

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 551**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/65** (2006.01)

**A61K 9/08** (2006.01)

**A61K 47/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.05.2011 E 16191355 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2018 EP 3135289**

54 Título: **Composiciones de tetraciclina**

30 Prioridad:

**12.05.2010 US 334106 P**

**12.10.2010 US 392304 P**

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

**04.06.2019**

73 Titular/es:

**THE MEDICINES COMPANY (SAN DIEGO), LLC  
(100.0%)  
6275 Nancy Ridge Drive  
San Diego, CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**BOYER, SERGE y  
GRIFFITH, DAVID C.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 715 551 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Composiciones de tetraciclina

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones de tetraciclina y a métodos de preparación y uso de las mismas. Algunas realizaciones incluyen una tetraciclina con un exceso de un catión divalente o trivalente.

**10 Antecedentes de la invención**

Las tetraciclinas se usan como antibióticos de amplio espectro para el tratamiento de diversas infecciones bacterianas, tales como infecciones de las vías respiratorias, senos paranasales, oído medio, tracto urinario e intestinos, y se pueden usar en el tratamiento de la gonorrea, en especial, en pacientes alérgicos a las  $\beta$ -lactamas y a los macrólidos. Las tetraciclinas interfieren en la síntesis de proteínas de las bacterias Gram positivas y Gram negativas evitando la unión de aminoacil-ARNt al ribosoma. La acción de las tetraciclinas es bacteriostática (prevenir el crecimiento de las bacterias) en lugar de matarlas (bactericida).

Las tetraciclinas se degradan rápidamente para formar epitetraciclina, anhidrotetraciclina, epianhidrotetraciclina, y otros productos de degradación. Una vez degradadas, las tetraciclinas tienen poco valor terapéutico, ya que los productos de degradación no tienen actividad terapéuticamente útil. La degradación se inicia en cuanto el antibiótico entra en solución, y continúa hasta llegar a un equilibrio de concentraciones de antibiótico y epímero. El punto de equilibrio depende de la temperatura y del pH, formándose más epímero a temperaturas superiores y a pH inferior. La oxidación y otras reacciones secundarias producen una mayor degradación. Por lo tanto, las tetraciclinas pueden tener una existencia limitada en medios acuosos en su forma activa. Por otra parte, los productos de degradación de las tetraciclinas son tóxicos y pueden producir el síndrome de Fanconi, una enfermedad potencialmente fatal que afecta a la función tubular proximal de las nefronas de los riñones.

Existe la necesidad de proporcionar al personal hospitalario la flexibilidad y las ventajas que vienen acompañadas de tiempos de mezcla y reconstitución más prolongados sin la necesidad de refrigeración de modo que, por ejemplo, un farmacéutico hospitalario podría preparar una solución el día antes de necesitarse. Además, normalmente, tras un desastre natural, tal como huracanes, terremotos o tsunamis, el acceso a los equipos de refrigeración puede ser bajo y puede verse obstaculizado por la falta de electricidad. Las formulaciones estables de tetraciclinas se pueden almacenar en forma de una solución, anulando la necesidad de su reconstitución, y permitiendo su uso en inhaladores o nebulizadores para un uso ambulatorio.

Además, algunas tetraciclinas pueden producir hemólisis inducida por tetraciclinas. Esta hemólisis puede conducir a flebitis venosa en el sitio de la inyección cuando se administre por vía intravenosa, lo que da lugar a la irritación y, posiblemente, a la limitación de los volúmenes de infusión que se pueden tolerar. Por lo tanto, hay una necesidad de formulaciones de dichas tetraciclinas que reduzcan la incidencia de la hemólisis.

**Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones de tetraciclina y a métodos de preparación y uso de las mismas. Algunas realizaciones incluyen una tetraciclina con un exceso de un catión divalente o trivalente.

Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden una solución acuosa de minociclina y un catión divalente o trivalente, en las que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 2:1, y en las que la solución no comprende un aceite farmacéuticamente aceptable y es adecuada para la administración intravenosa.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden una solución acuosa de minociclina y un catión divalente o trivalente, en las que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 2:1, y en las que la solución tiene un pH superior a 4 e inferior a 5 y es adecuada para su administración intravenosa.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden una solución acuosa de un antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina y un catión divalente o trivalente, en las que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 3:1 y en las que la solución no comprende un aceite farmacéuticamente aceptable, gluconato o un compuesto que contenga piridina, tiene un pH superior a 2 e inferior a 7, y es adecuada para su administración intravenosa.

En algunas realizaciones, la solución no comprende aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno.

En algunas realizaciones, la solución no comprende un antioxidante.

- En algunas realizaciones, la solución no comprende un compuesto que contiene piridina.
- En algunas realizaciones, la solución no comprende nicotinamida.
- 5 En algunas realizaciones, la solución no comprende un alcohol.
- En algunas realizaciones, la solución no comprende glicerol.
- 10 En algunas realizaciones, la solución no comprende polietilenglicol.
- En algunas realizaciones, la solución no comprende gluconato.
- En algunas realizaciones, la solución no comprende un compuesto de pirrolidona.
- 15 En algunas realizaciones, la solución no comprende un anestésico local miscible en agua.
- En algunas realizaciones, el anestésico local miscible en agua es procaína.
- En algunas realizaciones, la solución no comprende urea.
- 20 En algunas realizaciones, la solución no comprende lactosa.
- En algunas realizaciones, la solución no comprende un agente deshidratante. En algunas realizaciones, el agente deshidratante se selecciona entre el grupo que consiste en acetato de etilo, anhídrido acético, etanol absoluto, acetato de etilo, anhídrido acético y mezclas de los mismos.
- 25 En algunas realizaciones, la solución tiene un pH inferior a 7. En algunas realizaciones, la solución tiene un pH inferior a 6. En algunas realizaciones, la solución tiene un pH inferior a 5.
- 30 En algunas realizaciones, la solución tiene un pH superior a 2 e inferior a 7. En algunas realizaciones, la solución tiene un pH superior a 4 e inferior a 7. En algunas realizaciones, la solución tiene un pH superior a 4 e inferior a 6. En algunas realizaciones, la solución tiene un pH superior a 4 e inferior a 5.
- 35 En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 3:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 5:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 8:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 10:1.
- 40 En algunas realizaciones, la osmolalidad de la solución es inferior a 500 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la osmolalidad de la solución es inferior a 400 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la osmolalidad de la solución es inferior a 350 mOsm/kg.
- 45 En algunas realizaciones, la concentración de minociclina es de al menos 1 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración de minociclina es de al menos 5 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración de minociclina es de al menos 10 mg/ml.
- 50 En algunas realizaciones, la solución comprende sulfato de magnesio. En algunas realizaciones, la solución comprende óxido de magnesio. En algunas realizaciones, la solución comprende acetato de magnesio. En algunas realizaciones, la solución comprende cloruro de magnesio.
- 55 En algunas realizaciones, la solución comprende un tampón. En algunas realizaciones, la solución comprende acetato.
- En algunas realizaciones, la solución comprende una base. En algunas realizaciones, la base comprende NaOH.
- En algunas realizaciones, el catión se selecciona entre hierro, cobre, cinc, manganeso, níquel, cobalto, aluminio, calcio, magnesio y galio. En algunas realizaciones, el catión se selecciona entre magnesio, calcio y cinc. En algunas realizaciones, el catión es magnesio.
- 60 En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina se selecciona entre minociclina, PTK796 y una glicilciclina. En algunas realizaciones, la glicilciclina es tigeciclina. En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina es minociclina. En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina es PTK796.
- 65 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden 10 mg/ml de minociclina, MgCl<sub>2</sub> y NaOH, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la minociclina es de 5:1, y el pH es superior a 4,5 e

inferior a 5,5.

Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden 10 mg/ml de minociclina,  $MgSO_4$  y acetato sódico, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la minociclina es de 5:1, el pH es superior a 4,5 e inferior a 5,5, y la osmolalidad es superior a 275 mOsm/kg e inferior a 375 mOsm/kg.

5 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden 10 mg/ml de minociclina y  $Mg(C_2H_3O_2)_2$ , en las que la proporción molar del Mg con respecto a la minociclina es de 5:1, y el pH es superior a 4,5 e inferior a 5,5.

10 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden 10 mg/ml de minociclina,  $MgSO_4$  y NaOH, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la minociclina es de 5:1, el pH es superior a 4,5 e inferior a 5,5, y la osmolalidad es superior a 150 mOsm/kg e inferior a 250 mOsm/kg.

15 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden 5 mg/ml de tigeciclina,  $MgSO_4$  y NaOH, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la tigeciclina es de 5:1, y el pH es superior a 5,5 e inferior a 6,5.

20 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden 5 mg/ml de tigeciclina,  $MgSO_4$  y NaOH, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la tigeciclina es de 12:1, y el pH es superior a 5,5 e inferior a 6,5.

Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden 5 mg/ml de tigeciclina,  $MgCl_2$  y NaOH, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la tigeciclina es de 5:1, y el pH es superior a 5,5 e inferior a 6,5.

25 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden 5 mg/ml de tigeciclina,  $MgCl_2$  y NaOH, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la tigeciclina es de 12:1, y el pH es superior a 5,5 e inferior a 6,5.

30 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración tópica que comprenden 5 mg/ml de tigeciclina,  $MgSO_4$  y NaOH, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la tigeciclina es de 5:1, y el pH es superior a 6,0 e inferior a 7,0.

35 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración tópica que comprenden 5 mg/ml de tigeciclina,  $MgSO_4$  y NaOH, en las que la proporción molar del Mg con respecto a la tigeciclina es de 12:1, y el pH es superior a 6,0 e inferior a 7,0.

40 Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración tópica que comprenden 5 mg/ml de tigeciclina,  $CaCl_2$  y NaOH, en las que la proporción molar del Ca con respecto a la tigeciclina es de 5:1, y el pH es superior a 6,0 e inferior a 7,0.

Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración tópica que comprenden 5 mg/ml de tigeciclina,  $CaCl_2$  y NaOH, en las que la proporción molar del Ca con respecto a la tigeciclina es de 12:1, y el pH es superior a 6,0 e inferior a 7,0.

45 Algunas realizaciones incluyen composiciones sólidas hidrosolubles que comprenden minociclina o una de sus sales y una sal que comprende un catión divalente o trivalente.

50 Algunas realizaciones incluyen composiciones sólidas hidrosolubles que comprenden un antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina o una de sus sales y una sal que comprende un catión divalente o trivalente, en la que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 3:1, y en la que la composición no comprende gluconato o un compuesto que contiene piridina.

55 En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 1:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 2:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 3:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina o al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 5:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina o al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 8:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina o al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 10:1.

Algunas realizaciones incluyen composiciones en forma de liofilizado.

65 En algunas realizaciones, la sal es sulfato de magnesio.

En algunas realizaciones, la sal es cloruro de calcio.

En algunas realizaciones, la composición comprende acetato sódico.

5 En algunas realizaciones, la composición comprende NaOH.

En algunas realizaciones, la sal se selecciona entre cloruro de magnesio, bromuro de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, bromuro de calcio, sulfato de calcio, cloruro de cinc, cloruro de galio, malato de magnesio, citrato de magnesio, acetato de magnesio, citrato de calcio, acetato de cinc y citrato de cinc.

10 En algunas realizaciones, la composición no comprende un antioxidante.

En algunas realizaciones, la composición no comprende un compuesto que contiene piridina. En algunas realizaciones, la composición no comprende nicotinamida.

15 En algunas realizaciones, la composición no comprende gluconato.

En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina se selecciona entre minociclina, PTK796 y una glicilciclina. En algunas realizaciones, la glicilciclina es tigeciclina. En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina es minociclina. En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina es PTK796.

20 Algunas realizaciones incluyen métodos de preparación de una composición farmacéutica que comprenden disolver la composición sólida hidrosoluble de una cualquiera de las composiciones sólidas hidrosolubles proporcionadas en el presente documento en agua, formando una solución.

25 Algunas realizaciones incluyen métodos de preparación de una composición farmacéutica que comprende disolver una 7-dimetilamino-tetraciclina en una solución que comprende un catión divalente o trivalente.

30 Algunas realizaciones incluyen métodos de preparación de una composición farmacéutica que comprenden disolver una 7-dimetilamino-tetraciclina en una solución que comprende un catión divalente o trivalente; ajustar el pH de la solución; y liofilizar la composición.

En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina se selecciona entre minociclina, PTK796 y una glicilciclina. En algunas realizaciones, la glicilciclina es tigeciclina.

35 En algunas realizaciones, el pH de la solución se ajusta a menos de 6. En algunas realizaciones, el pH de la solución se ajusta a menos de 5.

40 En algunas realizaciones, el pH de la solución se ajusta a más de 2 y a menos de 7. En algunas realizaciones, el pH de la solución se ajusta a más de 4 y a menos de 7. En algunas realizaciones, el pH de la solución se ajusta a más de 4 y a menos de 6. En algunas realizaciones, el pH de la solución se ajusta a más de 4 y a menos de 5.

En algunas realizaciones, ajustar el pH comprende añadir un ácido. En algunas realizaciones, el ácido es HCl.

45 En algunas realizaciones, ajustar el pH comprende añadir una base. En algunas realizaciones, la base es NaOH.

En algunas realizaciones, ajustar el pH comprende formar un tampón. En algunas realizaciones, la formación del tampón comprende la adición de acetato de sodio.

50 En algunas realizaciones, el catión divalente o trivalente se selecciona entre hierro, cobre, cinc, manganeso, níquel, cobalto, aluminio, calcio, magnesio y galio. En algunas realizaciones, el catión se selecciona entre magnesio, calcio y cinc. En algunas realizaciones, el catión es magnesio.

55 Algunas realizaciones incluyen kits que comprenden un primer recipiente que comprende un diluyente que comprende una solución acuosa de un catión divalente o trivalente; y un segundo recipiente que comprende una composición sólida soluble en el diluyente, en el que la composición sólida comprende minociclina en una cantidad tal que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 2:1.

60 Algunas realizaciones incluyen kits que comprenden un primer recipiente que comprende un diluyente que comprende una solución acuosa de un catión divalente o trivalente; y un segundo recipiente que comprende una composición sólida soluble en el diluyente, en el que la composición sólida comprende un antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina en una cantidad tal que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 3:1.

65 En algunas realizaciones, el diluyente comprende un ácido. En algunas realizaciones, el ácido es HCl.

En algunas realizaciones, el diluyente comprende una base. En algunas realizaciones, la base es NaOH.

En algunas realizaciones, el diluyente comprende un tampón. En algunas realizaciones, el diluyente comprende acetato sódico.

5 En algunas realizaciones, el pH del diluyente es superior a pH 6 e inferior a pH 8.  
En algunas realizaciones, el catión divalente o trivalente se selecciona entre hierro, cobre, cinc, manganeso, níquel, cobalto, aluminio, calcio, magnesio y galio. En algunas realizaciones, el catión se selecciona entre magnesio, calcio y cinc. En algunas realizaciones, el catión es magnesio.

10 En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 3:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina o al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 5:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina o al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 8:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina o al antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina es superior a 10:1.

15 En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina se selecciona entre minociclina, PTK796 y una glicilciclina. En algunas realizaciones, la glicilciclina es tigeiciclina. En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina es minociclina. En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina es PTK796.

20 Algunas realizaciones incluyen métodos de tratamiento o de prevención de una infección bacteriana en un sujeto, que comprenden administrar la composición farmacéutica de una cualquiera de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento al sujeto por vía intravenosa.

25 Algunas realizaciones incluyen métodos de tratamiento o de prevención de una infección bacteriana en un sujeto, que comprenden administrar la composición farmacéutica preparada de acuerdo con uno cualquiera de los métodos de preparación de una composición farmacéutica proporcionados en el presente documento al sujeto por vía intravenosa.

30 En algunas realizaciones, la administración intravenosa incluye administrar menos de 200 ml de la composición.

En algunas realizaciones, la administración intravenosa incluye administrar la composición en menos de 60 minutos.

35 Algunas realizaciones incluyen métodos de tratamiento o de prevención de una infección bacteriana en un sujeto, que comprenden administrar la composición farmacéutica de una cualquiera de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento al sujeto por una vía tópica.

40 Algunas realizaciones incluyen métodos de tratamiento o de prevención de una infección bacteriana en un sujeto, que comprenden administrar la composición farmacéutica preparada de acuerdo con uno cualquiera de los métodos de preparación de una composición farmacéutica proporcionados en el presente documento al sujeto por una vía tópica.

45 Algunas realizaciones incluyen composiciones que comprenden tigeiciclina y un catión divalente o trivalente, en las que la proporción molar de dicho catión divalente o trivalente con respecto a dicha tigeiciclina es superior a 1:1.

En algunas realizaciones, la tigeiciclina y el catión divalente o trivalente están en solución acuosa.

50 En algunas realizaciones, la proporción molar de dicho catión divalente o trivalente con respecto a dicha tigeiciclina es superior a 3:1.

### Breve descripción de los dibujos

55 La FIG. 1 muestra un gráfico del porcentaje de hemólisis de glóbulos rojos de conejo incubados con diversas concentraciones de minociclina en soluciones diferentes con respecto a la hemólisis en agua, en la que las soluciones de minociclina formuladas con cationes divalentes se ajustaron a pH 5,85.

La FIG. 2 muestra un gráfico del porcentaje de hemólisis de glóbulos rojos de conejo incubados con diversas concentraciones de minociclina en diversas soluciones con respecto a la hemólisis en agua.

60 La FIG. 3 representa un gráfico de la hemólisis de GR de conejo causada por minociclina formulada en diferentes proporciones de  $MgSO_4$ .

La FIG. 4 representa un gráfico de la hemólisis de GR de conejo causada por minociclina formulada en diferentes proporciones de  $MgCl_2$ .

La FIG. 5 representa un gráfico de la hemólisis de GR de conejo causada por minociclina formulada en diferentes proporciones de  $CaCl_2$ .

65 La FIG. 6 representa un gráfico de la captación de la minociclina por HUVEC a diversas concentraciones de catión divalente.

La FIG. 7 representa un gráfico de la captación de la minociclina por HUVEC a diversas concentraciones de

cation divalente.

### Descripción detallada

5 La presente invención se refiere a composiciones de tetraciclina y a métodos de preparación y uso de las mismas. Algunas realizaciones incluyen una tetraciclina con un exceso de un catión metálico. En algunas realizaciones, las composiciones tienen una estabilidad mejorada tanto contra la degradación oxidativa como contra la epimerización. Algunas de dichas composiciones son, por tanto, más estables cuando se disuelven, se liofilizan, se reconstituyen y/o se diluyen que otras composiciones. Algunas realizaciones también proporcionan composiciones que tienen un nivel inferior de hemólisis inducida por tetraciclina y que producen flebitis.

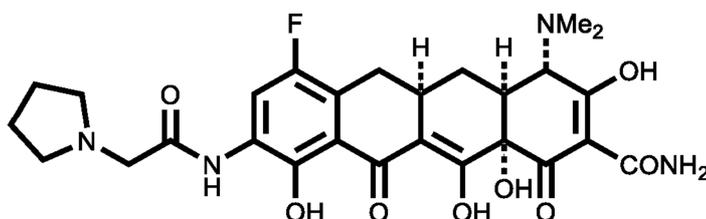
10 Sin esperarlo, se descubrió que la incidencia de la hemólisis inducida por tetraciclina se puede reducir en gran medida formulando la tetraciclina con cationes divalentes o trivalentes. En algunas realizaciones, las altas proporciones molares de los cationes divalentes o trivalentes con respecto a los antibióticos de tetraciclina disminuyen significativamente la hemólisis.

15 También se descubrió inesperadamente que es posible aumentar en gran medida la estabilidad de las soluciones acuosas de tetraciclinas mediante la adición de cationes divalentes o trivalentes. En algunas realizaciones, la estabilidad de las soluciones acuosas de tetraciclinas aumenta con proporciones molares más altas de cationes divalentes o trivalentes con respecto a la tetraciclina. De hecho, se encontró que algunas de estas soluciones son estables durante varias semanas a 37 °C.

20 En determinadas composiciones, la solubilidad de un antibiótico de tetraciclina disminuye en una solución acuosa que comprende un catión multivalente. Se ha descubierto inesperadamente que el aumento de la proporción molar del catión multivalente con respecto a dichos antibióticos de tetraciclina puede aumentar la solubilidad de la tetraciclina. Por consiguiente, algunas realizaciones descritas en el presente documento proporcionan soluciones de una tetraciclina con mejor solubilidad.

### Composiciones

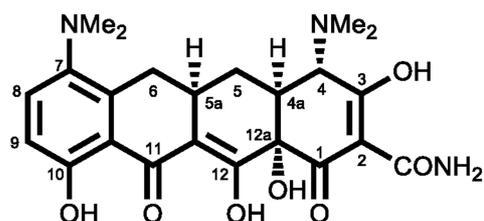
30 Algunas realizaciones incluyen composiciones que comprenden un antibiótico de tetraciclina o una de sus sales en combinación con un catión divalente o trivalente. Las tetraciclinas incluyen una familia de compuestos estructuralmente relacionados que pueden tener actividades de antibióticos de amplio espectro. Los ejemplos de tetraciclinas incluyen tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina, demeclociclina, doxiciclina, limeciclina, meclociclina, metaciclina, minociclina, rolitetraciclina, minociclina, tigeiciclina, clorociclina, glicilciclinas, aminometilciclinas, TP434 y PTK796, (también conocida como BAY 73-7388 y MK2764). La estructura de TP434 se proporciona a continuación:



40 En una realización, el antibiótico de tetraciclina se selecciona del grupo que consiste en tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, clorociclina, minociclina, glicilciclinas y aminometilciclinas. En una realización, la tetraciclina es una glicilciclina. En una realización, la glicilciclina es tigeiciclina. En una realización, la tetraciclina es un aminometilciclina. En una realización, la aminometilciclina es PTK796, también conocida como BAY 73-7388 y MK2764. En otra realización, la tetraciclina se selecciona del grupo que consiste en tetraciclina, minociclina, tigeiciclina y PTK796.

45 En una realización, el antibiótico de tetraciclina es la tetraciclina. En una realización, de la invención, la tetraciclina es minociclina. En una realización, de la invención, la tetraciclina es tigeiciclina. En otra realización más, de la invención, la tetraciclina es PTK796. Algunas realizaciones incluyen una sal de un antibiótico de tetraciclina.

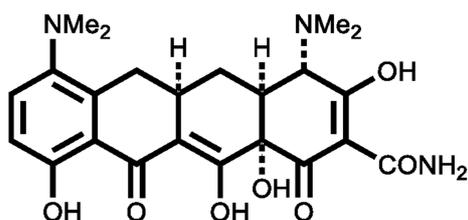
50 En algunas realizaciones, el antibiótico de tetraciclina es una 7-dimetilamino-tetraciclina. La 7-dimetilamino-tetraciclinas contiene un sustituyente de dimetilamino adicional en la posición 7 sobre el núcleo de cuatro anillos. La posición 7 se indica en la siguiente estructura numerada de la minociclina:



Los ejemplos de 7-dimetilamino-tetraciclinas incluyen la minociclina, una gliciliciclina (por ejemplo, tigeciclina) y PTK796. Las estructuras de ejemplo de dichos compuestos incluyen:

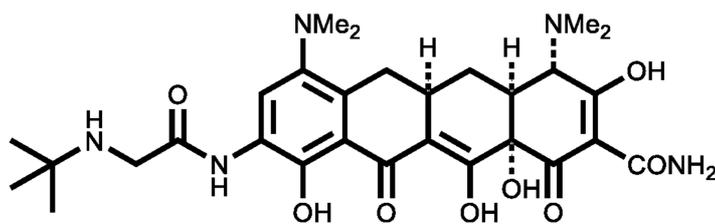
5

minociclina:



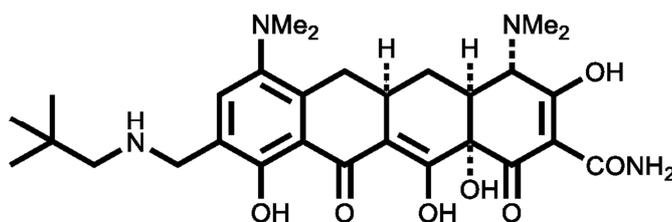
10

tigeciclina:



15

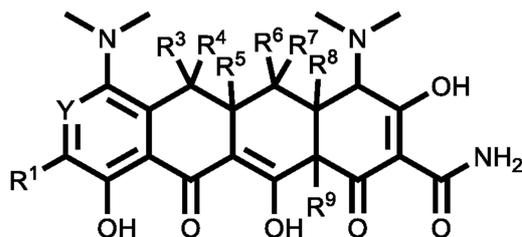
y  
PTK796:



20

Como se usa en la presente memoria, "gliciliciclinas" son 7-dimetilamino-tetraciclinas que tienen una cadena lateral de N-alquilglicilamido en la posición 9 del núcleo de cuatro anillos.

En algunas realizaciones, el antibiótico de 7-dimetilamino-tetracyclina tiene la estructura:



25

o sus tautómeros, en la que:

R<sup>1</sup> se selecciona de H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NHC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>R<sup>10</sup> y -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>R<sup>10</sup>, en los que cada n es independientemente un número entero de 0 a 3, y

30

R<sup>10</sup> se selecciona entre -NH-alquilo C<sub>1-8</sub>, -NH-cicloalquilo C<sub>1-8</sub> y un heterociclo saturado de 4 a 7 miembros que

contiene un átomo de nitrógeno, en el que si el átomo de conexión de R<sup>10</sup> es carbono, el átomo de nitrógeno está opcionalmente sustituido con alquilo C<sub>1-4</sub>;

Y es CR<sup>2</sup> o N; y

R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> cada uno de se selecciona independientemente entre H, -OH, halógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>; u

opcionalmente, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> juntos forman un anillo arilo o heteroarilo de 6 miembros, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre H, R<sup>1</sup>, -OH, halógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>.

En algunas realizaciones, cada uno de R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son hidrógeno.

Como se usa en la presente memoria, "alquilo" se refiere a una fracción de cadena lineal o ramificada que solo contiene carbono e hidrógeno. Los alquilos pueden tener cualquier grado de saturación. Los ejemplos incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo y *tert*-butilo.

Como se usa en la presente memoria, "cicloalquilo" se refiere a un anillo o sistema anular que solo comprende carbono en la cadena principal del anillo. Los cicloalquilos pueden incluir uno o más anillos condensados o unidos por puentes. Los cicloalquilos pueden tener cualquier grado de saturación siempre que al menos un anillo no sea aromático. Los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y ciclohexenilo.

Como se usa en la presente memoria, "heterociclo" se refiere a un anillo o sistema anular que comprende al menos un heteroátomo en la cadena principal del anillo. Los heterociclos pueden incluir uno o más anillos condensados o unidos por puentes. Los heterociclos pueden tener cualquier grado de saturación siempre que al menos un anillo no sea aromático. Los ejemplos incluyen pirrolidina, piperidina, piperazina y morfolino.

Como se usa en la presente memoria, "arilo" se refiere a un anillo o sistema anular aromático que solo comprende carbono en la cadena principal del anillo. Los arilos pueden incluir uno o más anillos condensados. Los ejemplos incluyen fenilo y naftilo.

Como se usa en la presente memoria, "heteroarilo" se refiere a un anillo o sistema anular aromático que comprende al menos un heteroátomo en la cadena principal del anillo. Los heteroarilos pueden incluir uno o más anillos condensados. Los ejemplos incluyen imidazol, oxazol, piridina y quinolina.

Algunas composiciones incluyen al menos un catión multivalente. Los cationes multivalentes incluyen cationes bivalentes y trivalentes, por ejemplo, cationes metálicos. Los cationes metálicos incluyen cationes metálicos multivalentes comunes. En algunas realizaciones, los cationes metálicos incluyen hierro, cobre, cinc, manganeso, níquel, cobalto, aluminio, calcio, magnesio y galio.

Algunas composiciones incluyen una sal que comprende el catión. En una realización, las sales son sales metálicas inorgánicas y pueden incluir formas anhidras, hidratadas y solvatadas de las sales. En otra realización, las sales son sales metálicas orgánicas, e incluyen, pero sin limitación, las formas anhidras, hidratadas y solvatadas de la sal. En una realización, el anión de las sales metálicas inorgánicas puede incluir sales de cloruro, bromuro, óxido y sulfato. En una realización, las sales metálicas orgánicas son aquellas en las que el anión de la sal se selecciona de la lista GRAS (generalmente considerado como seguro) tal como, pero sin limitación, sales de acetato, citrato, gluconato y malato. Los aniones adecuados también se pueden encontrar en: "Remington Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania. En algunas realizaciones, una composición puede incluir más de un tipo de catión metálico. En algunas de dichas realizaciones, los aniones de cada sal metálica pueden ser los mismos. En otra realización, los aniones de cada sal metálica son diferentes. En otra realización, el catión metálico se incluye en las composiciones proporcionadas en el presente documento como diferentes sales del mismo catión. En una realización, las sales metálicas son todas inorgánicas. En otra realización, las sales metálicas son todas orgánicas. En otra realización más, las sales metálicas son una combinación de sales orgánicas e inorgánicas.

Los ejemplos de sales metálicas inorgánicas que se pueden incluir en las composiciones proporcionadas en el presente documento incluyen cloruro de magnesio (incluyendo el hexahidrato), bromuro de magnesio, sulfato de magnesio (incluyendo el heptahidrato), óxido de magnesio, cloruro de calcio, bromuro de calcio, sulfato de calcio, cloruro de cinc y cloruro de galio. Los ejemplos de sales metálicas inorgánicas que se pueden incluir en las composiciones proporcionadas en el presente documento incluyen malato de magnesio, gluconato de magnesio, citrato de magnesio, acetato de magnesio (incluyendo el trihidrato), gluconato de calcio, citrato de calcio, gluconato de cinc, acetato de cinc y citrato de cinc. Las sales descritas en el presente documento incluyen tanto sus formas anhidras como hidratadas.

Algunas composiciones proporcionadas en el presente documento incluyen una tetraciclina y un catión divalente o trivalente, por ejemplo, un catión metálico a determinadas proporciones molares de catión divalente o trivalente con respecto a la tetraciclina. Por ejemplo, algunas realizaciones incluyen composiciones que comprenden una tetraciclina y un catión divalente o trivalente, en las que la proporción molar de dicho catión divalente o trivalente con respecto a dicha tetraciclina es superior a aproximadamente 1:1. En algunas de dichas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la tetraciclina es superior a aproximadamente 2:1, superior a

aproximadamente 3:1, superior a aproximadamente 4:1, superior a aproximadamente 5:1, superior a aproximadamente 6:1, superior a aproximadamente 7:1, superior a aproximadamente 8:1, superior a aproximadamente 9:1, superior a aproximadamente 10:1, superior a aproximadamente 11:1, superior a aproximadamente 12:1, superior a aproximadamente 13:1, superior a aproximadamente 14:1, superior a  
 5 aproximadamente 15:1, superior a aproximadamente 16:1, superior a aproximadamente 17:1, superior a aproximadamente 18:1, superior a aproximadamente 19:1, superior a aproximadamente 20:1, superior a aproximadamente 21:1, superior a aproximadamente 22:1, superior a aproximadamente 23:1, superior a aproximadamente 24:1, superior a aproximadamente 25:1, superior a aproximadamente 26:1, superior a aproximadamente 27:1, superior a aproximadamente 28:1, superior a aproximadamente 29:1 y superior a  
 10 aproximadamente 30:1. En algunas realizaciones, la proporción molar es superior a aproximadamente 35:1, superior a aproximadamente 40:1, superior a aproximadamente 45:1 y superior a aproximadamente 50:1.

En algunas de dichas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la tetraciclina está entre aproximadamente 1:1 y aproximadamente 30:1, entre aproximadamente 5:1 y aproximadamente 30:1,  
 15 entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 30:1, y entre aproximadamente 20:1 y aproximadamente 30:1. En algunas de dichas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la tetraciclina está entre aproximadamente 1:1 y aproximadamente 50:1, entre aproximadamente 5:1 y aproximadamente 50:1, entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 50:1, y entre aproximadamente 20:1 y aproximadamente 50:1.

En algunas realizaciones, las cantidades relativas del catión metálico presente en las composiciones de la invención son aquellas cantidades que están en exceso de la estequiometría 1:1 de catión metálico: tetraciclina para cada  
 catión metálico. En una realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina varía de 5:1 a 100:1. En otra realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con  
 respecto a la tetraciclina varía de 5:1 a 50:1. En otra realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina varía de 5:1 a 30:1. En una realización de la invención, la proporción molar del  
 25 catión metálico con respecto a la tetraciclina varía de 5:1 a 10:1. En una realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina varía de 10:1 a 20:1. En una realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina varía de 10:1 a 15:1. En una realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina es de 5:1. En una realización de la  
 30 invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina es de 10:1. En una realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina es de 12:1. En una realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina es de 15:1. En una realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina es de 20:1. En una realización de la invención, la proporción molar del catión metálico con respecto a la tetraciclina es de 30:1.

Algunas composiciones incluyen hidratos de carbono, además de un catión divalente o trivalente. Los hidratos de carbono adecuados son los hidratos de carbono capaces de reducir la degradación de la tetraciclina en al menos una forma sólida preparada en al menos un entorno de pH en comparación con una forma sólida de una tetraciclina preparada en el mismo entorno de pH carente de hidratos de carbono adecuados. En una realización, el pH del  
 40 entorno varía de 3,0 a aproximadamente 7,0, tal como valores de pH que varían de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 6,5, de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 6,5, y de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5. En una realización, se escoge al menos una forma sólida entre polvos y tortas liofilizadas de una tetraciclina. En otra realización de la invención, los hidratos de carbono son los hidratos de carbono capaces de reducir la degradación de la tetraciclina en solución preparada en al menos un entorno de pH en comparación con una solución de una tetraciclina preparada en el mismo entorno de pH carente de hidratos de carbono adecuados. En una realización, el pH del entorno varía de 3,0 a aproximadamente 7,0, tal como valores de pH que varían de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 6,5, de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 6,5, y de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5.

Los hidratos de carbono adecuados incluyen monosacáridos y disacáridos, por ejemplo, un monosacárido o un disacárido de aldosa. Los ejemplos de hidratos de carbono adecuados incluyen, pero sin limitación, las formas anhidra, hidratada y solvatada de compuestos tales como la trehalosa, lactosa, manosa, sacarosa y glucosa. En una realización de la invención, el hidrato de carbono es un disacárido. En otra realización de la invención, el disacárido es trehalosa, lactosa o sacarosa. En otra realización de la invención, el hidrato de carbono es la lactosa, incluyendo sus diferentes formas, tales como lactosa anhidra, lactosa monohidratada, o cualquier otra forma hidratada o solvatada de la lactosa. En una realización de la invención, el hidrato de carbono es trehalosa, incluyendo sus diferentes formas tales como trehalosa anhidra, trehalosa dihidratada, o cualquier otra forma hidratada o solvatada de trehalosa.

En una realización de la invención, el hidrato de carbono adecuado usado es lactosa monohidratada, y la proporción molar de la tigeiciclina con respecto a la lactosa monohidratada en el polvo o la torta liofilizada está entre 1:0,2 y aproximadamente 1:5. En otra realización de la invención, la proporción molar de la tigeiciclina con respecto a la lactosa monohidratada está entre 1:1,6 y aproximadamente 1:3,3.

Algunas composiciones incluyen un antioxidante. Los antioxidantes se pueden usar para prevenir o reducir la oxidación de las tetraciclinas, bien en solución o en estado sólido. Los ejemplos de antioxidantes incluyen ácido

ascórbico, ácido cítrico, trehalosa, hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), metabisulfito de sodio, d,1- $\alpha$ -tocoferol y ácido genticóico.

5 Se apreciará que las composiciones proporcionadas en el presente documento pueden incluir aerosoles, líquidos y sólidos. Los sólidos pueden incluir, por ejemplo, composiciones liofilizadas, tales como polvos, tortas o similares. Dichos sólidos pueden ser hidrosolubles para que se puedan usar para preparar soluciones acuosas. Los líquidos pueden incluir soluciones o suspensiones, que se pueden preparar a partir de composiciones sólidas. Los líquidos incluyen soluciones que se pueden preparar antes de los procedimientos de fabricación, tales como la liofilización. En una realización, la solución se puede almacenar durante varias horas antes de la liofilización con el fin de proporcionar mayor flexibilidad de fabricación. Los líquidos también incluyen soluciones que se preparan mediante la reconstitución para su uso en la administración a un paciente. Algunas composiciones incluyen soluciones preparadas a partir del polvo o la torta liofilizada, por ejemplo, su reconstitución con solución salina u otros diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los diluyentes farmacéuticamente aceptables son los enumerados por la USP tales como, pero sin limitación, agua para inyección, solución salina, solución de lactato de Ringer para inyección o solución de dextrosa. Algunas composiciones incluyen soluciones procedentes de la dilución de las soluciones reconstituidas con diluyentes farmacéuticamente aceptables para su uso en bolsas intravenosas.

20 En algunas realizaciones, el pH de una composición líquida proporcionada en el presente documento, tal como una solución acuosa, está entre aproximadamente pH 2,0 y aproximadamente pH 8,0, entre aproximadamente pH 2,5 y aproximadamente pH 7,5. En algunas realizaciones, el pH de la composición está entre aproximadamente pH 3,0 y aproximadamente pH 7,0, entre aproximadamente pH 3,5 y aproximadamente pH 6,5, entre aproximadamente pH 4,0 y aproximadamente pH 6,5, entre aproximadamente pH 4,0 y aproximadamente pH 6,0, entre aproximadamente pH 4,5 y aproximadamente pH 6,0, entre aproximadamente pH 4,5 y aproximadamente pH 5,5, entre aproximadamente pH 5,0 y aproximadamente pH 5,5, entre aproximadamente pH 5,5 y aproximadamente pH 6,5, entre aproximadamente pH 3,5 y aproximadamente pH 4,5. En algunas realizaciones, el pH de la solución es inferior a pH 7, inferior a pH 6, inferior a pH 5, inferior a pH 4, inferior a pH 3 e inferior a pH 2. En algunas realizaciones, el pH de la solución es superior a pH 2 e inferior a pH 7, superior a pH 4 e inferior a pH 7, superior a pH 4 e inferior a pH 6, y superior a pH 4 e inferior a pH 5.

30 En algunas realizaciones, las composiciones líquidas, tales como una solución acuosa, pueden tener una osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg a aproximadamente 500 mOsmol/kg, de aproximadamente 325 mOsmol/kg a aproximadamente 450 mOsmol/kg, de aproximadamente 350 mOsmol/kg a aproximadamente 425 mOsmol/kg o de aproximadamente 350 mOsmol/kg a aproximadamente 400 mOsmol/kg. En algunas realizaciones, la osmolalidad de la formulación es superior a aproximadamente 300 mOsm/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, aproximadamente 475 mOsmol/kg o aproximadamente 500 mOsmol/kg. En algunas realizaciones, las composiciones líquidas pueden tener una osmolalidad de aproximadamente 200 mOsmol/kg a aproximadamente 1.250 mOsmol/kg. En otra realización, la osmolalidad está entre aproximadamente 250 mOsmol/kg y aproximadamente 1.050 mOsmol/kg. En otra realización, la osmolalidad está entre aproximadamente 250 mOsmol/kg y aproximadamente 750 mOsmol/kg. En otra realización, la osmolalidad está entre aproximadamente 350 mOsmol/kg y aproximadamente 500 mOsmol/kg. En algunas realizaciones, la osmolalidad de la solución es inferior a 500 mOsm/kg, 450 mOsmol/kg, 400 mOsmol/kg, 350 mOsmol/kg o 300 mOsmol/kg.

45 Algunas realizaciones incluyen una solución acuosa que comprende una tetraciclina que tiene una concentración de al menos 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, 30 mg/ml, 35 mg/ml, 40 mg/ml, 45 mg/ml o 50 mg/ml.

50 Algunas realizaciones incluyen una solución acuosa que comprende un tampón, tal como un tampón de acetato (por ejemplo, proporcionado como acetato sódico), en las que el acetato tiene una concentración de al menos 0,01 M, 0,02 M, 0,03 M, 0,04 M, 0,05 M, 0,1 M, 0,15 M, 0,20 M, 0,25 M, 0,30 M, 0,35 M, 0,40 M, 0,45 M, 0,50 M, 0,55 M, 0,60 M, 0,65 M, 0,70 M, 0,75 M, 0,80 M, 0,85 M, 0,90 M o 0,95 M.

55 Algunas realizaciones incluyen una solución acuosa que comprende una sal que comprende un catión divalente o trivalente, tal como una sal de magnesio (por ejemplo, cloruro de magnesio o sulfato de magnesio), que tiene una concentración de al menos 0,01 M, 0,02 M, 0,03 M, 0,04 M, 0,05 M, 0,1 M, 0,15 M, 0,20 M, 0,25 M, 0,30 M, 0,35 M, 0,40 M, 0,45 M, 0,50 M, 0,55 M, 0,60 M, 0,65 M, 0,70 M, 0,75 M, 0,80 M, 0,85 M, 0,90 M o 0,95 M.

60 En una realización, las composiciones líquidas, tales como soluciones acuosas, tienen una concentración de ion permeante de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 300 mM. En otra realización, la concentración de ion permeante está entre 50 mM y 200 mM. En otra realización, el ion permeante se selecciona de la lista que consiste en cloruro y bromuro. En otra realización, el ion permeante es cloruro. En otra realización, el ion permeante es bromuro.

65 En algunas realizaciones, las composiciones de soluciones acuosas comprenden un tampón. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la solución comprende acetato. En algunas realizaciones, las composiciones de soluciones

acuosas comprenden una base tal como NaOH. En algunas realizaciones, las composiciones de soluciones acuosas comprenden un ácido tal como HCl.

5 Se contempla que, en algunas realizaciones, las soluciones reconstituidas se puedan almacenar en estado reconstituido a temperatura ambiente antes de la dilución adicional para su administración por inyección o tópica. En algunas realizaciones, los tiempos de almacenamiento a temperatura ambiente tras la reconstitución son mucho más prolongados que para las composiciones actuales. En algunas realizaciones, la mezcla puede tener lugar, por ejemplo, en una bolsa intravenosa. Para preparar una mezcla, se mezcla suficiente solución reconstituida en una bolsa intravenosa que contiene un diluyente farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina o solución de dextrosa tal como 5DW.

15 La concentración de las mezclas puede ser fácilmente determinada por los expertos en la materia. El tiempo disponible para la mezcla de soluciones reconstituidas a partir de las composiciones puede ser mucho mayor que el de las formulaciones descritas previamente. Los tiempos de almacenamiento de las mezclas a temperatura ambiente también pueden ser mucho mayores que los de las composiciones existentes. Una vez mezclada, la solución de tetraciclina está lista para la administración por o al paciente. La mezcla se puede administrar sola o junto con otro agente o composición farmacéutica.

20 En algunas realizaciones, la composición no comprende un aceite farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, un aceite puede referirse a un compuesto de hidrocarburo que sea líquido a temperatura ambiente e insoluble en agua. Los ejemplos de aceites farmacéuticamente aceptables incluyen aceites de ricino hidrogenados de polioxietileno, tales como aceite de ricino hidrogenado PEG-40 y aceite de ricino hidrogenado PEG-50. Más ejemplos de aceites farmacéuticamente aceptables son el aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de girasol, aceite de cacahuete, aceite de coco, un aceite poliinsaturado omega-3, y un triglicérido marino omega-3.

En algunas realizaciones, la composición no comprende un compuesto que contiene piridina. En una realización, el compuesto que contiene piridina es nicotinamida.

30 Aunque algunas realizaciones incluyen gluconato (por ejemplo, como la sal de gluconato de un catión metálico divalente o trivalente), otras realizaciones incluyen composiciones que no comprenden gluconato.

35 En algunas realizaciones, la composición no comprende un codisolvente solubilizante de tetraciclina no acuoso. Dichos codisolventes solubilizantes pueden incluir el aceite, el compuesto que contiene piridina, y el gluconato descritos anteriormente.

40 Aunque algunas realizaciones incluyen un antioxidante, otras realizaciones incluyen composiciones que no comprenden antioxidante (por ejemplo, formaldehído-sulfoxilato de sodio o magnesio; sulfito sódico, metabisulfito orbisulfito; sulfuro de sodio; alfa-monotioglicerol (también referido como tioglicerol); y tiosorbitol).

45 Otras diversas realizaciones incluyen composiciones que no incluyen uno o más de un alcohol (por ejemplo, un alcohol polihídrico, tal como, propilenglicol, etilenglicol), glicerol, polietilenglicol, un compuesto que contiene pirrolidona, un anestésico local miscible en agua (por ejemplo, procaína, tetracaína), urea, lactosa o un agente deshidratante (por ejemplo, acetato de etilo, anhídrido acético, etanol absoluto, acetato de etilo, anhídrido acético, y mezclas de los mismos).

50 Algunas realizaciones incluyen composiciones que comprenden una 7-dimetilamino-tetraciclina y un catión. En algunas de dichas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina es minociclina. En algunas realizaciones, la minociclina es HCl de minociclina. En algunas realizaciones, el catión comprende  $Mg^{2+}$ . En algunas realizaciones, las composiciones incluyen una sal seleccionada entre  $MgCl_2$  (por ejemplo,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ),  $MgSO_4$  (por ejemplo,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) y acetato de magnesio (por ejemplo,  $Mg(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ ). En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 o 10:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 10:1, 20:1, 30:1, 40:1 o 50:1. Algunas realizaciones incluyen un tampón. En algunas de dichas realizaciones, el tampón incluye NaOH o acetato de sodio (por ejemplo,  $NaCH_3COO \cdot 3H_2O$ ).

60 Algunas composiciones comprenden minociclina y  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 5:1 en una base que comprende NaOH. Algunas de dichas realizaciones son adecuadas para su uso intravenoso.

65 Algunas composiciones comprenden minociclina y  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 5:1 en un tampón que comprende  $NaCH_3COO \cdot 3H_2O$  con un pH en el intervalo de 4,5 a 5,5 y una osmolalidad en el intervalo de aproximadamente 275-375 mOsm/kg. Algunas de dichas composiciones se pueden preparar en forma de una solución acuosa y liofilizarse. Como comprenderá un experto en la materia, el pH y la osmolalidad de una solución reconstituida puede tener un pH en el intervalo de 4,5 a 5,5 y una osmolalidad en el intervalo de aproximadamente 275 a 375 mOsm/kg. Algunas de dichas realizaciones son

adecuadas para su uso intravenoso.

Algunas realizaciones comprenden minociclina y  $Mg(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$  con una proporción molar del mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 5:1 sin tampón añadido. Algunas de dichas realizaciones son adecuadas para su uso intravenoso.

Algunas realizaciones incluyen minociclina y  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 5:1 en una base que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5. Algunas de dichas composiciones se pueden preparar en forma de una solución acuosa y liofilizarse. Como comprenderá un experto en la materia, el pH de una solución reconstituida puede tener un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5. Algunas de dichas realizaciones son adecuadas para su uso intravenoso.

Algunas realizaciones comprenden tigeclina y  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 5:1 en un tampón que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5. Algunas realizaciones comprenden tigeclina y  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 12:1 en una base que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5. Algunas de dichas composiciones se pueden preparar en forma de una solución acuosa y liofilizarse. Como comprenderá un experto en la materia, el pH de una solución reconstituida puede tener un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5. Algunas de dichas realizaciones son adecuadas para su uso intravenoso.

Algunas realizaciones comprenden tigeclina y  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 5:1 en un tampón que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5. Algunas realizaciones comprenden tigeclina y  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 12:1 en una base que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5. Algunas de dichas composiciones se pueden preparar en forma de una solución acuosa y liofilizarse. Como comprenderá un experto en la materia, el pH de una solución reconstituida puede tener un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5. Algunas de dichas realizaciones son adecuadas para su uso intravenoso.

Algunas realizaciones comprenden tigeclina y  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 5:1 en un tampón que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 6,0 a 7,0. Algunas realizaciones comprenden tigeclina y  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  con una proporción molar del Mg con respecto a la minociclina de aproximadamente 12:1 en una base que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 6,0 a 7,0. Algunas de dichas composiciones se pueden preparar en forma de una solución acuosa y liofilizarse. Como comprenderá un experto en la materia, el pH de una solución reconstituida puede tener un pH en el intervalo de 6,0 a 7,0. Algunas de dichas realizaciones son adecuadas para su uso tópico. Algunas de dichas composiciones comprenden tigeclina con una estabilidad superior al 90 %, 95 % o 98 % durante al menos 30 días. Algunas realizaciones incluyen composiciones que comprenden un componente adicional tal como cloruro de benzalconio, un esteroide tal como hidrocortisona, dexametasona, bromuro de tonzonio, tiloxapol, un agente antiséptico tal como el ácido bórico, un conservante tal como cloruro de benzalconio.

Algunas realizaciones comprenden tigeclina y  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$  con una proporción molar de Ca:minociclina de aproximadamente 5:1 en una base que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 6,0 a 7,0. Algunas realizaciones comprenden tigeclina y  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$  con una proporción molar del Ca con respecto a la tigeclina de aproximadamente 12:1 en una base que comprende NaOH con un pH en el intervalo de 6,0 a 7,0. Algunas de dichas composiciones se pueden preparar en forma de una solución acuosa y liofilizarse. Como comprenderá un experto en la materia, el pH de una solución reconstituida puede tener un pH en el intervalo de 6,0 a 7,0. Algunas de dichas realizaciones son adecuadas para su uso tópico. Algunas de dichas composiciones comprenden tigeclina con una estabilidad superior al 90 %, 95 %, 98 % durante al menos 30 días. Algunas realizaciones incluyen composiciones que comprenden un componente adicional tal como cloruro de benzalconio, un esteroide tal como hidrocortisona, dexametasona, bromuro de tonzonio, tiloxapol, un agente antiséptico tal como el ácido bórico, un conservante tal como cloruro de benzalconio.

Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden una solución acuosa de minociclina y un catión divalente o trivalente, en las que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a 2:1. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a aproximadamente 3:1, superior a aproximadamente 5:1, superior a aproximadamente 8:1, superior a aproximadamente 10:1. En algunas realizaciones, el catión divalente o trivalente se selecciona entre hierro, cobre, cinc, manganeso, níquel, cobalto, aluminio, calcio, magnesio y galio. En realizaciones particulares, el catión divalente o trivalente se selecciona entre magnesio, calcio y cinc. En algunas realizaciones, la solución comprende sulfato de magnesio y/u óxido de magnesio. En realizaciones particulares, la composición es adecuada para la administración intravenosa.

Más realizaciones incluyen una composición farmacéutica que comprende una solución acuosa de un antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina y un catión divalente o trivalente, en la que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto al antibiótico de tetraciclina es superior a 3:1 y en la que la solución no comprende un aceite, gluconato o un compuesto que contenga piridina, tiene un pH superior a 2 e inferior a 7, y es adecuada para su

administración intravenosa. En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina se selecciona entre minociclina, PTK796 y glicilciclinas (por ejemplo, tigeciclina).

5 Algunas realizaciones incluyen una composición sólida hidrosoluble, que comprende minociclina o una de sus sales y una sal que comprende un catión divalente o trivalente. En algunas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a aproximadamente 1:1, superior a aproximadamente 2:1, superior a aproximadamente 3:1, superior a aproximadamente 5:1, superior a aproximadamente 8:1, superior a aproximadamente 10:1. En algunas realizaciones, la sal se selecciona entre cloruro de magnesio, bromuro de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, bromuro de calcio, sulfato de calcio, cloruro de cinc, cloruro de galio, malato de magnesio, gluconato de magnesio, citrato de magnesio, gluconato de calcio, citrato de calcio, gluconato de cinc, acetato de cinc y citrato de cinc. En realizaciones preferidas, la sal es sulfato de magnesio. En algunas realizaciones, la composición comprende acetato sódico. En determinadas realizaciones, la composición no comprende un antioxidante, un compuesto que contiene piridina (por ejemplo, nicotinamida) o gluconato.

15 Más realizaciones incluyen composiciones sólidas hidrosolubles que comprenden un antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina y una sal que comprende un catión divalente o trivalente, en las que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto al antibiótico de tetraciclina es superior a 3:1, y en la que la composición no comprende gluconato o un compuesto que contiene piridina. En algunas realizaciones, la 7-dimetilamino-tetraciclina se selecciona entre minociclina, glicilciclinas (por ejemplo, tigeciclina) y PTK796.

20 En algunas realizaciones, las composiciones hidrosolubles descritas anteriormente se encuentran en forma de liofilizado.

#### Métodos de preparación

25 Algunas realizaciones de la presente invención incluyen métodos para preparar las composiciones descritas en el presente documento. Algunos de estos métodos incluyen la combinación de un antibiótico de tetraciclina y un catión divalente o trivalente. Algunos métodos comprenden además la modificación del pH de las composiciones. En algunos métodos, la modificación del pH comprende ajustar el pH con un agente modificador del pH. Los ejemplos de agentes modificadores del pH incluyen ácido clorhídrico, ácido géntísico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético, ácido fosfórico, hidróxido sódico, bicarbonato de sodio y carbonato de sodio. En algunas realizaciones, el agente modificador del pH incluye cualquier ácido, base o tampón farmacéuticamente aceptable capaz de ajustar el pH de una solución de antibiótico de tetraciclina/catión metálico de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 7,0, de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 5,0, de aproximadamente 5,0 a 6,0, de aproximadamente 5,5 a 6,5, de aproximadamente 6,0 a 6,5 o de aproximadamente 4,2 a 4,8. En algunas realizaciones, el ácido, la base o el tampón se usa para ajustar el pH de una solución de antibiótico de tetraciclina/catión metálico a un pH inferior a 7, 6, 5, o 4. En algunas realizaciones, el ácido, la base o el tampón se usa para ajustar el pH de una solución de antibiótico de tetraciclina/catión metálico a un pH superior a 2 e inferior a 7, superior a 4 e inferior a 7, superior a 4 e inferior a 6 y superior a 4 e inferior a 5. Los ejemplos de dichos ácidos incluyen, pero sin limitación, ácido clorhídrico, incluyendo HCl 1,0 N, ácido géntísico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético y ácido fosfórico. Los ejemplos de tampones adecuados incluyen como componentes succinatos y acetato. Los ejemplos de dichas bases incluyen, pero sin limitación, soluciones acuosas de hidróxido de sodio, incluyendo solución de NaOH 1,0 N, bicarbonato de sodio y carbonato de sodio.

45 Las composiciones de la invención se pueden preparar mediante una serie de métodos aceptables. Por ejemplo, las sales metálicas se disuelven en agua y se añade el antibiótico de tetraciclina a esta solución. Como alternativa, primero se disuelve el antibiótico, y se añade la sal metálica a la solución. A continuación, se ajusta el pH de la solución con un ácido, una base o un tampón. Otros agentes opcionales, tales como antioxidante o hidratos de carbono se disuelven en la solución. Después, la solución final se puede usar directamente en terapia o liofilizarse hasta sequedad, formando un polvo o una torta liofilizada para su posterior reconstitución.

50 En otro ejemplo, se puede mezclar un antibiótico de tetraciclina en seco con las sales metálicas y otros ingredientes opcionales, y disolverse la mezcla residual en agua. Después se ajusta el pH de la solución, y, a continuación, la solución se puede usar en terapia o liofilizarse hasta la sequedad, formando un polvo o una torta.

55 La liofilización de las soluciones descritas en el presente documento se puede realizar mediante cualquier medio farmacéuticamente aceptable. Una vez liofilizadas, las composiciones de la invención se pueden almacenar bajo un gas inerte, tal como nitrógeno, para ralentizar más el proceso de degradación.

60 El antibiótico de tetraciclina usado para las diversas técnicas de preparación puede ser cualquier forma en estado sólido de la tetraciclina que sea suficientemente hidrosoluble. Dichas formas en estado sólido incluyen polimorfos cristalinos, formas amorfas y sales de tetraciclina.

65 Una realización para la preparación de una composición farmacéutica que contiene minociclina incluye disolver minociclina y una sal que comprenda un catión divalente o trivalente en agua, formando una solución, y ajustar el pH de la solución para que sea inferior a aproximadamente 7, inferior a aproximadamente 6, inferior a aproximadamente

5, inferior a aproximadamente 4 o inferior a aproximadamente 3. En algunas realizaciones, el pH de la solución se ajusta para que sea superior a aproximadamente 2 e inferior a aproximadamente 7, superior a aproximadamente 4 e inferior a aproximadamente 7, o superior a aproximadamente 4 e inferior a aproximadamente 6. En algunas realizaciones, ajustar el pH comprende añadir una base, por ejemplo, NaOH. En algunas realizaciones, ajustar el pH comprende formar un tampón. En algunas realizaciones, la formación del tampón comprende la adición de acetato de sodio.

Más realizaciones de los métodos de preparación de una composición farmacéutica que contiene minociclina incluye disolver la minociclina en una solución que comprende un catión divalente o trivalente; y ajustar el pH de la solución para que sea inferior a 7.

En algunas realizaciones, se puede preparar una solución de una 7-dimetilamino-tetraciclina añadiendo una 7-dimetilamino-tetraciclina, una solución acuosa de sal divalente o trivalente para proporcionar una determinada proporción molar de la sal divalente o trivalente con respecto a la 7-dimetilamino-tetraciclina. El pH de la solución se puede ajustar a un determinado pH con un tampón, un ácido o una base. La osmolalidad de la solución se puede ajustar hasta una determinada osmolalidad. La solución se puede liofilizar. La solución liofilizada se puede reconstituir con un diluyente tal como agua.

En algunas realizaciones, se puede preparar una solución de una 7-dimetilamino-tetraciclina añadiendo una 7-dimetilamino-tetraciclina a un ácido, tal como HCl. La solución se puede liofilizar. La solución liofilizada se puede reconstituir con un diluyente que comprenda una sal divalente o trivalente, proporcionando una determinada proporción molar de la sal divalente o trivalente con respecto a la 7-dimetilamino-tetraciclina. El diluyente puede comprender además un ácido, una base o un tampón, tal como acetato sódico, proporcionando una solución de un determinado pH.

En algunas realizaciones, la minociclina puede estar en un tampón que comprenda  $MgSO_4$  a pH 5. La solución se puede liofilizar. El liofilizado se puede reconstituir en un diluyente acuoso. En algunas realizaciones, la minociclina se puede disolver en una solución acuosa que comprenda HCl,  $MgSO_4$  y acetato sódico. La solución se puede liofilizar. En algunas realizaciones, la minociclina se puede disolver en una solución acuosa que comprenda HCl. La solución se puede liofilizar. El liofilizado se puede reconstituir en una solución acuosa. En algunas realizaciones, la solución de reconstitución puede carecer de Mg.

#### Kits

Algunas realizaciones de la presente invención incluyen kits que comprenden una composición descrita en el presente documento. Algunos kits incluyen un recipiente de un solo uso que comprende una composición descrita en el presente documento. Los recipientes de un solo uso incluyen ampollas, viales y similares. El recipiente de un solo uso puede comprender una formulación liofilizada de una composición descrita en el presente documento. Algunos kits incluyen un diluyente para la reconstitución de las formulaciones liofilizadas de una composición o composición farmacéutica descrita en el presente documento.

En algunas realizaciones, las composiciones de la invención se pueden preparar para el uso en monodosis. En esta realización, las soluciones de la invención se liofilizan en viales individuales, tales como viales de 20 ml. Tras la liofilización, los viales se tapan con cualquier tapón aceptable. Los viales taponados se envían luego para su uso. Cuando sea necesario, los viales se pueden reconstituir mediante la adición de suficientes diluyentes para conseguir la concentración deseada de la tetraciclina. La concentración de las soluciones reconstituidas puede ser fácilmente determinada por los expertos en la materia. Se puede usar cualquier diluyente farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de dichos diluyentes incluyen, pero sin limitación, agua, solución salina al 0,9 %, solución de lactato de Ringer para inyección y soluciones de dextrosa, incluyendo dextrosa al 5 % (5DW).

En algunas realizaciones, el diluyente no comprende un aceite farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, aceites de ricino hidrogenados de polioxietileno), un compuesto que contiene piridina (por ejemplo, nicotinamida), gluconato, un antioxidante, un alcohol (por ejemplo, un alcohol polihídrico, tal como, propilenglicol, etilenglicol), glicerol, polietilenglicol, un compuesto que contiene pirrolidona, un anestésico local miscible en agua (por ejemplo, procaína, tetracaína), urea, lactosa o un agente deshidratante (por ejemplo, acetato de etilo, anhídrido acético, etanol absoluto, acetato de etilo, anhídrido acético, y mezclas de los mismos). En algunas realizaciones, el diluyente no comprende un codisolvente solubilizante de tetraciclina.

En algunas realizaciones, el diluyente contiene el catión divalente o trivalente. Por ejemplo, algunas realizaciones incluyen kits que comprenden un primer recipiente que comprende un diluyente que comprende una solución acuosa de un catión divalente o trivalente; y un segundo recipiente que comprende una composición sólida soluble en el diluyente, en el que la composición sólida comprende minociclina en una cantidad tal que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la minociclina es superior a aproximadamente 2:1. En algunas realizaciones, el diluyente comprende un ácido, por ejemplo, HCl. En algunas realizaciones, el diluyente comprende un tampón. En algunas realizaciones, el tampón es acetato sódico.

Más realizaciones incluyen kits que comprenden un primer recipiente que comprende un diluyente que comprende una solución acuosa de un catión divalente o trivalente; y un segundo recipiente que comprende una composición sólida soluble en el diluyente, en los que la composición sólida comprende un antibiótico de tetraciclina en una cantidad tal que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto al antibiótico de tetraciclina es superior a 3:1.

Más realizaciones incluyen viales de un solo uso que comprenden cualquier composición en la que el vial comprende una cantidad de una tetraciclina de al menos 100 µg, 200 µg, 300 µg, 400 µg, 500 µg, 600 µg, 700 µg, 800 µg, 900 µg, 1.000 µg. En algunas realizaciones, el vial comprende una cantidad de una tetraciclina de al menos 1 mg, 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg y 130 mg. En algunas realizaciones, el vial comprende una cantidad de una tetraciclina de al menos 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg y 500 mg. En algunas realizaciones, el vial comprende aproximadamente 100 mg de una tetraciclina. En algunas realizaciones, la tetraciclina es minociclina. En algunas realizaciones, la tetraciclina es tigeciclina. En algunas de dichas realizaciones, un vial puede comprender más de 30 mg y menos de 100 mg de tigeciclina.

#### Métodos de tratamiento

Algunas realizaciones incluyen métodos de tratamiento o de prevención de una infección bacteriana en un sujeto mediante la administración de una composición descrita en el presente documento. "Tratar", como se usa en el presente documento, se refiere a la administración de una composición farmacéutica con fines terapéuticos a un paciente que padece una infección bacteriana. "Prevenir", como se usa en el presente documento, se refiere al tratamiento de un paciente que todavía no está infectado, pero que es susceptible o tiene riesgo de contraer una infección particular, por lo que el tratamiento reduce la probabilidad de que el paciente desarrolle una infección.

En algunas realizaciones, la administración se realiza por vía intravenosa, tal como mediante la administración de una solución acuosa que se describe en el presente documento por vía intravenosa.

Algunos de dichos métodos incluyen la administración de una solución acuosa de minociclina y un catión divalente o trivalente a un sujeto por vía intravenosa. Dichas soluciones se describen en el presente documento.

Algunas realizaciones incluyen la administración de una solución acuosa de un antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina y un catión divalente o trivalente a un sujeto por vía intravenosa, en la que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto al antibiótico de tetraciclina es superior a aproximadamente 3:1 y en la que la solución no comprende gluconato o un compuesto que contiene piridina y tiene un pH superior a 2 e inferior a 7.

En algunas realizaciones de la administración intravenosa, las composiciones descritas en el presente documento permiten el uso de menores volúmenes y tiempos de infusión más rápidos debido al aumento de las concentraciones de antibiótico de tetraciclina y una reducción de la flebitis en el lugar de la inyección en comparación con las formulaciones intravenosas disponibles actualmente. En algunas realizaciones, el volumen total administrado es inferior a 50 ml, inferior a 60 ml, inferior a 70 ml, inferior a 80 ml, inferior a 90 ml, inferior a 100 ml, inferior a 110 ml, inferior a 120 ml, inferior a 130 ml, inferior a 140 ml, inferior a 150 ml, inferior a 200 ml, inferior a 300 ml, inferior a 400 ml, inferior a 500 ml o inferior a 1.000 ml. En algunas realizaciones, se administran aproximadamente 100 ml. En algunas realizaciones, todo el volumen que se va a administrar se administra en menos de 10 minutos, menos de 20 minutos, menos de 30 minutos, menos de 40 minutos, menos de 50 minutos, menos de 60 minutos, menos de 70 minutos, menos de 80 minutos, menos de 90 minutos, menos de 2 horas, menos de 3 horas o menos de 4 horas. En algunas realizaciones, todo el volumen se administra en 20-70 minutos. En algunas realizaciones, todo el volumen se administra en 30-60 minutos.

Algunas realizaciones incluyen la administración de una composición descrita en el presente documento por vía tópica. Los ejemplos de vías tópicas incluyen la piel, ojos, oídos, rectal, vaginal, uretral. Los métodos para dicha administración son bien conocidos en la técnica y pueden incluir solución acuosa, pulverizado, supositorio, bálsamo, o una pomada o similares. Por consiguiente, algunas realizaciones incluyen la administración de una solución acuosa de un antibiótico de 7-dimetilamino-tetraciclina y un catión divalente o trivalente a un sujeto por vía tópica. En algunas de dichas realizaciones, la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto al antibiótico de tetraciclina es superior a aproximadamente 3:1. En algunas realizaciones, la solución no comprende gluconato o un compuesto que contiene piridina. En algunas realizaciones, la solución tiene un pH superior a 2 e inferior a 7.

Otras realizaciones incluyen la administración de una composición descrita en el presente documento por inhalación pulmonar. Por ejemplo, las composiciones se pueden administrar por inhalación de un aerosol de la composición. El aerosol se puede formar usando partículas secas de la composición o por nebulización de una solución o suspensión de la composición. Se puede usar cualquier dispositivo de pulverización adecuado, incluyendo los inhaladores de polvo seco, inhaladores de dosis medidas y nebulizadores.

Los siguientes ejemplos ilustran diversas realizaciones de la invención y no pretenden limitar la invención de modo alguno.

**Ejemplos**Ejemplo 1 - Estabilidad a 37 °C para las soluciones de tigeclina o Tygacil® que contienen cationes metálicos

5 Procedimientos generales: Algunos de los siguientes ejemplos incluyen experimentos en los que se analizaron las estabildades de diversas soluciones acuosas de una tetraciclina. Algunas soluciones incluían un hidrato de carbono y/o diversas cantidades molares de sales metálicas.

10 El pH de las soluciones se ajustó con ácido clorhídrico o una solución de hidróxido de sodio. Las soluciones se incubaron a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) o a 37 °C. La incubación de las soluciones a 37 °C se usó como un modelo para el almacenamiento a largo plazo de las soluciones.

15 Se analizaron las estabildades de diversas soluciones acuosas de una tetraciclina mediante HPLC. Los análisis de HPLC se realizaron sobre una Columna: Agilent 1200: Eclipse Plus C18 4,6 x 150 mm, 5 µm. Detección: UV a 248 nm. Caudal: 1,2 ml/min. Tiempo de retención de la tigeclina = 4,30 min. Gradiente: Disolvente A = ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo. Disolvente B = ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua. La TABLA 1 muestra el gradiente de HPLC usado.

20

TABLA 1

Tiempo (min)	% de disolvente A	% de disolvente B
0,0	5	95
9,5	50	50
10,0	5	95
15,0	5	95

25 Se preparó una solución acuosa de 10 mg/ml de tigeclina y se dispensaron alícuotas de 300 µl en tubos de polipropileno. Se ajustó el volumen de cada tubo a 1 ml con diversas diluciones de MgCl<sub>2</sub> 0,1 M, CaCl<sub>2</sub> 0,1 M o ZnCl<sub>2</sub> 0,1 M para conseguir la proporción molar deseada de tigeclina: catión metálico. Los tubos se incubaron a oscuras a 37 °C. Se tomaron muestras de cada solución en varios puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de tigeclina restante de cada muestra.

30 Se preparó una solución acuosa de 10 mg/ml (17,08 mol/l) de Tygacil® (Lote D 90293, 53 mg), una formulación de tigeclina comercial que contenía lactosa, y se dispensaron alícuotas de 240 µl en tubos de polipropileno. Se ajustó el volumen de cada tubo a 1 ml con diversas diluciones de MgCl<sub>2</sub> 0,1 M, CaCl<sub>2</sub> 0,1 M o ZnCl<sub>2</sub> 0,1 M para conseguir la proporción molar deseada de tigeclina: catión metálico. Los tubos que contienen la solución se incubaron a oscuras a 37 °C. Se tomaron muestras de cada solución en varios puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de tigeclina restante de cada muestra.

35 Los porcentajes de tigeclina restante el día 0, 1, 2, 5, y 7 para las soluciones de tigeclina en diversas proporciones molares con MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> o ZnCl<sub>2</sub> se muestran en la TABLA 2, TABLA 3 y TABLA 4, respectivamente. Los porcentajes de tigeclina restante el día 0, 1, 2, 5, y 7 para las soluciones de Tygacil® en diversas proporciones con MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> o ZnCl<sub>2</sub> se muestran en la TABLA 5, TABLA 6 y TABLA 7, respectivamente.

40

TABLA 2

Proporción molar de MgCl <sub>2</sub> :tigeclina	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7
10:1	99,42	98,93	97,68	92,31	85,95
5:1	99,45	98,85	97,30	88,64	81,41
2:1	99,50	98,57	96,85	84,95	73,95
1:1	99,64	98,64	96,70	82,54	67,87
0,5:1	99,60	98,45	96,52	79,39	62,20
0,2:1	99,56	98,44	95,91	72,81	53,83
0,1:1	99,50	98,29	95,66	67,28	48,68
0:1	99,53	98,23	95,18	58,42	40,90

TABLA 3

Proporción molar de CaCl <sub>2</sub> :tigeciclina	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7
10:1	99,49	99,02	97,89	91,88	86,31
5:1	99,44	98,66	97,31	87,13	80,87
2:1	99,38	98,06	96,66	83,63	75,05
1:1	99,58	98,33	96,54	81,30	70,18
0,5:1	99,56	98,61	96,15	76,00	64,81
0,2:1	99,58	98,47	95,99	72,84	57,19
0,1:1	99,56	98,32	95,66	67,89	49,75
0:1	99,49	98,17	94,98	59,11	39,31

TABLA 4

Proporción molar de ZnCl <sub>2</sub> :tigeciclina	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7
10:1	99,15	99,01	97,82	96,65	95,41
5:1	99,21	98,66	97,76	95,81	92,85
2:1	99,31	98,46	97,32	91,02	85,64
1:1	99,54	98,66	97,59	91,27	82,49
0,5:1	99,53	98,66	97,21	87,15	76,43
0,2:1	99,52	98,38	95,95	79,08	66,83
0,1:1	99,50	98,39	96,11	78,80	64,93
0:1	99,46	98,37	95,02	56,30	39,05

TABLA 5

Proporción molar de MgCl <sub>2</sub> : Tygacil <sup>®</sup>	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7
10:1	99,61	99,38	98,97	96,51	93,52
5:1	99,47	99,46	98,83	95,38	90,55
2:1	99,49	99,32	98,72	93,20	84,03
1:1	99,63	99,38	98,55	89,21	74,30
0,5:1	99,59	99,28	98,36	86,97	68,84
0,2:1	99,54	99,26	98,43	86,41	64,91
0,1:1	99,48	99,19	98,19	72,43	44,71

5

TABLA 6

Proporción molar de CaCl <sub>2</sub> : Tygacil <sup>®</sup>	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7
10:1	99,41	99,41	98,88	96,51	89,98
5:1	99,40	99,29	98,48	95,38	85,50
2:1	99,45	99,22	98,34	93,20	79,62
1:1	99,71	99,44	98,44	89,21	75,34
0,5:1	99,53	99,16	98,32	86,97	70,45
0,2:1	99,54	99,21	98,30	86,41	63,78
0:1	99,47	99,16	98,16	72,43	42,88

TABLA 7

Proporción molar de ZnCl <sub>2</sub> Tygacil <sup>®</sup>	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7
10:1	99,41	99,45	98,90	97,89	95,78
5:1	99,44	99,27	98,68	96,87	94,30
2:1	99,39	99,25	98,74	96,09	92,22
1:1	99,56	99,50	98,98	95,60	90,67
0,5:1	99,48	99,25	98,78	93,73	86,02
0,2:1	99,52	99,35	98,43	89,34	77,79
0:1	99,50	99,27	98,12	69,85	42,15

Aunque la tigeclina se descompone en todos los tubos durante 7 días, la velocidad de descomposición fue significativamente menor en las soluciones que contenían proporciones molares más altas de catión metálico. Las velocidades de descomposición de la tigeclina en presencia de cationes de calcio o magnesio fueron similares; sin embargo, la velocidad de descomposición de la tigeclina en presencia de cinc fue significativamente menor. La presencia de lactosa en la formulación de Tygacil<sup>®</sup> redujo aún más la velocidad de descomposición.

Ejemplo 2 - Estabilidad a temperatura ambiente para las soluciones de tigeclina o Tygacil<sup>®</sup> que contienen cationes metálicos

Se preparó una solución acuosa de 10mg/ml de tigeclina y se dispensaron alícuotas de 240 µl en tubos de polipropileno. Se ajustó el volumen de cada tubo a 1 ml con diversas diluciones de MgCl<sub>2</sub> 0,1 M, CaCl<sub>2</sub> 0,1 M o ZnCl<sub>2</sub> 0,1 M para conseguir la proporción molar deseada de tigeclina: catión metálico. Los tubos se incubaron a oscuras a 37 °C. Se tomaron muestras de cada solución en varios puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de tigeclina restante de cada muestra.

Se preparó una solución acuosa de 10 mol/l de Tygacil<sup>®</sup> (Lote D 90293, 53 mg), y se dispensaron alícuotas de 240 µl en tubos de polipropileno. Se ajustó el volumen de cada tubo a 1 ml con diversas diluciones de MgCl<sub>2</sub> 0,1 M, CaCl<sub>2</sub> 0,1 M o ZnCl<sub>2</sub> 0,1 M para conseguir la proporción molar deseada de tigeclina: catión metálico. Los tubos se incubaron a oscuras a 37 °C. Se tomaron muestras de cada solución en varios puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de tigeclina restante de cada muestra.

Los porcentajes de tigeclina restante el día 0, 1, 2, 5, 7, 14, 21, 28 y 36 para las soluciones de tigeclina en diversas proporciones molares con MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> o ZnCl<sub>2</sub> se muestran en la TABLA 8, TABLA 9 y TABLA 10, respectivamente. Los porcentajes de tigeclina restante el día 0, 1, 2, 5, 7, 14, 21, 28 y 36 para las soluciones de Tygacil<sup>®</sup> en diversas proporciones con MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> o ZnCl<sub>2</sub> se muestran en la TABLA 11, TABLA 12 y TABLA 13, respectivamente.

TABLA 8

Proporción molar de MgCl <sub>2</sub> : Tigeclina	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 36
10:1	99,58	99,32	99,46	99,03	98,62	95,52	91,90	85,33	76,89
5:1	99,45	99,32	99,41	98,74	98,16	94,04	87,10	76,71	62,60
2:1	99,51	99,27	99,43	98,46	96,97	89,87	76,29	58,07	40,67
1:1	99,66	99,45	99,36	98,35	96,49	85,88	66,59	46,07	31,90
0,5:1	99,64	99,40	99,35	97,76	96,16	81,98	59,70	39,79	28,16
0,2:1	99,56	99,37	99,28	97,93	95,45	75,81	50,38	34,00	24,19
0:1	99,46	99,24	99,15	97,01	94,08	61,98	38,99	24,55	16,33

TABLA 9

Proporción molar de CaCl <sub>2</sub> : Tigeclina	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 36
10:1	99,58	99,34	99,41	99,05	98,59	95,45	92,00	86,92	82,47
5:1	99,48	99,25	99,27	98,66	98,13	93,61	88,60	81,75	74,95
2:1	99,37	99,27	99,25	98,03	97,16	91,36	82,92	72,83	62,43

ES 2 715 551 T3

1:1	99,57	99,38	99,30	98,53	96,92	89,14	78,35	65,46	53,22
0,5:1	99,59	99,30	99,30	98,32	96,54	86,26	72,73	58,20	45,11
0,2:1	99,48	99,32	99,27	97,94	95,75	80,39	61,83	45,47	26,69
0:1	99,44	99,29	99,17	96,76	93,75	60,72	38,08	23,94	15,72

TABLA 10

Proporción molar de ZnCl <sub>2</sub> Tigeciclina	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 36
10:1	99,24	98,99	99,49	99,30	99,19	97,49	97,63	96,09	94,32
5:1	99,29	99,13	99,05	99,27	99,16	97,40	95,98	92,80	90,60
2:1	99,34	99,23	99,51	99,06	98,82	95,79	93,63	86,84	80,66
1:1	99,53	99,39	99,47	99,03	98,48	94,61	88,48	79,03	69,44
0,5:1	99,50	99,39	99,33	98,76	96,77	90,07	78,03	65,63	54,07
0,2:1	99,46	99,37	99,33	98,24	96,50	85,72	69,89	55,13	41,97
0:1	99,44	99,39	99,12	97,28	93,31	59,45	37,09	23,57	15,48

TABLA 11

Proporción molar de MgCl <sub>2</sub> : Tygacil®	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 36
10:1	99,44	99,53	99,34	99,25	99,07	97,30	95,37	92,20	86,32
5:1	99,44	99,61	99,60	99,45	99,32	97,66	95,34	90,98	83,58
2:1	99,48	99,63	99,56	99,43	99,19	96,67	91,94	81,95	66,57
1:1	99,55	99,62	99,61	99,09	99,11	96,50	89,71	74,36	55,95
0,5:1	99,49	99,64	99,60	99,33	98,70	95,10	84,39	64,70	45,04
0,2:1	99,49	99,63	99,57	99,28	98,89	94,03	79,53	57,09	37,94
0:1	99,44	99,57	99,57	99,25	98,78	89,19	65,09	42,56	28,38

5

TABLA 12

Proporción molar de CaCl <sub>2</sub> : Tygacil®	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 36
10:1	99,32	99,51	99,45	99,50	99,26	97,41	95,08	92,06	87,88
5:1	99,35	99,51	-	99,33	99,02	97,36	93,42	88,57	82,75
2:1	99,40	99,67	99,46	99,25	98,97	95,76	90,00	81,77	72,75
1:1	99,49	99,60	99,54	99,39	99,02	95,44	88,25	77,42	65,65
0,5:1	99,48	99,60	99,49	99,30	98,55	94,80	85,57	71,96	58,07
0,2:1	99,44	99,57	99,53	99,27	98,89	92,70	80,03	62,28	47,05
0:1	99,45	99,60	99,55	99,18	98,70	88,02	63,58	40,77	28,00

TABLA 13

Proporción molar de ZnCl <sub>2</sub> Tygacil®	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 36
10:1	98,91	99,49	99,43	99,46	99,47	98,98	98,68	98,17	98,11
5:1	99,15	99,54	99,51	99,45	99,35	98,88	98,26	97,39	96,15
2:1	99,29	99,57	99,55	99,35	99,37	98,60	97,42	95,30	92,37
1:1	99,44	99,62	99,55	99,61	99,33	97,97	96,29	92,70	87,08

0,5:1	99,47	99,62	99,59	99,48	99,25	97,60	94,10	86,46	76,49
0,2:1	99,45	99,62	99,61	99,47	99,19	96,09	89,52	77,46	63,06
0:1	99,42	99,54	99,52	99,14	98,71	88,25	64,08	41,19	28,09

Aunque la tigeclina se descompone en todos los tubos durante 36 días, la velocidad de descomposición fue significativamente menor en las soluciones que contenían proporciones molares más altas de catión metálico. Las velocidades de descomposición de la tigeclina en presencia de cationes de calcio o magnesio fueron similares; sin embargo, la velocidad de descomposición de la tigeclina en presencia de cinc fue significativamente menor. La presencia de lactosa en la formulación de Tygacil® redujo aún más la velocidad de descomposición.

Ejemplo 3 - Estabilidad a 37 °C para soluciones de Tygacil que contienen altas concentraciones de cationes metálicos

Se preparó una solución acuosa de 10 mol/l de Tygacil® (Lote D 90293, 53 mg), y se dispensaron alícuotas de 300 µl en tubos de polipropileno. Se ajustó el volumen de cada tubo a 1 ml con diversas diluciones de MgCl<sub>2</sub> 1 M, CaCl<sub>2</sub> 1 M o ZnCl<sub>2</sub> 1 M para conseguir la proporción molar deseada de tigeclina: catión metálico. Los tubos se incubaron a oscuras a 37 °C. Se tomaron muestras de cada solución en varios puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de tigeclina restante de cada muestra.

Los porcentajes de tigeclina restante el día 0, 1, 2, 5, 7, 14 y 21 para las soluciones de Tygacil® en diversas proporciones con MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> o ZnCl<sub>2</sub> se muestran en la TABLA 14, TABLA 15 y TABLA 16, respectivamente.

TABLA 14

Proporción molar de MgCl <sub>2</sub> : Tygacil®	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21
30:1	99,64	99,59	99,49	98,54	97,11	89,62	77,13
20:1	99,61	99,56	99,23	97,99	95,94	85,04	63,47
12:1	99,58	99,53	99,14	96,74	94,45	77,71	46,81
5:1	99,68	99,56	99,6	96,06	91,18	59,13	25,95
0:1	99,65	99,23	98,26	75,05	46,66	6,37	1,30

TABLA 15

Proporción molar de CaCl <sub>2</sub> : Tygacil®	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21
30:1	99,58	99,55	99,29	97,79	95,9	86,94	69,71
20:1	99,62	99,51	99,18	97,00	93,81	80,6	55,28
12:1	99,60	99,41	98,94	94,94	91,13	69,3	40,59
5:1	99,65	99,42	98,66	92,83	85,72	53,1	24,74
0:1	99,60	99,34	98,25	74,61	45,63	6,26	1,53

TABLA 16

Proporción molar de ZnCl <sub>2</sub> : Tygacil®	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21
12:1	99,44	99,27	99,49	98,60	97,66	92,50	83,58
5:1	99,48	-	99,22	97,42	96,21	87,22	71,55
0:1	99,62	-	98,22	73,43	43,3	6,37	1,57

Aunque la tigeclina se descompone en todos los tubos durante 21 días, la velocidad de descomposición fue significativamente menor en las soluciones que contenían proporciones molares más altas de catión metálico. Las velocidades de descomposición de la tigeclina en presencia de cationes de calcio o magnesio fueron similares, sin embargo, la velocidad de descomposición de la tigeclina en presencia de cinc fue significativamente menor.

Ejemplo 4 - Efecto del pH sobre la estabilidad de soluciones de Tygacil® que contienen cationes metálicos a 37 °C

Se preparó una solución acuosa de 10 mol/l de Tygacil® (Lote D 90293, 53 mg), y se dispensaron alícuotas de

1.650 µl en cuatro tubos de polipropileno de 15 ml. Se ajustó el volumen de cada tubo a 5.500 µl con diversas diluciones de MgCl<sub>2</sub> 0,1 M, CaCl<sub>2</sub> 0,1 M o ZnCl<sub>2</sub> 0,1 M, o agua (control), para conseguir la proporción molar deseada de una proporción 1:1 de tigeciclina: catión metálico. Se tomaron soluciones de muestra de cada tubo de 15 ml y se ajustaron a pH 4, 5 o 6 con soluciones 0,1 N o 1 N de NaOH o HCl, teniendo cuidado de reducir al mínimo los cambios de volumen. Se incubaron soluciones de las muestras a oscuras a 37 °C. Se tomaron muestras a diversos puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de tigeciclina restante (expresada como un porcentaje de la concentración de partida) en cada muestra.

Los porcentajes de tigeciclina restante el día 0, 1, 2, 5, 7 y 14 para las soluciones de Tygacil<sup>®</sup> en proporciones 1:1 con MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> o ZnCl<sub>2</sub> a diversos pH se muestran en la TABLA 17, TABLA 18 y TABLA 19, respectivamente. La TABLA 20 muestra los porcentajes de tigeciclina restante el día 0, 1, 2, 5, 7, y 14 solo para soluciones de Tygacil<sup>®</sup> a distintos pH.

TABLA 17

pH para MgCl <sub>2</sub> : Tygacil <sup>®</sup> de 1:1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	99,51	98,89	98,89	95,72	90,92	54,54
pH 5	99,55	99,09	98,00	84,77	63,60	15,89
pH 6	99,53	98,36	95,79	44,81	23,71	5,19

TABLA 18

pH para CaCl <sub>2</sub> : Tygacil <sup>®</sup> de 1:1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	99,49	98,88	98,84	94,43	90,06	55,91
pH 5	99,66	99,02	97,8	81,96	69,23	28,89
pH 6	99,62	98,70	97,87	92,45	87,40	56,79

TABLA 19

pH para ZnCl <sub>2</sub> : Tygacil <sup>®</sup> de 1:1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	99,47	98,62	99,03	96,14	93,15	73,25
pH 5	99,6	99,21	98,96	93,02	83,48	39,93
pH 6	99,54	99,3	99,16	94,58	86,35	49,21

TABLA 20

pH para Tygacil <sup>®</sup>	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	99,48	99,07	98,93	94,28	87,05	44,75
pH 5	99,6	98,94	96,89	49,21	27,49	2,16
pH 6	99,47	95,27	59,56	10,74	2,4	5,22

Aunque la tigeciclina se descompone en todos los tubos durante 14 días, la velocidad de descomposición fue significativamente más baja en soluciones con un pH inferior a pH 6. Las velocidades de descomposición de la tigeciclina en presencia de cationes de calcio o magnesio fueron similares a pH 4 y 5; sin embargo, la velocidad de descomposición de la tigeciclina en presencia de magnesio a pH 6 fue significativamente mayor. La velocidad de descomposición de la tigeciclina a pH 4 y 5 en soluciones que contienen cinc fue menor que las soluciones que contienen magnesio o calcio. Las velocidades de descomposición de la tigeciclina a pH 6, en soluciones que contienen cinc o calcio fueron similares. La velocidad de descomposición de la tigeciclina a todos los pH fue mucho menor en presencia de cationes metálicos, en especial, a pH alto.

Ejemplo 5 - Efecto del pH sobre la estabilidad de soluciones de Tygacil<sup>®</sup> que contienen altas concentraciones de cationes metálicos a 37 °C

Se preparó una solución acuosa de 10 mol/l de Tygacil<sup>®</sup> (Lote D 90293, 53 mg), y se dispensaron alícuotas de 1.650 µl en cuatro tubos de polipropileno de 15 ml. Se ajustó el volumen de cada tubo a 5.500 µl con diversas diluciones de MgCl<sub>2</sub> 1 M, CaCl<sub>2</sub> 1 M o ZnCl<sub>2</sub> 1 M, o agua (control), para conseguir la proporción molar deseada de una proporción 1:12 de tigeciclina: catión metálico. Se tomaron soluciones de muestra de cada tubo de 15 ml y se ajustaron a pH 4, 5 o 6 con soluciones 0,1 N o 1 N de NaOH o HCl, teniendo cuidado de reducir al mínimo los cambios de volumen. Se incubaron soluciones de las muestras a oscuras a 37 °C. Se tomaron muestras a diversos

puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de tige ciclina restante de cada muestra.

Los porcentajes de tige ciclina restante el día 0, 1, 2, 5, 7 y 14 para las soluciones de Tygacil® en proporciones 1:12 con MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> o ZnCl<sub>2</sub> a diversos pH se muestran en la TABLA 21, TABLA 22 y TABLA 23, respectivamente.

5

TABLA 21

pH para MgCl <sub>2</sub> : Tygacil® de 12:1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	99,47	98,62	99,18	97,49	95,72	83,14
pH 5	99,61	98,87	99,12	96,53	93,72	69,08
pH 6	99,58	99,26	99,21	95,6	96,96	85,86

TABLA 22

pH para CaCl <sub>2</sub> : Tygacil® de 12:1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	99,48	97,24	98,89	96,01	92,85	73,05
pH 5	99,74	99,36	99,41	97,64	95,94	89
pH 6	99,61	99,44	99,48	98	97,09	92,18

10

TABLA 23

pH para ZnCl <sub>2</sub> : Tygacil® de 12:1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	99,49	99,29	99,36	98,73	98,35	95,19
pH 5	99,56	99,47	99,47	98,38	98,04	93,38
pH 6	99,65	99,38	99,49	98,78	98,79	97,67

Aunque la tige ciclina se descompone en todos los tubos durante 14 días, la velocidad de descomposición fue más lenta en soluciones a pH 6. Las velocidades de descomposición de la tige ciclina en presencia de calcio fueron más lentas en soluciones a un mayor pH. Cuando se formula como Tygacil, las velocidades de descomposición de la tige ciclina en presencia de cinc o de magnesio fueron más rápidas a pH 5.

15

Ejemplo 6 - Efecto del pH sobre la estabilidad de las soluciones de minociclina que contienen altas concentraciones de MgCl<sub>2</sub> en 37 °C

20 Se preparó una solución acuosa de 10 mg/ml de clorhidrato de minociclina, y se dispensaron alícuotas de 2.500 µl en dos tubos de polipropileno de 15 ml. Se ajustó el volumen de cada tubo a 5.500 µl con una dilución de MgCl<sub>2</sub> 1 M para alcanzar una proporción molar de 1:10 de minociclina: catión metálico, o con agua. Se tomaron soluciones de muestra de cada tubo de 15 ml y se ajustaron a pH 4, 5 o 6 con soluciones 0,1 N o 1 N de NaOH o HCl, teniendo cuidado de reducir al mínimo los cambios de volumen. Se incubaron soluciones de las muestras a oscuras a 37 °C.

25 Se tomaron muestras a diversos puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de minociclina restante de cada muestra.

Los porcentajes de minociclina restante el día 0, 1, 2, 5, 7 y 14 para las soluciones a diferentes valores de pH de la minociclina a una proporción de 1:10 con MgCl<sub>2</sub>, o soluciones de minociclina solas se muestran en la TABLA 24 y la TABLA 25, respectivamente.

30

TABLA 24

pH para MgCl <sub>2</sub> : Minociclina de 10:1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	98,63	96,97	96,46	94,76	93,43	84,32
pH 5	98,69	97,05	96,19	93,01	89,31	75,42
pH 6	99,03	97,1	96,04	88,45	83,88	76,25

TABLA 25

pH para Minociclina sola	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14
pH 4	98,75	96,37	96,21	94,99	92,78	81,82

pH 5	98,41	96,72	95,29	85,01	75,14	35,43
pH 6	98,19	95,47	87,55	39,17	14,56	2,2

Aunque la minociclina se descompone en todos los tubos durante 14 días, la velocidad de descomposición fue significativamente menor en las soluciones que contenían magnesio, en especial, a pH alto.

5 Ejemplo 7- Estabilidad de las soluciones de tigeciclina que contienen mezclas de CaCl<sub>2</sub> y MgCl<sub>2</sub> a pH 6 y 37 °C

Se preparó una solución acuosa de 10 mg/ml de tigeciclina, y se dispensaron alícuotas de 450 µl en tubos de polipropileno de 15 ml. El volumen de cada tubo se ajustó a 1.500 µl con diversas diluciones de MgCl<sub>2</sub> 1 M y CaCl<sub>2</sub> 1 M, o agua (control), para lograr las proporciones molares deseadas de tigeciclina: catión metálico. Se tomaron soluciones de muestra de cada tubo de 15 ml y se ajustaron a pH 6 con soluciones 0,1 N o 1 N de NaOH o HCl, teniendo cuidado de reducir al mínimo los cambios de volumen. Se incubaron soluciones de las muestras a oscuras a 37 °C. Se tomaron muestras a diversos puntos de tiempo y se analizaron mediante HPLC. Se determinó la fracción de tigeciclina restante de cada muestra.

15 Los porcentajes de tigeciclina restante el día 0, 1, 2, 5, 7, 14, y 21 para las soluciones a diversas proporciones de tigeciclina: MgCl<sub>2</sub>: CaCl<sub>2</sub> a pH 6 se muestran en la TABLA 26.

TABLA 26

Proporción molar de MgCl <sub>2</sub> : CaCl <sub>2</sub> : tigeciclina	Día 0	Día 1	Día 2	Día 5	Día 7	Día 14	Día 21
5:5:1	98,25	98,77	98,23	96,91	92,13	83,64	65,21
5:10:1	98,37	98,23	98,59	97,76	96,10	89,74	79,83
10:5:1	98,17	98,21	98,46	96,59	93,90	80,00	59,39
10:10:1	98,32	98,24	98,50	97,38	95,62	87,14	72,88
5:0:1	98,18	97,93	97,53	90,58	76,71	40,42	12,54
10:0:1	98,16	98,00	98,23	94,91	89,12	62,54	35,75
15:0:1	98,25	98,13	98,21	96,23	92,32	72,15	48,75
20:0:1	98,2	98,08	98,28	96,46	93,72	78,66	57,66
0:5:1	98,11	98,15	98,28	97,19	95,68	89,2	77,2
0:10:1	98,12	98,2	98,55	97,1	96,53	91,74	84,69
0:15:1	98,15	98,21	98,59	97,5	96,93	92,71	86,37
0:20:1	98,28	98,63	98,57	97,4	97,35	93,09	87,45
0:0:1	97,91	88,97	60,59	16,36	7,33	4,14	0

20 Aunque la tigeciclina se descompone en todos los tubos durante 21 días, la velocidad de descomposición fue significativamente menor en soluciones que contenían mayores cantidades relativas de cationes de calcio.

Ejemplo 8 - Efectos de MgCl<sub>2</sub> en la hemólisis inducida por minociclina en un modelo de flebitis venosa *in vitro*

25 Se comparó la hemólisis *in vitro* de glóbulos rojos (GR) de conejo tras la exposición a la minociclina formulada en MgCl<sub>2</sub> o CaCl<sub>2</sub> con hemólisis *in vitro* de GR tras la exposición a minociclina en solución salina, o la exposición a la anfotericina B. Se prepararon soluciones madre de HCl de minociclina (LKT laboratories) con MgCl<sub>2</sub> en solución salina, solución salina o lactato de Ringer, y el pH se ajustó con NaOH. Se obtuvieron glóbulos rojos (GR) de conejo y de oveja del laboratorio Innovative Research (Michigan, EE. UU.). inmediatamente antes de su uso, se lavaron los glóbulos rojos tres veces en solución salina al 0,9 % y se ajustaron a una densidad del 5 % en solución salina. Se añadieron 200 µl de glóbulos rojos a 800 µl de solución de minociclina, y se mezclaron mediante la inversión suave durante 2-5 segundos. Las muestras se incubaron a 37 °C o 30 minutos o a 25 °C durante 2-5 minutos. Las muestras incubadas se centrifugaron a 12.000 x g durante 4 minutos y se eliminaron los sobrenadantes, y se leyó la absorbancia de la hemoglobina a 540 nm. Las muestras se analizaron por triplicado. Se usaron la anfotericina B (MP Biomedicals) y el H<sub>2</sub>O destilada, o Triton-X y H<sub>2</sub>O destilada como controles positivos; se usó solución salina como control negativo. Se calculó el porcentaje de hemólisis de acuerdo con la siguiente fórmula:

30

35

$$\text{Porcentaje de hemólisis} = \frac{(\text{absorbancia de la muestra}) - (\text{absorbancia del blanco})}{\text{Absorbancia de H}_2\text{O destilada}} \times 100$$

- En una serie de experimentos, se ajustó el pH de las soluciones de minociclina formuladas con cationes divalentes a pH 5,85. Para los GR incubados en una solución salina de minociclina, la hemólisis estaba en el intervalo del 44 %-84 % (FIG. 1). Para los GR incubados en minociclina con  $\text{Mg}^{2+}$  o  $\text{Ca}^{2+}$ , la hemólisis fue del aproximadamente 2 %.
- 5 Los resultados que resumen el porcentaje de hemólisis *in vitro* de los GR de conejo incubados con diferentes formulaciones de minociclina o anfotericina B a 25 °C se resumen en la Tabla 27.

TABLA 27

Solución	Hemólisis de los GR en solución con respecto al agua (%)
minociclina a 5 mg/ml, 10 equiv de Mg, pH 5,85	2,8
minociclina a 2,5 mg/ml, 10 equiv de Mg, pH 5,85	3,2
minociclina a 0,5 mg/ml, 10 equiv de Mg, pH 5,85	2,3
minociclina a 5 mg/ml, 5 equiv de Ca, pH 5,85	2,2
minociclina a 2,5 mg/ml, 5 equiv de Ca, pH 5,85	2,94
minociclina a 0,5 mg/ml, 5 equiv de Ca, pH 5,85	2,20
minociclina a 5 mg/ml, solución salina, pH 4,17	81,64
minociclina a 2,5 mg/ml, solución salina, pH 4,17	84,37
minociclina a 0,5 mg/ml, solución salina, pH 4,17	43,82
Anfoterina B	101,31

- 10 En otro conjunto de experimentos, no se ajustó el pH de una solución de minociclina formulada con cationes divalentes y se dejó caer por debajo del pH de la minociclina en solución salina. Para los GR incubados en una solución salina de minociclina, la hemólisis estaba en el intervalo del 44 %-84 % (FIG. 2). Para los GR incubados en minociclina con  $\text{Mg}^{2+}$  o  $\text{Ca}^{2+}$ , la hemólisis estaba en el intervalo del 0 %-5 %. Los resultados que resumen el porcentaje de hemólisis *in vitro* de los GR de conejo incubados con diferentes formulaciones de minociclina a bajo
- 15 pH o anfotericina B a 25 °C se resumen en la Tabla 28.

TABLA 28

Solución	Hemólisis de los GR en solución con respecto al agua (%)
minociclina a 5 mg/ml, 10 equiv de Mg, pH 3,5	0,88
minociclina a 2,5 mg/ml, 10 equiv de Mg, pH 3,5	1,12
minociclina a 0,5 mg/ml, 10 equiv de Mg, pH 3,5	2,20
minociclina a 5 mg/ml, 5 equiv de Ca, pH 3,64	--
minociclina a 2,5 mg/ml, 5 equiv de Ca, pH 3,64	0,86
minociclina a 0,5 mg/ml, 5 equiv de Ca, pH 3,64	4,92
minociclina a 5 mg/ml, solución salina, pH 4,17	81,64
minociclina a 2,5 mg/ml, solución salina, pH 4,17	84,37
minociclina a 0,5 mg/ml, solución salina, pH 4,17	43,82
Anfoterina B	101,31

- 20 La hemólisis de los GR se redujo en un modelo de flebitis venosa *in vitro* con soluciones de minociclina formuladas con cationes divalentes en comparación con soluciones de minociclina formuladas sin cationes divalentes.

- En otro conjunto de experimentos, se midió la hemólisis de los GR de conejo después de la exposición a 2,5 mg/ml de minociclina formulada con diferentes relaciones de cationes divalentes ( $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{Mg SO}_4$ , o  $\text{CaCl}_2$ ). Se comparó la hemólisis con HCl de minociclina; se usaron Triton-X y  $\text{H}_2\text{O}$  como controles positivos. Los resultados se resumen en
- 25 la Tabla 29 y se muestran en las FIG. 4-6.

TABLA 29

Solución de minociclina a 2,5 mg/ml		Hemólisis de los GR en solución con respecto al agua (%)
Catión	Proporción molar de catión: minociclina	
MgSO <sub>4</sub>	1:2	22,52
	1:1	24,59
	2:1	40,87
	3:1	25,67
	5:1	2,86
	7:1	1,96
	10:1	0,19
MgCl <sub>2</sub>	1:2	46,91
	1:1	63,77
	2:1	74,87
	3:1	64,62
	5:1	9,43
	7:1	1,57
	10:1	0,35
CaCl <sub>2</sub>	1:2	75,22
	1:1	83,89
	2:1	50,84
	3:1	26,58
	5:1	1,16
	7:1	0,75
	10:1	0,40
Solo minociclina		37,44
Triton-x		97,82

La FIG. 3 y FIG. 4 muestran el grado de hemólisis de los GR de conejo producida por minociclina formulada en diferentes proporciones de MgSO<sub>4</sub> o MgCl<sub>2</sub>, respectivamente, en comparación con solo minociclina. Los datos indican que una proporción molar de 5:1 del magnesio con respecto a la minociclina o mayor inhibe la hemólisis de los GR observada solo con minociclina. La minociclina (minocina) produjo una hemólisis relativa de GR del 37 %. La FIG. 5 muestra el grado de hemólisis de GR de conejo producido por la minociclina formulada en diferentes proporciones de CaCl<sub>2</sub>. Estos datos muestran que la proporción molar de 5:1 del calcio con respecto a la minociclina inhibe la hemólisis de los GR observada con el HCl de minociclina solo.

En su conjunto, todos estos datos sugieren que las proporciones molares altas (por ejemplo, una proporción molar de 5:1 o superior) de los cationes divalentes (Mg<sup>2+</sup> o Ca<sup>2+</sup>) con respecto a la minociclina producen una inhibición significativa de la hemólisis de los GR de conejo observada con el HCl de minociclina.

#### 15 Ejemplo 9 - Solubilidad de la minociclina con cationes divalentes

Se prepararon mezclas que contenían minociclina y cationes divalentes (Mg<sup>2+</sup> o Ca<sup>2+</sup>) con estequiometría y pH variables. La solubilidad de la minociclina se evaluó de acuerdo con la turbidez de la mezcla a las 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h, 144 h y 168 h. Una solución clara indica la disolución completa. La Tabla 30 resume los datos de la minociclina con Mg<sup>2+</sup> a las 0 h y a las 24 h. La Tabla 31 resume los datos de la minociclina con Ca<sup>2+</sup> a las 0 h y las 24 h.

TABLA 30

Proporción molar de catión (Mg <sup>2+</sup> ): minociclina		0		1:2		1:1		2:1		3:1		5:1		7:1		10:1	
Tiempo (h)		0	24	0	24	0	24	0	24	0	24	0	24	0	24	0	24
minociclina a 1 mg/ml	pH 4	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 6	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 7	○	○									○	○	○	○	○	○
minociclina a 5 mg/ml	pH 4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	pH 6	○	○	●	●	●	●	●	●	●	●	○	●	○	●	○	○
minociclina a 10 mg/ml	pH 4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○	○	○	○	●	○	●	○	●	○	○	○	○	○	○
	pH 6	○	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
minociclina a 20 mg/ml	pH 4	○	●									○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○									○	●	○	●	○	●
minociclina a 30 mg/ml	pH 4	○	●									○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	●									○	●	○	●	○	●

●: insoluble; ○: soluble

TABLA 31

Proporción molar de catión (Ca <sup>2+</sup> ): minociclina		0		1:2		1:1		2:1		3:1		5:1		7:1		10:1	
Tiempo (h)		0	24	0	24	0	24	0	24	0	24	0	24	0	24	0	24
minociclina a 1 mg/ml	pH 4	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 6	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 7	○	○									○	●	○	●	○	●
minociclina a 5 mg/ml	pH 4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	pH 6	○	○	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
minociclina a 10 mg/ml	pH 4	○	○	○	○	○	○										
	pH 5	○	○	○	○	○	○										
	pH 6	○	○	○	○	○	○										
minociclina a 20 mg/ml	pH 4	○	●									○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○									○	○	○	○	○	○
minociclina a 30 mg/ml	pH 4	○	●									○	●	○	●	○	●
	pH 5	○	●									○	○	○	○	○	○

●: insoluble; ○: soluble

5 Los datos demuestran que la minociclina se mantiene en solución tras la introducción de un catión a concentraciones de 10 mg/ml e inferiores si el pH es inferior a 5. A un pH más alto, la introducción de un catión reduce inicialmente la solubilidad. Por ejemplo, una solución de 5 mg/ml de minociclina a pH 6 se vuelve insoluble tras la adición de Mg<sup>2+</sup>. Sorprendentemente, a una proporción molar de catión: minociclina de 5:1 o superior, la minociclina de dichas

soluciones se vuelve soluble, lo que sugiere que altas proporciones de cationes aumenta la solubilidad de la minociclina.

La Tabla 32 resume los datos de la minociclina con  $Mg^{2+}$  a las 48 h y a las 72 h.

5

TABLA 32

Proporción molar de catión ( $Mg^{2+}$ ): minociclina		0		1:2		1:1		2:1		3:1		5:1		7:1		10:1	
Tiempo (h)		48	72	48	72	48	72	48	72	48	72	48	72	48	72	48	72
minociclina a 1 mg/ml	pH 4	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 6	○	○									○	○	○	○	○	○
	pH 7	○	○									○	○	○	○	○	○
minociclina a 5 mg/ml	pH 4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	pH 5	○	○	○	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	pH 6	○	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	○	●
minociclina a 10 mg/ml	pH 4	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	pH 5	●	●	○	●	●	●	●	●	●	●	○	●	○	●	○	○
	pH 6	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
minociclina a 20 mg/ml	pH 4	●	●									○	○	○	○	○	○
	pH 5	●	●									●	●	●	●	●	●
minociclina a 30 mg/ml	pH 4	●	●									○	○	○	○	○	○
	pH 5	●	●									●	●	●	●	●	●

●: insoluble; ○: soluble

Ejemplo 10 - Estabilidad a largo plazo de la tigeciclina a diversas temperaturas

10 La Tabla 33, Tabla 34 y Tabla 35 indican el porcentaje de tigeciclina restante para diferentes formulaciones de tigeciclina a pH 6, almacenadas a 37 °C, a temperatura ambiente y a 4 °C, respectivamente. Las formulaciones de tigeciclina que comprenden concentraciones crecientes de tigeciclina y concentraciones crecientes de  $CaCl_2$  mostraron un aumento de la estabilidad.

15

TABLA 33

Sal	Formulación almacenada a 37 °C	Estabilidad de la tigeciclina (%)					
		0 días	1 días	2 días	5 días	7 días	14 días
$MgCl_2$	12 eq a 20 mg/ml	97,97	97,43	96,37	92,63	88,41	
	5 eq a 20 mg/ml	98,09	97,38	96,42	88,64	81,62	
	2 eq a 20 mg/ml	97,95	97,28	94,1	80,59	69,88	
	12 eq a 3 mg/ml	98,17	98,05	97,08	93,78	88,16	
	5 eq a 3 mg/ml	98,3	97,72	96,77	86,97	73,76	
	2 eq a 3 mg/ml	98,21	97,22	93,75	62,21	45,31	
$CaCl_2$	12 eq a 20 mg/ml	98,3	98	97,63	96,1	95,24	91,44
	5 eq a 20 mg/ml	98,16	97,75	97,4	95,82	94,81	89,26

ES 2 715 551 T3

	2 eq a 20 mg/ml	98,25	97,85	97,22	95,28	93,64	88,61
	12 eq a 3 mg/ml	98,29	98,03	97,74	96,79	95,92	91,07
	5 eq a 3 mg/ml	98,21	97,96	97,32	95,37	94,42	86,36
	2 eq a 3 mg/ml	98,17	97,74	96,57	92,99	90,22	
<b>ZnCl<sub>2</sub></b>	1 eq a 20 mg/ml	98,26	97,19	93,86	81,02	72,41	
	1 eq a 3 mg/ml	98,29	97,88	96,73	86,5	74,32	

TABLA 34

Sal	Formulación almacenada a temperatura ambiente	Estabilidad de la tigeciclina (%)					
		0 días	7 días	14 días	28 días	42 días	58 días
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	12 eq a 20 mg/ml	97,97	96,56	93,4	79,44		
	5 eq a 20 mg/ml	98,09	94,2	82,17			
	2 eq a 20 mg/ml	97,95	87,57	67,91			
	12 eq a 3 mg/ml	98,17	97,22	94,91	80,14		
	5 eq a 3 mg/ml	98,3	96,45	89,91			
	2 eq a 3 mg/ml	98,21	92,66	66,91			
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	12 eq a 20 mg/ml	98,3	97,91	97,36	95,69	95,32	93,02
	5 eq a 20 mg/ml	98,16	97,88	97,23	95,24	94,08	90,78
	2 eq a 20 mg/ml	98,25	97,97	97,08	94,42	93,08	87,95
	12 eq a 3 mg/ml	98,29	98,01	97,7	96,37	95,78	93,67
	5 eq a 3 mg/ml	98,21	97,84	97,29	95,39	94,22	90,37
	2 eq a 3 mg/ml	98,17	97,53	96,47	92,85	90,07	79,52
<b>ZnCl<sub>2</sub></b>	1 eq a 20 mg/ml	98,26	82,44	65,73			
	1 eq a 3 mg/ml	98,29	97,11	93,1			

TABLA 35

Sal	Formulación almacenada a 4 °C	Estabilidad de la tigeciclina (%)					
		0 días	14 días	28 días	35 días	58 días	162 días
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	12 eq a 20 mg/ml	97,97	97,68	96,16	95,36	89,95	
	5 eq a 20 mg/ml	98,09	96,22	78,05	69,76		
	2 eq a 20 mg/ml	97,95	91,23	54,38	43,33		
	12 eq a 3 mg/ml	98,17	97,76	95,76	94,19	80,31	
	5 eq a 3 mg/ml	98,3	97,48	91,75	86,21		
	2 eq a 3 mg/ml	98,21	96,23	84,6	76,81		
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	12 eq a 20 mg/ml	98,3	98,28	97,78	97,61	97,87	96,4
	5 eq a 20 mg/ml	98,16	97,97	97,65	97,79	97,78	95,22
	2 eq a 20 mg/ml	98,25	98,08	97,69	97,8	97,75	94,9
	12 eq a 3 mg/ml	98,29	98,37	98,16	97,79	98,15	97,27
	5 eq a 3 mg/ml	98,21	98,17	97,97	97,76	97,99	96,75
	2 eq a 3 mg/ml	98,17	98,14	97,45	97,53	97,56	93,35

ZnCl <sub>2</sub>	1 eq a 20 mg/ml	98,26	77,12	53,06	45,63		
	1 eq a 3 mg/ml	98,29	97,73	96,38	95,02	88,53	

Ejemplo 11 - Solubilidad de formulaciones de tetraciclina

5 Se examinó la solubilidad de cuatro tetraciclinas sin dimetilamino, con y sin Mg<sup>2+</sup>. Los resultados se resumen en la Tabla 36.

TABLA 36

Proporción molar de catión (Mg <sup>2+</sup> ): antibiótico		0	0,5: 1	1:1	2:1	3:1	5:1	7:1	10:1
tetraciclina a 10 mg/ml	pH 4	●	●	●	●	●	●	●	●
	pH 5	●	●	●	●	●	●	●	●
	pH 6	●	●	●	●	●	●	●	●
clortetraciclina a 10 mg/ml	pH 4	●					○	○	○
	pH 5	●					●	●	●
	pH 6	●					●	●	●
doxiciclina a 10 mg/ml	pH 4	○					●	●	●
	pH 5	○					●	●	●
	pH 6						○#	○#	○#
oxitetraciclina a 10 mg/ml	pH 4	●					●	●	●
	pH 5	●					●	○	○
	pH 5	●					●	○	○

●: insoluble; ○: soluble; #: precipita de la solución tras 24 h a temperatura ambiente

10 Una comparación con los resultados de la minociclina descritos en el Ejemplo 9 indica que las tetraciclinas sin dimetilamino, tales como tetraciclina, clortetraciclina, doxiciclina y oxitetraciclina tienen características de solubilidad que difieren de las tetraciclinas con dimetilamino. Por ejemplo, como se resume en la Tabla 36, la tetraciclina sigue siendo insoluble a diversos pH y cantidades de catión divalente, tales como Mg<sup>2+</sup>. La clortetraciclina se vuelve soluble con concentraciones crecientes de un catión divalente, pero sigue siendo insoluble en ausencia de cualquier catión divalente, tal como Mg<sup>2+</sup>. La doxiciclina es soluble en ausencia de cationes divalentes, tales como Mg<sup>2+</sup>, pero es insoluble en presencia de cationes divalentes a pH bajo. De forma análoga, la oxitetraciclina sigue siendo insoluble en presencia de cationes divalentes, tales como Mg<sup>2+</sup>, a pH bajo.

Ejemplo 12 - Estudio del efecto del Mg<sup>2+</sup> en la captación de minociclina en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC)

20 Células y reactivos: Se obtuvieron células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) de Lonza y se mantuvieron de acuerdo con las recomendaciones del fabricante en medio EGM-2. Se preparó una solución de 10 mg/ml de minociclina en 13,6 mg/ml de acetato de Na sin la adición de Mg. Se diluyó más esta solución madre en solución salina a 1 mg/ml con la adición de Mg en forma de MgSO<sub>4</sub> 1 M para generar las siguientes proporciones molares del Mg con respecto a la minociclina: 0, 1, 2,5, 5, 10, 25.

30 Condiciones experimentales de captación: Se sembraron HUVEC a una densidad de 4,5 x 10<sup>5</sup> células/pocillo en placas de 6 pocillos en medio EGM-2. Dos días después de la siembra, las células se lavaron una vez con 2 ml de solución salina, y se pusieron 2 ml de solución de fármaco a 1 mg/ml en solución salina preparada como se ha descrito anteriormente en cada pocillo por triplicado. Se incubaron las placas en una incubadora de CO<sub>2</sub> a 37 °C durante 30 min. Se aspiraron las soluciones de fármacos y las células se lavaron una vez con 2 ml de solución salina. Se pusieron 0,5 ml de solución salina en cada pocillo y se raspó la monocapa de células con un raspador celular de plástico. Se transfirieron las suspensiones celulares a tubos de plástico de 1,5 ml y se trataron con ultrasonidos durante 30 s a potencia máxima. Se centrifugaron los lisados celulares durante 10 min en una microcentrífuga de sobremesa a la máxima velocidad y se recogieron los sobrenadantes. Se trataron varios pocillos de células HUVEC solo con solución salina y se procesaron de la misma manera que las células tratadas con fármaco para generar un lisado celular simulado, que se usó a continuación para la preparación de la curva de calibración.

Preparación de la muestra para el análisis de LCMS: Para preparar una curva de calibración, se diluyó una solución de minociclina a 1 mg/ml en agua en lisado celular simulado para producir 100 µl de patrones con las siguientes concentraciones: 10, 5, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01 µg/ml.

5 Se mezclaron 50 µl de los sobrenadantes de las muestras o de los patrones tratados con el fármaco con 200 µl de ácido trifluoroacético al 1 % en acetonitrilo que contenía 1 µg/ml de gatifloxacina, se agitan con formación de vórtice y se centrifugan a 3.000 g durante 30 min a TA. Se retiraron 150 µl de los sobrenadantes y se mezclaron con 450 µl de agua. Tras la formación del vórtice, se centrifugó la mezcla a 3.000 g durante 5 min a TA. Se recogieron los  
10 sobrenadantes y se sometieron a análisis de LCMS para determinar la concentración de minociclina.

Procesamiento de datos: Los datos de captación se presentan como el porcentaje relativo a la muestra sin Mg presente, que se consideró el 100 %.

15 Se analizó la captación de minociclina a 1 mg/ml en solución salina con varias proporciones de Mg/minociclina en HUVEC con un tiempo de incubación de 30 min. Los resultados se resumen en la FIG. 6 y FIG. 7. Las FIG. 6 y 7 demuestran que se observa una disminución en la captación intracelular de minociclina a medida que aumenta la concentración de un catión divalente, tal como  $Mg^{2+}$ . Sin desear quedar ligado por teoría particular alguna, este resultado sugiere que el mecanismo para la reducción de la hemólisis observado en las formulaciones de  
20 minociclina/catión descritas en el presente documento se puede atribuir a la reducción de la captación de GR.

Ejemplo 13 - Preparación de determinadas formulaciones de dimetilamino-tetraciclinas

#### Formulación 1

25 Se prepara una formulación que comprende minociclina con  $MgCl_2$  y NaOH, adecuada para la administración intravenosa. Se añaden 100 mg de minociclina a una solución acuosa de 10 ml de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la minociclina de 5:1 y una solución de minociclina a 10 mg/ml. Se ajusta el pH de la mezcla mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 4,5-pH 5,5. Un solo intento de  
30 liofilización dio lugar a un sólido no floculante.

#### Formulación 2

35 Se prepara una formulación que comprende minociclina con  $MgSO_4$  y acetato de sodio, adecuada para la administración intravenosa. Se añaden 100 mg de minociclina a una solución acuosa de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la minociclina de 5:1 y una solución de minociclina a 10 mg/ml. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de acetato de sodio hasta un pH en el intervalo de pH 4,5-pH 5,5. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 4,5-pH 5,5 y una osmolalidad en el intervalo de  
40 275 mOsm/kg a 375 mOsm/kg.

#### Formulación 3

45 Se prepara una formulación que comprende minociclina con  $Mg(C_2H_3O_2)_2$  adecuada para la administración intravenosa. Se añaden 100 mg de minociclina a una solución acuosa de  $Mg(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la minociclina de 5:1 y una solución de minociclina a 10 mg/ml. Después, se liofiliza la solución a sequedad.

#### Formulación 4

50 Se prepara una formulación que comprende minociclina con  $MgSO_4$  y NaOH, adecuada para la administración intravenosa. Se añaden 100 mg de minociclina a una solución acuosa de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la minociclina de 5:1 y una solución de minociclina a 10 mg/ml. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 4,5-pH 5,5. Se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el  
55 intervalo de pH 4,5-pH 5,5 y una osmolalidad en el intervalo de 150 mOsm/kg a 250 mOsm/kg.

#### Formulación 5

60 Se prepara una formulación que comprende tigeciclina con  $MgSO_4$  y NaOH, adecuada para la administración intravenosa. Se añaden 50 mg de tigeciclina a una solución acuosa de 10 ml de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la tigeciclina de 5:1. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 5,5-pH 6,5. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 5,5-pH 6,5.

65 Formulación 6

Se prepara una formulación que comprende tigeciclina con  $MgSO_4$  y NaOH, adecuada para la administración intravenosa. Se añaden 50 mg de tigeciclina a una solución acuosa de 10 ml de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la tigeciclina de 12:1. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 5,5-pH 6,5. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 5,5-pH 6,5.

#### Formulación 7

Se prepara una formulación que comprende tigeciclina con  $MgCl_2$  y NaOH, adecuada para la administración intravenosa. Se añaden 50 mg de tigeciclina a una solución acuosa de 10 ml de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la tigeciclina de 5:1. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 5,5-pH 6,5. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 5,5-pH 6,5.

#### Formulación 8

Se prepara una formulación que comprende tigeciclina con  $MgCl_2$  y NaOH, adecuada para la administración intravenosa. Se añaden 50 mg de tigeciclina a una solución acuosa de 10 ml de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la tigeciclina de 12:1. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 5,5-pH 6,5. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 5,5-pH 6,5.

#### Formulación 9

Se prepara una formulación que comprende tigeciclina con  $MgSO_4$  y NaOH, adecuada para la administración tópica. Se añaden 50 mg de tigeciclina a una solución acuosa de 10 ml de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la tigeciclina de 5:1. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 6,0-pH 7,0. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 6,0-pH 7,0.

#### Formulación 10

Se prepara una formulación que comprende tigeciclina con  $MgSO_4$  y NaOH, adecuada para la administración tópica. Se añaden 50 mg de tigeciclina a una solución acuosa de 10 ml de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la tigeciclina de 12:1. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 6,0-pH 7,0. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 6,0-pH 7,0.

#### Formulación 11

Se prepara una formulación que comprende tigeciclina con  $CaCl_2$  y NaOH, adecuada para la administración tópica. Se añaden 50 mg de tigeciclina a una solución acuosa de 10 ml de  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la tigeciclina de 5:1. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 6,0-pH 7,0. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 6,0-pH 7,0.

#### Formulación 12

Se prepara una formulación que comprende tigeciclina con  $CaCl_2$  y NaOH, adecuada para la administración tópica. Se añaden 50 mg de tigeciclina a una solución acuosa de 10 ml de  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ , proporcionando una proporción molar del catión con respecto a la tigeciclina de 12:1. Se ajusta el pH de la solución mediante la adición de NaOH hasta un pH en el intervalo de pH 6,0-pH 7,0. Después, se liofiliza la solución a sequedad. La reconstitución del liofilizado en 10 ml de agua da lugar a una solución que tiene un pH en el intervalo de pH 6,0-pH 7,0.

#### Ejemplo 14 - Kits de minociclina

##### Kit 1

Se prepara un kit que comprende dos viales. El primer vial se prepara disolviendo 108 mg de HCl de minociclina en una solución ácida. Se liofiliza la solución a sequedad. El segundo vial contiene 10 ml de diluyente que incluye 26,9 mg/ml de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  y 13,6 mg/ml de  $Na(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O$ . A continuación, se reconstituye el liofilizado con el diluyente antes de su uso.

##### Kit 2

## ES 2 715 551 T3

Se prepara un kit que comprende dos viales. El primer vial se prepara disolviendo 108 mg de HCl de minociclina en una solución ácida. Se liofiliza la solución a sequedad. El segundo vial contiene 10 ml de diluyente que incluye 26,9 mg/ml de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y suficiente NaOH para ajustar el pH a aproximadamente 5. A continuación, se reconstituye el liofilizado con el diluyente antes de su uso.

5

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende tigeclina y un catión divalente o trivalente, en la que la proporción molar de dicho catión divalente o trivalente con respecto a dicha tigeclina es superior a 3:1.
2. Una composición farmacéutica que comprende una solución acuosa de tigeclina y un catión divalente o trivalente, en la que la proporción molar de dicho catión divalente o trivalente con respecto a dicha tigeclina es superior o igual a 5:1, y en la que la solución tiene un pH superior a 4 e inferior a 7.
- 10 3. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 o 2, en la que la concentración de tigeclina es de al menos 1 mg/ml, preferentemente, de 5 mg/ml.
- 15 4. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 o 2, en la que la solución comprende uno o más componentes adicionales que se seleccionan del grupo que consiste en hidrocortisona, dexametasona, bromuro de tonzonio, tiloxapol, ácido bórico y cloruro de benzalconio.
- 20 5. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 o 2, en la que la solución no comprende un componente seleccionado del grupo que consiste en un antioxidante, un compuesto que contiene piridina, gluconato, un alcohol, glicerol, polietilenglicol, un compuesto que contiene pirrolidona, un anestésico local miscible en agua, urea, lactosa y un agente deshidratante.
- 25 6. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 o 2 que comprende 5 mg/ml de tigeclina, NaOH y una sal seleccionada entre  $\text{CaSO}_4$  y  $\text{CaCl}_2$ , en la que la proporción molar del Ca con respecto a la tigeclina es de 5:1, y el pH es superior a 5,5 e inferior a 6,5.
- 30 7. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 o 2 que comprende 5 mg/ml de tigeclina, NaOH y una sal seleccionada entre  $\text{CaSO}_4$  y  $\text{CaCl}_2$ , en la que la proporción molar del Ca con respecto a la tigeclina es de 12:1, y el pH es superior a 5,5 e inferior a 6,5.
- 35 8. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 o 2 para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección bacteriana en un sujeto, adecuada para la administración por vía tópica o por vía intravenosa.
- 40 9. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de o en la prevención de una infección bacteriana en un sujeto, adecuada para la administración por vía tópica o por vía intravenosa, composición farmacéutica que comprende una solución acuosa de tigeclina y un catión divalente o trivalente, en donde la solución tiene un pH superior a 4 e inferior a 7, y en donde la proporción molar de dicho catión divalente o trivalente con respecto a dicha tigeclina es superior a 2:1, preferentemente superior a 3:1.
- 45 10. La composición farmacéutica para el uso de las reivindicaciones 8 o 9 para la administración tópica en el ojo de un sujeto.
11. Una composición farmacéutica en forma de una composición sólida hidrosoluble que comprende tigeclina y un catión de metal divalente o trivalente, en la que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la tigeclina es superior a 3:1, preferentemente superior a 5:1.
- 50 12. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 9 u 11, en la que la proporción molar del catión divalente o trivalente con respecto a la tigeclina es superior a 8:1, preferentemente superior a 10:1, más preferentemente superior a 12:1.
- 55 13. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 9 y 11, en la que el catión de metal divalente o trivalente se selecciona entre calcio y magnesio.
14. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 9 y 11, en la que el catión de metal divalente o trivalente es calcio, y la proporción molar del catión de metal divalente o trivalente con respecto a la tigeclina es superior a 12:1.
15. Un método de preparación de una composición farmacéutica, que comprende disolver la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 11-14 en agua para formar una solución acuosa, en donde el pH de la solución es superior a 4 e inferior a 7.