C _{max} normalizada (ng/ml por mg de dosis)	1,991	2,442	14,240	16,290	19,545
Dosis cargada-AUC normalizada (h.ng/ml por mg de dosis)	1,550	1,979	10,504	10,893	18,823
RDD- C _{max} normalizada (ng/ml por mg de dosis)	4,310	5,288	27,866	29,862	35,830
RDD- AUC normalizada (h.ng/ml por mg de dosis)	3,355	4,285	20,556	19,969	34,505

- 10 Los parámetros PK de C_{max} y AUC normalizados a la dosis muestran las exposiciones significativamente aumentadas de levofloxacina en el esputo usando las formulaciones del ejemplo 8 que incluyen levofloxacina formulada con Mg²⁺ sobre las formulaciones del ejemplo 4 que carecen de Mg²⁺. Las diferencias en las concentraciones de levofloxacina en el esputo entre las formulaciones del ejemplo 4 y del ejemplo 8 se muestran adicionalmente en la figura 14.

Ejemplo 9: modelo de infección pulmonar de ratón

- 15 Se usó un modelo de infección pulmonar de ratón para comparar la eficacia de la administración intravenosa con la administración pulmonar de fluoroquinolonas. Ocho ratones por grupo fueron infectados con *Klebsiella pneumoniae*

ATCC 43816 por instilación intratraqueal. Veinticuatro horas después de la infección, a los ratones se les administraron dosis de aerosol de 10 o 20 mg/kg dos veces al día (BID) usando un dispositivo de generación microdifusor de aerosol (PennCentury, Philadelphia, PA). Veinticuatro horas después de comenzar el tratamiento, los animales se sacrificaron y se extrajeron sus pulmones, se homogeneizaron y se colocaron en placas para determinar los recuentos de colonias. La

Tabla 20

	Levofloxacin en solución salina		Levofloxacin con MgCl ₂	
	10	20	10	20
Dosis (mg/kg)	10	20	10	20
Levofloxacin (mg/mL)	4	8	4	8
MgCl ₂ (mM)	0	0	8	16
Solución salina (%)	0.9	0.9	0	0
Lactosa (mM)	0	0	12	24

La levofloxacin formulada con MgCl₂ produjo 1 log mayor de muerte bacteriana que la levofloxacin formulada en solución salina en cada dosis probada (Figura 15). Este resultado es consistente con las concentraciones pulmonares aumentadas determinadas en la rata en el ejemplo 2.

Ejemplo 10-Eficacia del aerosol levofloxacin formulado con MgCl₂ en modelos de infección pulmonar de ratón

Este ejemplo se refiere a la administración en aerosol de levofloxacin con MgCl₂ y a la administración intraperitoneal de levofloxacin en solución salina. El propósito de los siguientes estudios fue determinar la eficacia de estas terapias en modelos de infección pulmonar aguda y crónica debidos a *P. aeruginosa*.

Agentes antimicrobianos: se compraron levofloxacin (LKT Laboratories, St. Paul, MN), tobramicina (Sicor pharmaceuticals, Irvine, CA) y aztreonam (MP Biomedicals, Solon, OH) en proveedores independientes. Antes del inicio de cada experimento, se prepararon soluciones madre frescas de cada antibiótico. La levofloxacin formulada con MgCl₂ se diluyó en agua; la levofloxacin y tobramicina se diluyeron en solución salina al 0.9%, el aztreonam se diluyó en bicarbonato de sodio al 7% en agua. La tabla 21 muestra las formulaciones usadas en este estudio.

Tabla 21

	Levofloxacin en solución salina			Levofloxacin con MgCl ₂		
	32	63	125	32	63	125
Dosis (mg/kg)	32	63	125	32	63	125
Levofloxacin (mg/mL)	1.5	3	6	6	12	24
MgCl ₂ (mM)	0	0	0	12	24	48
Solución salina (%)	0.9	0.9	0.9	0	0	0

Ensayo MIC de cepas bacterianas: se usaron *P. aeruginosa* ATCC 27853 y NH57388A en estos estudios. Las MIC se determinaron mediante un ensayo de microdilución en caldo según los procedimientos de referencia del CLSI (Methods for dilution of antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Seventh Edition: Clinical and Laboratory Standards Institute (2006) M&-A7. Los ensayos se realizaron en un volumen final de 100 µl. Las suspensiones bacterianas se ajustaron para producir una densidad celular de 5 x 10⁵ CFU/ml. Se prepararon antibióticos a una concentración equivalente a dos veces la concentración final deseada más alta en medio de cultivo y luego se diluyeron directamente en placas de microtitulación de 96 pocillos. Las placas de microtitulación se incubaron durante 24 h a 35 °C y se leyeron usando un lector de placas de microtitulación (Molecular Devices) a 600 nm y mediante observación visual usando un espejo de lectura de placa de microtitulación. La MIC se definió como la concentración más baja de antibiótico en el que el crecimiento visible del organismo está completamente inhibido.

Ratones: Se obtuvieron ratones hembra suizos (de 5-6 semanas) de Harlan West Coast (Germantown, CA). Todos los estudios se realizaron bajo protocolos aprobados por un comité institucional de cuidado y uso de animales.

Preparación de alginato pseudomonal: se cultivó NH57388A de *P. aeruginosa* en 50 ml de caldo Mueller-hinton (MHB) durante 24-28 h a 37 °C con agitación (170 rpm). Las células bacterianas se recogieron por centrifugación (23,000 x g, 30 min, a 4 °C) y se resuspendieron en 3-6 ml de MHB. El sobrenadante se recogió y se colocó en un baño de agua a

80 °C durante 30 minutos. El alginato se precipitó añadiendo el sobrenadante a 150 ml de etanol helado al 99%. El alginato precipitado se recogió con un asa bacteriana estéril y se lavó varias veces en solución salina estéril. El alginato purificado se resuspendió luego en 10 ml de solución salina estéril y se agitó vigorosamente para formar una suspensión homogénea. La concentración de alginato se midió y se ajustó a una concentración de 2-3 mg/ml.

5 Administración en aerosol de antibióticos: se formaron aerosoles con antibióticos usando un dispositivo microdifusor de aerosol (Micro-Sprayer Modelo IA-C, PennCentury, Philadelphia, PA) unido a una jeringa de alta presión FMJ-250 (PennCentury, Philadelphia, PA). Este dispositivo produce una aspersión de diámetro medio de masa 16-22 µm. Para la administración, cada ratón se anestesió (isoflurano al 5% en oxígeno corriendo a 4 L/min) y se posicionó de forma segura en un ángulo de 45-50° con los dientes superiores, se insertó la punta de aerosol del microdifusor en la bifurcación y se administró un volumen de 50 µl.

15 Farmacocinética: a ratones (n = 3/punto de tiempo) se les administró una dosis única de 60 mg/kg de levofloxacin en aerosol formulada con MgCl₂ o una dosis IP de 20 mg/kg de levofloxacin. Los ratones se sacrificaron a 0.08, 0.16, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, 3.0, y 4.0 horas después de la dosificación y se recogieron sus pulmones. Las concentraciones de homogeneizado pulmonar de levofloxacin administradas como levofloxacin o levofloxacin formulada con MgCl₂ se midieron usando un procedimiento de HPLC. Se prepararon patrones analíticos (de 0.05 a 100 mg/L) en homogeneizado fresco de pulmón de ratón recogido de animales no tratados. El homogeneizado de pulmón o patrones para ambos compuestos se mezclaron con el doble del volumen de ácido tricloroacético al 4%, se agitaron en vortex y luego se centrifugaron a 12,000 rpm durante 10 minutos usando una centrifuga Eppendorf 5415c refrigerada ajustada a 4-10 °C. Se inyectaron alícuotas del sobrenadante (25 µl) directamente sobre la HPLC usando un autoinyector de temperatura controlada a 10 °C. Se construyeron curvas estándar del área del pico frente a la concentración estándar, y los datos se ajustaron usando regresión lineal ponderada (Microsoft Excel, Seattle, WA). Las concentraciones de levofloxacin en el homogenato de pulmón se calcularon a partir de estas curvas estándar. Los parámetros farmacocinéticos de los pulmones se determinaron usando WinNonlin (Pharsight, Mountain View, CA).

25 Modelo de infección aguda de pulmón de ratón: se cultivó *P. aeruginosa* ATCC 27853 durante una noche en MHB a 35 °C. Las suspensiones bacterianas se ajustaron a aproximadamente 1-6 x 10⁵ CFU/ml por correlación de la absorbancia a 600 nm con recuentos de placa predeterminados. Se hicieron ratones hembra suizos neutropénicos por inyección intraperitoneal (IP) de 150 mg/kg de ciclofosfamida (Baxter, Deerfield) los días 1 y 3. En el día 4, los ratones se infectaron por instilación intratraqueal (IT) de 0.05 ml de inóculo usando una punta de sonda oral curvada unida a una jeringa de 1 ml. Los tratamientos con antibióticos comenzaron 24 horas después de la infección y se administraron una o dos veces al día durante 24 o 48 h. Los antibióticos fueron administrados en forma de aerosol usando un dispositivo microdifusor de aerosol. Todas las infecciones y los tratamientos en aerosol se realizaron bajo anestesia con isoflurano (5% de isoflurano en oxígeno que fluye a 4 L/min). Se sacrificó un grupo de ratones no tratados (n = 8) antes del inicio del tratamiento para determinar los recuentos bacterianos iniciales. Los animales tratados (n = 8) se sacrificaron 12-16 h después de la última dosis de antibiótico mediante asfixia con dióxido de carbono. Los pulmones se retiraron de forma aséptica y se homogeneizaron (homogeneizador Pro200, Pro Scientific, Monroe, CT) en 1 ml de solución salina estéril. Se sembraron en placa diluciones en serie de 10 veces del pulmón homogeneizado en agar Mueller-hinton (MHA), y se contaron las colonias. Para los estudios de supervivencia, se observaron ratones (n = 10) durante 7 días después del final del tratamiento o un total de 9 días después de la infección.

40 Modelo de infección pulmonar crónica por ratón: se cultivó NH57388A de *P. aeruginosa* en 50 ml de MHB durante 24 - 28 horas a 37 °C con agitación (170 rpm). Las células bacterianas se recogieron mediante centrifugación (23,000 x g, 30 min, a 4 °C) y se resuspendieron en 3-6 ml de MHB (Hoffmann, N.T.B. et al. 2005. Novel mouse model of chronic Pseudomonas aeruginosa lung infection mimicking cystic fibrosis. Infect Immun 73:2504-14. La suspensión bacteriana se diluyó (1:10) en la suspensión de alginato para producir aproximadamente 10⁸ CFU/ml. El establecimiento inicial de la infección se logró mediante una neutropenia transitoria usando una sola dosis de IP de 150 mg/kg de ciclofosfamida 4 días antes de la infección. En el día 4, los ratones se infectaron usando una sonda nasogástrica curvada unida a una jeringa de 1 ml bajo anestesia con isoflurano. Los tratamientos con antibióticos comenzaron 24 horas después de la infección y se administraron dos veces al día durante tres días consecutivos con diversas concentraciones de antibióticos por vía IP o por aerosol usando un dispositivo microdifusor. 12-16 h después del último tratamiento, se sacrificaron los ratones y se determinaron los recuentos de colonias en el pulmón como se describe en este documento.

50 Análisis estadístico: Se analizaron los recuentos bacterianos de supervivencia y pulmón mediante log-rank y la prueba U de Mann-Whitney (versión GraphPad Prism de 4.03), respectivamente. Un valor de P de <0.05 se consideró estadísticamente significativo.

Concentración mínima inhibitoria de antibióticos

55 La concentración mínima inhibitoria (MIC) de las cepas de *P. aeruginosa* usadas en estudios con animales se muestra en la tabla 22. La tobramicina fue el antibiótico más potente in vitro, con MIC de <1 µg/ml, levofloxacin formulada con MgCl₂ y la levofloxacin tenía MIC de 1 y 2 µg/ml, y aztreonam tenía MIC de 4 µg/ml contra ambas cepas

Tabla 22

<i>P. aeruginosa</i> strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	Levofloxacin formulada con MgCl_2	Levofloxacin	Tobramicina	Aztreonam
ATCC27853	1	1	0.25	4
NIH57388A CF	2	2	0.5	4

Farmacocinética del ratón

- 5 Los parámetros farmacocinéticos de pulmón normalizados para levofloxacin formulados con MgCl_2 y levofloxacin se muestran en la tabla 23. La administración en aerosol de 60 mg/kg de levofloxacin formulada con MgCl_2 produjo valores de AUC y C_{max} de levofloxacin que fueron 9 y 30 veces mayores que los logrados con dosis normalizada de administración intraperitoneal de levofloxacin.

Tabla 23

Parámetro	Levofloxacin formulada con MgCl_2	Levofloxacin formulada en solución salina
Vía de administración	Aerosol	IP
Dosis (mg/kg)	60	20
C_{max} (mg/kg) (Normalizada a 60 mg/kg)	550	6.2 (18.6)
AUC (h.mg/kg) (Normalizada a 60 mg/kg)	106	4.1 (12.3)

- 10 Levofloxacin en aerosol formulada con MgCl_2 frente a levofloxacin sistémica en modelos de infección pulmonar aguda y crónica

- 15 En el modelo de infección pulmonar aguda, el tratamiento con aerosol con 125, 62.5 y 32 mg/kg de levofloxacin formulada con MgCl_2 produjo reducciones de 5.9, 4.3, y 2.3 log de CFU en los recuentos de bacterias pulmonares, respectivamente (Figura 16). El tratamiento sistémico con 125, 62.5, y 32 mg/kg de levofloxacin produjo reducciones de 3.5, 2.7, y 0.65 log de CFU, respectivamente. La reducción en los recuentos bacterianos con levofloxacin en aerosol formulada con MgCl_2 fue mayor que la observada con levofloxacin IP por dosis ($p < 0.05$).

- 20 En el modelo de infección pulmonar crónica, el tratamiento intraperitoneal con 60, 30 y 15 mg/kg de levofloxacin en solución salina produjo un aumento de 0.15, 0.32 y 0.83 log en los recuentos bacterianos, respectivamente (Figura 17). Por el contrario, la dosificación en aerosol con 60, 30 y 15 mg/kg de levofloxacin formulada con MgCl_2 produjo disminuciones de 1.26, 0.62, y 0.07 log en los recuentos bacterianos, respectivamente. En general, la carga bacteriana en el pulmón fue significativamente menor en los ratones tratados con levofloxacin en forma de aerosol formulada con MgCl_2 en comparación con levofloxacin sistémica en una dosis por dosis en ambos modelos de infección ($p < 0.05$ para levofloxacin formulada con MgCl_2 frente a levofloxacin sistémica).

Levofloxacin, tobramicina y aztreonam en aerosol, en un modelo de infección pulmonar letal aguda

- 25 Para comparar los efectos de levofloxacin formulada con MgCl_2 , tobramicina y aztreonam en el modelo de infección pulmonar aguda, los ratones se infectaron con *P. aeruginosa* ATCC 27853 y se trataron mediante la ruta de aerosol dos veces al día durante 2 días consecutivos. Debido a la toxicidad, la tobramicina se limitó a una dosis máxima de 60 mg/kg y el aztreonam se limitó a una dosis máxima de 400 mg/kg. Además, debido a la necesidad de anestesia para el tratamiento, el número máximo de dosis diarias se limitó a dos.
- 30 Como se muestra en la figura 18, la dosificación en aerosol con levofloxacin formulada con MgCl_2 , tobramicina y aztreonam produjo reducciones medias de 4.10, 2.70 y 0.24 log de CFU por pulmón, respectivamente ($p < 0.05$ para las comparaciones de levofloxacin formulada con MgCl_2 con aztreonam). Notablemente, la administración de la misma dosis diaria total de levofloxacin formulada con MgCl_2 como dosis únicas o dos veces al día dio como resultado reducciones similares en los recuentos de *P. aeruginosa* en el pulmón.
- 35 La supervivencia se controló durante 9 días. Como se muestra en la figura 19, todos los ratones no tratados sucumbieron a la infección después de 3 días. El tratamiento con 800 mg/kg/día (400 mg/kg BID) de aztreonam en aerosol tuvo la tasa de supervivencia más baja entre los antibióticos utilizados en este estudio (20%) y no fue significativamente diferente de los ratones no tratados ($p > 0.05$). El tratamiento con 120 mg/kg/día (60 mg/kg BID) de

tobramicina produjo una tasa de supervivencia del 60% que fue estadísticamente diferente a la de los controles ($p < 0.05$). El tratamiento con levofloxacina 120 mg/kg/día formulada con $MgCl_2$ como 120 mg/kg QD o 60 mg/kg BID produjo 100% de supervivencia que fue significativamente diferente de los controles no tratados o aztreonam ($p < 0.05$), pero no significativamente diferente de tobramicina ($p = 0.056$).

5 Levofloxacina, tobramicina y aztreonam en aerosol en un modelo de infección pulmonar crónica

La levofloxacina en aerosol formulada con $MgCl_2$, tobramicina y aztreonam produjo reducciones medias de log de CFU de 3.3, 2.9, y 1.25, respectivamente (Figura 20). Las dosis en forma de aerosol de tobramicina o levofloxacina formulada con $MgCl_2$ produjeron recuentos bacterianos significativamente más bajos en comparación con aztreonam, o grupos de control no tratados ($p < 0.05$).

10 Estos estudios in vivo muestran que la dosificación en aerosol de levofloxacina formulada con $MgCl_2$ produce una mayor muerte antibacteriana que la dosificación sistémica en modelos de infección pulmonar de *P. aeruginosa* tanto aguda como crónica. Cabe destacar que la dosificación dos veces al día con levofloxacina formulada con $MgCl_2$ redujo la carga bacteriana pulmonar en un grado similar o mayor que el observado con tobramicina y aztreonam en forma de aerosol (Figura 18). Esta reducción en la carga bacteriana en los pulmones se tradujo en una mejor supervivencia (Figura 19).

15 Además, las comparaciones de la dosificación de levofloxacina formulada individualmente con $MgCl_2$ individualmente versus dos veces al día mostraron una muerte bacteriana y una supervivencia comparables, lo que sugiere que el tratamiento con levofloxacina formulado una vez al día con $MgCl_2$ puede ser posible en pacientes. Una vez al día, la administración de un medicamento es particularmente ventajosa con respecto a administraciones múltiples, en las que las administraciones múltiples son inconvenientes para los pacientes y pueden dar como resultado una adherencia deficiente al tratamiento.

20 Si bien se han mostrado y descrito en este documento realizaciones preferidas de la presente invención, será obvio para los expertos en el arte que tales realizaciones se proporcionan solo a modo de ejemplo. A los expertos en la materia se les ocurrirán numerosas variaciones, cambios y sustituciones sin apartarse de la invención. Se debe entender que diversas alternativas a las realizaciones de la invención descritas en este documento se pueden emplear en la práctica de la invención. Se pretende que las siguientes reivindicaciones definan el alcance de la invención y que se cubran así

25 los procedimientos y estructuras dentro del alcance de estas reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un aerosol de una solución acuosa, comprendiendo la solución desde 80 mg/ml a 120 mg/ml de levofloxacina u ofloxacina y desde 160 mM a 220 mM de un catión divalente o trivalente, en el que la solución tiene un pH desde 5 a 7 y una osmolalidad desde 300 mOsmol/kg a 500 mOsmol/kg, para uso en el tratamiento de una infección pulmonar en un humano, en el que la levofloxacina u ofloxacina se administra en una dosis de 20 a 300 mg dos veces al día.
2. El aerosol para uso de la reivindicación 1, que comprende desde 80 mg/ml a 120 mg/ml de levofloxacina.
3. El aerosol para uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el catión divalente o trivalente se selecciona de magnesio, calcio, zinc, cobre, aluminio y hierro.
- 10 4. El aerosol para uso de la reivindicación 1, en el que la solución consiste esencialmente en una concentración de levofloxacina de 90 mg/ml a 110 mg/ml, una concentración de cloruro de magnesio de 180 mM a 220 mM, un pH de 5 a 7, una osmolalidad de 300 mOsmol/kg a 500 mOsmol/kg, y carece de lactosa.
5. El aerosol para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la concentración de catión divalente o trivalente es 200 mM.
- 15 6. El aerosol para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la concentración de levofloxacina u ofloxacina es de 100 mg/ml.
7. El aerosol para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la infección pulmonar está asociada con un trastorno seleccionado del grupo que consiste en fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, bronquiectasias, neumonía y asma.
- 20 8. El aerosol para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la infección pulmonar comprende una o más bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas acidovorans*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophilia*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia intermedia*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus haemolyticus*, *Haemophilus parahaemolyticus*, *Haemophilus ducreyi*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Borrelia burgdorferi*, *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia*, *Francisella tularensis*, *Kingella*, *Moraxella*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides distasonis*, grupo de homología *Bacteroides* 3452A, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides ovalus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides eggerthii*, *Bacteroides splanchnicus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus milleri*; *Streptococcus* (Grupo G); *Streptococcus* (Grupo C/F); *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetini*, y *Clostridium botulinum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium leprae*, *Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*.
- 40

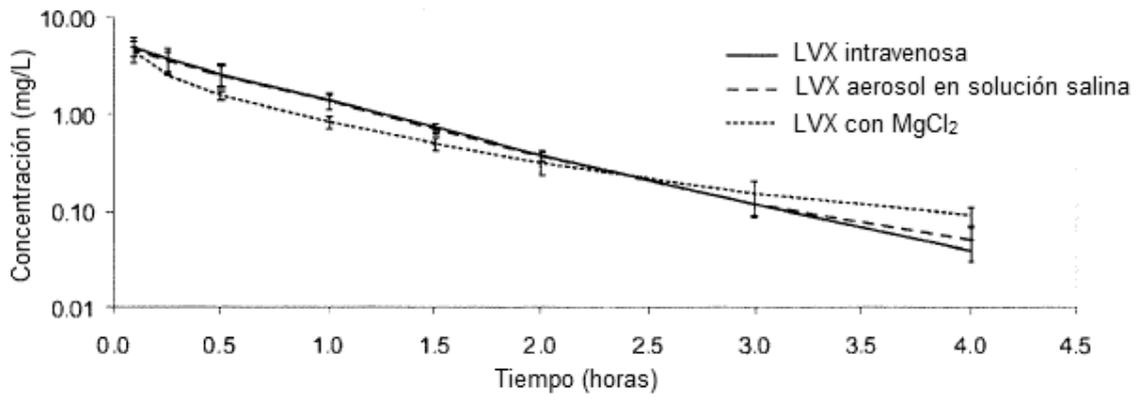


FIG. 1

Comparación de niveles en pulmón después de dosis en aerosol de 10 mg/kg de Levofloxacin en solución salina y levofloxacin formulada con cationes divalentes

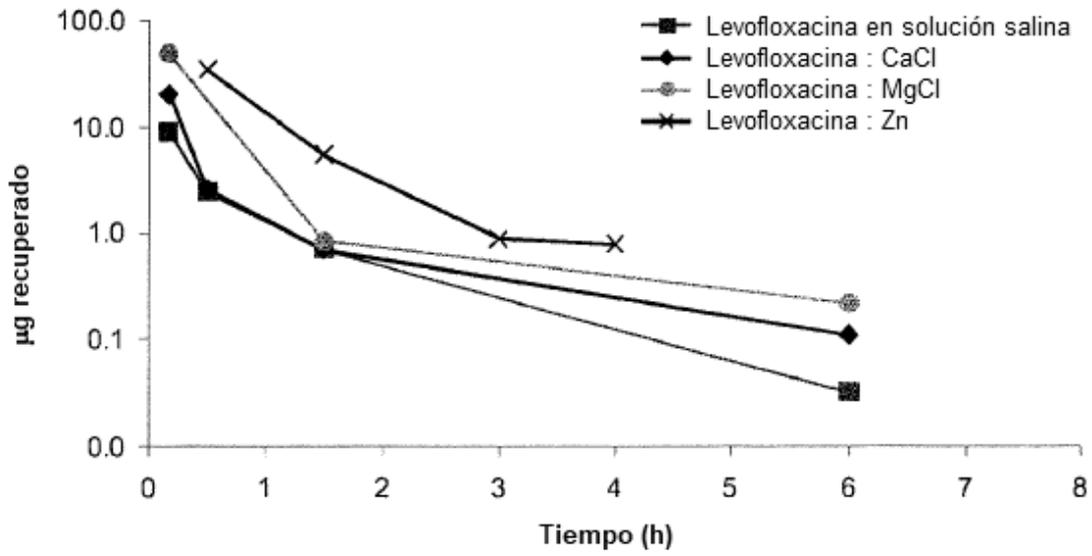


FIG. 2

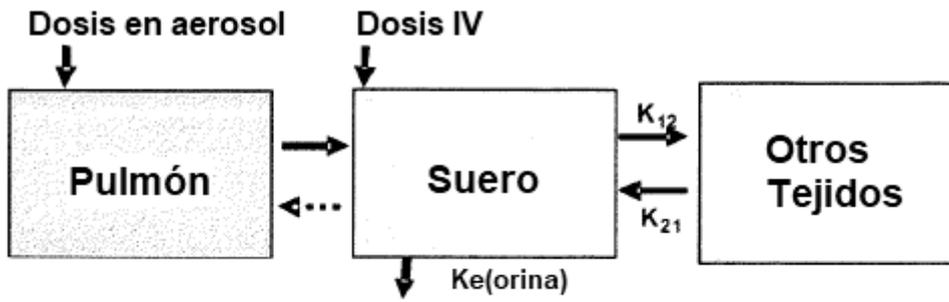


FIG. 3

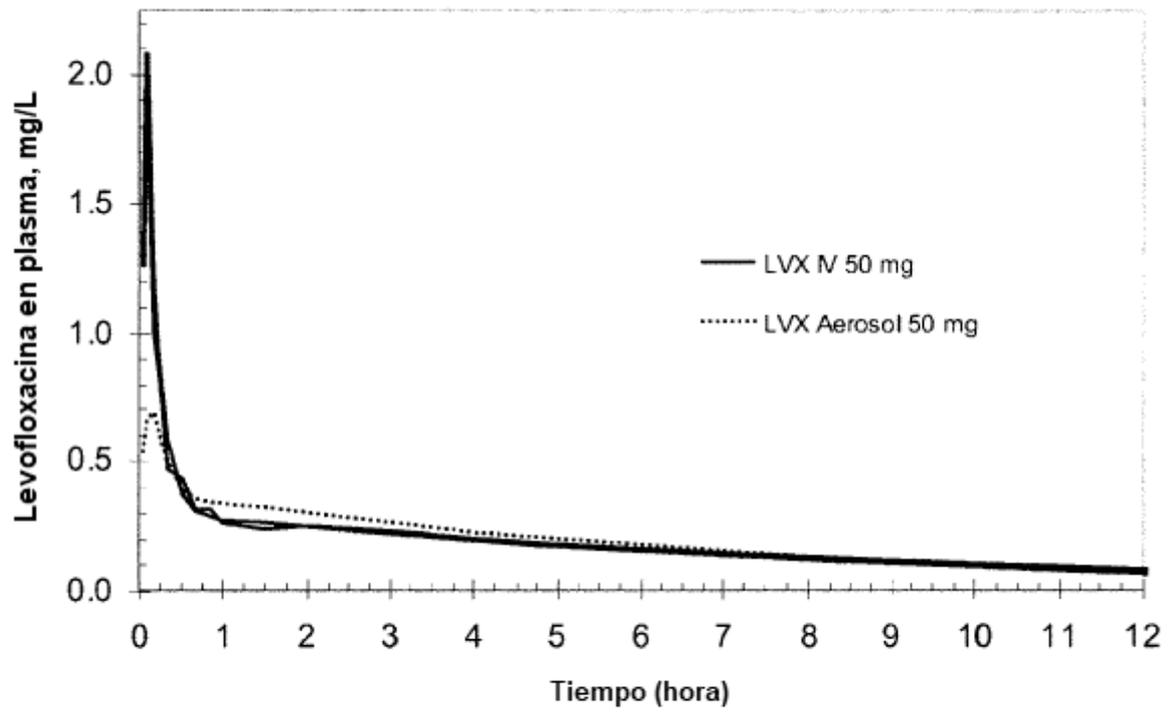


FIG. 4

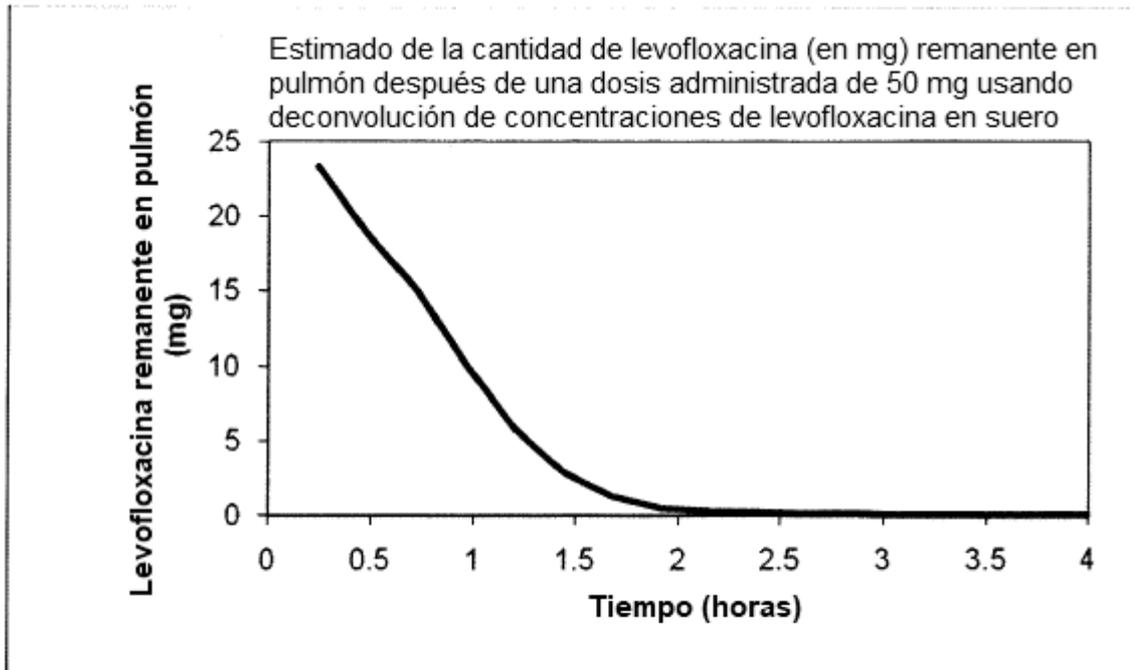


FIG 5

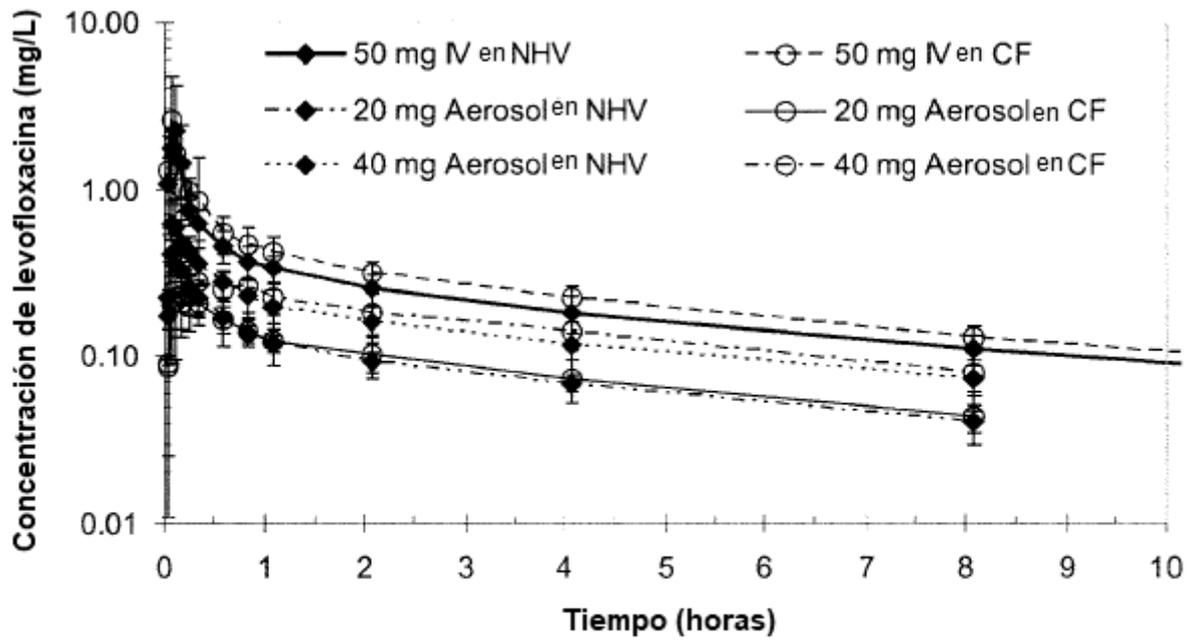


FIG. 6

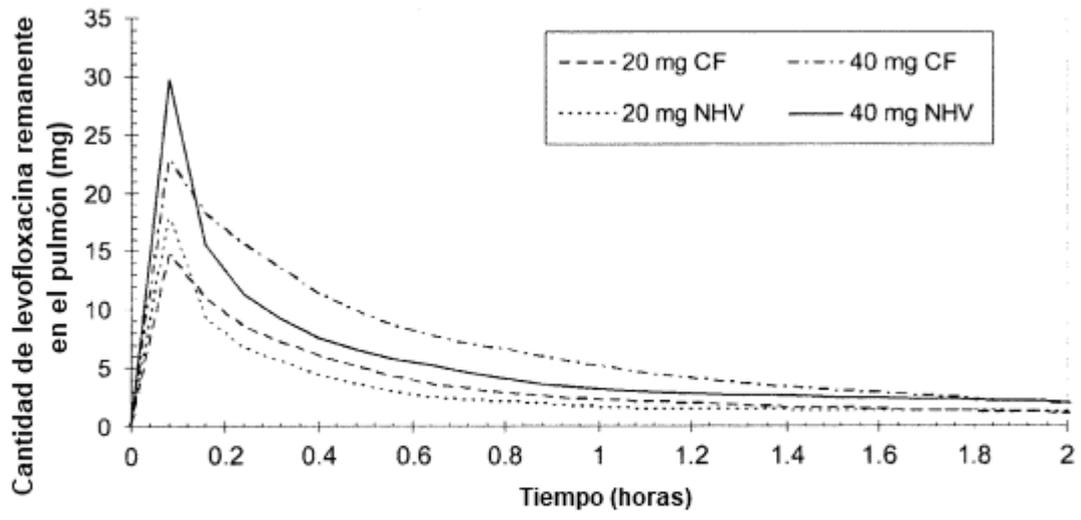


FIG. 7

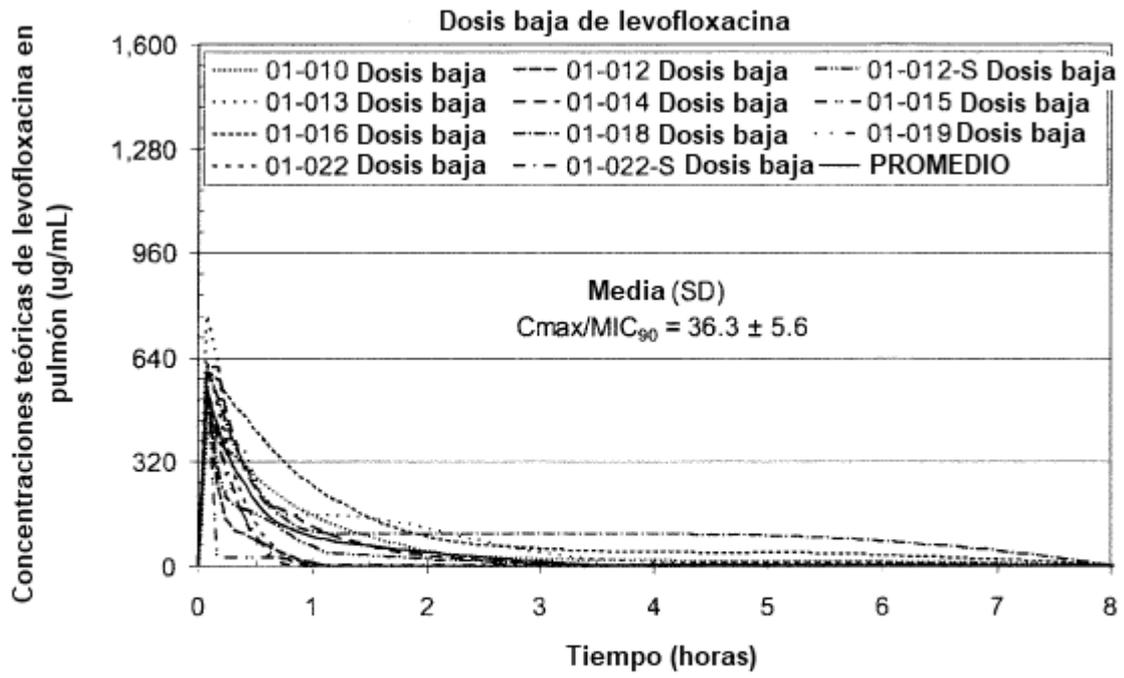


FIG. 8A

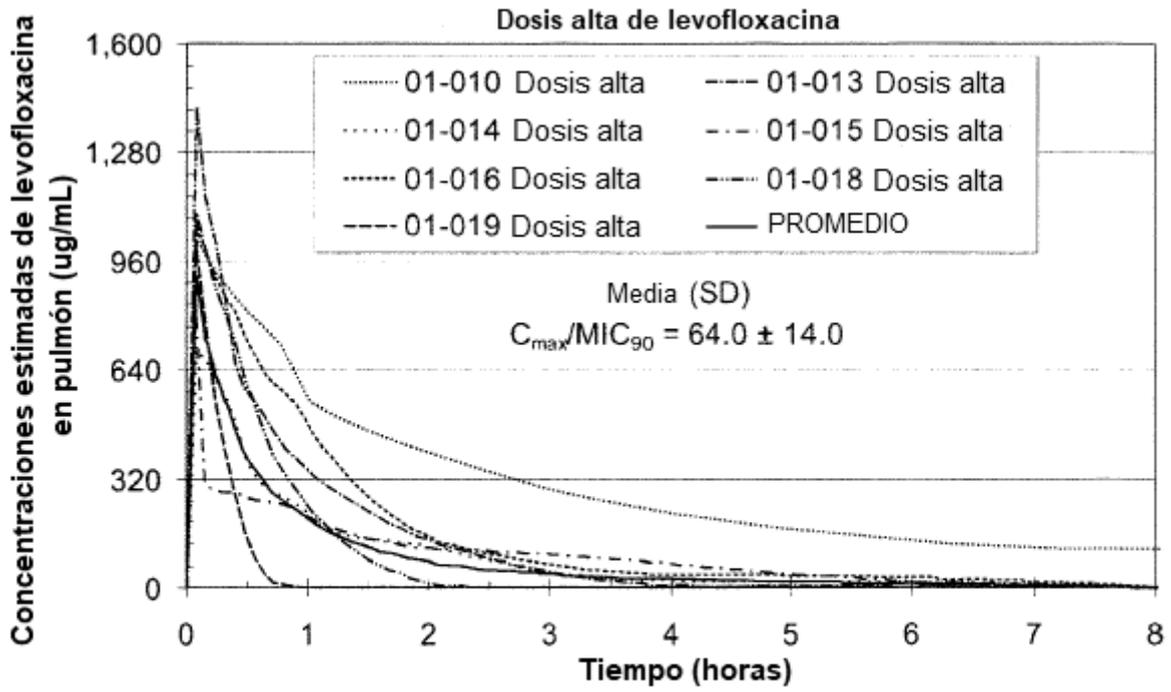


FIG. 8B

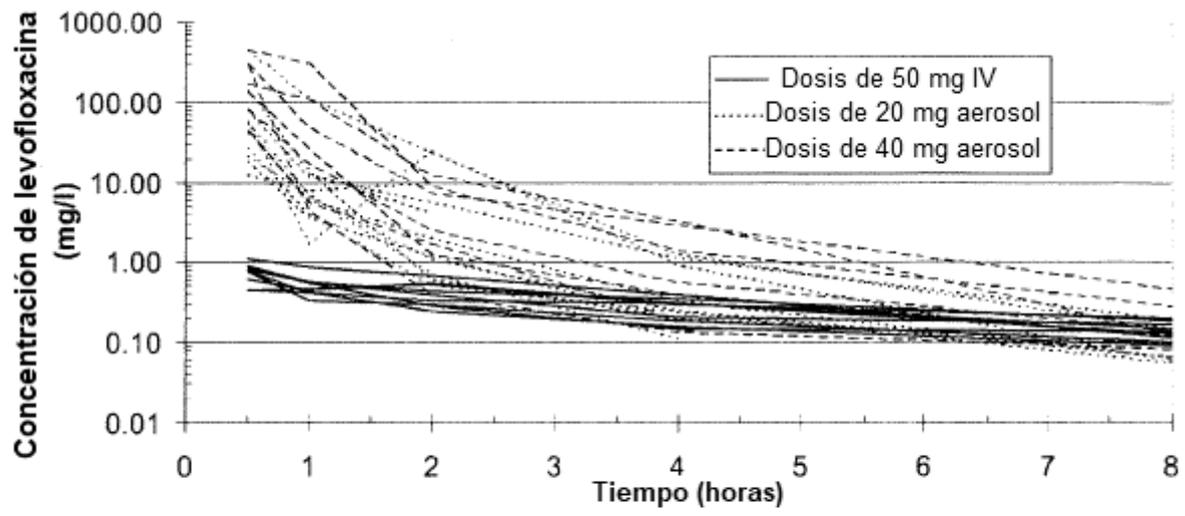


FIG. 9

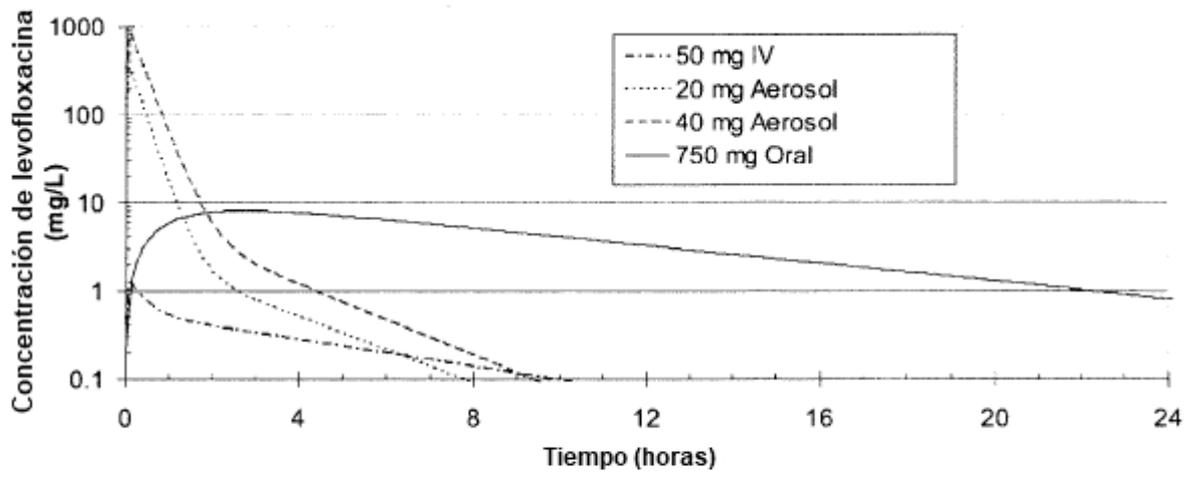


FIG. 10

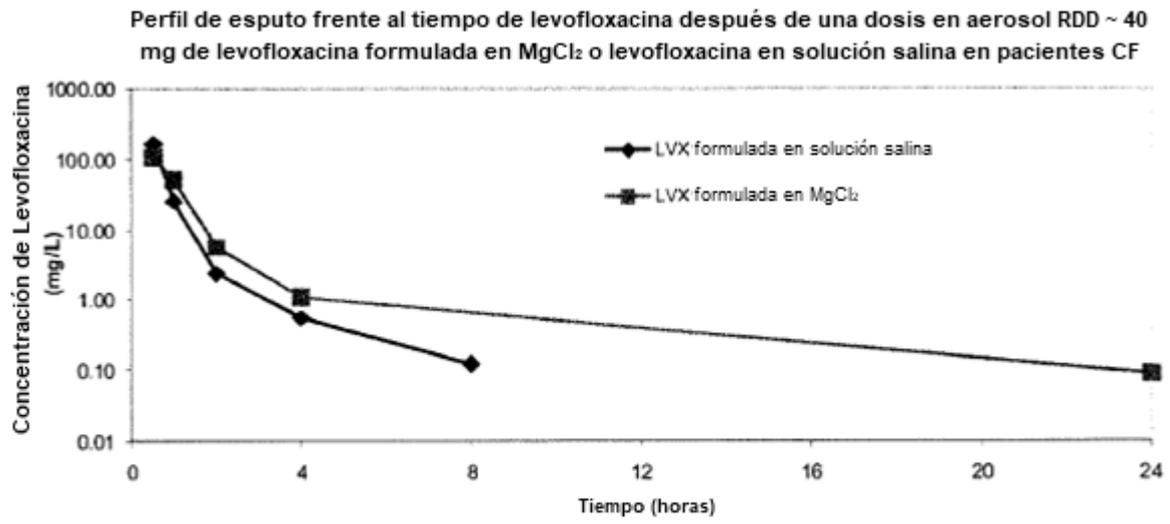


FIG. 11

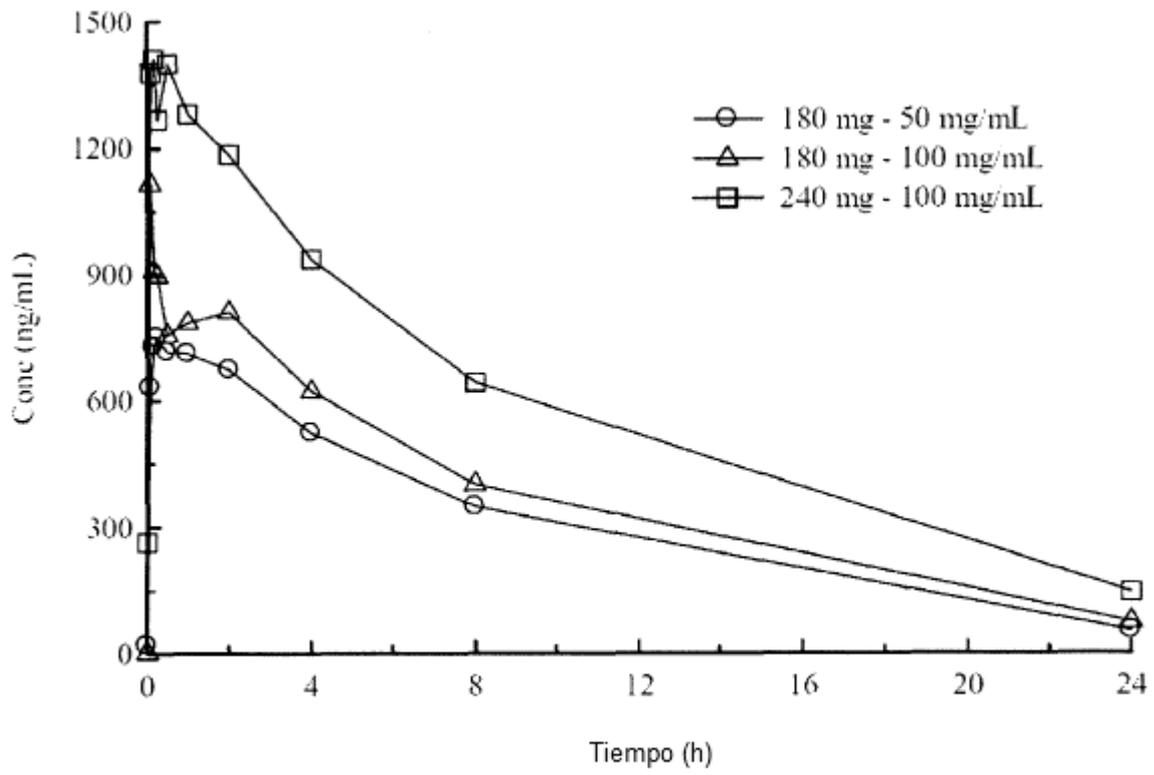


FIG. 12

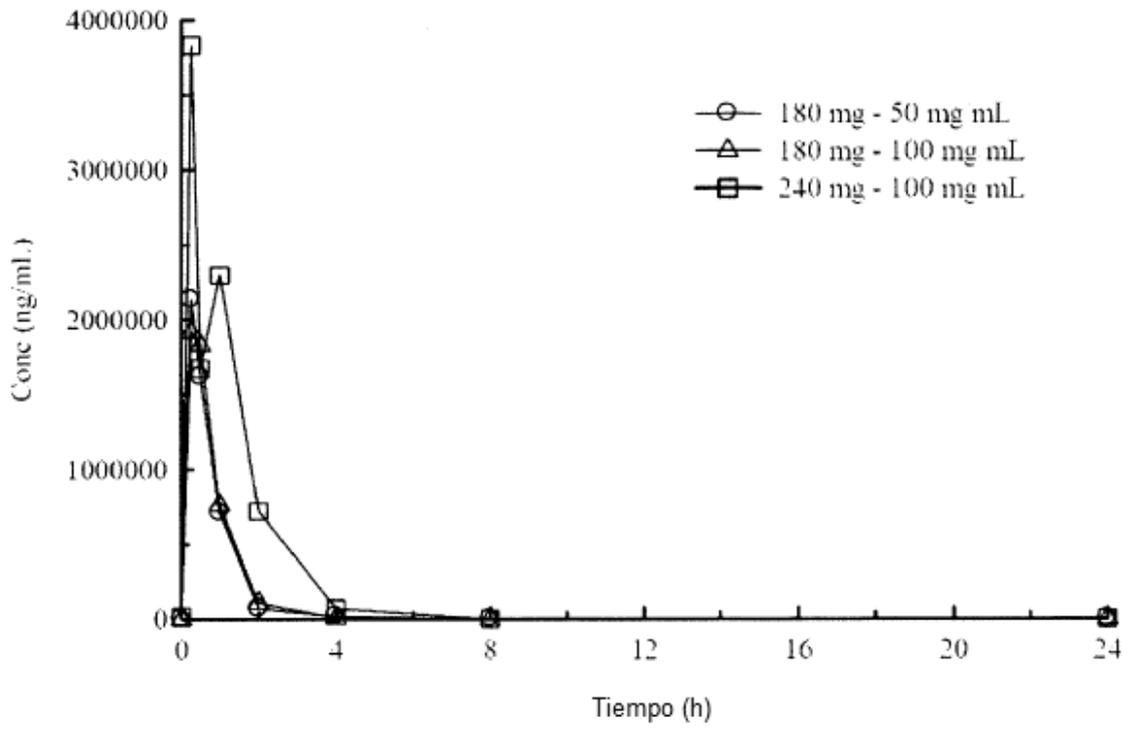


FIG. 13

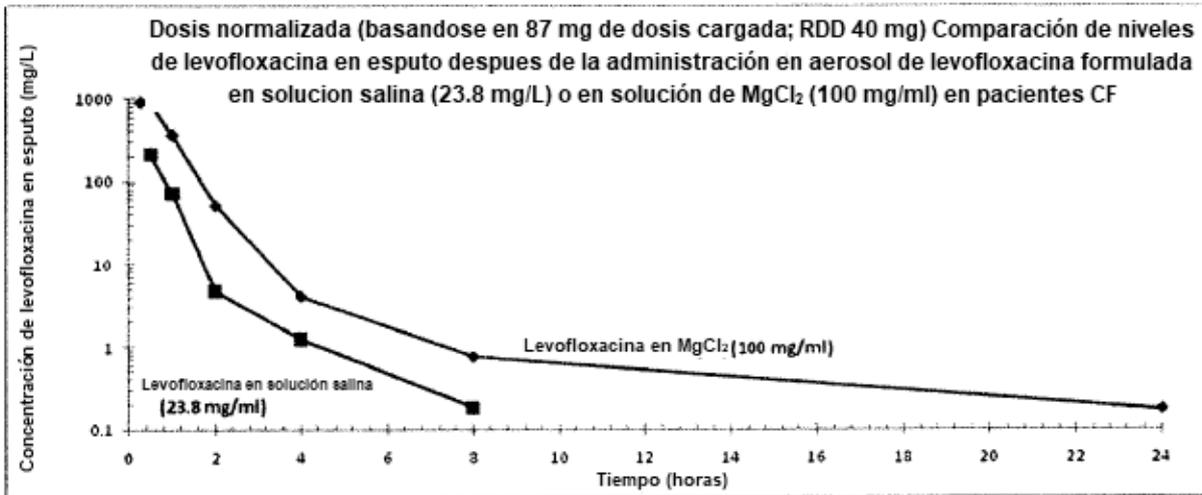


FIG 14

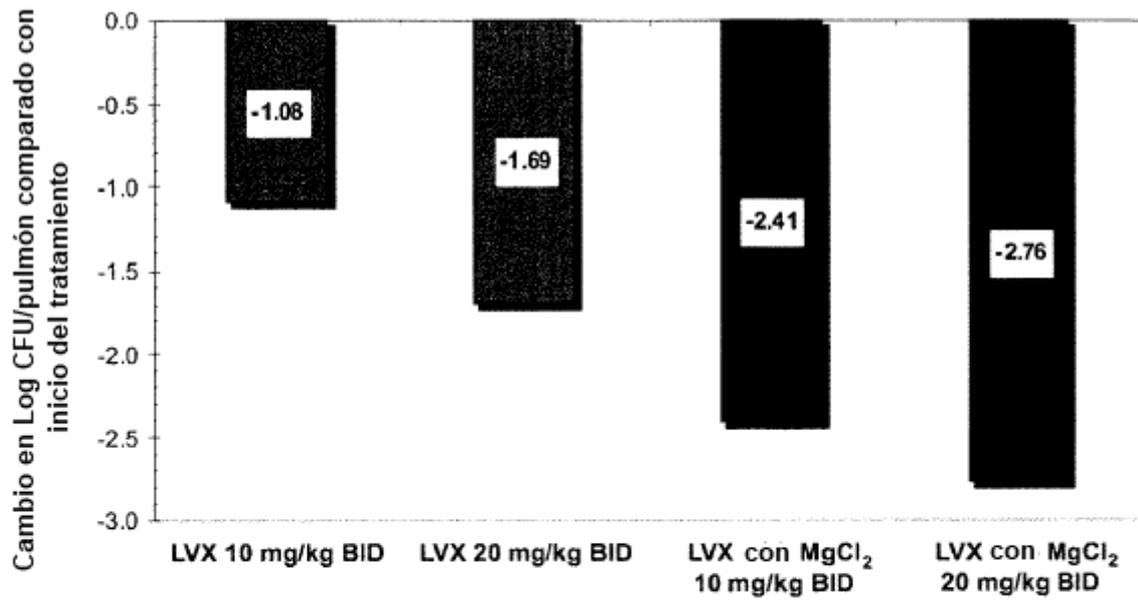


FIG 15

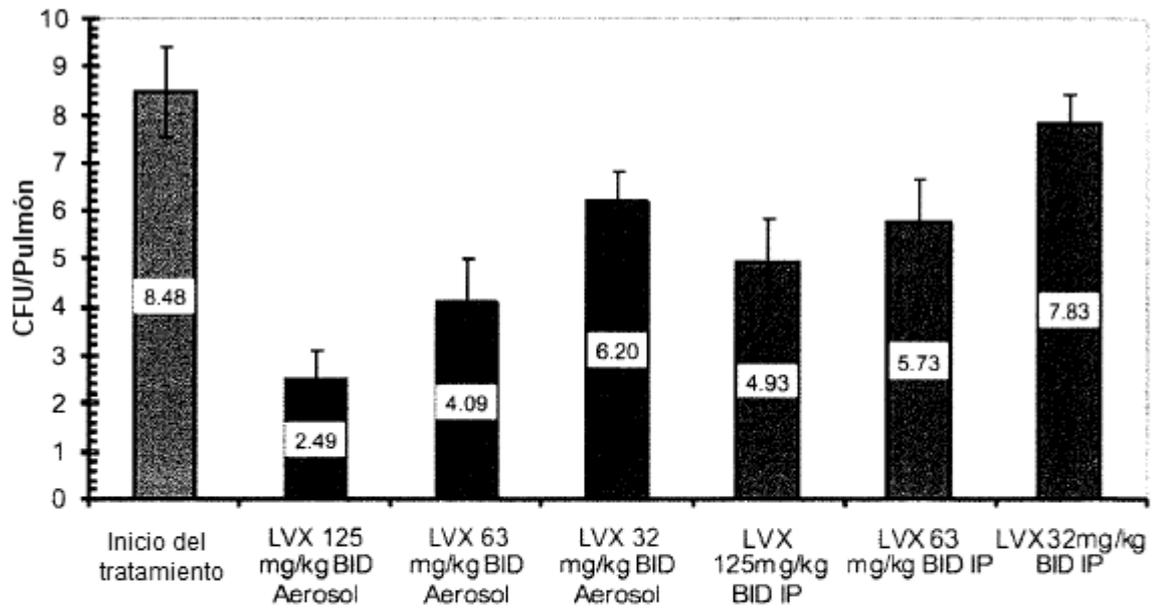


FIG 16

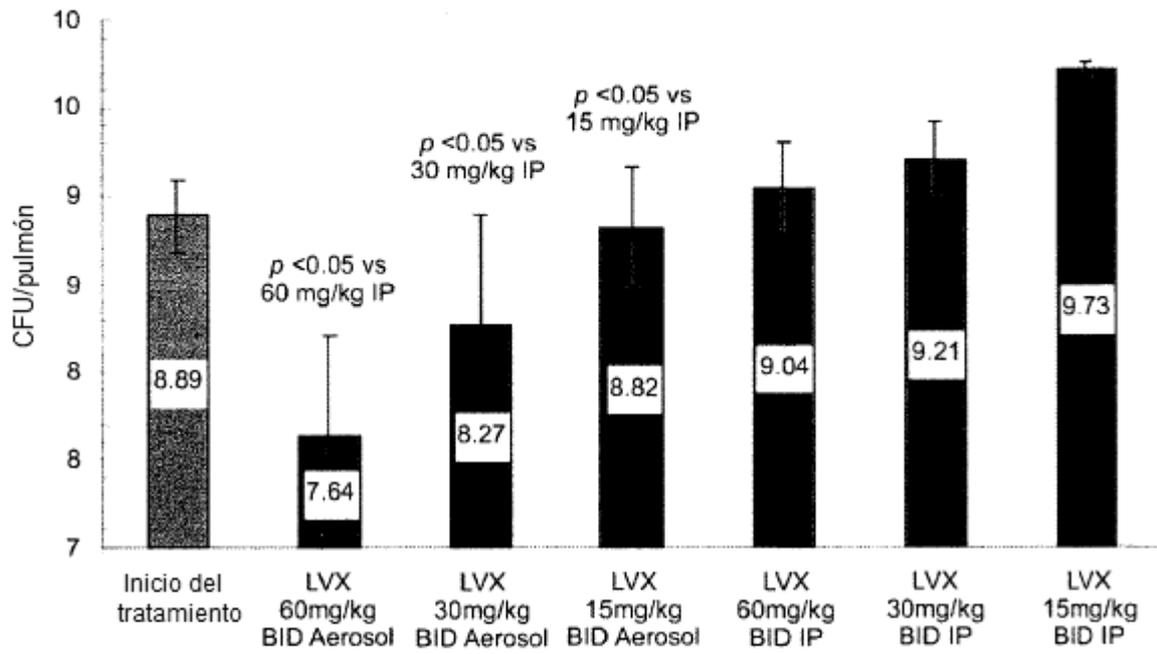


FIG 17

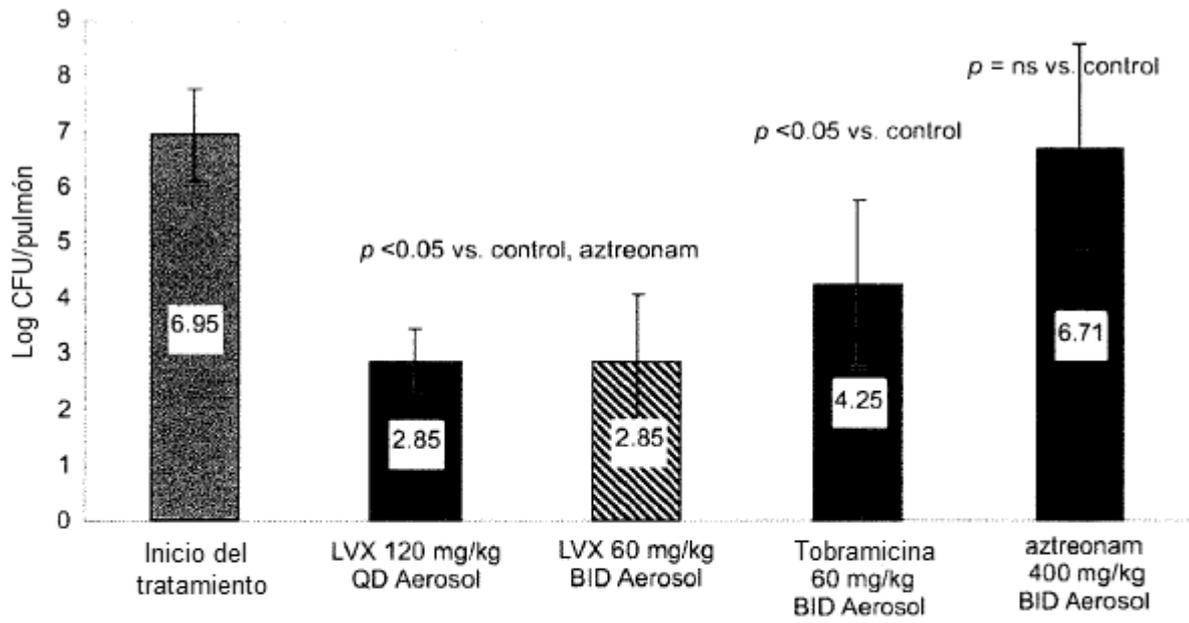


FIG 18

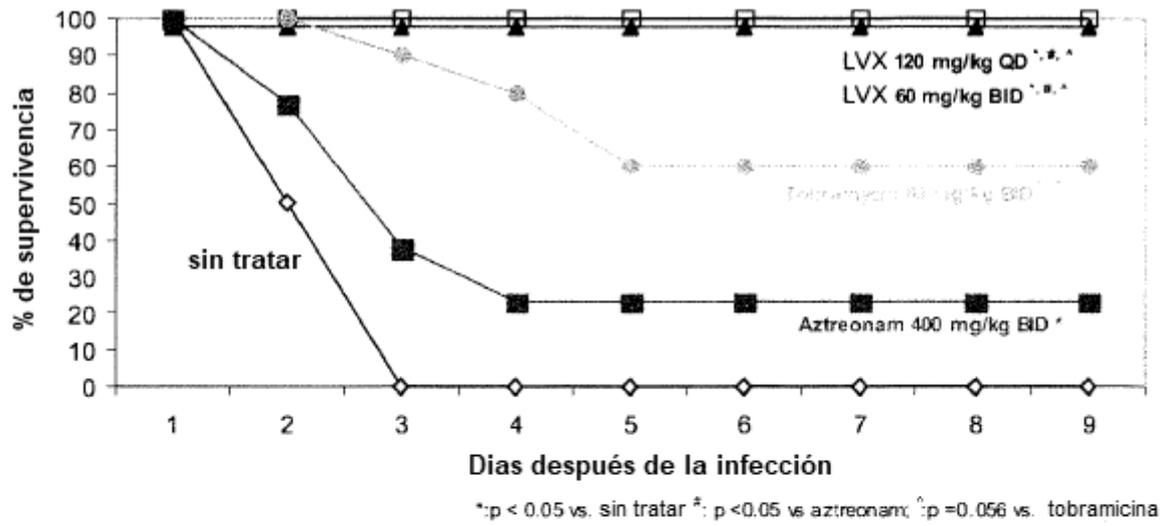


FIG 19

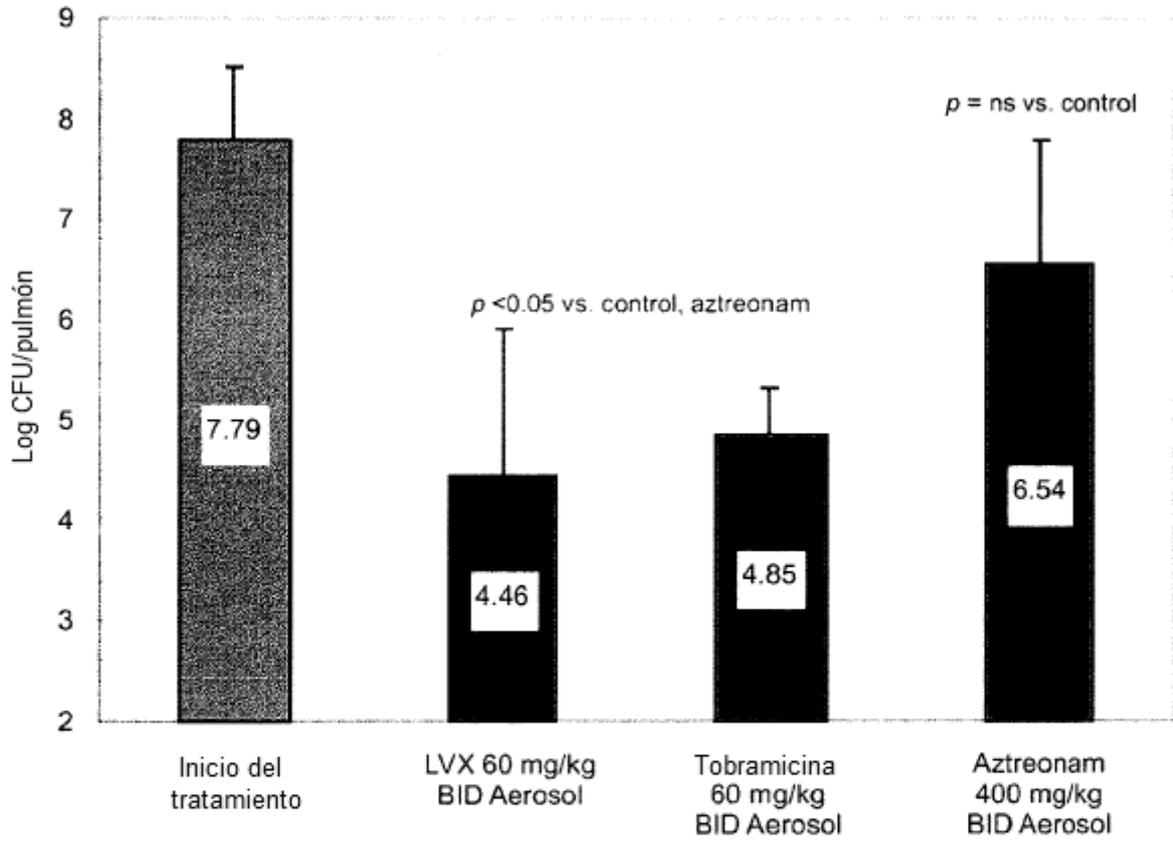


FIG 20