República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0910850-5 A2

(22) Data do Depósito: 21/04/2009

(43) Data da Publicação Nacional: 25/08/2020

(54) Título: FORMULAÇÕES AURICULARES PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS E CONDIÇÕES DO OUVIDO

(51) Int. Cl.: A61K 39/395; A61P 27/16; A61K 47/34; A61K 9/06; A61K 31/42; (...).

(30) Prioridade Unionista: 04/08/2008 US 61/086,094; 04/08/2008 US 61/086,105; 04/09/2008 US 61/094,384; 10/06/2008 US 61/060,425; 11/08/2008 US 61/087,951; (...).

(71) Depositante(es): OTONOMY, INC; THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA.

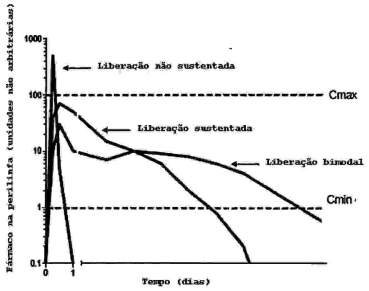
(72) Inventor(es): JAY LICHTER; BENEDIKT VOLLRATH; ANDREW M. TRAMMEL; SERGIO G. DURÓN; FABRICE PIU; LUIS A. DELLAMARY; QIANG YE; CARL LEBEL; MICHAEL CHRISTOPHER SCAIFE; JEFFREY P. HARRIS.

(86) Pedido PCT: PCT US2009041320 de 21/04/2009

(87) Publicação PCT: WO 2009/132050 de 29/10/2009

(85) Data da Fase Nacional: 20/10/2010

(57) Resumo: FORMULAÇÕES AURICULARES PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS E CONDIÇÕES DO OUVIDO São aqui reveladas composições e métodos para o tratamento de distúrbios auriculares com agente imunomoduladores e moduladores da pressão auricular. Nesses métodos, as composições e formulações auriculares são administradas de forma local a um indivíduo que sofre de um distúrbio auricular, através da aplicação direta das composições e formulações imunomoduladoras e/ou moduladoras da pressão auricular no ouvido médio e/ou áreas do ouvido interno, ou por meio de perfusão no ouvido médio e/ou estruturas do ouvido interno.



FORMULAÇÕES AURICULARES PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS E CONDIÇÕES DO OUVIDO

Pedidos relacionados

Este pedido de patente reivindica o benefício de Pedido Provisório U.S. Nos. de Série 61/087.905, depositado em 11 de agosto de 2008, 61/055.625, depositado em 23 de maior de 2008, 61/086.105, depositado em 4 de agosto de 2008, 61/073.716, depositado em 18 de junho de 2008, 61/140.033, depositado em 22 de dezembro de 2008, 61/127.713, depositado em 14 de maio de 2008, 61/101.112, depositado em 29 de setembro de 2008, 61/094.384, depositado em 4 de setembro de 2008, 61/074.583, depositado em 20 de junho de 2008, 61/060.425, depositado em 10 de junho de 2008, 61/048.878, depositado em 29 de abril de 2008, 61/046.543, depositado em 21 de abril de 2008, 61/076.567, depositado em 27 de junho de 2008, 61/076.576, depositado em 27 de junho de 2008, 61/160.233, depositado em 13 de março de 2009, 61/086.094, depositado em 4 de agosto de 2008, 61/083.830, depositado em 25 de julho de 2008, 61/083.871, depositado em 25 de julho de 2008, 61/087.951, depositado em 11 de agosto de 2008, 61/088.275, depositado em 12 de agosto 2008, cujas revelações são aqui incorporadas em sua totalidade por referência.

Fundamento da invenção

São aqui descritas formulações para liberação aumentada de fármaco no ouvido externo, médio e/ou interno, incluindo a cóclea e labirinto vestibular; preferivelmente com pouca ou nenhuma liberação sistêmica do fármaco.

Sumário da invenção

As formulações auriculares e métodos terapêuticos aqui

descritos têm numerosas vantagens que superam as limitações previamente não reconhecidas das formulações e métodos terapêuticos descritos na técnica prévia.

Esterilidade

O ambiente do ouvido interno é um ambiente isolado. A endolinfa e a perilinfa são fluidos estáticos e não estão em contato contíguo com o sistema circulatório. A barreira sangue-labirinto (BLB), que inclui uma barreira sangue-endolinfa e uma barreira sangue-perilinfa, consiste em uma junção firme entre células epiteliais especializadas nos espaços do labirinto (ou seja, os espaços vestibular e coclear). A presença da BLB limita a liberação de agentes ativos (por exemplo, imunomoduladores, moduladores da pressão auricular, antimicrobianos) para o microambiente isolado do ouvido interno. As células ciliadas auriculares são banhadas por fluidos endolinfáticos ou perilinfáticos e a reciclagem coclear de íons potássio é importante para a função da célula ciliada. Quando o ouvido interno está infectado, há um influxo de leucócitos e/ou imunoglobinas (por exemplo, em resposta a uma infecção microbiana) na endolinfa e/ou a perilinfa e a delicada composição iônica dos fluidos do ouvido interno é perturbada pelo influxo de leucócitos e/ou imunoglobinas. Em certos casos, uma alteração na composição iônica dos fluidos do ouvido interno resulta em perda de audição, perda do equilíbrio e/ou ossificação de estruturas auditivas. Em certos casos, até mesmo quantidades de traço de pirógenos e/ou micróbios podem despertar infecções e alterações fisiológicas relacionadas no microambiente isolado do ouvido interno.

Devido à suscetibilidade do ouvido interno a

infecções, as formulações auriculares requerem um nível de esterilidade que não foi reconhecido até agora na técnica prévia. São aqui fornecidas formulações auriculares que são esterilizadas com requisitos restritos de esterilidade e são adequadas para administração ao ouvido médio e/ou interno. Em algumas modalidades, as composições auriculares compatíveis aqui descritas são substancialmente livres de pirógenos e/ou micróbios.

Compatibilidade com ambiente do ouvido interno

São aqui descritas formulações auriculares com um equilíbrio iônico que é compatível com a perilinfa e/ou aendolinfa e não causa qualquer alteração no potencial coclear. Em modalidades específicas, a osmolaridade das presentes formulações é ajustada, por exemplo, pelo uso de concentrações adequadas de sal (por exemplo, concentração de sais de sódio) ou o uso de agentes de tonicidade que tornam as formulações compatíveis com a endolinfa e/ou compatíveis com a perilinfa (ou seja, isotônicas com a endolinfa e/ou perilinfa). Em alguns casos, as formulações compatíveis com a endolinfa e/ou compatíveis com a perilinfa aqui descritas causam distúrbio mínimo para o ambiente do ouvido interno e causam desconforto mínimo (por exemplo, vertigem) a um mamífero (por exemplo, um humano) após administração. Além disso, as formulações compreendem polímeros que são biodegradáveis e/ou dispersíveis, e/ou não tóxicos para o ambiente do ouvido interno. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas são livres de conservantes e causam distúrbio mínimo (por exemplo, alteração no pH ou osmolaridade, irritação) nas estruturas auditivas. Em algumas modalidades, as formulações aqui

descritas compreendem antioxidantes que são não irritantes e/ou não tóxicos para as estruturas.

Freqüência da dosagem

O padrão atual para as formulações auriculares requer administrações múltiplas de gotas ou injeções (por exemplo, injeções intratimpânicas) por vários dias (por exemplo, até duas semanas), que incluem esquemas de recebimento de múltiplas injeções por dia. Em algumas modalidades, as formulações auriculares aqui descritas são formulações de liberação controlada, e são administradas em freqüência de dosagem reduzida comparadas ao padrão atual de cuidados. Em certos casos, quando uma formulação auricular é administrada por meio de injeção intratimpânica, uma freqüência reduzida de administração alivia o desconforto causado por múltiplas injeções intratimpânicas em indivíduos que sofrem tratamento para uma doença, distúrbio ou condição do ouvido médio e/ou interno. Em certos casos, uma freqüência reduzida de administração de injeções intratimpânicas reduz o risco de dano permanente (por exemplo, perfuração) para o tímpano. As formulações aqui descritas fornecem uma taxa de liberação constante, sustentada, estendida, retardada ou pulsátil de um agente ativo no ambiente do ouvido interno e assim evitam qualquer variabilidade na exposição ao fármaco no tratamento de distúrbios otológicos.

Índice terapêutico

As formulações auriculares aqui descritas são administradas no canal auditivo, ou no vestíbulo do ouvido. Acesso, por exemplo, ao aparelho vestibular e coclear ocorrerá através do meio auricular que inclui a membrana da

janela redonda, a janela oval/platina do estribo, o ligamento anular e através da cápsula auditiva/osso temporal. A administração auricular das formulações aqui descritas evita a toxicidade associada à administração sistêmica (por exemplo, hepatotoxicidade, cardiotoxicidade, efeitos colaterais gastrintestinais, toxicidade renal) dos agentes ativos. Em alguns casos, a administração localizada no ouvido permite que um agente ativo atinja um órgão alvo (por exemplo, ouvido interno) na ausência de acúmulo sistêmico do agente ativo. Em alguns casos, a administração local ao ouvido fornece um maior índice terapêutico para um agente ativo que deve ter toxicidade sistêmica limitante da dose.

Prevenção de drenagem para a trompa de Eustáquio

Em alguns casos, uma desvantagem das formulações líquidas é sua propensão a gotejar para o interior da trompa de Eustáquio e causar um rápido *clearance* da formulação do ouvido interno. São aqui fornecidas, em certas modalidades, formulações auriculares que compreendem polímeros que gelificam em temperatura corporal e permanecem em contato com as superfície auditivas-alvo (por exemplo, a janela redonda) por períodos de tempo estendidos. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem mucoadesivos que permitem que as formulações sejam aderidas às superfícies da mucosa auricular. Em alguns casos, as formulações auriculares aqui descritas evitam a atenuação de benefício terapêutico devido à drenagem ou vazamento de agentes ativos por meio da trompa de Eustáquio.

Descrição de certas modalidades

Conseqüentemente, são aqui fornecidas em algumas modalidades formulações farmacêuticas para uso no tratamento de uma doença ou condição auricular formulada para fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente imunomodulador através da membrana da janela redonda para a cóclea, a formulação compreendendo:

entre cerca de 0,2% e cerca de 6% em peso de um agente imunomodulador, ou sal ou pró-fármaco farmaceuticamente aceitável deste;

entre cerca de 16% e cerca de 21% em peso de um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno de fórmula geral E106 P70 E106;

água estéril, q.s., tamponada para fornecer um pH adequado para perilinfa entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6;

e substancialmente produtos de baixa degradação do agente imunomodulador;

em que a formulação farmacêutica tem uma osmolaridade adequada para perilinfa entre cerca de 250 e 320 mOsm/L,

menos que cerca de 50 unidades formadoras de colônia (cfu) de agentes microbiológicos por grama de formulação, e menos que cerca de 5 unidades de endotoxina (EU) por kg de peso corporal de um indivíduo.

São aqui fornecidas, em algumas modalidades, formulações farmacêuticas para uso no tratamento de uma doença ou condição auricular formulada para fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente imunomodulador através da membrana da janela redonda para a cóclea, a formulação compreendendo:

entre cerca de 0,1 mg/mL e cerca de 70 mg/mL de um agente imunomodulador, ou sal ou pró-fármaco

farmaceuticamente aceitável deste;

entre cerca de 16% e cerca de 21% em peso de um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno de fórmula geral E106 P70 E106;

água estéril, q.s., tamponada para fornecer um pH adequado para perilinfa entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6;

e substancialmente produtos de baixa degradação do agente imunomodulador:

em que a formulação farmacêutica tem uma osmolaridade adequada para perilinfa entre cerca de 250 e 320 mOsm/L,

menos que cerca de 50 unidades formadoras de colônia (cfu) de agentes microbiológicos por grama da formulação, e menos que cerca de 5 unidades de endotoxina (EU) por kg de peso corporal de um indivíduo.

Em algumas modalidades, o agente imunomodulador é liberado da formulação por um período de pelo menos 3 dias. Em algumas modalidades, a formulação farmacêutica é um gel otogicamente aceitável termo-revesível. Em algumas modalidades, o copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno é biodegradável. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem um mucoadesivo. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem um intensificador de penetração. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem um agente espessante. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem um corante.

Em modalidades adicionais, são aqui fornecidas formulações que também compreendem um dispositivo de liberação de fármaco selecionado de uma agulha e seringa, uma bomba, um dispositivo de microinjeção, um fio, um

material esponjoso de formação *in situ*, ou combinações destes.

Em algumas modalidades das formulações aqui descritas, o agente imunomodulador, ou sal farmaceuticamente aceitável deste, tem liberação limitada ou não sistêmica, toxicidade sistêmica, características fracas de PK, ou combinações destes. Em algumas modalidades, o agente imunomodulador está na forma de uma base livre, sal, um pró-fármaco, ou uma combinação destes. Em algumas modalidades, o agente imunomodulador compreende multiparticulados. Em algumas modalidades, o agente imunomodulador está essencialmente na forma de partículas micronizadas.

Em algumas modalidades, o agente imunomodulador é um agente anti-TNF, um inibidor de calcineurina, um inibidor de IKK, um inibidor de interleucina, um inibidor de enzima de conversão de TNF-a (TACE), ou um inibidor de receptor *toll-like*.

Em algumas modalidades, as formulações também compreendem um agente imunomodulador, ou sal farmaceuticamente aceitável deste, como um agente de liberação imediata.

Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas também compreendem um agente terapêutico adicional. Em algumas modalidades, o agente terapêutico adicional é um modulador de Na/K ATPase, um agente quimioterapêutico, um colágeno, uma gamaglobulina, um interferon, um agente antimicrobiano, um antibiótico, um agente anestésico de ação local, um antagonista de fator ativador de plaquetas, um inibidor de sintase de óxido nítrico, um agente antivertigem, um antagonista de vasopressina, um antiviral,

um agente anti-emético, ou combinações destes.

Em algumas modalidades, o pH da composição é entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6. Em algumas modalidades, a proporção de um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno de fórmula geral E106 P70 E106 para um agente espessante é de cerca de 40:1 a cerca de 10:1. Em algumas modalidades, o agente espessante é carboximetil celulose.

Em algumas modalidades, a doença ou condição auricular é doença de Ménière, perda de audição sensorineural repentina, perda de audição induzida por ruído, perda de audição relacionada à idade, doença autoimune do ouvido ou zumbido.

Também é aqui fornecido um método de tratamento de uma doença ou condição auricular que compreende a administração a um indivíduo em necessidade de uma composição intratimpânica que compreende

entre cerca de 0,2% e cerca de 6 % em peso de um agente imunomodulador, ou

sal ou pró-fármaco farmaceuticamente aceitável deste

entre cerca de 16% e cerca de 21% em peso de um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno de fórmula geral E106 P70 E106;

água estéril, q.s., tamponada para fornecer um pH adequado para perilinfa entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6;

e substancialmente produtos de baixa degradação do agente imunomodulador;

em que a formulação farmacêutica tem uma osmolaridade adequada para perilinfa entre cerca de 250 e 320 mOsm/L,

menos que cerca de 50 unidades formadoras de colônia

(cfu) de agentes microbiológicos por grama de formulação, e menos que cerca de 5 unidades de endotoxina (EU) por kg de peso corporal de um indivíduo.

Em algumas modalidades do método, o agente imunomodulador é um agente anti-TNF, um inibidor de calcineurina, um inibidor de IKK, um inibidor de interleucina, um inibidor de enzima de conversão de TNF-a (TACE), ou um inibidor de receptor *toll-like*. Em algumas modalidades do método, o agente imunomodulador é liberado da composição por um período de pelo menos 3 dias. Em algumas modalidades do método, a composição é administrada através da janela redonda. Em algumas modalidades do método, a doença ou condição auricular é doença de Ménière, perda de audição sensorineural repentina, perda de audição relacionada à idade, perda de audição induzida por ruído, doença autoimune do ouvido ou zumbido.

Também são aqui fornecidas, em algumas modalidades, formulações farmacêuticas para uso no tratamento de uma doença ou condição auricular formulada para fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente modulador de pressão auricular através da membrana da janela redonda para a cóclea, a formulação compreendendo:

entre cerca de 0,2% e cerca de 6% em peso de um agente modulador de pressão auricular, ou pró-fármaco ou sal farmaceuticamente aceitável deste;

entre cerca de 16% e cerca de 21% em peso de um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno de fórmula geral E106 P70 E106;

água estéril, q.s., tamponada para fornecer um pH adequado para perilinfa entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6;

degradação substancialmente baixa do agente modulador de pressão auricular;

em que a formulação farmacêutica tem uma osmolaridade adequada para perilinfa entre cerca de 250 e 320 mOsm/L,

menos que cerca de 50 unidades formadoras de colônia (cfu) de agentes microbiológicos por grama de formulação, e menos que cerca de 5 unidades de endotoxina (EU) por kg de peso corporal de um indivíduo.

São também fornecidas, em algumas modalidades, formulações farmacêuticas para uso no tratamento de uma doença ou condição auricular formulada para fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente modulador de pressão auricular através da membrana da janela redonda para a cóclea, a formulação compreendendo:

entre cerca de 0,1 mg/mI e cerca de 70 mg/mL de um agente modulador de pressão auricular, ou pró-fármaco ou sal farmaceuticamente aceitável deste;

entre cerca de 16% e cerca de 210 em peso de um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno de fórmula geral E106 P70 E106;

água estéril, q.s., tamponada para fornecer um pH adequado para petilinfa entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6;

e substancialmente produtos de baixa degradação do agente modulador de pressão auricular;

em que a formulação farmacêutica tem uma osmolaridade adequada para perilinfa entre cerca de 250 e 320 mOsm/L;

menos que cerca de 50 unidades formadoras de colônia (cfu) de agentes microbiológicos por grama de formulação, e menos que cerca de 5 unidades de endotoxina (EU) por kg de peso corporal de um indivíduo.

Em algumas modalidades, o agente modulador de pressão auricular é liberado da formulação por um período de pelo menos 3 dias. Em algumas modalidades, a formulação farmacêutica é um gel auricular termorreversível aceitável. Em algumas modalidades, o copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno é biodegradável. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem uma membrana da janela redonda mucoadesiva. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem um intensificador de penetração da membrana da janela redonda. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem agente espessante. Em algumas modalidades, as formulações também compreendem um corante.

Em algumas modalidades das formulações aqui descritas, as formulações também compreendem um dispositivo de liberação de fármaco selecionado de uma agulha, e seringa, uma bomba, um dispositivo de microinjeção, um fio, um material esponjoso de formação *in situ*, ou combinações destes.

Em algumas modalidades, o agente modulador de pressão auricular, ou sal farmaceuticamente aceitável deste, tem liberação limitada ou não sistêmica, toxicidade sistêmica, características fracas de PK, ou combinações destes. Em algumas modalidades, o agente modulador de pressão auricular é administrado na forma de uma base livre, sal, um pró-fármaco, ou uma combinação destes. Em algumas modalidades, o agente modulador de pressão auricular compreende multiparticulados. Em algumas modalidades, o agente modulador de pressão auricular está essencialmente na forma de partículas micronizadas.

Em algumas modalidades, o agente modulador de pressão auricular é um modulador de aquaporina, um modulador beta de receptor relacionado ao estrogênio, um modulador de proteína de junção de *gap*, um modulador de receptor de NMDA, um diurético osmótico, um modulador de receptor de progesterona, modulador de prostaglandina, ou um modulador de receptor de vasopressina.

Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas também compreendem um agente modulador de pressão auricular, ou sal farmaceuticamente aceitável deste, como um agente de liberação imediata.

Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas também compreendem um agente terapêutico adicional. Em algumas modalidades, o agente terapêutico adicional é modulador de Na/K ATPase, um agente quimioterapêutico, um colágeno, uma gamaglobulina, um interferon, um agente antimicrobiano, um antibiótico, um agente anestésico de ação local, um antagonista de fator ativador de plaquetas, um inibidor de sintase de óxido nítrico, um fármaco anti-vertigem, um antagonista de vasopressina, um antiviral, um agente anti-emético, ou combinações destes.

Em algumas modalidades, o pH da composição é entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6. Em algumas modalidades, a proporção de um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno de fórmula geral E106 P70 E106 para um agente espessante é de cerca de 40:1 a cerca de 10:1. Em algumas modalidades, o agente espessante é carboximetil celulose.

Em algumas modalidades, a doença ou condição auricular é doença de Ménière, perda de audição sensorineural

repentina, perda de audição relacionada à idade, perda de audição induzida por ruído, doença autoimune do ouvido ou zumbido.

Também é aqui fornecido um método de tratamento de uma doença ou condição auricular que compreende a administração a um indivíduo em necessidade de uma composição intratimpânica que compreende

entre cerca de 0,2% e cerca de 6% em peso de um agente modulador de pressão auricular, ou pró-fármaco ou sal farmaceuticamente aceitável deste;

entre cerca de 16% e cerca de 21% em peso de um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno de fórmula geral E106 P70 E106;

água estéril, q.s., tamponada para fornecer um pH adequado para perilinfa entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6;

e substancialmente produtos de baixa degradação do agente modulador de pressão auricular;

em que a formulação farmacêutica tem uma osmolaridade adequada para perilinfa entre cerca de 250 e 320 mOsm/L,

menos que cerca de 50 unidades formadoras de colônia (cfu) de agentes microbiológicos por grama de formulação, e menos que cerca de 5 unidades de endotoxina (EU) por kg de peso corporal de um indivíduo.

Em algumas modalidades, o agente modulador de pressão auricular é um modulador de aquaporina, um modulador beta de receptor relacionado ao estrogênio, um modulador de proteína de junção de *gap*, um modulador de receptor de NMDA, um diurético osmótico, um modulador de receptor de progesterona, modulador de prostaglandina, ou um modulador de receptor de vasopressina.

Em algumas modalidades do método, o agente modulador de pressão auricular é liberado da composição por um período de pelo menos 3 dias. Em algumas modalidades do método, a composição é administrada através da janela redonda.

Em algumas modalidades do método, a doença ou condição auricular é doença de Ménière, perda de audição sensorineural repentina, perda de audição relacionada à idade, perda de audição induzida por ruído, doença autoimune do ouvido ou zumbido.

Em qualquer uma das modalidades anteriormente mencionadas, o termo "produtos de degradação substancialmente baixa" significa que menos que 5% em peso do agente ativo são produtos da degradação do agente ativo. Em modalidades adicionais, o termo significa que menos que 3% em peso do agente ativo são produtos da degradação do agente ativo. Ainda em modalidades adicionais, o termo significa que menos que 2% em peso do agente ativo são produtos da degradação do agente ativo. Em modalidades adicionais, o termo significa que menos que 1% em peso do agente ativo são produtos da degradação do agente ativo.

Outros objetivos, características e vantagens dos métodos e composições aqui descritos serão aparentes a partir da descrição detalhada a seguir. Deve-se compreender, no entanto, que a descrição detalhada e os exemplos específicos, embora indiquem modalidades específicas, são dados por via de ilustração apenas.

Breve descrição dos desenhos

As novas características da invenção são apresentadas com particularidade nas reivindicações em apêndice. Uma

melhor compreensão das características e vantagens da presente invenção será obtida por referência à descrição detalhada a seguir que apresenta modalidades ilustrativas, em que os princípios da invenção são utilizados, e os desenhos em que:

A Figura 1 ilustra uma comparação de formulações de liberação não sustentada e formulações de liberação sustentada.

A Figura 2 ilustra o efeito da concentração sobre a viscosidade das soluções aquosas de CMC refinado com Blanos.

A Figura 3 ilustra o efeito de concentração sobre a viscosidade de soluções aquosas de Metocel.

Descrição detalhada

A administração sistêmica de agentes ativos é, em alguns casos, ineficaz no tratamento de doenças que afetam as estruturas do ouvido interno. O canal coclear e a cóclea, por exemplo, são isolados do sistema circulatório, o que limita a liberação sistêmica de agentes ativos a locais-alvo no ouvido interno. Em alguns casos, a administração sistêmica do fármaco cria uma desigualdade potencial na concentração do fármaco com níveis circulantes no soro mais elevados, e níveis menores nas estruturas-alvo do ouvido interno. Em certos casos, grandes quantidades de fármaco são necessárias para superar a desigualdade para liberar quantidades suficientes, terapeuticamente eficazes de um fármaco para as estruturas auditivas. Em alguns casos, administração sistêmica do fármaco também aumenta a probabilidade de acúmulo sistêmico secundário e conseqüentes efeitos colaterais adversos.

O tratamento atualmente disponível para doenças do ouvido interno também tem o risco de efeitos colaterais. Por exemplo, os métodos disponíveis requerem múltiplas doses diárias (por exemplo, injeção ou infusão intratimpânica) de fármacos. Em certos casos, múltiplas injeções intratimpânicas diárias causam desconforto ao paciente e não aceitação. Em certos casos, a liberação de agentes ativos ao ouvido interno por meio de gotas administradas no canal auditivo ou por meio de injeção intratimpânica é impedida pela barreira biológica apresentada pela barreira sangue-labirinto (BLB), a membrana da janela oval e/ou a membrana da janela redonda. Em alguns casos, a liberação de agentes ativos ao ouvido interno por meio de gotas ou injeção intratimpânica causa desequilíbrio osmótico nas estruturas do ouvido interno, introduz infecções ou outros distúrbios imunes como um resultado de presença microbiana ou de endotoxina, ou resulta em dano estrutural permanente (por exemplo, perfuração da membrana timpânica), que resulta em perda de audição e outros.

Estudos clínicos com esteróides como prednisolona ou dexametasona demonstraram o benefício de ter exposição de longa duração dos esteróides à perilinfa da cóclea; isso foi mostrado por melhor eficácia clínica na melhoria de perda de audição súbita quando o esteróide em questão é dado em múltiplas ocasiões.

As publicações de Pedido U.S. Nos. 2006/0063802 e 2005/0214338 revelam composições que compreendem antagonistas de arilcicloalquilamina NMDA para administração local ao ouvido interno. Não há revelação de

formulações de liberação controlada, requisitos de osmolaridade ou pH, ou requisitos de esterilidade para as composições. WO 2007/038949 revela composições que compreendem antagonistas de arilcicloalquilamina NMDA no tratamento de distúrbios do ouvido interno. Nenhum guia é fornecido sobre pirogenicidade, requisitos de esterilidade, níveis de viscosidade e/ou características de liberação controlada da formulação.

Fernandez *e cols.* Biomateriais, 26: 3311-3318 (2005) descreve composições que compreendem prednisolona útil para tratar doença do ouvido interno como doença de Ménière. Fernandez *e cols.* não revelam níveis de osmolaridade, pirogenicidade, pH, ou esterilidade das composições ali reveladas. Paulson *e cols. The Laryngoscope*, 118: 706 (2008) descrevem composições de liberação sustentada que compreendem dexametasona útil no tratamento de, entre outros, doenças do ouvido interno como doença de Ménière. Novamente, Paulson *e cols.* não revelam requisitos de osmolaridade, pirogenicidade, pH, ou esterilidade para as composições aqui descritas.

C. Gang *e cols.*, J. Sichuan Univ. 37:456-459 (2006) descrevem uma preparação de dexametasona sódio fosfato (DSP). A formulação descrita em Gang *e cols.* compreende conservantes e adesivos e é esterilizada sob condições que levam provavelmente ao colapso de DSP. Também não há qualquer revelação com relação à osmolaridade, pirogenicidade, pH, ou requisitos de esterilidade para as composições aqui descritas.

Feng *e cols.*, Zhonghua Er Bi Yon Hou Thu Jing Wai Ke Za Zhi 42:443-6 (Junho de 2007) e Feng *e cols.*, Zhortghua

Yí Xue Za Zhi 87:2289-91 (agosto de 2007) descrevem soluções a 20% e 25% de poloxâmero como não tóxicas para as estruturas auriculares. Não há agente ativo nas soluções ali descritas, e não há qualquer revelação com relação à osmolaridade, pirogenicidade, pH, ou requisitos de esterilidade para as soluções aqui descritas. J. Daijie *e cols.*, *J. Clin. Otorhinolaryngol Head Neck Surg* (China) 22(7) (abril de 2008), P. Yikun *e cols.*, *J. Clin. Otorhinolaryngol Head Neck Surg* (China) 22(10) (maio de 2008), e S. Wandong e cols., *J. Clin. Otorhinolaryngol Head Neck Surg* (China) 22(19) (outubro de 2008) descrevem injeções de solução intratimpânicas. No entanto, Daijie e cols., Yikun *e cols.* e Wandong *e cols.* não revelam quaisquer formulações auriculares que sejam baseadas em polímero, ou quaisquer formulações auriculares que sejam formulações de liberação sustentada. Também não há qualquer revelação com relação à osmolaridade, pirogenicidade, pH, ou requisitos de esterilidade para as composições aqui descritas.

A injeção intratimpânica do agente terapêuticos é a técnica de injeção de um agente terapêutico por trás da membrana timpânica no ouvido médio e/ou ouvido interno. A despeito de sucesso prévio com essa técnica (Schuknecht, *Laryngoscope* (1956) 66, 859-870), ainda permanecem alguns desafios. Por exemplo, o acesso à membrana da janela redonda, o local de absorção do fármaco no ouvido interno, podem ser problemáticos.

No entanto, as injeções intratimpânicas criam vários problemas desconhecidos não solucionados pelo regime de tratamento atualmente disponível, como alteração da

osmolaridade e pH da perilinfa e endolinfa, e introdução de patógenos e endotoxinas que danificam diretamente ou indiretamente as estruturas do ouvido interno. Uma das razões pelas quais a técnica pode não ter reconhecido esses problemas é que não há composições intratimpânicas aprovadas: o ouvido interno fornece desafios para a formulação *sui generis*. Portanto, as composições desenvolvidas para outras partes do corpo têm pouca ou nenhuma relevância para uma composição intratimpânica.

Não há qualquer guia na técnica prévia com relação a requisitos (por exemplo, nível de esterilidade, pH, osmolaridade) para formulações auriculares que sejam adequadas para administração a humanos. Há uma ampla disparidade anatômica entre os ouvidos de animais através das espécies. Uma conseqüência das diferenças nas estruturas auditivas entre as espécies é que os modelos animais de doença do ouvido interno são freqüentemente não confiáveis como uma ferramenta para teste de terápicos que estejam sendo desenvolvidos para aprovação clínica.

São aqui fornecidas formulações auriculares que seguem critérios rigorosos para pH, osmolaridade, esquilíbrio iônico, esterilidade, níveis de endotoxina e/ou pirógeno. As composições auriculares aqui descritas são compatíveis com o microambiente do ouvido interno (por exemplo, a perilinfa) e são adequadas para administração a humanos. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas compreendem corantes que auxiliam a visualização das composições administradas que mostram a necessidade por procedimentos invasivos (por exemplo, remoção de perilinfa) durante desenvolvimento pré-clínico e/ou clínico de

terápicos intratimpânicos.

Portanto, são aqui fornecidas, em certas modalidades, formulações e composições auriculares aceitáveis de liberação controlada que tratam de modo local as estruturas-alvo do ouvido e fornecem exposição estendida dos agentes ativos às estruturas-alvo do ouvido. Em certas modalidades, as formulações auriculares aqui descritas são formulações com base em polímero desenhadas para faixas estritas de osmolaridade e pH que são compatíveis com as estruturas auditivas e/ou a endolinfa e perilinfa. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas são formulações de liberação controlada que fornecem liberação estendida por um período de pelo menos 3 dias e seguem os requisitos estritos de esterilidade. Em alguns casos, as composições auriculares aqui descritas contêm níveis menores de endotoxina (por exemplo <0,5 EU/mL), quando comparados aos níveis tipicamente aceitáveis de endotoxina de 5 EU/mL. Em alguns casos, as formulações auriculares aqui descritas contêm níveis baixos de unidades formadoras de colônia (por exemplo, <50 CFU) por grama da formulação. Em alguns casos, as formulações auriculares aqui descritas são substancialmente livres de pirógenos e/ou micróbios. Em alguns casos, as formulações auriculares aqui descritas são formuladas para preservar o equilíbrio iônico da endolinfa e/ou a perilinfa. O requisito estrito para esterilidade e compatibilidade com fluidos do ouvido interno para formulações auriculares não tem sido enfocado.

As formulações aqui descritas representam uma vantagem sobre as terapêuticas atualmente disponíveis porque elas são formulações auriculares de liberação controlada

estéreis que são compatíveis com estruturas auriculares (por exemplo, a perilinfa) e são seguras para administração de longa duração a humanos que necessitam. Em alguns casos, pelo fornecimento de uma liberação estendida lenta de um agente ativo, as formulações aqui descritas evitam uma liberação inicial forte após administração ao ouvido interno; ou seja, as formulações evitam uma alteração dramática no pH da endolinfa ou perilinfa e subseqüentemente reduzem o impacto sobre o equilíbrio e/ou audição após a administração.

Em alguns casos, a administração local das composições aqui descritas evita efeitos colaterais adversos potenciais como um resultado de administração sistêmica de agentes ativos. Em alguns casos, as formulações e composições auriculares aceitáveis aplicadas de modo local aqui descritas são compatíveis com estruturas auriculares, e administradas diretamente à estrutura auricular desejada, por exemplo, para a região da cóclea, ou administradas a uma estrutura em comunicação direta com áreas da estrutura auricular; no caso da região coclear, por exemplo, que inclui, sem limitação, a membrana da janela redonda, a *crista fenestrae cochleae* ou a membrana da janela oval.

Em certos casos, uma vantagem das formulações de liberação controlada aqui descritas é que elas fornecem uma taxa constante de liberação de um fármaco a partir da formulação e fornecem uma fonte prolongada constante de exposição de um agente ativo auricular para o ouvido interno de um indivíduo ou paciente que sofre de um distúrbio auricular, reduzindo ou eliminando quaisquer variabilidades associadas com outros métodos de tratamento

(como, por exemplo, gotas auriculares e/ou múltiplas injeções intratimpânicas).

As formulações de fármaco aqui descritas fornecem liberação estendida do ingrediente ativo para o ouvido médio e/ou interno (*auris interna*), incluindo a cóclea e labirinto vestibular. Uma opção adicional inclui um componente de liberação imediata ou rápida em combinação com um componente de liberação controlada.

Certas definições

O termo "aceitável para o ouvido" com relação a uma formulação, composição ou ingrediente, como aqui usado, inclui não ter efeito prejudicial persistente sobre o ouvido médio e o ouvido interno do indivíduo sendo tratado. Por "farmaceuticamente aceitável para o ouvido" como aqui usado, entende-se um material, como um veículo ou diluente, que não anula a atividade biológica ou propriedades do composto em referência ao ouvido médio e ouvido interno, e é relativamente tóxico ou tem toxicidade reduzida para o ouvido médio e ouvido interno, ou seja, o material é administrado a um indivíduo sem causar efeitos biológicos indesejáveis ou interagem em uma maneira nociva com qualquer um dos componentes da composição em que ele é contido.

Como aqui usado, melhoria ou diminuição dos sintomas de uma doença, distúrbio ou condição auricular particular por administração de um composto ou composição farmacêutica particular refere-se a qualquer diminuição da severidade, retardo no surgimento, retardo da progressão, ou encurtamento da duração, seja permanente ou temporária, duradoura ou transitória que é atribuída ou associada à

administração do composto ou composição.

Como aqui usado, os termos "agente imunomodulador" ou "imunomodulador" ou "agente imunomodulador" ou "agente de modulação imune" são usados como sinônimos.

Os termos "agente anti-TNF" ou "agente anti-fator de necrose tumoral" ou "modulador de TNF" ou "agente de modulação de TNF" ou "modulador de TNF-alfa" ou "agente anti-TNF alfa" são usados como sinônimos. O termo "agente anti-TNF" e seus sinônimos geralmente referem-se a agentes que neutralizam o efeito biológico de TNF-α ou o efeito biológico de estímulo pró-TNF-α incluindo agentes que se ligam e antagonizam o alvo molecular; aqui, o fator de necrose tumoral alfa ou TNF-alfa (TNF-α), agentes que inibem a liberação de TNF-α, ou agentes que interferem com a expressão do gene de TNF-α devido a estímulo pró-TNF-α. Também são incluídos agentes que antagonizam indiretamente a atividade biológica de TNF-α por modulação de alvos na via geral de ativação de TNF-α, incluindo, sem limitação, alvos acima da via de ativação de TNF-alfa, que incluem, sem limitação, agentes que aumentam a expressão, atividade ou função de TNF-alfa.

Como aqui usado, os termos "agente modulador de pressão auricular" ou "moduladores da pressão auricular" são usados como sinônimos e não definem o grau de eficácia. O modulador da pressão auricular também inclui compostos que modulam a expressão ou processamento pós-transcrição de uma proteína de homeostasia de fluido, incluindo vasopressina e proteína beta de receptor relacionado a estrogênio. Adicionalmente, os moduladores de receptor de vasopressina ou moduladores beta de receptor relacionado ao

estrogênio incluem compostos que influenciam a sinalização do receptor de vasopressina ou receptor relacionado ao estrogênio beta ou funções sob o controle do receptor de vasopressina ou receptor relacionado ao estrogênio beta, como função de aquaporina. Os agentes que modulam receptor de vasopressina ou receptor relacionado ao estrogênio beta incluem compostos que aumentam e/ou diminuem a função do receptor de vasopressina ou receptor relacionado ao estrogênio beta, que incluem antagonistas, inibidores, agonistas, agonistas parciais e outros.

"Modulador de células neuronais e/ou pilosas do ouvido" e "agente de modulação de célula sensorial auricular" são sinônimos. Eles incluem agentes que promovem o crescimento e/ou regeneração de neurônios e/ou as células ciliadas do ouvido, e agentes que destroem neurônios e/ou células ciliadas do ouvido.

Como aqui usado, o termo "agente antimicrobiano" refere-se a compostos que inibem o crescimento, proliferação ou multiplicação de micróbios ou que matam os micróbios. "Agentes antimicrobianos" adequados são agentes antibacterianos (eficazes contra bactérias), agentes antivirais (eficazes contra vírus), agentes antifúngicos (eficazes contra fungos), antiprotozoários (eficazes contra protozoários) e/ou antiparasíticos para qualquer classe de micróbios parasitas. "Agentes antimicrobianos podem funcionar por qualquer mecanismo adequado contra os micróbios, incluindo por ser tóxico ou citostático.

A frase "molécula pequena antimicrobiana" refere-se a compostos antimicrobianos que são de peso molecular relativamente baixo, por exemplo, menos que 1.000 de peso

molecular, que são eficazes para o tratamento de distúrbios otológicos, particularmente distúrbios otológicos causados por micróbios patogênicos, e são adequados para uso nas formulações aqui reveladas. "Moléculas pequenas antimicrobianas" adequadas incluem moléculas pequenas antibacterianas, antivirais, antifúngicas, antiprotozoárias e antiparasíticas.

"Modulador de radicais livres" e "agente de modulação de radical livre" são sinônimos. Eles referem-se a agentes que modulam a produção e/ou dano causados por radicais livres, especialmente espécies reativas de oxigênio.

Como aqui usado, os termos "agente de modulação de canal de íon", "moduladores de canal de íon" ou "modulador de canal de íon" são usados como sinônimos e não definem o grau de eficácia. O modulador de canal de íon também inclui compostos que modulam a expressão ou processamento pós-transcrição de uma proteína de homeostasia de fluido, incluindo vasopressina e proteína beta de receptor relacionado ao estrogênio. Adicionalmente, os moduladores de receptor de vasopressina ou beta receptor relacionado ao estrogênio incluem compostos que influenciam a sinalização de receptor de vasopressina ou beta receptor relacionado ao estrogênio ou funções sob o controle do receptor de vasopressina ou beta receptor relacionado ao estrogênio, como função de aquaporina. Os agentes de modulação de receptor de vasopressina ou beta receptor relacionado ao estrogênio incluem compostos que aumentam e/ou diminuem a função de receptor de vasopressina ou de beta receptor relacionado ao estrogênio, que incluem antagonistas, inibidores, agonistas, agonistas parciais e outros.

Como aqui usado, o termo "agente auricular" ou "agente de modulação de estrutura auricular" ou "agente terapêutico auricular" ou "agente ativo auricular" ou "agente ativo" refere-se aos compostos que são eficazes para o tratamento de distúrbios, por exemplo, otite média, otosclerose, doenças autoimunes do ouvido e câncer do ouvido, e são adequados para uso nas formulações aqui reveladas. Um "agente auricular" ou "agente de modulação de estrutura auricular" ou "agente terapêutico auricular" ou "agente ativo auricular" ou "agente ativo" inclui, sem limitação, compostos que agem como um agonista, um agonista parcial, um antagonista, um antagonista parcial, um agonista inverso, um antagonista competitivo, um antagonista neutro, um antagonista ortostérico, um antagonista alostérico, ou um modulador alostérico positivo de um alvo de modulação de estrutura auricular, ou combinações destes.

"Distúrbio do equilíbrio" refere-se a um distúrbio, doença, ou condição que faz com que uma pessoa se sinta instável, ou tenha uma sensação de movimento. Incluídos nessa definição estão tontura, vertigem, desequilíbrio e pré-síncope. As doenças que são classificadas como distúrbios do equilíbrio incluem, sem limitação, síndrome de Ramsay Hunt, doença de Ménière, mal de desembarque, vertigem posicional paroxística benigna e labirintite.

"Modulador do SNC" e "agente de modulação do SNC" são sinônimos. Eles se referem a agentes que diminuem, decrescem, suprimem parcialmente, suprimem totalmente, melhoram, antagonizam, agonizam, estimulam ou aumentam a atividade do SNC. Por exemplo, eles podem aumentar a atividade de GABA, por exemplo, por aumento da

sensibilidade dos receptores de GABA, ou eles podem alterar a despolarização nos neurônios.

"Anestésico local" significa uma substância que causa uma perda reversível da sensação e/ou uma perda de nocicepção. Freqüentemente, essas substâncias funcionam por diminuição da taxa da despolarização e repolarização de membranas excitáveis (por exemplo, neurônios). Como um exemplo não limitante, os anestésicos locais incluem lidocaína, benzocaína, prilocaína e tetracaína.

"Modulador do receptor de $GABA_A$", "modulador do receptor de GABA" e "modulador do receptor de GABA" são sinônimos. Eles referem-se a substâncias que modulam a atividade do neurotransmissor GABA, por exemplo, por aumento da sensibilidade do receptor de GABA a GABA.

Como aqui usado, o termo "agente citotóxico" refere-se a compostos que são citotóxicos (ou seja, tóxicos para uma célula) eficazes para o tratamento de distúrbios otológicos, por exemplo, doenças autoimunes do ouvido e câncer do ouvido, e são adequados para uso nas formulações aqui reveladas.

A frase "molécula pequena citotóxica" refere-se a compostos citotóxicos que são de peso molecular relativamente baixo, por exemplo, menos que 1.000, ou menos que 600-700, ou entre 300-700 de peso molecular, que são eficazes para o tratamento de distúrbios otológicos, por exemplo, doenças autoimunes do ouvido e câncer do ouvido, e são adequados para uso nas formulações aqui reveladas. "Moléculas pequenas citotóxicas" adequadas incluem metotrexato, ciclofosfamida e talidomida, bem como metabólitos, sais, polimorfos, pró-fármacos, análogos, e

derivados de metotrexato, ciclofosfamida e talidomida. Em certas modalidades, as moléculas pequenas citotóxicas preferidas são os metabólitos farmaceuticamente ativos de agentes citotóxicos. Por exemplo, no caso de ciclofosfamida, os metabólitos preferidos são metabólitos farmaceuticamente ativos de ciclofosfamida, incluindo, sem limitação, 4-hidroxiciclofosfamida, aldofosfamida, fosforamida mostarda, e combinações destes.

"Antioxidantes" são antioxidantes farmaceuticamente aceitáveis para o ouvido, e incluem, por exemplo, hidroxitolueno butulado (BHT), ascorbato de sódio, ácido ascórbico, metabissulfito de sódio e tocoferol. Em certas modalidades, os antioxidantes aumentam a estabilidade química quando necessário. Os antioxidantes são também usados para neutralizar os efeitos ototóxicos de certos agentes terapêuticos, que incluem agentes que são usados em combinação com os agentes auriculares aqui revelados.

"*Auris interna*" refere-se ao ouvido interno, incluindo a cóclea e o labirinto vestibular, e a janela redonda que conecta a cóclea com o ouvido médio.

"Biodisponibilidade do ouvido interno" ou "Biodisponibilidade do ouvido médio" refere-se à percentagem da dose administrada de compostos aqui revelados que se torna disponível no ouvido interno ou médio, respectivamente, do animal ou humano sendo estudado.

"*Auris media*" refere-se ao ouvido médio, incluindo a cavidade timpânica, ossículos auditivos e janela oval, que conecta o ouvido médio ao ouvido interno.

"Concentração plasmática do sangue" refere-se à concentração de compostos aqui fornecidos no componente de

plasma do sangue de um indivíduo.

"Biodisponibilidade do ouvido interno" refere-se à percentagem da dose administrada de compostos aqui revelados que se torna disponível no ouvido interno, do animal ou humano sendo estudado.

O termo "intensificador de penetração otogicamente aceitável" com relação a uma formulação, composição ou ingrediente, como aqui usado, refere-se à propriedade de reduzir a resistência de barreira.

"Materiais carreadores" são excipientes que são compatíveis com o agente auricular, o ouvido médio, o ouvido interno e as propriedades do perfil de liberação das formulações farmacêuticas aceitáveis para o ouvido. Tais materiais carreadores incluem, por exemplo, ligantes, agentes de suspensão, agentes de desintegração, agentes de preenchimento, surfactantes, solubilizantes, estabilizantes, lubrificantes, agentes umectantes, diluentes e outros.

"Materiais carreadores compatíveis farmaceuticamente aceitáveis para o ouvido" incluem, sem limitação, acácia, gelatina, dióxido de silício coloidal, glicerofosfato de cálcio, lactato de cálcio, maltodextrina, silicato de magnésio, polivinilpirrolidona (PVP), colesterol, ésteres de colesterol, caseinato de sódio, lecitina de soja, ácido taurocólico, fosfatidilcolina, cloreto de sódio, fosfato tricálcico, fosfato dipotássico, celulose e conjugados de celulose, açúcares, sódio estearoil lactilato, carragenana, monoglicerídeo, diglicerídeo, amido pregelatinizado e outros.

O termo "diluente" refere-se a compostos químicos que

são usados para diluir o agente auricular antes da liberação e que são compatíveis com o ouvido médio e/ou ouvido interno.

"Agentes de dispersão" e/ou "agentes de modulação de viscosidade" e/ou "agentes espessantes" são materiais que controlam a difusão e homogeneidade do agente auricular através de meio líquido. Exemplos de agentes facilitadores de difusão/dispersão incluem, sem limitação, polímeros hidrofílicos, eletrólitos, Tween ® 60 ou 80, PEG, polivinilpirrolidona (PVP; comercialmente conhecida como Plasdone®), e os agentes de dispersão com base em carboidrato como, por exemplo, hidroxipropil celuloses (por exemplo, HPC, HPC-SL e HPC-L), hidroxipropil metilceluloses (por exemplo, HPMC K100, HPMC K4M, HPMC K15M e HPMC K100M), carboximetilcelulose, carboximetilcelulose sódica, metilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose ftalato, hidroxipropilmetilcelulose acetato estearato (HPMCAS), celulose não cristalina, silicato de alumínio magnésio, trietanolamina, polivinil álcool (PVA), copolímero de vinil pirrolidona/vinil acetato (S630), polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenol com óxido de etileno e formaldeído (também conhecido como tyloxapol), poloxâmeros (por exemplo, Pluronics F68®, F88® e F108®, que são copolímeros em bloco de óxido de etileno e óxido de propileno); e poloxaminas (por exemplo, Tetronic 908®, também conhecido como Poloxamina 908®, que é um copolímero em bloco tetrafuncional derivado da adição seqüencial de óxido de propileno e óxido de etileno a etilenodiamina (BASF Corporation, Parsippany, M.)), polivinilpirrolidona K12,

polivinilpirrolidona K17, polivinilpirrolidona K25 ou polivinilpirrolidona K30, ou copolímero de polivinilpirrolidona/acetato de vinila (S-630), polietileno glicol, por exemplo, o polietileno glicol tem um peso molecular de cerca de 300 a cerca de 6.000, ou cerca de 3.350 a cerca de 4.000, ou cerca de 7.000 a cerca de 5.400, sódio carboximetilcelulose, metilcelulose, polissorbato-80, alginato de sódio, gomas, como, por exemplo, goma tragacanto e goma acácia, goma guar, xantanas, incluindo goma xantana, açúcares, celuloses, como, por exemplo, sódio carboximetilcelulose, metilcelulose, sódio carboximetilcelulose, polissorbato-80, alginato de sódio, monolaurato de sorbitano polietoxilado, monolaurato de sorbitano polietoxilado, povidona, carbômeros, álcool polivinílico (PVA), alginatos, quitosanas, e combinações destes. Plastificantes como celulose ou trietil celulose também podem ser usados como agentes dispersantes. Os agentes dispersantes opcionais úteis nas dispersões lipossômicas e auto-emulsificantes dos agentes auriculares aqui revelados são dimiristoil fosfatidil colina, fosfatidil colina natural de ovos, fosfatidil glicerol natural de ovos, colesterol e isopropil miristato.

"Absorção de fármaco" ou "absorção" refere-se ao processo de movimento do agente auricular a partir do local de administração, por via de exemplo apenas, a membrana da janela redonda do ouvido interno, e através da barreira (as membranas da janela redonda, como abaixo descrito) para o ouvido interno ou estruturas do ouvido interno. Os termos "co-administração" ou outros, como aqui usado, englobam a administração do agente auricular a um paciente único, e

devem incluir regimes de tratamento em que os agentes auriculares são administrados pela mesma via ou por vias diferentes de administração ou ao mesmo tempo ou em tempos diferentes.

Os termos "quantidade eficaz" ou "quantidade terapeuticamente eficaz", como aqui usados, referem-se a uma quantidade suficiente do agente auricular sendo administrado que deve aliviar em alguma extensão um ou mais dos sintomas da doença ou condição sendo tratada. Por exemplo, o resultado da administração dos agentes auriculares aqui revelados é a redução e/ou alívio dos sinais, sintomas ou causas de AIED. Por exemplo, uma "quantidade eficaz" para usos terapêuticos é a quantidade do agente auricular, que inclui uma formulação como aqui revelada necessária para fornecer uma diminuição ou melhora nos sintomas da doença sem efeitos colaterais adversos indesejados. O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" inclui, por exemplo, uma quantidade profilaticamente eficaz. Uma "quantidade eficaz" de uma composição de agente auricular aqui revelada é uma quantidade eficaz para atingir um efeito farmacológico desejado ou melhoria terapêutica sem efeitos colaterais adversos indesejados. Entende-se que uma "quantidade eficaz" ou "uma quantidade terapeuticamente eficaz" varia, em algumas modalidades, de indivíduo para indivíduo, devido à variação no metabolismo do composto administrado, idade, peso, condição geral do indivíduo, da condição sendo tratada, da severidade da condição sendo tratada, e do julgamento do profissional. Entende-se também que uma "quantidade eficaz" em uma forma de dosagem de liberação estendida pode diferir de uma

"quantidade eficaz" em uma forma de dosagem de liberação imediata com base em considerações de farmacocinética e farmacodinâmica.

Os termos "melhorar" ou "melhoria" referem-se a um aumento ou prolongamento da potência ou duração de um efeito desejado do agente auricular, ou uma diminuição de qualquer sintomatologia adversa. Por exemplo, em referência a melhoria do efeito dos agentes auriculares aqui revelados, o termo "melhoria" refere-se à capacidade de aumentar ou prolongar, em potência ou duração, o efeito de outros agentes terapêuticos que são usados em combinação com os agentes auriculares aqui revelados. Uma "quantidade eficaz de melhoria", como aqui usada, refere-se a uma quantidade de um agente auricular ou outro agente terapêutico que é adequada para melhorar o efeito de outro agente terapêutico ou agente auricular em um sistema desejado. Quando usado em um paciente, as quantidades eficazes para esse uso dependerão da severidade e duração da doença, distúrbio ou condição, terapia prévia, do estado de saúde do paciente e da resposta aos fármacos, e do julgamento do médico.

O termo "intensificador de penetração" refere-se a um agente que reduz resistência de barreira (por exemplo, resistência de barreira da membrana da janela redonda, BLB ou outros).

O termo "inibição" inclui prevenção, retardo ou reversão do desenvolvimento de uma condição, por exemplo, AIED, ou avanço de uma condição em um paciente que necessita de tratamento.

Os termos "kit" e "artigo de manufatura" são usados

como sinônimos.

O termo "modula" inclui a interação com um alvo, por exemplo, com os agentes de INF-alfa aqui revelados, a atividade de TNF-alfa, ou outros alvos diretos ou indiretos que alteram a atividade de TNF-alfa, incluindo, como exemplo apenas, a inibição da atividade de TNF-alfa, ou a limitação da atividade do TNT-alfa.

"Farmacodinâmica" refere-se aos fatores que determinam a resposta biológica observada em relação à concentração de fármaco no local desejado no ouvido médio e/ou ouvido interno.

"Farmacocinética" refere-se aos fatores que determinam a obtenção e manutenção da concentração adequada de fármaco no local desejado no ouvido médio e/ou ouvido interno.

Em aplicações profiláticas, as composições que contêm os agentes auriculares aqui descritos são administradas a um paciente suscetível ou em risco de uma doença, distúrbio ou condição particular, por exemplo, AIED, ou pacientes que sofrem de doenças associadas com AIED, que incluem, como exemplo apenas, Espondilite anquilosante, Lupus eritematoso disseminado (SLE), síndrome de Sjögren, doença de Cogan, colite ulcerativa, granulornatose de Wegener, doença intestinal inflamatória, artrite reumatóide, escleroderma e doença de Behcet. Tal quantidade é definida como sendo uma "quantidade ou dose profilaticamente eficaz". Nesse uso, as quantidades precisas também dependem do estado de saúde do paciente, peso e outros.

Um "pró-fármaco" refere-se ao agente auricular que é convertido no fármaco parente *in vivo*. Em certas

modalidades, um pró-fármaco é enzimaticamente metabolizado por uma ou mais etapas ou processos à forma biologicamente, farmaceuticamente ou terapeuticamente ativa do composto. Para produzir um pró-fármaco, um composto farmaceuticamente ativo é modificado de modo que o composto ativo será regenerado após administração *in vivo*. Em uma modalidade, o pró-fármaco é desenhado para alterar a estabilidade metabólica ou as características de transporte de um fármaco, para mascarar efeitos colaterais ou toxicidade, ou para alterar outras características ou propriedades de um fármaco. Os compostos aqui fornecidos, em algumas modalidades, são derivados em pró-fármacos adequados.

"Solubilizantes" refere-se a compostos aceitáveis para o ouvido como triacetina, trietilcitrato, etil oleato, etil caprilato, sódio lauril sulfato, docusato de sódio, vitamina E TPGS, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, N-hidroxietilpirrolidona, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetil celulose, hidroxipropil ciclodextrinas, etanol, n-butanol, isopropil álcool, colesterol, sais da bile, polietileno glicol 200-600, glicofurol, transcutol®, propileno glicol, dimetil isosorbida e outros.

"Estabilizantes" refere-se a compostos como quaisquer agentes anti-oxidação, tampões, ácidos, conservantes e outros que são compatíveis com o ambiente do ouvido médio e/ou ouvido interno. Os estabilizantes incluem, sem limitação aos agentes que realizarão, (1) melhoria da compatibilidade de excipientes com um recipiente, ou um sistema de liberação, incluindo uma seringa ou um frasco de vidro, (2) melhoria da estabilidade de um componente da composição, ou (3) melhoria da estabilidade da formulação.

"Estado estável", como aqui usado, é quando a quantidade do fármaco administrada ao ouvido médio e/ou ouvido interno é igual à quantidade de fármaco eliminada em um intervalo de dosagem que resulta em um platô ou níveis constantes de exposição ao fármaco na estrutura alvo.

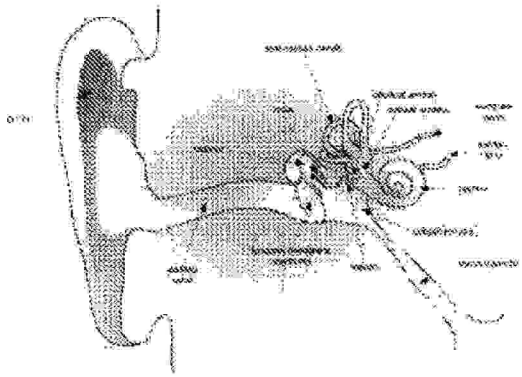
Como aqui usado, o termo "indivíduo" é usado para significar um animal, preferivelmente um mamífero, incluindo um humano ou não humano. Os termos paciente e indivíduo são usados de modo intercambiável.

"Surfactantes" referem-se a compostos que são aceitáveis para o ouvido como sódio lauril sulfato, sódio docusato, Tween 60 ou 80, triacetina, vitamina E TPCIS, fosfolipídeos, lecitinas, fosfatidil colinas (c8-c18), fosfatidiletanolaminas (c8-c18), fosfatidilgliceróis (c8-c18), monooleato de sorbitano, monooleato de polioxietileno sorbitano, polissorbatos, polaxômeros, sais da bile, gliceril monostearato, copolímeros de óxido de etileno e óxido de propileno, por exemplo, Pluronic (BASF), e outros. Alguns outros surfactantes incluem glicerídeos de ácido graxo de polioxietileno e óleos vegetais, por exemplo, óleo de rícino hidrogenado com polioxietileno (60); e polioxietileno alquiléters e alquilfenil éteres, por exemplo, octoxinol 10, octoxinol 40. Em algumas modalidades, os surfactantes são incluídos para melhorar a estabilidade física ou para outros objetivos.

Os termos "tratar", "tratamento" ou "em tratamento", como aqui usados, incluem alívio, diminuição ou melhoria de uma doença ou condição, por exemplo, AIED, sintomas, prevenção de sintomas adicionais, melhoria ou prevenção das causas metabólicas subjacentes dos sintomas, inibição da

doença ou condição, por exemplo, impedimento do desenvolvimento da doença ou condição, alívio da doença ou condição, regressão da doença ou condição, alívio de uma condição causada pela doença ou condição, ou controle ou interrupção dos sintomas da doença ou condição profilaticamente e/ou terapeuticamente.

Anatomia do ouvido



O ouvido serve tanto como o órgão sensorial que detecta som quanto o órgão que mantém o equilíbrio de posição corporal. O ouvido é geralmente dividido em três porções: o ouvido externo, ouvido médio e o ouvido interno (ou *auris interna*). Como mostrado na ilustração acima, o ouvido externo é a porção externa do órgão e é composto da *pinna* (pavilhão auricular), o canal auditivo (meato auditivo externo) e a porção externa da membrana timpânica, também conhecida como o tímpano. A *pinna*, que é a parte carnosa do ouvido externo que é visível na lateral da cabeça, coleta ondas de som e as direciona para o canal auditivo. Portanto, a função do ouvido externo, em parte, é coletar e direcionar ondas de som para a membrana timpânica e ouvido médio.

O ouvido médio é uma cavidade preenchida com ar, chamada cavidade timpânica, por trás da membrana timpânica. A membrana timpânica, também conhecida como o tímpano, é uma membrana fina que separa o ouvido externo do ouvido médio. O ouvido médio se posiciona no osso temporal, e inclui nesse espaço os três ossos do ouvido (ossículos auditivos): o martelo, a bigorna e o estribo. Os ossículos auditivos são ligados por meio de ligamentos pequenos, que formam uma ponte através do espaço da cavidade timpânica. O martelo, que é anexado à membrana timpânica em uma extremidade, é ligado à bigorna em sua extremidade anterior, que por sua vez é ligada ao estribo. O estribo é anexado à janela oval, uma das duas janelas localizadas na cavidade timpânica. Uma camada de tecido fibroso, conhecida como o ligamento anular, conecta o estribo à janela oval. As ondas de som do ouvido externo primeiramente fazem a membrana timpânica vibrar. A vibração é transmitida para a cóclea através dos ossículos auditivos e janela oval, que transfere o movimento para os fluidos no ouvido interno. Portanto, os ossículos auditivos são arranjados para fornecer uma ligação mecânica entre a membrana timpânica e a janela do ouvido interno, em que o som é transformado e transduzido ao ouvido interno para processamento posterior. Imobilidade, rigidez ou perda de movimento dos ossículos auditivos, membrana timpânica ou janela oval levam à perda de audição, por exemplo, otosclerose, ou rigidez do estribo.

A cavidade timpânica também se conecta à garganta por meio da trompa de Eustáquio. A trompa de Eustáquio fornece a capacidade de equalizar a pressão entre o ar exterior e a

cavidade do ouvido médio. A janela redonda, um componente do ouvido interno que é também acessível pela cavidade timpânica, se abre na cóclea do ouvido interno. A janela redonda é coberta por uma membrana, que consiste em três camadas: uma camada externa ou mucosa, uma camada intermediária ou fibrosa, e uma membrana interna, que se comunica diretamente com o fluido coclear. A janela redonda, portanto, tem comunicação direta com o ouvido interno por meio da membrana interna.

Os movimentos na janela oval e redonda são interconectados, ou seja, à medida que o estribo transmite o movimento da membrana timpânica para a janela oval para mover internamente contra o fluido do ouvido interno, a janela redonda é correspondentemente empurrada para fora e afastada do fluido coclear. Esse movimento da janela redonda permite movimento de fluido na cóclea, o que leva, por sua vez, finalmente ao movimento das células ciliadas internas cocleares, permitindo que os sinais auditivos sejam transduzidos. A imobilidade e a rigidez na janela redonda levam à perda de audição por causa da incapacidade de movimento no fluido coclear. Estudos recentes têm se focado no implante de transdutores mecânicos na janela redonda, que contornam a via condutora normal através da janela oval e fornecem entrada amplificada na câmara coclear.

A transdução do sinal auditivo ocorre no ouvido interno. O ouvido interno preenchido com fluido, ou ouvido interno, consiste em dois componentes principais: o aparelho coclear e vestibular.

A cóclea é a porção do ouvido interno relacionada à

audição. A cóclea é uma estrutura semelhante a tubo cônica que é enrolada em um formato que lembra um caracol. O interior da cóclea é dividido em três regiões, que é também definido pela posição da membrana vestibular e da membrana basilar. A porção acima da membrana vestibular é a *scala vestibuli*, que se estende da janela oval até a ponta da cóclea e contém fluido de perilinfa, um líquido aquoso de baixo teor de potássio e alto teor de sódio. A membrana basilar define a região da *scala tympani*, que se estende da ponta da cóclea à janela redonda e também contém perilinfa. A membrana basilar contém milhares de fibras rígidas, que aumentam gradualmente em comprimento a partir da janela redonda para a ponta da cóclea. As fibras da membrana de base vibram quando ativadas por som. Entre a *scala vestibuli* e a *scala tympani* está o duto coclear, que termina como um saco fechado na ponta da cóclea. O duto coclear contém fluido de endolinfa, que é similar ao fluido cerebrospinhal e tem alto teor de potássio.

O órgão de Corti, o órgão sensorial para audição, está localizado na membrana basilar e se estende para cima para o duto coclear. O órgão de Corti contém células ciliadas, que têm projeções semelhantes a cílios que se estendem de sua superfície livre, e fazem contato com uma superfície gelatinosa chamada a membrana tectorial. Embora as células ciliadas não tenham axônios, elas são circundadas por fibras nervosas sensoriais que formam o ramo coclear do nervo vestibulococlear (nervo craniano VIII),

Como discutido, a janela oval, também conhecida como a janela elíptica, se comunica com o estribo para transmitir ondas de som que vibram à frente da membrana timpânica. As

vibrações transferidas para a janela oval aumentam a pressão no interior da cóclea preenchida com fluido por meio da perilinfa e *scala vestibuli/scala tympani*, que por sua vez, faz a membrana na janela redonda se expandir em resposta. A pressão para o interior coordenada da janela redonda proporciona o movimento de fluido na cóclea sem alteração da pressão intra-coclear. No entanto, à medida que as vibrações viajam na perilinfa na *scala vestibuli*, elas criam oscilações correspondentes na membrana vestibular. Essas oscilações correspondentes viajam através da endolinfa do duto coclear, e se transferem para a membrana basilar. Quando a membrana basilar oscila, ou se move para cima ou para baixo, o órgão de Corti se move com ela. Os receptores da célula ciliada no órgão de Corti então se movem contra a membrana tectorial, causando uma deformação mecânica na membrana tectorial. Essa deformação mecânica inicia o impulso nervoso que viaja por meio no nervo vestibulococlear para o sistema nervoso central, transmitindo mecanicamente a onda de som recebida em sinais que são subseqüentemente processados pelo sistema nervoso central.

O ouvido interno está localizado em parte no labirinto ósseo, uma série intrincada de passagens no osso temporal do crânio. O aparelho vestibular é o órgão de equilíbrio e consiste em três canais semicirculares e o vestíbulo. Os três canais semicirculares são arranjados em relação um ao outro de modo que o movimento da cabeça ao longo dos três planos ortogonais no espaço pode ser detectado pelo movimento do fluido e subseqüente processamento de sinal de órgãos sensoriais ciliares dos canais semicirculares,

chamados a crista ampular. A crista ampular contém células ciliadas e células de sustentação, e é coberta por uma massa gelatinosa em forma de domo chamada a cúpula. Os cílios das células ciliadas são incrustrados na cúpula. Os canais semicirculares detectam o equilíbrio dinâmico, o equilíbrio de movimentos rotacionais ou angulares.

Quando a cabeça se vira rapidamente, os canais semicirculares se movem com a cabeça, mas o fluido da endolinfa localizado nos canais semicirculares membranosos tende a permanecer estacionário. O fluido da endolinfa é empurrado contra a cúpula, o que inclina para um lado. À medida que a cúpula inclina, ela curva alguns dos cílios nas células ciliadas da crista ampular, o que desperta um impulso sensorial. Porque cada canal semicircular está localizado em um plano diferente, a crista ampular correspondente de cada canal semicircular responde diferentemente ao mesmo movimento da cabeça. Isso cria um mosaico de impulsos que são transmitidos para o sistema nervoso central no ramo vestibular do nervo vestibulococlear. O sistema nervoso central interpreta essa informação e inicia as respostas adequadas para manter o equilíbrio. De importância no sistema nervoso central é o cerebelo, que medeia a sensação de equilíbrio.

O vestíbulo é a porção central do ouvido interno e contém mecano-receptores que portam células ciliadas que verificam o equilíbrio estático, ou a posição da cabeça em relação à gravidade. O equilíbrio estático tem um papel quando a cabeça é imóvel ou se move em uma linha reta. O labirinto membranoso no vestíbulo é dividido em duas estruturas semelhantes a saco, utrículo e sáculo. Cada

estrutura por sua vez contém uma pequena estrutura chamada mácula, que é responsável pela manutenção do equilíbrio estático. A mácula consiste em células ciliadas sensoriais incrustradas em uma massa gelatinosa (similar à cúpula) que cobre a mácula. Grãos de carbonato de cálcio, chamados otolitos, são incrustrados na superfície da camada gelatinosa.

Quando a cabeça está em uma posição ereta, os cílios estão retos ao longo da mácula. Quando a cabeça se inclina, a massa gelatinosa e otolitos se inclinam correspondentemente, curvando alguns dos cílios nas células ciliadas da mácula. Essa ação de curvatura inicia um impulso de sinal para o sistema nervoso central, que viaja por meio do ramo vestibular do nervo vestibulococlear, que por sua vez transmite impulsos motores para os músculos adequados para manter o equilíbrio.

A formulação do fármaco será primeiramente colocada no ouvido médio ou interno, incluindo a cóclea e labirinto vestibular: uma opção é o uso de uma seringa/agulha ou bomba e injetar a formulação através da membrana timpânica (o tímpano). Para liberação coclear e labirinto vestibular, uma opção é liberar o ingrediente ativo através da membrana da janela redonda ou mesmo por microinjeção diretamente no ouvido interno, também conhecida como microperfusão coclear.

Modelos animais e experimentos clínicos humanos

Não existe, no momento, qualquer terapêutica intratimpânica aprovada para administração a humanos. Em alguns casos, a ausência de modelos animais adequados para doenças do ouvido interno tem impedido o desenvolvimento de

terapêuticas intratimpânicas para uso humano.

Em alguns casos, o uso de modelos animais para doenças do ouvido interno que são utilizados para teste de eficácia das formulações aqui descritas não é precisamente preditivo da eficácia de tais formulações em humanos. Modelos animais de roedor para doenças do ouvido interno (por exemplo, modelos de doença do ouvido interno em porquinhos-da-índia) não são passível de escalonamento alométrico em humanos porque os roedores são diferentes anatomicamente na organização do ouvido médio e interno. O ouvido médio do porquinho-da-índia (ou bula) é uma cavidade que contém toda a cóclea; a cóclea é ancorada à bula por meio de *turn* basal, sua ponta residindo na cavidade. Em contraste, a cóclea humana é incrustrada no osso temporal e o único acesso à cóclea humana é através da janela redonda. Em alguns casos, de uma perspectiva farmacocinética, estudos em porquinhos-da-índia que sobrecarregam a bula e/ou injetam formulações no quadrante anterior do tímpano, ou mais geralmente afastado no nicho da janela redonda, resultarão em alta exposição da perilinfa por causa da difusão de fármaco através da ponta da cóclea. Essa situação não é possível em humanos porque a cóclea humana é incrustrada no osso temporal e como tal o único acesso à cóclea é na janela ou através da janela redonda ou a janela elíptica/oval. Além disso, as cadeias de ossículos nos porquinhos-da-índia são adjacentes à janela redonda. Em alguns casos, a localização das cadeias de ossículos próximas à janela redonda nos ouvidos do porquinho-da-índia afeta adversamente o limiar de ABR em experimentos com porquinhos-da-índia. Em contraste, o ouvido humano é

anatomicamente diferente de ouvidos de roedor; as cadeias de ossículos e/ou estribo são anatomicamente localizadas afastadas da janela redonda. Em certos casos, uma formulação auricular injetada por via intratimpânica em um ouvido humano não faz contato com o estribo e não afeta adversamente o limiar de ABR. Portanto, em certos casos, a confiabilidade de modelos animais de doenças do ouvido interno como um indicador da eficácia em experimentos clínicos humanos é limitada pela diferença anatômica entre o ouvido humano e os ouvidos animais.

Em alguns casos, um modelo animal de porquinho-da-índia para doença do ouvido interno utiliza uma injeção por meio de um orifício perfurado na bula, ou seja, a cavidade que circunda os ossos cocleares. Em alguns casos, o procedimento da bula leva a uma reação inflamatória local e um rápido acúmulo de fluidos na cavidade da bula, uma condição que perdura por vários dias. Em alguns casos, um acúmulo de volumes significantes de fluidos na bula (cerca de a 1/3-1/2 do volume total da bula) observado com a injeção da bula rapidamente esgota qualquer formulação auricular injetada, primariamente por diluição da formulação e reversão da formulação (por exemplo, uma formulação em gel) a um líquido que drena por meio da trompa de Eustáquio. Por exemplo, uma formulação em gel que compreende um poloxâmero não formará um gel em concentração abaixo de 12-14%, e em concentrações de menos que 15% irá gelificar em temperaturas maiores que 37° C. Em alguns casos, um modelo de porquinho-da-índia é de utilidade limitada para teste da eficácia de uma formulação auricular para administração a humanos devido ao *clearance* acelerado

do gel a partir do compartimento da bula do porquinho-da-índia. Por exemplo, em alguns casos, uma injeção de gel a 17% Pluronic F-127 é retirada da bula de um porquinho-da-índia em menos que 2 dias.

Em alguns casos, um modelo animal de um porquinho-da-índia para doença do ouvido interno utiliza uma injeção através da membrana timpânica. Em certos casos, em porquinhos-da-índia, uma injeção intratimpânica não está associada a acúmulo de fluido em qualquer um dos pontos de tempo avaliados (até 10 dias). Em alguns casos, injeção de uma formulação auricular aqui descrita (por exemplo, uma formulação em gel) por via timpânica proporciona quantidades detectáveis da formulação (por exemplo, um gel) no ouvido interno de um porquinho-da-índia até pelo menos 5 dias.

Em alguns casos, modelos animais (por exemplo, modelos de porquinho-da-índia para doenças do ouvido interno) que utilizam injeções intratimpânicas são limitados pelo volume que pode ser injetado pela via timpânica. No porquinho-da-índia, o nicho da janela redonda e membrana é localizado em oposição à membrana timpânica no quadrante posterior superior. Em certos casos, cerca de 50 ml podem ser injetados nesse quadrante em um porquinho-da-índia de 250-350 g. Em alguns casos, um volume maior (até 70 ml) pode ser injetado no quadrante posterior inferior; no entanto, a maior parte do gel migra para a janela redonda. Em alguns casos, volumes maiores (100-120 ml) são injetados no quadrante anterior, mas essa ação preenche a cavidade da bula e promove transferência do fármaco através da parte apical da cóclea (devido à estrutura óssea fina da cóclea

em roedores). Em certos modelos animais, a injeção de volumes maiores em qualquer um desses quadrantes leva a perfuração timpânica e presença de gel no canal auditivo externo. Em alguns casos, o volume injetado tem um impacto sobre o limiar da audição (medido por ABR). No ouvido do porquinho-da-índia, por exemplo, volumes de injeções intratimpânicas de até 50 ml não produzem qualquer alteração no limiar da audição; mas volumes de 90 e 120 ml produzem uma alteração do limiar de ABR em 1 dia. Em alguns casos, a diferença anatômica entre o ouvido de humanos e animais e a variabilidade nos resultados experimentais promovem um valor preditivo baixo aos dados de teste animal para uso em subsequentes experimentos clínicos humanos. Além disso, os procedimentos invasivos usados em modelos animais de doença do ouvido interno não são aplicáveis em um ambiente clínico.

Visualização de formulações auriculares

São aqui fornecidas formulações auriculares que compreendem um corante (por exemplo, um corante Tripano azul, Corante azul de Evans) ou outro composto traçador. Em alguns casos, a adição de um corante compatível com o ouvido a uma formulação auricular aqui descrita auxilia a visualização de qualquer formulação administrada em um ouvido (por exemplo, um ouvido de roedor e/ou um ouvido de humano). Em certas modalidades, uma composição auricular que compreende um corante ou outro composto traçador elimina a necessidade por procedimentos invasivos que são atualmente usados em modelos animais para monitorar a concentração de fármacos na endolinfa e/ou perilinfa.

Em alguns casos, injeções intratimpânicas requerem a

necessidade de um especialista e a formulação precisa ser liberada a um local específico do ouvido para maximizar a eficiência da medicação liberada. Em certos casos, uma técnica de visualização para qualquer formulação aqui descrita permite a visualização de um local de dosagem (por exemplo, a janela redonda) de modo que a medicação é aplicada no local adequado. Em alguns casos, a formulação que compreende um corante permite a visualização da formulação durante a administração da formulação a um ouvido (por exemplo, um ouvido humano), assegura que a medicação será liberada no local pretendido, e evita quaisquer complicações devido à colocação incorreta da formulação. A inclusão de um corante para ajudar a aumentar a visualização do gel quando aplicado, e a capacidade de inspeção visual da localização do gel após administração sem intervenção adicional, representa um avanço sobre os métodos atualmente disponíveis para teste de terapêuticas intratimpânicas em modelos animais e/ou experimentos humanos. Em algumas modalidades, os corantes que são compatíveis com as composições auriculares aqui descritas incluem azul de Evans (por exemplo, 0,5% do peso total de uma formulação auricular), azul de metileno (por exemplo, 1% do peso total de uma formulação auricular), azul Isosulfan (por exemplo, 1% do peso total de uma formulação auricular), azul Tripano (por exemplo, 0,15% do peso total de uma formulação auricular), e/ou verde indocianina (por exemplo, 25 mg/frasco). Outros corantes comuns, por exemplo, vermelho FD&C 40, vermelho FD&C 3, amarelo FD&C 5, amarelo FD&C 6, azul FD&C 1, azul FD&C 2, verde FD&C 3, corantes de fluorescência (por exemplo, Fluoresceína

isotiocianato, rodamina, Alexa Flúor, DyLight Flúor) e/ou corantes que são visualizáveis junto com técnicas de imagem não invasivas como MRI, CAT scans, PET scans ou outras (por exemplo, corantes de MRI com base em gadolínio, corantes com base em iodo, corantes com base em bário ou outros) são também contemplados para uso com qualquer formulação auricular aqui descrita. Outros corantes que são compatíveis com qualquer formulação aqui descrita são listados no catálogo de Sigma Aldrich sob corantes (que é aqui incluído por referência para tal revelação). Em algumas modalidades, a concentração de um corante em uma formulação auricular aqui descrita é menos que 2%, menos que 1,5%, menos que 1%, menos que 0,5%, menos que 0,25%, menos que 0,1%, ou menos que 100 ppm do peso total e/ou volume de qualquer formulação aqui descrita.

Em certas modalidades de tais formulações compatíveis com o ouvido que compreendem um corante, a capacidade de visualizar a formulação auricular de liberação controlada que compreende um corante em um ouvido satisfaze uma necessidade de longo tempo por métodos adequados de teste que sejam aplicáveis ao desenvolvimento de composições auriculares intratimpânicas adequadas para uso humano. Em certas modalidades de tais formulações compatíveis com o ouvido que compreendem um corante, a capacidade de visualizar uma formulação auricular de liberação controlada que compreende um corante permite o teste de qualquer formulação auricular aqui descrita em experimentos clínicos humanos.

Doenças do ouvido

As formulações aqui descritas são adequadas para o

tratamento e/ou prevenção de doenças ou condições associadas ao ouvido médio e interno, incluindo a cóclea, que incluem vertigem, zumbido, perda de audição, otosclerose, distúrbio do equilíbrio, e doença de Ménière (hidropisia endolinfática).

As formulações aqui descritas reduzem, revertem e/ou melhoram os sintomas de distúrbios otológicos (por exemplo, distúrbios do ouvido interno) que incluem, sem limitação, perda de audição, nistagmo, vertigem, zumbido, inflamação, edema, infecção e congestão. Esses distúrbios podem ter várias causas, como infecção, ferimento, inflamação, tumores e resposta adversa a fármacos ou outros agentes químicos.

Doença de Ménière

A doença de Ménière é uma condição idiopática caracterizada por ataques súbitos de vertigem, náusea e vômitos que podem perdurar por 3 a 24 horas, e podem diminuir gradualmente. A perda de audição progressiva, zumbido e uma sensação de pressão nos ouvidos acompanha a doença com o tempo. A causa da doença de Ménière é provavelmente relacionada a um desequilíbrio da homeostasia do fluido do ouvido interno, que inclui um aumento na produção ou uma diminuição na reabsorção do ouvido interno.

A causa de sintomas associados a doença de Ménière é provavelmente um desequilíbrio da homeostasia do fluido do ouvido interno, que inclui um aumento na produção ou uma diminuição na reabsorção do ouvido interno.

Embora a causa da doença de Ménière seja desconhecida, certas evidências sugerem uma etiologia viral para a doença. Especificamente, análises histopatológicas de ossos

temporais em pacientes com doença de Ménière revelaram ganglionite viral. Além disso, o DNA viral tem sido observado nos gânglios de pacientes com doença de Ménière em uma taxa maior que em pacientes saudáveis. Oliveira *e cols.* ORL (2008) 70: 42-51. Com base nesses estudos, um estudo piloto de injeção intratimpânica do agente antiviral ganciclovir foi conduzido, resultando em uma melhora nos pacientes que sofrem de doença de Ménière, Guyot *e cols.* ORL (2008) 70: 21-27. Portanto, as formulações de liberação controlada aqui reveladas que compreendem agentes antivirais, por exemplo, gancicivir, aciclovir, famovir e valganciclovir, são administradas ao oubivo para tratamento localizado de doença de Ménière.

Estudos recentes do sistema de aquaporina 2 (AQP2) mediado por vasopressina (VT) no ouvido interno sugerem um papel para VP na indução da produção de endolinfa, assim aumentando a pressão nas estruturas vestibular e coclear. (Takeda *e cols.*, *Hearing Res*, (200() 218:89-97). Os níveis de VP são supra-regulados em casos de hidropisia endolinfática (doença de Ménière), e a administração crônica de VP em porquinhos-da-índia induz a hidropisia endolinfática. O tratamento com antagonistas de VP, que incluem infusão de OPC-31260 (um antagonista competitivo de V_2-R) na *scala tympani*, resultou em uma redução marcante dos sintomas da doença de Ménière (Takeda *e cols.*, *Hearing R.* (2003) 1829-18). Outros antagonistas de VP incluem WAY-140288, CL-385004, tolvaptan, conivaptan, SR 121463A e VPA 985. (Sanghi *e cols. Eur. Heart* (2005) 26:538-543; Palm *e cols. Nephrol Dial Transplant* (1999) 14:2559-2562).

Outros estudos sugerem um papel para o receptor

relacionado ao estrogênio β/NR3B2 (ERR/Nr3b2) na regulação da produção de endolinfa, e, portanto, a pressão no aparelho vestibular/coclear (Chen e *cols*. *Dev*. *Cell*. (2007) 13:325-337). Estudos de *knock-out* em camundongos demonstraram o papel do produto de proteína do gene Nr3b2 na regulação da produção do fluido da endolinfa. A expressão de Nr3b2 tem sido localizada nas células marginais estriadas que secretam endolinfa e células escuras vestibulares da cóclea e aparelho vestibular, respectivamente. Além disso, o *knockout* condicional do gene Nr3b2 resulta em surdez e volume diminuído do fluido endolinfático. O tratamento com antagonistas para ERR/Nr3b2 pode ajudar na redução do volume endolinfático, e assim alterar a pressão nas estruturas do ouvido interno.

Outros tratamentos visam lidar com os sintomas imediatos e prevenção de recorrência. Dietas de baixo teor de sódio, evitar cafeína, álcool e tabaco também foram defendidos. As medicações que podem aliviar temporariamente os ataques de vertigem incluem anti-histamínicos (incluindo meclizina (Antivert, Bonine, Dramamine, Driminate) e outros anti-histamínicos), e agentes do sistema nervoso central, que incluem barbitúricos e/ou benzodiazepinas, que incluem lorazepam ou diazepam. Outros exemplos de fármacos que são úteis no alívio de sintomas incluem antagonistas muscarínicos, incluindo escopolamina. A náusea e vômitos são aliviados por supositórios que contêm agentes antipsicóticos, que incluem o agente fenotiazina proclorperazina (Compazina, Buccastem, Stemetil e Fenotil).

Procedimentos cirúrgicos também foram usados para aliviar os sintomas da doença de Ménière, incluindo

destruição da função vestibular para aliviar os sintomas de vertigem. Esses procedimentos visam reduzir a pressão do fluido no ouvido interno e/ou destruir a função de equilíbrio do ouvido interno. Em um procedimento, um *shunt* (desvio) endolinfático, que alivia a pressão do fluido, é colocado no ouvido interno para aliviar os sintomas de disfunção vestibular. O afastamento no nervo vestibular também pode ser empregado, o que pode controlar a vertigem preservando a audição.

Outra abordagem para a destruição da função vestibular para o tratamento de doença de Ménière severa é a aplicação intratimpânica de um agente que destrói a função da célula ciliada sensorial no sistema vestibular, assim erradicando a função de equilíbrio do ouvido interno. Vários agentes antimicrobianos são usados no procedimento, incluindo aminoglicosídeos como gentamicina e estreptomicina. Os agentes são injetados através da membrana timpânica com o uso de uma pequena agulha, um tubo de timpanostomia com ou sem um fio, ou cateteres cirúrgicos. Vários regimes de dosagem são usados para administrar os agentes antimicrobianos, incluindo um método de dose baixa em que menos dos agentes são administrados por períodos mais longos de tempo (por exemplo, um mês entre as injeções), e métodos de dose alta em que mais dos agentes são administrados por um período de tempo mais curto (por exemplo, a cada semana). Embora o método de dose alta seja tipicamente mais eficaz, ele é mais arriscado, uma vez que pode resultar em perda de audição.

Conseqüentemente, as formulações aqui reveladas são também úteis para administração de agentes antimicrobianos,

por exemplo, gentamicina e estreptomicina, para desabilitar o aparelho vestibular para tratar doença de Ménière. As formulações aqui reveladas são usadas para manter uma liberação estável dos agentes ativos no interior da membrana timpânica, assim evitando a necessidade por injeções múltiplas ou a inserção de um tubo de timpanostomia. Além disso, mantendo os agentes ativos localizados no sistema vestibular, as formulações aqui reveladas também podem ser usadas para administrar doses maiores dos agentes antimicrobianos com um risco diminuído de perda de audição.

Síndrome de Ménière

A síndrome de Ménière, que apresenta sintomas similares à doença de Ménière, é atribuída como um mal secundário a outro processo de doença, por exemplo, doença da tireóide ou inflamação do ouvido interno devido a infecção por sífilis. A síndrome de Ménière, portanto, é composta por efeitos secundários a vários processos que interferem com a produção normal ou reabsorção de endolinfa, que incluem anormalidades endócrinas, desequilíbrio eletrolítico, disfunção autoimune, medicações, infecções (por exemplo, infecções parasíticas) ou hiperlipidemia. O tratamento de pacientes que sofrem de síndrome de Ménière é similar ao da doença de Ménière.

Perda de audição sensorineural

A perda de audição sensorineural é um tipo de perda de audição que resulta de defeitos (congênitos e adquiridos) no nervo vestibulococlear (também conhecido como nervo craniano VIII), ou células sensoriais do ouvido interno. A maioria dos defeitos do ouvido interno são defeitos de

células ciliadas auriculares.

A aplasia da cóclea, defeitos cromossômicos e colesteatoma congênito são exemplos de defeitos congênitos que podem resultar na perda de audição sensorineural repentina. Como um exemplo não limitante, doenças inflamatórias (por exemplo, labirintite supurativa, meningite, caxumba, sarampo, sífilis viral, e distúrbios autoimunes), doença de Ménière, exposição a fármacos ototóxicos (por exemplo, aminoglicosídeos, diuréticos de alça, antimetabólitos, salicilatos e cisplatina), trauma físico, presbiacusia, e trauma acústico (exposição prolongada a som em excesso de 90 dB) podem resultar em perda de audição sensorineural repentina adquirida.

Se o defeito que resulta na perda de audição sensorineural repentina é um defeito das vias auditivas, a perda de audição sensorineural repentina é chamada perda de audição central. Se o defeito que resulta na perda de audição sensorineural é um defeito das vias auditivas, a perda de audição sensorineural repentina é chamada surdez cortical.

Em alguns casos, a perda de audição sensorineural repentina ocorre quando os componentes do ouvido interno ou componentes neurais são afetados, e pode conter um componente neural, ou seja, quando o nervo auditivo ou via do nervo auditivo no cérebro é afetado, ou componente sensorial. As perdas de audição sensorial são hereditárias, ou elas são causadas por trauma acústico (ou seja, sons muito altos), uma infecção viral, doença induzida por fármaco ou doença de Ménière. A perda de audição neural pode ocorrer como um resultado de tumores cerebrais,

infecções, ou vários distúrbios cerebrais e nervosos, como AVC. Algumas doenças hereditárias, como doença de Refsum (acúmulo defeituoso de ácidos graxos ramificados), também podem causar distúrbios neurais que afetam a perda de audição. As vias nervosas auditivas são danificadas por doenças desmielinizante, por exemplo, doença desmielinizante inflamatória idiopática (incluindo esclerose múltipla), mielite transversa, doença de Devic, leucoencefalopatia progressiva multifocal, síndrome de Guillain-Barre, polineuropatia desmielinizante inflamatória crônica e neuropatia periférica anti-MAG.

A incidência de surdez súbita, ou perda de audição sensorineural repentina, ocorre em cerca de 1 em 5.000 indivíduos, e é causada por infecções virais ou bacterianas, por exemplo, caxumba, sarampo, influenza, catapora, Citomegalovírus, sífilis ou mononucleose infecciosa, ou dano físico ao ouvido interno. Em alguns casos, nenhuma causa pode ser identificada. Zumbido e vertigem podem acompanhar a surdez súbita, que diminui gradualmente. Os corticoesteróides orais são freqüentemente prescritos para tratar perda de audição sensorineural repentina. Em alguns casos, intervenções cirúrgicas são necessárias. Outros tratamentos incluem AM-101 e AM-111, compostos em desenvolvimento para o tratamento de zumbido do ouvido interno e perda de audição sensorineural repentina aguda (Auris Medical AG, Basel, Switzerland).

Perda de audição induzida por ruído

A perda de audição induzida por ruído (NIEL) é causada após exposição a sons que são muito altos ou sons altos que duram por muito tempo. A perda de audição pode ocorrer a

partir de exposição prolongada a ruídos altos, como música alta, equipamento ou maquinário pesado, aviões ou armas de fogo. Uma exposição longa, ou repetida ou de impulsos a sons em 85 decibéis ou acima disso pode causar perda de audição. NIHL causa dano às células ciliadas e/ou o nervo auditivo. As células ciliadas são pequenas células sensoriais que convertem a energia do som em sinais elétricos que viajam para o cérebro. O som de impulso pode resultar em perdas de audição imediatas que são permanentes. Esse tipo de perda de audição é acompanhado por zumbido, apito ou rugido nos ouvidos que diminuem com o tempo. A perda de audição e zumbido são experimentados em um ou ambos ouvidos, e o zumbido pode continuar constantemente ou ocasionalmente por toda a vida. O dano permanente de perda de audição é freqüentemente diagnosticado. A exposição contínua a ruídos altos também danifica as estrutura das células ciliadas, resultando na perda de audição e zumbido, embora o processo ocorra mais gradualmente que para com impulso.

Em algumas modalidades, um otoprotetor pode reverter, reduzir ou melhorar NIHL. Exemplos de otoprotetores que tratam ou previnem NIHL incluem, sem limitação, D-metionina, L-metionina, etionina, hidroxil metionina, metioninol, amifostina, mesna (sódio 2-sulfaniletanossulfonato), uma mistura de D e L metionina, normetionina, homometionina, S-adenosil-L-metionina, dietilditiocarbamato, ebselen (2-fenil-1,2-benzisoselenazol-3(2H)-ona), sódio tiossulfato, AM-111 (um inibidor JNK de célula permeável, (Laboratoires Auris SAS)), leucovorina, leucovorina cálcio, dexrazoxana, ou

combinações destes.

Embora não haja atualmente qualquer tratamento para perda de audição induzida por ruído, vários regimes de tratamento têm sido experimentalmente desenvolvidos, que incluem tratamento com fator 1 de crescimento semelhante de insulina (IGF-1) e terapia antioxidante, incluindo tratamento com ácido alfa lipoico. (Lee *e cols. Otol. Neurotol.* (2007) 28:976-984.

Zumbido

Zumbido é definido como a percepção de som na ausência de qualquer estímulo externo. Ele pode ocorrer em um ou ambos ouvidos, continuamente ou esporadicamente, e é mais freqüentemente descrito como um som de campainha. Ele é frequentemente usado como um sintoma diagnóstico para outras doenças. Há dois tipos de zumbido: objetivo e subjetivo. O primeiro é um som tratado no corpo que é audível para qualquer um. O último é audível apenas para o individuo afetado. Estudos estimam que mais 50 milhões de americanos experimentam alguma forma de zumbido. Desses 50 milhões, cerca de 12 milhões experimentam zumbido severo.

Em certos casos, o zumbido resulta de dano às estruturas auriculares (por exemplo, estereocílios), a disfunção de um ou mais receptores moleculares, e/ou a disfunção de uma ou mais vias neurais. Em certos casos, o zumbido resulta de excitotoxicidade causada por atividade anormal de um receptor de NMDA. Em certos casos, o zumbido resulta de disfunção de um receptor de α9 e/ou α10 acetilcolina. Em certos casos, o zumbido resulta de dano ao nervo vestibulococlear. Em certas modalidades, uma redução na captação de neurotransmissor (por exemplo, o aumento nos

neurotransmissores extracelulares) trata, e/ou melhora, os sintomas do zumbido. Em certas modalidades, antagonismo de um receptor NK1 trata, e/ou melhora, os sintomas de zumbido. Em certas modalidades, uma redução na captação de neurotransmissor e antagonismo de um receptor NK1 trata, e/ou melhora, os sintomas de zumbido.

Há vários tratamentos para zumbido. Lidocaína, administrada por via IV, reduz ou elimina o som associado ao zumbido em cerca de 60-80% das pessoas. Os inibidores específicos de captação de neurotransmissor, como nortriptilina, sertralina e paroxetina, também demonstraram eficácia contra zumbido. As benzodiazepinas são também prescritas para tratar zumbido.

Doença autoimune do ouvido interno

A doença autoimune do ouvido interno (MED) é uma de poucas causas reversíveis de perda de audição sensorineural repentina. Ela é um distúrbio raro que aparece tanto em adultos quanto crianças que envolve freqüentemente um distúrbio bilateral das funções auditivas e vestibular do ouvido interno. A origem de MED é provavelmente autoanticorpos e/ou células imunes que atacam estruturas do ouvido interno, mas são associadas a outras condições autoimunes. Em vários casos, MED ocorre sem sintomas autoimunes sistêmicos, mas até um terço dos pacientes também sofrem de uma doença autoimune sistêmica, como doença intestinal inflamatória, artrite reumatóide, Espondilite anquilosante, Lupus eritematoso disseminado (SLE), síndrome de Sjögren, doença de Cogan, colite ulcerativa, granulomatose de Wegener e escleroderma. A doença de Behcet, um doença de múltiplos sistemas, também

apresenta problemas audiovestibulares. Há alguma evidência para alergias relacionadas a alimentos como uma causa para autoimunidade coclear e vestibular, mas não há atualmente qualquer acordo em relação à sua importância na etiologia da doença. Um esquema de classificação para MED tem sido desenvolvido (Harris and Keithley„ (2002) Autoimune inner ear disease, in *Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. 91, 18-32).

O sistema imune normalmente realiza um papel crucial na proteção do ouvido interno de patógenos invasivos como bactérias e vírus. No entanto, em AIED, o sistema imune por si começa a danificar os tecidos delicados do ouvido interno. É bem estabelecido que o ouvido interno é totalmente capaz de montar uma resposta imune localizada aos antígenos estranhos (Harris, *Otolaryngol. Head Neck Surg* (1983) 91, 18-32). Quando um antígeno estranho entra no ouvido interno, ele é primeiramente processado por células imunocompetentes que residem no saco endolinfático. Uma vez que o antígeno estranho tenha sido processado por essas células imunocompetentes, essas células secretam várias citocinas que modulam a resposta imune do ouvido interno. Um resultado dessa liberação de citocina é para facilitar o influxo de células inflamatórias que são recrutadas da circulação sistêmica. Essas células inflamatórias sistêmicas entram na cóclea por meio de diapedese através da veia modiolar espiral e suas ramificações e começam a participar em captação de antígeno e desregulação como ela ocorre em outras partes do corpo (Harris, *Otolaryngol*. (1990) 110, 357-365). Interleucina 1 (IL-1) tem um papel importante na modulação da resposta

imune inata (não específica) e é um ativador conhecido de células T helper e células B em repouso. As células T helper, uma vez ativadas por IL-1, produzem IL-2. A secreção de IL-2 resulta na diferenciação de células T pluripotentes em subtipos de células T helper, citotóxica e supressora. IL-2 também ajuda as células T na ativação de linfócitos B e provavelmente tem um papel importante na imunoregulação de uma resposta imune do ouvido interno. IL-2 foi identificada na perilinfa do ouvido interno tão cedo quanto 6 h após a dose com antígeno com níveis de pico em 18 h após a dose do antígeno. Os níveis perilinfáticos de IL-2 então dissipam, e ela não é mais presente na perilinfa 120 horas após a dose do antígeno (Gloddek, *Acta Otolaryngol*. (1989) 108, 68-75).

Tanto IL-1β quanto fator de necrose tumoral-α (TNF-a) têm um papel chave no início e amplificação da resposta imune. IL-1β é expressa pelos fibrócitos do ligamento espiral na presença de trauma como trauma cirúrgico ou trauma acústico em uma resposta não específica. TNF-α é expresso por células infiltrantes sistêmicas ou por células residentes contidas no saco endolinfático na presença de antígeno. THF-α é liberado como parte da resposta imune adaptativa (específica) em modelos animais. Quando o antígeno é injetado nos ouvidos internos de camundongos, IL-1β e TNF-α são ambos expressos e ocorre uma resposta imune vigorosa. No entanto, quando o antígeno é introduzido no ouvido interno por meio do liquido cefalorraquidiano sem trauma ao ouvido interno, apenas TNF-α é expresso e a resposta imune é mínima (Satoh, *J. Assoc. Res. Otolaryngol*, (2003), 4, 139-147). É importante que o trauma coclear

isoladamente também resulta em uma resposta imune mínima. Esses resultados sugerem que os componentes não específicos e específicos da resposta imune podem agir juntos no ouvido interno para atingir uma resposta máxima.

Portanto, se a cóclea é traumatizada e um antígeno é injetado (ou no caso de doença autoimune, o paciente tem células imunes direcionadas contra os antígenos do ouvido interno), tanto as respostas imunes não específicas quanto específicas podem ser ativadas simultaneamente. Isso resulta na produção concomitante de IL-1β bem como de TNF-α que causa um nível muito amplificado de inflamação que leva a dano substancial ao ouvido interno. Experimentos subseqüentes em modelos animais confirmam que uma etapa importante no dano imune-mediado requer que o ouvido interno seja condicionado pela resposta imune inata não específica antes que a resposta imune adaptativa específica possa levar a inflamação suficiente que resulta em dano (Hashimoto, *Audiol. Neurootol.* (2005), 10, 35-43). Como um resultado, os agentes que infra-regulam ou bloqueiam a resposta imune específica, e em particular o efeito de TNF-α, devem ser capazes de evitar a excessiva resposta imune observada quando as respostas imunes específicas e não específicas são simultaneamente ativadas (Satoh, *Laryngoscope* (2002), 112, 1.627-1.634).

O tratamento de doença autoimune do ouvido, portanto, pode consistir em agentes anti-TNF. Experimentos que usam etanercept (ENBREL®), um fármaco anti-TNF, surge como um agente promissor para o tratamento de doença autoimune do ouvido interno (Rabmen *e cols.*, *Otol, Neural.* (2001) 22:619-624; Wang *e cols.*, *Otology & Neurotology* (2003)

24:52-57). Adicionalmente, os agentes anti-TNF infliximab (REMICADE®) e adalimumab (HUMIRA®) também podem ser úteis no tratamento de distúrbios autoimunes do ouvido interno. Os protocolos do experimento incluem injeções de agentes anti-TNF como uma injeção duas vezes por semana.

Além disso, esteróides têm sido usados, por exemplo, prednisona e decadron também têm sido experimentados com algum sucesso. Agentes quimioterapêuticos, por exemplo, citoxan, azatiaprina ou metotrexato, são usados em uma base de longa duração para tratar distúrbios autoimunes do ouvido interno (Sismanis *e cols.*, *Laryngoscope* (1994) 104:932-934; Sismanis *e cols.*, *Otolaryngol* (1997) 116:146-152; Harris *e cols. JAMA* (2003) 290:1.875-1.883). Procedimentos de plasmaforese também têm sido experimentados com algum sucesso (Luetie *e cols. Am. J. Otol.* (1997) 18:572-576). Tratamento com colágeno oral (Kim *e cols.*, *Ann. Otol. Rhinol. Larynogol.* (2001) 110: 646-654), infusões de gama globulina ou outros fármacos imuno-moduladores (por exemplo, beta-interferon, alfa-interferon ou copaxona) também podem ser usados para tratar distúrbios autoimunes do ouvido interno.

Certas evidências sugerem que a infecção viral é um fator no início da resposta inflamatória que resulta em AIED. Várias condições autoimunes são induzidas ou aumentadas por várias infecções de DNA e RNA vírus. As infecções virais agudas ou persistentes induzem ou aumentam as doenças autoimunes em modelos animais também. Determinantes antigênicos similares também foram observados em vírus e componentes do hospedeiro. Oldstone, M.B.A. *J. Autoimmun.* (1989) 2(suppl): 187-194. Além disso, os testes

sorológicos identificaram a infecção viral em pelo menos um paciente diagnosticado com um distúrbio sistêmico autoimune que é freqüentemente associado a AIED (síndrome de Cogan). Garcia Berrocal, *e cols.*, *O.R.L.* (2008) 70: 16-20. Consequentemente, em algumas modalidades, as composições e formulações de agente antimicrobiano de liberação controlada aqui reveladas são administradas para o tratamento de AIED. Particularmente, em certas modalidades, as formulações aqui reveladas que compreendem agentes antivirais são administradas para o tratamento de AIED. Em outras modalidades, as formulações de agente antimicrobiano aqui reveladas são administradas para o tratamento de AIED junto com outros agentes farmacêuticos úteis para o tratamento das mesmas condições ou sintomas das mesmas condições, que incluem esteróides, agentes citotóxicos, colágeno, infusão de gama globulina, ou outros fármacos imunomoduladores. Esteróides incluem, por exemplo, prednisona ou decadron. Agentes citotóxicos para o tratamento de AIED incluem, por exemplo, metotrexato, ciclofosfamida e talidomida. Procedimentos de plasmaforese são opcionalmente usados. Tratamento com colágeno oral, infusões de gama globulina, ou outros fármacos imunomoduladores (por exemplo, beta-interferon, alfa-interferon ou copaxona) são também opcionalmente usados em combinação com as formulações de agente antimicrobiano aqui reveladas. Os agentes farmacêuticos adicionais são opcionalmente administrados junto com as formulações de liberação controlada aqui reveladas, ou por outros modos de administração, por exemplo, oral, por injeção, tópica, nasal ou por qualquer outro meio adequado. Os agentes

farmacêuticos adicionais são opcionalmente co-administrados, ou administrados em diferentes períodos de tempo.

Tumores do nervo auditivo

Os tumores do nervo auditivo, que incluem neuroma acústico, neurinoma acústico, schwannoma vestibular e tumor do oitavo nervo, são tumores que se originam em células de Schwann, células que envolvem um nervo. Os tumores do nervo auditivo respondem por aproximadamente 7-8% de todos os tumores que se originam no crânio, e são freqüentemente associados ao diagnóstico de neurofibromatose em um paciente. Dependendo da localização do tumor, alguns sintomas incluem perda de audição, zumbido, tontura e perda de equilíbrio. Outros sintomas mais sérios podem se desenvolver à medida que o tumor se torna maior, podendo comprimir contra o nervo facial ou trigêmio, que pode afetar as conexões entre o cérebro e a boca, olho ou mandíbula. Tumores menores são removidos por microcirurgia, ou técnicas esterotáticas de radiocirurgia, incluindo radioterapia esterotática fracionada. Os Schwannomas malignos são tratados com agentes quimioterapêuticos, que incluem vincristina, adriamicina, ciclofosfamida e imidazol carboxamida.

Vertigem posicional paroxística benigna

A Vertigem posicional paroxística benigna é causada pelo movimento de cristais flutuantes livres de carbonato de cálcio (otolitos) da utrículo para um dos canais semicirculares, mais freqüentemente o canal semicircular posterior. O movimento da cabeça resulta no movimento dos otolitos que causa um deslocamento anormal da endolinfa e

uma sensação resultante de vertigem. Os episódios de vertigem comumente duram por cerca de um minuto e são raramente acompanhados por outros sintomas auditivos.

Câncer do ouvido

Embora a causa seja desconhecida, o câncer do ouvido é freqüentemente associado a otite de longa duração e não tratada, sugerindo uma ligação entre inflamação crônica e desenvolvimento do câncer, pelo menos em alguns casos. Os tumores no ouvido podem ser benignos ou malignos, e eles podem existir no ouvido externo, médio ou interno. Os sintomas de câncer do ouvido incluem otorréia, otalgia, perda de audição, paralisia facial, zumbido e vertigem. As opções de tratamento são limitadas e incluem cirurgia, radioterapia, quimioterapia, e combinações destes. Além disso, agentes farmacêuticos adicionais são usados para tratar os sintomas ou condições associadas ao câncer, incluindo corticoesteróides no caso de paralisia facial, e agentes antimicrobianos quando otite é presente.

A administração sistêmica de agentes citotóxicos convencionais tem sido usada para tratar câncer do ouvido, incluindo a administração sistêmica de ciclofosfamida (em quimioterapia CHOP) em combinação com radioterapia e metotrexato, Merkus, P., *e cols. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.* (2000) 62:274-7, e perfusão de metotrexato atraves da artéria carótida externa, Mahindrakar, N. H. *J Laryngol. Otol* (1965) 79:921-5. No entanto, tratamentos que requerem a administração sistêmica dos agentes ativos sofrem das mesmas desvantagens acima discutidas. Ou seja, doses relativamente altas dos agentes são necessárias para atingir as doses terapêuticas necessárias no ouvido, que

resultam em um aumento de efeitos colaterais adversos indesejados. Portanto, a administração local dos agentes citotóxicos nas composições e formulações aqui reveladas resulta no tratamento de câncer do ouvido com menores doses eficazes, e com uma diminuição na incidência e/ou severidade dos efeitos colaterais. Os efeitos colaterais típicos da administração sistêmica de agentes citotóxicos, por exemplo, metotrexato, ciclofosfamida e talidomida, para o tratamento de câncer do ouvido incluem anemia, neutropenia, contusão, náusea, dermatite, hepatite, fibrose pulmonar, teratogenicidade, neuropatia periférica, fadiga, constipação, trombose de veia profunda, edema pulmonar, atelectasia, pneumonia por aspiração, hipotensão, supressão da medula óssea, diarréia, escurecimento da pele e unhas, alopécia, alteração na cor e textura dos cabelos, letargia, cistite hemorrágica, carcinoma, ulcerações na boca, e imunidade diminuída.

Em certas modalidades, os agentes citotóxicos são metotrexato (RHEUMATREX®. Ametopterina), ciclofosfamida (CYTOXAN®) e talidomida (THALIDOMID®). Todos os compostos podem ser usados para tratar câncer, incluindo câncer do ouvido. Além disso, todos os compostos têm propriedades anti-inflamatórias e podem ser usados nas formulações e composições aqui reveladas para o tratamento de distúrbios inflamatórios do ouvido, incluindo AIED.

Embora a administração sistêmica de metotrexato, ciclofosfamida e talidomida seja atualmente usada para tratar ou esteja sendo investigada para o tratamento de distúrbios otológicos, como distúrbios otológicos inflamatórios, incluindo AIED, doença de Ménière e doença

de Behcet, bem como câncer do ouvido, os agentes citotóxicos não estão sem o potencial para sérios efeitos colaterais adversos. Além disso, os agentes citotóxicos que demonstram eficácia, mas não são aprovados por considerações de segurança, são também contemplados nas modalidades aqui reveladas. É contemplado que a aplicação localizada dos agentes citotóxicos às estruturas auriculares-alvo para o tratamento de distúrbios autoimunes e/ou inflamatórios, bem como câncer do ouvido, resultarão na redução ou eliminação de efeitos colaterais adversos experimentados com o tratamento sistêmico. Além disso, o tratamento localizado com os agentes citotóxicos aqui contemplados também reduzirá a quantidade de agente necessária para tratamento eficaz do distúrbio, visado devido, por exemplo, à retenção aumentada dos agentes ativos no ouvido interno e/ou médio, à existência da barreira biológica do sangue no ouvido interno, ou à ausência de suficiente acesso sistêmico ao ouvido médio.

Em algumas modalidades, os agentes citotóxicos usados nas composições, formulações e métodos aqui revelados são metabólitos, sais, polimorfos, pró-fármacos, análogos, e derivados de agentes citotóxicos, incluindo metotrexato, ciclofosfamida e talidomida. Particularmente preferidos são metabólitos, sais, polimorfos, pró-fármacos, análogos, e derivados de agentes citotóxicos, por exemplo, metotrexato, ciclofosfamida e talidomida, que retêm pelo menos parcialmente a citotoxicidade e propriedades anti-inflamatórias dos compostos parentes. Em certas modalidades, análogos da talidomida usados nas formulações e composições aqui reveladas são lenalidomida (REVLIMID®) e

- CC-4047 (ACTIMID®)

Ciclofosfamida é um pró-fármaco que sofre metabolismo *in vivo* quando administrada sistemicamente. O metabólito oxidado 4-hidroxiciclofosfamida existe em equilíbrio com aldofosfamida, e os dois compostos servem como as formas de transporte do agente ativo fosforamida mostarda, e o subproduto da degradação acroleína. Portanto, em algumas modalidades, os metabólitos preferidos da ciclofosfamida para incorporação nas formulações e composições aqui reveladas são 4-hidroxiciclofosfamida, aldofosfamida, fosforamida mostarda, e combinações destes.

Outros agentes citotóxicos usados nas composições, formulações, e métodos aqui revelados, particularmente para o tratamento de câncer do ouvido, são quaisquer agentes quimioterápicos convencionais, que incluem acridina carboxamida, actinomicina, 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina, aminopterina, amsacrina, antraciclina, antineoplásicos, antineoplastona, 5-azacitidina, azatioprina, BL22, bendamustina, biricodar, neomicina, bortezomib, briostatina, busulfan, caliculina, camptotecina, capecitabina, carboplatina, clorambucil, cisplatina, cladribina, clofarabina, citarabina, dacarbazina, dasatinib, daunorrubicina, deditabina, ácido dicloroacético, diseodermolida, docetaxel, doxorrubicina, epirrubicina, epotilona, ecribulina, estramustina, etoposida, exatecan, exisulind, ferruginol, floxurridina, fludarabina, fluoruracil, fosfestrol, foteraustina, genicitabina, hidroxiuréia, IT-101, idarrubicina, ifosfamida, imiquimod, irinotecan, irofulven, ixabepilona, laniquidar, lapatinib, lenalidomida, lomustina, lurtotecan,

mafosfamida, masoprocol, mecloretamina, melfalan, mercaptopurina, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nelarabina, nilotinib, oblimersen, oxaliplatina, PAC-1, paclitaxel, pemetrexed, pentostatina, pipobroman, pixantrona, plicamicina, procarbazina, inibidores de proteassomo (por exemplo, bortezomib), raltitrexed, rebeccamicina, rubitecan, SN-38, salinosporamida A, satraplatina, estreptozotocina, swainsonina, tariquidar, taxano, tegafur-uracil, temozolomida, testolactona, tioTEPA, tioguanina, topotecan, trabectedina, tretinoina, tetranitrato de triplatina, tris(2-cloroetil)amina, troxacitabina, uracil mostarda, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, vorinostat e zosuquidar.

Colesteatoma

Um colesteatoma é um cisto hiperproliferativo freqüentemente encontrado no ouvido médio. Colesteatomas são classificados como congênitos ou adquiridos. Os colesteatomas adquiridos resultam de retração do tímpano (primário) e/ou um rasgo no tímpano (secundário).

O colesteatoma primário mais comum resulta da parte flácida (*pars flaccida*) que se retrai para o epitímpano. À medida que a *pars flaccida* continua a se retrair, a parede lateral do epitímpano se desgasta lentamente. Isso produz um defeito na parede lateral do epitímpano que se expande lentamente. Um tipo menos comum de colesteatoma primário adquirido resulta da retração do quadrante posterior da membrana timpânica que se retrai no ouvido médio posterior. À medida que a membrana timpânica retrai, o epitélio escamoso envolve o estribo e se retrai no seio timpânico. Os colesteatomas secundários resultam de dano à membrana

timpânica (por exemplo, uma perfuração que resulta de otite média; trauma; ou um dano induzido por cirurgia).

As complicações associadas a um colesteatoma em crescimento incluem dano aos osteoclastos e, em alguns casos, deterioração da fina camada óssea que separa o topo do ouvido do cérebro. O dano aos osteoclastos resulta da aplicação persistente de pressão aos ossos que resulta da expansão do colesteatoma. Adicionalmente, a presença de múltiplas citocinas (por exemplo, TNF-α, TGF-β1, TGF-β2, IL-1 e IL-6) no epitélio do colesteatoma pode resultar em degradação adicional dos ossos circundantes.

Os pacientes com um colesteatoma freqüentemente apresentam dor de ouvido, perda de audição, descarga mucopurulenta e/ou tontura. O exame físico pode confirmar a presença de um colesteatoma. Os sintomas que podem ser identificados com o exame físico incluem dano aos ossículos, e um canal preenchido com muco purulento e tecido de granulação.

Não há atualmente qualquer terapia médica eficaz para colesteatomas. Uma vez que um colesteatoma não tem suprimento de sangue, ele não pode ser tratado com antibióticos sistêmicos. A administração típica de antibióticos freqüentemente falha em tratar um colesteatoma.

Dano ao ouvido interno induzido por fármaco

O dano a partir da administração de fármacos, incluindo certos antibióticos, diuréticos (por exemplo, ácido etacrínico e furosemida), aspirina, substâncias semelhantes à aspirina (por exemplo, salicilatos) e quinina. A deterioração do ouvido interno é acelerada por

função renal prejudicada, o que resulta em *clearance* diminuído dos fármacos e de seus metabólitos. Os fármacos podem afetar a audição e equilíbrio, mas provavelmente afetam a audição em uma maior extensão.

Por exemplo, neomicina, kanamicina, amicacina têm um maior efeito sobre a audição que sobre o equilíbrio. Os antibióticos viomcina, gentamicina e tobramicina afetam tanto a audição quanto o equilíbrio. A estreptomicina, outro antibiótico comumente administrado, induz vertigem mais do que a perda de audição, e pode levar a síndrome de Dandy, em que caminhar no escuro se torna difícil e induz uma sensação de movimento do ambiente com cada passo. Aspirina, quando consumida em doses muito altas, também pode levar à perda de audição temporária e zumbido, uma condição em que o som é percebido na ausência de som externo. De modo similar, quinina, ácido etacrínico e furosemida podem resultar em perda de audição temporária ou permanente.

Excitotoxicidade

Excitotoxicidade refere-se à morte ou dano de neurônios e/ou células ciliadas auriculares por glutamato e/ou substâncias similares.

Glutamato é o neurotransmissor excitatório mais abundante no sistema nervoso central. Os neurônios pré-sinápticos liberam glutamato após estímulo. Ele flui através da sinapse, se liga a receptores localizados nos neurônios pós-sinápticos, e ativa esses neurônios. Os receptores de glutamato incluem receptores de NMDA, AMPA e kainato. Os transportadores de glutamato são sobrecarregados com remoção de glutamato extracelular da

sinapse. Certos eventos (por exemplo, isquemia ou AVC) podem danificar os transportadores. Isso resulta em excesso de acúmulo de glutamato na sinapse. O excesso de glutamato nas sinapses resulta na super-ativação dos receptores de glutamato.

O receptor de AMPA é ativado pela ligação de glutamato e AMPA. A ativação de certas isoformas do receptor de AMPA resulta na abertura de canal de íons localizados na membrana plasmática do neurônio. Quando os canais se abrem, íons Na^+ e Ca^{2+} fluem para o interior do neurônio e íons K^+ fluem para fora do neurônio.

O receptor de NMDA é ativado pela ligação de glutamato e NMDA. A ativação do receptor de NMDA resulta na abertura de canal de íons localizados na membrana plasmática do neurônio. No entanto, esses canais são bloqueados por íons Mg^{2+}. A ativação do receptor de AMPA resulta na expulsão de íons de Mg^{2+} do canal de íons para a sinapse. Quando o canal de íons se abre, e os íons Mg^{2+} evacuam os canais de íons, íons Na^+ e Ca^{2+} fluem para o interior do neurônio, e íons K^+ fluem para fora do neurônio.

A excitotoxicidade ocorre quando o receptor de NMDA e receptor de AMPA são superativados pela ligação de quantidades excessivas de ligantes, por exemplo, quantidades anormais de glutamato. A super-ativação desses receptores causa excessiva abertura dos canais de íons sob seu controle. Isso permite que níveis anormalmente altos de Na^+ e Ca^{2+} entrem no neurônio. O influxo desses níveis de Na^+ e Ca^{2+} no neurônio faz o neurônio se excitar mais freqüentemente, resultando em um rápido acúmulo de radicais livres e compostos inflamatórios na célula. Os radicais

livres eventualmente danificam a mitocôndria, esgotando os estoques de energia das células. Além disso, os níveis em excesso de íons Na^+ e Ca^{2+} ativam níveis em excesso de enzimas que incluem, sem limitação, fosfolipases, endonucleases e proteases. A super-ativação dessas enzimas resulta em dano ao citoesqueleto, membrana plasmática, mitocôndria, e DNA do neurônio sensorial.

***Hydrops* Endolinfáticos**

Hydrops Endolinfáticos referem-se a um aumento na pressão hidráulica no sistema endolinfático do ouvido interno. A endolinfa e a perilinfa são separadas por finas membranas que contêm múltiplos nervos. A flutuação na pressão estressa as membranas e os nervos que elas abrigam. Se a pressão é grande o suficiente, pode-se formar rompimento nas membranas. Isso resulta em uma mistura dos fluidos que pode levar a um bloqueio de despolarização e perda transitória da função. Alterações na taxa de excitação do nervo vestibular freqüentemente levam a vertigem. Além disso, o órgão de Corti também pode ser afetado. Distorções da membrana basilar e das células ciliadas internas e externas podem levar à perda de audição e/ou zumbido.

As causas incluem distúrbios metabólicos, desequilíbrios hormonais, doença autoimune, e infecções virais, bacterianas, ou fúngicas. Os sintomas incluem perda de audição, vertigem, zumbido e pelnitude auricular. Nistagmo também pode estar presente. O tratamento inclui a administração sistêmica de benzodiazepina, diuréticos (para diminuir a pressão do fluido), corticoesteróides, e/ou agentes antibacterianos, antivirais ou antifúngicos.

Distúrbios hereditários

Distúrbios hereditários que incluem deformidade do ouvido de Scheibe, Mondini-Michelle, Waardenburg, Michel Alexander, hipertelorismo, síndromes de Jervell-Lange Nielson, Refsum e Usher, são encontrados em aproximadamente 20% de pacientes com perda de audição sensorineural repentina. As malformações congênitas do ouvido podem resultar de defeitos no desenvolvimento do labirinto membranoso, o labirinto ósseo, ou ambos. Junto com profunda perda de audição e anormalidades da função vestibular, as deformidades hereditárias também podem ser associadas a outras disfunções, que incluem desenvolvimento de meningite recorrente, vazamentos de líquido cefalorraquidiano (CSF), bem como fístulas perilinfáticas. O tratamento de infecções crônicas são necessários em pacientes com distúrbio hereditário.

Distúrbios inflamatórios do ouvido médio

A otite média (OM), que inclui otite média aguda (AGM), otite média com efusão (OME) e otite média crônica como exemplos, é uma condição que afeta tanto adultos quanto crianças. A suscetibilidade da OM é multifatorial e complexa, incluindo fatores ambientais, microbianos e do hospedeiro. A infecção bacteriana responde por uma grande percentagem de casos de OM, com mais de 40% de casos atribuídos à infecção *iStreptocaccus pneumoniae*. No entanto, causas cirais, bem como outros agentes microbianos, também podem responder pelas condições de OM.

A despeito do agente causador, aumentos na produção de citocina, incluindo interleucinas e TNF, foram observados no meio efluente de indivíduos com OM. IL-1β, 1L-6 e TNF-α

são citocinas de fase aguda que promovem resposta inflamatória aguda após infecção com vírus e bactérias. Estudos genéticos sustentam essa ligação entre citocinas e OM por demonstração da correlação na ocorrência de TNF-α SNP (polimorfismos de nucleotídeo único) e uma suscetibilidade aumentada por OM em pacientes pediátricos que sofrem de AOM e com uma necessidade subseqüente por colocação de tubos de timpanostomia (Patel. *e cols*. *Pediatrics* (2006) 118:2.273-2.279). Em modelos animais de OM induzida com inoculações de *pneumococci*, os níveis de TNF-α e interleucinas aumentam na fase de desenvolvimento precoce de uma OM, com os níveis de TNT-α aumentando estavelmente 72 horas após a inoculação. Além disso, níveis maiores de TNF-α foram associados a uma história de múltiplas colocações de tubo de timpanostomia, indicando um papel para TNF-α em casos de OM crônica. Finalmente, a injeção direta de TNF-α e interleucinas mostrou induzir inflamação do ouvido médio em um modelo de porquinho-da-índia. Esses estudos sustentam o papel que as citocinas podem ter na origem e manutenção de OM no ouvido médio.

Como a OM pode ser causada por um vírus, bactéria ou ambos, é freqüentemente difícil identificar a causa exata e assim o tratamento mais adequado. As opções de tratamento de OM no ouvido médio incluem tratamento com antibióticos, como amoxicilina, clavulanato ácido, trimetoprimsulfametoxazol, cefuroxima, claritromicina e azitromicina e outras cefalosporinas, macrolídeos, penicilinas ou sulfonamidas. A intervenção cirúrgica é também disponível, incluindo uma miringotomia, uma operação para inserir um tubo de timpanostomia através da membrana

timpânica e no ouvido médio do paciente para drenar o fluido e equilibrar a pressão entre o ouvido externo e médio. Antipiréticos e analgésicos, que incluem benzocaína, ibuprofeno e acetaminofen, também podem ser prescritos para tratar efeitos de febre ou dor. Pré-tratamento com inibidores de TNF-α em modelos animais experimentais de OM induzida por lipopolissacarídeo (LPS) mostrou suprimir o desenvolvimento de OM, sugerindo um papel no tratamento de OM ou OME. Em adição, o tratamento de tais condições inclui o uso de inibidores de TNF-α em combinação com outros mediadores da resposta inflamatória, que incluem antagonistas de fator de ativação de plaquetas, inibidores da sintase de óxido nítrico e antagonistas da histamina.

Como acima discutido, metotrexato, ciclofosfamida e talidomida são todos agentes citotóxicos de molécula pequena que são sistemicamente administrados para tratar AIED. Portanto, os compostos são úteis nas composições e formulações aqui reveladas para o tratamento de distúrbios inflamatórios do ouvido médio, incluindo OM, por ter um efeito direto anti-inflamatório, particularmente por interferência com a atividade de TNF. Em outras modalidades, os metabólitos, sais, polimorfos, pró-fármacos, análogos, e derivados de metotrexato, ciclofosfamida, e talidomida que retêm a capacidade dos agentes citotóxicos parentes para tratar distúrbios inflamatórios do ouvido médio, incluindo OM, são úteis nas formulações aqui reveladas para o tratamento de distúrbios inflamatórios do ouvido médio, incluindo OM. Em certas modalidades, os metabólitos preferidos de ciclofosfamida para incorporação nas composições e formulações aqui

reveladas incluem 4-hidroxiciclofosfamida, aldofosfamida, fosforamida mostarda, ou combinações destes.

Em adição, outros distúrbios otológicos têm aspectos de resposta inflamatória ou são tangencialmente relacionados a condições autoimunes, que incluem doença de Ménière e perda de audição não súbita ou perda de audição induzida por ruído. Esses distúrbios são também explicitamente contemplados como se beneficiando das formulações de agente citotóxico aqui reveladas, e, portanto, estão dentro do escopo das modalidades reveladas.

Distúrbios inflamatórios do ouvido externo

A otite externa (OE), também referida como ouvido de nadador, é uma inflamação e/ou infecção do ouvido externo. A OE é freqüentemente causada por bactérias no ouvido externo, que estabelecem infecção após dano à pele do canal auditivo. Os patógenos bacterianos primários que causam OE são *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, mas a condição é associada à presença de várias outras cepas de bactérias gram positivas e negativas. A OE é também algumas vezes causada por infecção fúngica no ouvido externo, incluindo *Candicia albicans* e *Aspergillus*. Os sintomas de OE incluem otalgia, edema e otorréia. Se a condição progride significativamente, a OE pode causar perda de audição condutiva temporária como um resultado do edema e descarga.

O tratamento de OE envolve a eliminação do patógeno do canal auditivo e redução da inflamação, que é comumente realizada pela administração de combinações de agentes antimicrobianos, por exemplo, agentes antibacterianos e antifúngicos, com agentes anti-inflamatórios, por exemplo,

esteróides. Os agentes antibacterianos típicos para o tratamento de OE incluem aminoglicosídeos (por exemplo, neomicina, gentamcicina e tobramicina), polimixinas (por exemplo, polimixina B), fluorquinolona (por exemplo, ofloxacina e ciprofloxacina), cefalosporinas (por exemplo, cefuroxima, ceflacor, cefprozil, loracarbef, cefindir, cefixima, cefpodoxima proxetil, cefibuten e ceftriaxona), penicilinas (por exemplo, amoxicilina, amoxicilina-clavulanato, e penicilinas penicilinase-resistentes), e combinações destes. Os agentes antifúngicos típicos para o tratamento de OE incluem clotrimazole, timerasol, M-cresil acetato, tolnaftato, itraconazol, e combinações destes. Ácido acético é também administrado ao ouvido, isoladamente e em combinação com outros agentes, para tratar infecções bacterianas e fúngicas. As gotas auriculares são freqüentemente usadas como o veículo para administração dos agentes ativos. No caso em que o edema do ouvido progride substancialmente e as gotas auriculares não penetram significativamente no canal auditivo, um fio pode ser inserido no canal auditivo para facilitar a penetração das soluções de tratamento. Os antibióticos orais são também administrados no caso de edema extenso de tecido mole que se estende à face e pescoço. Quando a dor da OE é extremamente severa de modo que ela interfere com a atividade normal, por exemplo, sono, analgésicos como analgésicos tópicos ou narcóticos orais são dados até que a inflamação e a infecção subjacentes sejam aliviadas.

Particularmente, alguns tipos de gotas auriculares tópicas, como gotas auriculares que contêm neomicina, são seguros e eficazes para uso no canal auditivo, mas podem

ser irritantes e até mesmo ototóxicos ao ouvido médio, estimulando preocupações de que tais preparações tópicas não devam ser usadas a menos que a membrana timpânica esteja intacta. A utilização das formulações aqui reveladas para o tratamento de OE permite o uso de agentes ativos que são potencialmente danosos ao ouvido médio, mesmo quando a membrana timpânica não está intacta. Especificamente, as formulações de liberação controlada aqui reveladas podem ser aplicadas localmente no ouvido externo com melhor tempo de retenção, assim eliminando preocupações de que os agentes ativos vazarão do canal auditivo para o ouvido médio. Além disso, otoprotetores podem ser adicionados quando os agentes ototóxicos, como neomicina, são usados.

O tratamento de OE severa com as composições aqui reveladas, particularmente formulações altamente viscosas e/ou mucoadesivas, também mostra a necessidade pelo uso estendido de um fio auricular. Especificamente, as composições aqui reveladas têm tempo de retenção aumentado no canal auditivo como um resultado da tecnologia da formulação, assim eliminando a necessidade por um dispositivo para manter sua presença no ouvido externo. As formulações podem ser aplicadas no ouvido externo com uma agulha ou um conta-gotas, e os agentes ativos podem ser mantidos no local da inflamação sem a ajuda de um fio auricular.

Em algumas modalidades, o tratamento de OE com formulações antimicrobianas aqui reveladas engloba o tratamento de miringite granular, uma forma específica de OE caracterizada por inflamação crônica da *pars tensa* da membrana timpânica. O epitélio externo e camadas fibrosas

subjacentes da membrana timpânica são substituídos por um tecido de granulação proliferante. O sintoma predominante é otorréia de mal cheiro. Várias bactérias e fungos causam a condição, incluindo espécies de *Proteus* e *Pseudomonas*. Portanto, as formulações de agente antimicrobiano aqui reveladas que compreendem agentes antibacterianos ou antifúngicos são úteis para o tratamento de miringite granular.

Em algumas modalidades, o tratamento de OE com formulações antimicrobianas aqui reveladas engloba o tratamento de otite externa estenosante crônica. A otite externa estenosante crônica é caracterizada por infecções repetidas, tipicamente causadas por bactérias ou fungos. Os sintomas primários são prurido no canal auditivo, otorréia, e edema crônico. As formulações de agente antimicrobiano aqui reveladas que compreendem agentes antibacterianos ou antifúngicos são úteis para o tratamento de otite externa estenosante crônica.

Em algumas modalidades, o tratamento de OE com formulações antimicrobianas aqui reveladas engloba o tratamento de otite externa maligna ou necrotizante, uma infecção que envolve os ossos temporal e adjacentes. A otite externa maligna é tipicamente uma complicação da otite externa. Ela ocorre primariamente em pessoas com imunidade comprometida, especialmente em pessoas idosas com *diabetes mellitus*. A otite externa maligna é freqüentemente causada pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. O tratamento tipicamente envolve a correção de imunossupressão quando possível, junto com terapia antibacteriana e analgésicos. Portanto, as formulações de agente antimicrobiano aqui

reveladas são úteis para o tratamento de otite externa maligna ou necrotizante.

A otite média (OM), que inclui otite média aguda (AOM), otite média crônica, otite média com efusão (OME), otite média secretora e otite média secretora crônica como exemplos, é uma condição que aflige tanto adultos quanto crianças. A suscetibilidade da OM é multifatorial e complexa, incluindo fatores ambientais, microbianos e do hospedeiro. A infecção bacteriana respode por uma grande percentagem de casos de OM, com mais de 40% dos casos atribuídos a infecção por *Streptococcus pneumoniae*. No entanto, vírus, bem como outros micróbios, também podem responder pelas condições de OM.

Como a OM pode ser causada por um vírus, bactéria ou ambos, é freqüentemente difícil identificar a causa exata e assim o tratamento mais adequado. As opções de tratamento para OM incluem antibióticos, como penicilinas (por exemplo, amoxicilina, amoxicilina-clavulanato), clavulanato ácido, trimetoprimsulfametoxazol, cefalosporinas (por exemplo, cefuroxima, ceflacor, cefprozii, loracarbef, cefindir, cefixima, cefpodoxima proxetil, cefibuten, e cefiriaxona), macrolídeos e azalidas (por exemplo, ertromicina, claritromicina e azitromicina), sulfonamidas, e combinações destes. A intervenção cirúrgica é algo também disponível, incluindo miringotomia, uma operação para inserir um tubo de timpanostomia através da membrana timpânica e no ouvido médio do paciente para drenar o fluido e equilibrar a pressão entre o ouvido médio e externo. Antipiréticos e analgésicos, incluindo benzocaína, ibuprofeno e acetaminofen, também podem ser prescritos para

tratar febre ou dor.

A despeito do agente causador, aumentos na produção de citocina, incluindo interleucinas e TNF, foram observados no meio efluente de indivíduos que sofrem de OM. IL-1β, IL-6 e TNF-α são citocinas de fase aguda que promovem resposta inflamatória aguda após infecção com vírus e bactérias. Além disso, níveis maiores de TNF-α foram associados a uma história de múltiplas colocações de tubo de timpanostomia, indicando um papel para TNF-α em casos de OM crônica. Finalmente, a injeção direta de TNF-α e interleucinas mostrou induzir inflamação do ouvido médio em um modelo de porquinho-da-índia. Esses estudos sustentam o papel que as citocinas podem ter na origem e manutenção de OM no ouvido médio. Assim, o tratamento de OM inclui o uso de agentes antimicrobianos junto com agentes anti-inflamatórios para eliminar o patógeno e tratar os sintomas de inflamação. Tais tratamentos incluem o uso de esteróides, inibidores de TNF-α, antagonistas de fator de ativação de plaquetas, inibidores de sintase de óxido nítrico, antagonistas de histamina, e combinações destes junto com as formulações antimicrobianas aqui reveladas.

A mastoidite é uma infecção do processo mastoide, que é uma porção do osso temporal por trás da orelha. Ela é tipicamente causada por otite média aguda não tratada. As mastoidites são agudas ou crônicas. Os sintomas incluem dor, edema e maciez na região mastoide, bem como otalgia, eritema e otorréia. A mastoidite tipicamente ocorre como disseminação bacteriana do ouvido médio para as células mastóides, em que a inflamação causa danos às estruturas ósseas. Os patógenos bacterianos mais comuns são

Streptococcus pneumoniae, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, e bacilos gram-negativos. Portanto, as formulações de agente antimicrobiano aqui reveladas que compreendem agentes antibacterianos eficazes contra as bactérias são úteis para o tratamento de mastoidite, incluindo mastoidite aguda e mastoidite crônica.

Miringite bolhosa é uma infecção da membrana timpânica, causada por várias bactérias e vírus, que incluem bactérias *Mycoplasma*. A infecção leva à inflamação da membrana timpânica e canal próximo, e causa a formação de bolhas no tímpano. O sintoma primário de Miringite bolhosa é dor, que é aliviada através da administração de analgésicos. As formulações antimicrobianas aqui reveladas que compreendem agentes antibacterianos e antivirais são úteis para o tratamento de miringite bolhosa.

Catarro da trompa de Eustáquio, ou salpingite Eustaquiana, é causado por inflamação e edema das trompas de Eustáquio, resultando em produção de catarro. Portanto, as formulações antimicrobianas aqui reveladas são úteis para o tratamento de salpingite Eustaquiana.

Labirintite, por exemplo, labirintite serosa, é uma inflamação do ouvido interno que envolve um ou mais labirintos que abrigam o sistema vestibular. O sintoma primário é vertigem, mas a condição é também caracterizada por perda de audição, zumbido e nistagmo. A labirintite pode ser aguda, perdurar por uma a seis semanas e ser acompanhada por vertigem e vômitos severos, ou crônica, com sintomas que duram por meses ou mesmo anos. A labirintite é tipicamente causada por infecção viral ou bacteriana. Portanto, as formulações antimicrobianas aqui reveladas que

compreendem agentes antibacterianos e antivirais são úteis para o tratamento de labirintite.

Neurite do nervo facial é uma forma de neurite, uma inflamação do sistema nervoso periférico, que afeta o nervo facial. Os sintomas primários da condição são uma sensação de formigamento e de queimação, e dores lancinantes nos nervos afetados. Em casos severos, há entorpecimento, perda de sensação, e paralisia dos músculos próximos. A condição é tipicamente causada por infecção viral com herpes zoster ou herpes simples, mas também foi associada a infecção bacteriana, por exemplo, lepra. Portanto, as formulações antimicrobianas aqui reveladas que compreendem agentes antibacterianos e antivirais são úteis para o tratamento de neurite do nervo facial.

Em algumas modalidades, as formulações antimicrobianas aqui reveladas são também úteis para o tratamento de osteorradionecrose do osso temporal.

Cinetose

Cinetose, também conhecida como enjôo de viagem, é uma condição em que há uma desconexão entre o movimento percebido visualmente e a sensação de movimento pelo sistema vestibular. Vertigem, fadiga e náusea são os sintomas mais comuns de cinetose. Dimenidrinato, cinarizina e meclizina são todos tratamentos sistêmicos para cinetose. Adicionalmente, as benzodiazepinas e anti-histaminas demonstraram eficácia no tratamento de cinetose.

Labirintite

A Labirintite é uma inflamação dos labirintos do ouvido que contêm o sistema vestibular do ouvido interno. As causas incluem infecções bacterianas, virais e fúngicas.

Ela também pode ser causada por um dano à cabeça ou alergias. Os sintomas de labirintite incluem dificuldade de manter o equilíbrio, tontura, vertigem, zumbido e perda de audição. A recuperação pode demorar de uma a seis semanas; no entanto, os sintomas crônicos são presentes por anos.

Há vários tratamentos para labirintite. Proclorperazina é freqüentemente prescrita como um antiemético. Inibidores da recaptação de serotonina mostraram estimular novo crescimento neural no ouvido interno. Adicionalmente, o tratamento com antibióticos é prescrito se a causa for uma infecção bacteriana, e tratamento com corticoesteróides e antivirais é recomendados se a condição for causada por uma infecção viral.

Mal do desembarque

O mal do desembarque é uma condição que ocorre comumente subseqüente a um evento de movimento sustentado, por exemplo, um cruzeiro, viagem de carro ou viagem de avião. Ela é caracterizada por uma sensação persistente de movimento, dificuldade em manter o equilíbrio, fadiga e disfunção cognitiva. Os sintomas também podem incluir tontura, dores de cabeça, hiperacusia e/ou zumbido. Os sintomas freqüentemente duram mais de um mês. O tratamento inclui benzodiazepinas, diuréticos, bloqueadores do canal de sódio e antidepressivos tricíclicos.

Síndrome de compressão microvascular

A síndrome de compressão microvascular (MCS), também chamada "compressão microvascular" ou "compressão neurovascular", é um distúrbio caracterizado por vertigem e zumbido. Ela é causada pela irritação do nervo craniano VII

por um vaso sangüíneo. Outros sintomas encontrados nos indivíduos com MCS incluem, sem limitação, intolerância ao movimento severa, e neurálgicos como "*quick spins*". A MCS é tratada com carbamazepina, TRILEPTAL® e baclofen. Ela também pode ser tratada cirurgicamente.

Outras infecções microbianas que causam distúrbios cocleovestibulares

Outras infecções microbianas são conhecidas por causar distúrbios cocleovestibulares, que incluem perda de audição. Tais infecções incluem rubéola, citomegalovírus, mononucleose, varicela zoster (catapora), pneumonia, espécies *Borrelia* de bactérias (doença de Lyme), e certas infecções fúngicas. Portanto, as formulações de liberação controlada de agente antimicrobiano aqui reveladas são também usadas para tratamento localizado dessas infecções no ouvido.

Distúrbios otológicos causados por radicais livres

Os radicais livres são átomos, moléculas ou íons altamente reativos cuja reatividade resulta da presença de elétrons não pareados. As espécies de oxigênio reativo ("ROS") se formam como um resultado de redução seqüencial do oxigênio molecular. Exemplos de espécies de oxigênio reativo de interesse ("ROS") incluem, sem limitação, superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxil. ROS são naturalmente produzidos como um subproduto da produção de ATP. ROS também podem resultar do uso de cisplatina, e aminoglicosídeos. Além disso, estresse aos estereocílios causado por trauma acústico resulta na produção de ROS pelas células ciliadas auriculares.

ROS pode danificar as células diretamente por dano ao

DNA nuclear e DNA mitocondrial. O dano ao primeiro pode levar a mutações que prejudicam a função das células auditivas e/ou apoptose. O dano ao último freqüentemente resulta em produção de energia diminuída e produção de ROS aumentada, ambas podendo levar ao funcionamento celular prejudicado ou apoptose. Além disso, ROS também pode danificar ou matar células por oxidação dos ácidos graxos polidessaturados que compreendem lipídeos, oxidação de aminoácidos que compreendem proteínas, e oxidação de cofatores necessários para a atividade das enzimas. Antioxidantes podem melhorar o dano causado por ROS por prevenção da sua formação, ou limpando o ROS antes que ele danifique a célula.

O dano à mitocôndria por ROS é freqüentemente observado na perda de audição, especialmente perda de audição devido ao envelhecimento. A perda de ATP está correlacionada a uma perda no funcionamento neural no ouvido interno. Ela também pode levar a alterações fisiológicas no ouvido interno. Além disso, o dano à mitocôndria freqüentemente resulta em uma taxa aumentada de degradação celular e apoptose das células do ouvido interno. As células da *estria vascular* são as mais metabolicamente ativas devido aos vastos requisitos de energia necessários para manter o equilíbrio iônico de fluidos no ouvido interno. Assim, as células das *estria vascular* são mais freqüentemente danificadas ou mortas devido ao dano da mitocôndria.

Otosclerose

A otosclerose é um crescimento anormal de osso no ouvido médio, que impede que as estruturas no ouvido façam

a transdução da vibração, o que causa perda de audição. A otosclerose comumente afeta os ossículos, em particular o estribo, que descansa na entrada para a cóclea na janela oval. O crescimento anormal ósseo fixa o estribo na janela oval, impedindo que as ondas de som viajem para a cóclea. A otosclerose pode causar a perda de audição sensorineural repentina, ou seja, fibras nervosas ou células ciliadas auditivas danificadas, ou perda de audição condutiva.

O tratamento de otosclerose pode incluir cirurgia para remover o estribo fixado, chamada estapedectomia. O tratamento com flúor também pode ser usado, o que não reverterá a perda de audição, mas pode retardar o desenvolvimento de otosclerose.

Ototoxicidade

Ototoxicidade refere-se à perda de audição causada por uma toxina. A perda de audição e devida ao trauma às células ciliadas auriculares, à cóclea e/ou ao nervo craniano VII. Múltiplos fármacos são conhecidos por serem ototóxicos. Freqüentemente, a ototoxicidade é dose-dependente. Ela é permanente ou reversível após a retirada do fármaco.

Os fármacos ototóxicos conhecidos incluem, sem limitação, a classe de aminoglicosídeo de antibióticos (por exemplo gentamicina e amicacina), alguns membros da classe macrolídeo de antibióticos (por exemplo, eritromicina), alguns membros da classe glicopeptpideo de antibióticos (por exemplo, vancomicina), ácido salicílico, nicotina, alguns agentes quimioterapêuticos (por exemplo, actinomicina bleomicina, cisplatina, carboplatina e vincristina), e alguns membros da família de diuréticos de

alça de fármacos (por exemplo, furosemida).

A cisplatia e a classe de aminoglicosídeos de antibióticos induzem a produção de espécies de oxigênio reativo (ROS). ROS pode danificar as células diretamente por dano ao DNA, polipeptídeos e/ou lipídeos. Antioxidantes evitam o dano de ROS ao evitar sua formação ou limpando radicais livres antes que eles possam danificar a célula. Tanto a cisplatina quando a classe de aminoglicosídeos de antibióticos também danificam o ouvido por ligação de melanina na *estria vascular* do ouvido interno.

O Ácido salicílico é classificado como ototóxico uma vez que ele inibe a função do polipeptídeo prestina. A prestina medeia a motilidade das células ciliadas auriculares externas por controle da troca de cloreto e carbonato através da membrana plasmática das células ciliadas auriculares externas. Ela é encontrada apenas nas células ciliadas auriculares externas, não nas células ciliadas auriculares internas. Portanto, é aqui revelado o uso de composições auriculares de liberação controlada que compreendem antioxidantes para prevenir, melhorar ou diminuir os efeitos ototóxicos da quimioterapia, incluindo, sem limitação, tratamento com administração de cisplatina, aminoglicosídeo ou ácido salicílico, ou outros agentes ototóxicos.

Vertigem postural

A vertigem postural, conhecida como vertigem posicional, é caracterizada por vertigem súbita violenta que é despertada por certas posições da cabeça. Essa condição é causada por canais semicirculares danificados causados por dano físico ao ouvido interno, otite média,

por cirurgia ou bloqueio da artéria para o ouvido interno.

A instalação de vertigem em pacientes com vertigem postural comumente se desenvolve quando a pessoa deita sobre um ouvido ou inclina a cabeça para olhar para cima. A vertigem é acompanhada por nistagmo. Em casos severos de vertigem postural, o nervo vestibular é afastado para o canal semicircular afetado. O tratamento de da vertigem é freqüentemente idêntico ao da doença de Ménière, e pode incluir meclizina, lorazepam, proclorperazina ou escopolamina. Fluidos e eletrólitos também podem ser administrados por via intravenosa se os vômitos forem severos.

Presbiacusia (Perda de audição relacionada à idade)

A presbiacusia (ou presbiacusia ou perda de audição relacionada à idade (ARHL)) é a perda progressiva bilateral da audição que resulta de envelhecimento. A maior parte da perda de audição ocorre em freqüências maiores (ou seja, freqüências acima de 15 ou 16 Hz), o que torna difícil escutar uma voz feminina (em oposição à voz masculina), e uma incapacidade de diferenciar entre sons agudos (como "s" e "th"). É difícil filtrar os ruídos de fundo. O distúrbio é mais freqüentemente tratado pela implantação de um auxiliar de audição e/ou a administração de agentes farmacêuticos que evitam a produção de ROS.

O distúrbio é causado por alterações na fisiologia do ouvido interno, ouvido médio, e/ou o nervo VII. As alterações no ouvido interno que resultam em presbiacusia incluem atrofia epitelial com perda de células ciliadas auriculares e/ou estereocilia, atrofia de células nervosas, atrofia da estria vascular, e o espessamento/enrijecimento

da membrana basilar. Alterações adicionais que podem contribuir para a presbiacusia incluem o acúmulo de defeitos na membrana timpânica e nos ossículos.

As alterações que levam à presbiacusia podem ocorrer devido ao acúmulo de mutações no DNA, e mutações no DNA mitocondrial; no entanto, as alterações são exacerbadas por exposição a ruídos altos, exposição a agentes ototóxicos, infecções, e/ou a diminuição do fluxo de sangue para o ouvido. O ultimo é atribuível a aterosclerose, diabetes, hipertensão e tabagismo.

A presbiacusia, ou perda de audição relacionada à idade, ocorre como parte do envelhecimento normal, e ocorre como um resultado de degeneração das células receptoras no órgão espiral de Corti no ouvido interno. Outras causas também podem ser atribuídas a uma diminuição no número de fibras nervosas no nervo vestibulococlear, bem como uma perda da flexibilidade da membrana basilar na cóclea. Não há cura conhecida atualmente para dano à audição permanente como um resultado de presbiacusia ou ruído excessivo, embora tenham sido propostos regimes de tratamento que incluem tratamento com antioxidantes como ácido alfa lipoico (Seidman *e cols.*, *Am. J. Otol*, (2000) 21:161-167).

Síndrome de Ramsay Hunt (Infecção por Herpes Zoster)

A síndrome de Ramsay Hunt é causada por uma infecção com herpes zoster do nervo auditivo. A infecção pode causar dor de ouvido severa, perda de audição, vertigem, bem como bolhas no ouvido externo, no canal auditivo, bem como na pele da face ou pescoço supridos pelos nervos. Os músculos faciais também podem se tornar paralisados se os nervos faciais forem compressos pelo edema. A perda de audição é

temporária ou permanente, com sintomas de vertigem comumente durando de vários dias a semanas.

O tratamento de síndrome de Ramsay Hunt inclui a administração de agentes antivirais, incluindo aciclovir. Outros agentes antivirais incluem famciclovir e valaciclovir. Combinação de terapia antiviral e corticosteróide também pode ser empregada para melhorar a infecção por herpes zoster. Analgésicos ou narcóticos também podem ser administrados para aliviar a dor, e diazempam ou outros agentes do sistema nervoso central para suprimir a vertigem. Capsaicina, emplastros de lidocaína e bloqueadores nervosos também podem ser usados. A cirurgia também pode ser realizada em nervos faciais compressos para aliviar a paralisia facial.

Vestibulopatia recorrente

Vestibulopatia recorrente é uma condição em que o indivíduo experimenta múltiplos episódios de vertigem severa. Os episódios de vertigem severa podem durar por minutos ou horas. Diferente da doença de Ménière, ela não é acompanhada por perda de audição. Em alguns casos, ela pode se desenvolver em doença de Meniere ou Vertigem Posicional Paroxística Benigna. O tratamento é similar àquele da doença de Ménière.

Infecção por sífilis

A infecção por sífilis também pode levar à perda de audição pré-natal congênita, que afeta aproximadamente 11,2 por 100.000 nascimentos vivos nos Estados Unidos, bem como perda de audição súbita em adultos. A sífilis é uma doença venérea, causada pela espiroqueta *Treponema pallidum*, que em seus estágios secundários e terciários pode resultar em

distúrbios auditivos e vestibulares por labirintite membranosa, e secundariamente inclui meningite.

Tanto a sífilis adquirida quanto a congênita podem causar distúrbios otológicos. Os sintomas de distúrbios cocleovestibulares que resultam de sífilis são freqüentemente similares àqueles de outros distúrbios otológicos, como AIED e doença de Ménière, e incluem zumbido, surdez, vertigem, indisposição, dor de garganta, dores de cabeça, e erupções cutâneas. A infecção por sífilis pode levar à perda de audição pré-natal congênita, que afeta aproximadamente 11,2 por 100.000 nascimentos vivos nos Estados Unidos, bem como perda de audição súbita em adultos.

Tratamento com esteróides e antibióticos, que incluem penicilinas (por exemplo, penicilina G benzatina (BICILLIN LA®), são eficazes na erradicação da espiroqueta. Entretanto, os *Treponemas* podem permanecer na endolinfa coclear e vestibular mesmo depois da erradicação de outros locais no corpo. Portanto, tratamento sde longa duração com penicilinas são garantia de atingir completa erradicação da espiroqueta da endolinfa.

O tratamento de otossífilis (sífilis que apresenta sintomas auriculares) tipicamente inclui uma combinação de esteróides (por exemplo, prednisilona) e agentes antibacterianos (por exemplo, penicilina benzatina G (BICILLIN LA®), penicilina G procaína, doxiciclina, tetraciclina, ceftriaxona, azitromicina). Tais tratamentos são eficazes na erradicação da espiroqueta. Entretanto, os *Treponemas* podem permanecer na endolinfa coclear e vestibular mesmo depois da erradicação de outros locais no

corpo. Portanto, tratamento de longa duração com penicilinas são necessários para atingir completa erradicação da espiroqueta do fluido da endolinfa. Também, no caso de sífilis severa ou avançada, um fármaco uricosúrico como probenecid é administrado junto com o agente antibacteriano para aumentar sua eficácia.

Fraturas do osso temporal

O osso temporal, que contém parte do canal auditivo, o ouvido médio e o ouvido interno, é submetido a fraturas por golpes ao crânio ou outro ferimentos. O sangramento do ouvido ou contusão é sintomático de uma fratura do osso temporal, e pode necessitar de uma tomografia computadorizada (CT) para um diagnóstico preciso. As fraturas do osso temporal podem romper o tímpano, causar paralisia facial e perda de audição sensorineural repentina.

O tratamento das fraturas do osso temporal detectadas inclui um regime de antibiótico para evitar meningite, ou uma infecção do tecido cerebral. Em adição, cirurgias são realizadas para aliviar qualquer pressão subseqüente no nervo facial devido ao edema ou infecção.

Doença articular temporomandibular

Existe alguma evidência por uma relação entre a doença da articulação temporomandibular (TMD) e distúrbios do ouvido interno. Estudos anatômicos demonstram o possível envolvimento do nervo trigêmeo, em que a inervação do trigêmeo do sistema vascular controla a função coclear e do labirinto vestibular (Vass *e cols*. *Neuroscience* (1998) 84 559-567). Adicionalmente, projeções de fibras oftálmicas do gânglio de Gasser trigeminal para a cóclea através das

artérias basilar e cerebelar anterior inferior podem ter um papel importante no tônus vascular em resposta vasodilatadora rápida aos estresses metabólicos, por exemplo, ruído intenso. As doenças e sintomas do ouvido interno, como perda de audição repentina, vertigem e zumbido, podem se originar da redução do fluxo de sangue coclear devido à presença de atividade anormal no gânglio trigeminal, por exemplo, de enxaqueca ou pelo efeito excitatório central originado em dor crônica ou profunda produzida por TMD.

De modo similar, outros pesquisadores constataram que o gânglio trigeminal também inerva o núcleo coclear ventral e o complexo olivar superior, que pode interferir com as vias auditivas que levam ao córtex auditivo em que os sinais constantes somáticos periféricos das inervações periféricas oftálmicas e mandibular trigeminal ocorrem em casos de TMD (Shore *e cols. Comp. Neurology* (2000) 10:271-285). Essas interações de sistema somatossensório e auditivo por meio do sistema nervoso central podem explicar sintomas na ausência de doença no ouvido, nariz ou garganta existente.

Portanto, contrações musculares forçadas em TMD podem despertar modulações na função neurológica e auditiva e de equilíbrio. Por exemplo, as modulações auditivas e vestibulares podem ocorrer como um resultado de hipertonicidade e espasmo muscular, que por sua vez irritam os nervos e vasos sanguíneos que afetam a função do ouvido interno por apreensão muscular. O alívio das contrações nervosas ou musculares afetadas pode agir para aliviar sintomas auditivos ou vestibulares. Medicações, que incluem

barbitúricos ou diazepam, podem assim aliviar a disfunção auditiva ou vestibular em pacientes com TMD.

Disfunção Utricular

O utrículo é um dos dois otólitos encontrados no labirinto vestibular. Ele é responsivo à gravidade e aceleração linear num plano horizontal. A disfunção utricular é um distúrbio causado por dano ao utrículo. Ele é freqüentemente caracterizado pela percepção do indivíduo de inclinação ou desequilíbrio.

Vertigem

A vertigem é descrita como uma sensação de rotação ou oscilação enquanto o corpo está estacionário. Há dois tipos de vertigem. A vertigem subjetiva é a falsa sensação de movimento do corpo. A vertigem objetiva é a percepção de que o ambiente circundante está em movimento. Ela é freqüentemente acompanhada por náusea, vômitos e dificuldade na manutenção do equilíbrio.

Sem se prender a uma teoria em particular, supõe-se que a vertigem seja causada por um superacúmulo de fluido na endolinfa. Esse desequilíbrio de fluido resulta em pressão aumentada nas células do ouvido interno que leva à sensação de movimento. A causa mais comum de vertigem é vertigem posicional paroxística benigna, ou BPPV. Ela também pode ser ocasionada por dano à cabeça, ou uma alteração súbita da pressão sangüínea. Ela é um sintoma diagnóstico de várias doenças que incluem síndrome de deiscência de canal superior.

Neuronite vestibular

A neuronite vestibular, ou neuropatia vestibular, é uma disfunção aguda, sustentada do sistema vestibular

periférico. Acredita-se que a neuronite vestibular é causada por um rompimento de entrada neuronal aferente de um ou ambos os aparelhos vestibulares. As fontes desse rompimento incluem infecção viral, e isquemia localizada aguda do nervo vestibular e/ou labirinto. A neuronite vestibular é caracterizada por ataques repentinos de vertigem, que podem se apresentar como um ataque único de vertigem, uma série de ataques, ou uma condição persistente que diminui em algumas semanas. Os sintomas tipicamente incluem náusea, vômitos e infecções prévias do trato respiratório superior, embora não haja geralmente sintomas auditivos. O primeiro ataque de vertigem é comumente severo, levando a nistagmo, uma condição caracterizada por oscilação dos olhos involuntariamente na direção do lado afetado. Não ocorre comumente perda de audição.

Em alguns casos, a neuronite vestibular é causada por inflamação do nervo vestibular, o nervo que conecta o ouvido interno ao cérebro, e é provavelmente causada por infecção viral. O diagnóstico de neuronite vestibular comumente envolve testes para nistagmo com o uso de eletronistamografia, um método de registro eletrônico dos movimentos do olho. A imagem por ressonância magnética também pode ser realizada para determinar se outras causas podem ter um papel nos sintomas da vertigem.

O tratamento de neuronite vestibular tipicamente envolve o alívio dos sintomas da condição, primariamente vertigem, até que a condição desapareça por si. O tratamento de vertigem é freqüentemente idêntico ao da doença de Ménière, e pode incluir meclizina, lorazepam, proclorperazina ou escopolamina. Fluidos e eletrólitos

também podem ser administrados por via intravenosa se os vômitos forem severos. Corticoesteróides, como prednisilona, são também dados se a condição for detectada precocemente.

As composições aqui reveladas que compreendem um agente antiviral podem ser administradas para o tratamento de neuronite vestibular. Além disso, as composições são administradas com outros agentes que são tipicamente usados para tratar os sintomas da condição, incluindo anticolinérgicos, anti-histamínicos, benzodiazepinas ou esteróides. O tratamento de vertigem é idêntico ao da doença de Ménière, e pode incluir meclizina, lorazepam, proclorperazina ou escopolamina. Fluidos e eletrólitos também podem ser administrados por via intravenosa se os vômitos forem severos.

O achado mais significativo quando do diagnóstico de neuronite vestibular é o nistagmo espontâneo, unidirecional, horizontal. Ele é freqüentemente acompanhado por náusea, vômitos e vertigem. Ele é, geralmente, não acompanhado por perda de audição ou outros sintomas auditivos.

Há vários tratamentos para neuronite vestibular. Antagonistas de receptor H1, como dimenidrinato, difenidramina, meclizina e prometazina, diminuem o estímulo vestibular e deprimem a função do labirinto através de efeitos anticolinérgicos. As benzodiazepinas, como diazepam e lorazepam, são também usadas para inibir as respostas vestibulares devido a seus efeitos sobre o receptor de GABAA. Anticolinérgicos, por exemplo, escopolamina, são também prescritos. Eles funcionam por supressão da condução

nas vias cerebelares vestibulares. Finalmente, corticoesteróides (ou seja, prednisona) são prescritos para melhorar a inflamação do nervo vestibular e aparelhos associados.

Vantagens de administração auricular local

Para superar os efeitos colaterais tóxicos da liberação sistêmica, são aqui revelados métodos e composições para liberação local de agentes terapêuticos às estruturas do ouvido médio e/ou ouvido interno. O acesso, por exemplo, ao aparelho vestibular e coclear, ocorrerá através do ouvido médio que inclui a membrana da janela redonda, a janela oval/platina do estribo, o ligamento anular e através da cápsula auricular/osso temporal.

Em adição, o tratamento localizado do ouvido médio e/ou ouvido interno também gera o uso de agentes terapêuticos previamente indesejados, incluindo agentes com perfis fracos de PK, captação fraca, baixa liberação sistêmica e/ou toxicidade. Por causa do direcionamento localizado das formulações e composições de agente auricular, bem como a barreira sangüínea biológica presente no ouvido interno, os riscos de efeitos adversos serão reduzidos como um resultado de tratamento com agentes ativos auriculares previamente caracterizados como tóxicos ou ineficazes (por exemplo, agentes imunomoduladores como agentes anti-TNF). Portanto, é também contemplado no escopo das modalidades aqui descritas o uso de agentes ativos e/ou agentes que foram previamente rejeitados pelos profissionais pelos efeitos adversos ou ineficácia do agente auricular.

Ao direcionar especificamente as estruturas do ouvido

médio ou ouvido interno, os efeitos colaterais adversos como um resultado de tratamento sistêmico são evitados. Além disso, ao fornecer uma formulação de agente auricular de liberação controlada (por exemplo, agente imunomodulador ou formulação moduladora da pressão auricular) ou composição para tratar distúrbios otológicos, uma fonte constante, variável e/ou estendida de um agente auricular é fornecida ao indivíduo individual ou paciente que sofre de um distúrbio auricular, reduzindo ou eliminando a variabilidade do tratamento. Portanto, uma modalidade aqui revelada é para fornecer uma formulação que permita que pelo menos um agente terapêutico seja liberado em doses terapeuticamente eficazes em taxas variáveis ou constantes de modo a assegurar uma liberação contínua de pelo menos um agente. Em algumas modalidades, os agentes ativos auriculares aqui revelados são administrados como uma formulação ou composição de liberação imediata. Em outras modalidades, os agentes ativos auriculares são administrados como uma formulação de liberação controlada, liberados continuamente ou em uma maneira pulsátil, ou variantes de ambos. Ainda em outras modalidades, a formulação do agente ativo é administrada tanto como uma formulação de liberação imediata quanto de liberação controlada, liberada continuamente ou em uma maneira pulsátil, ou variantes de ambas. A liberação é opcionalmente dependente de condições ambientais ou fisiológicas, por exemplo, o ambiente iônico externo (veja, por exemplo, sistema de liberação Oros®, Johnson & Johnson).

Também é incluído nas modalidades aqui reveladas o uso

de meio auricular adicional e/ou agentes de ouvido interno em combinação com as formulações e composições de agente auricular aqui reveladas. Quando usado, tais agentes ajudam no tratamento de perda da audição ou equilíbrio ou disfunção como um resultado de um distúrbio autoimune, que inclui vertigem, zumbido, perda de audição, distúrbios do equilíbrio, infecções, resposta inflamatória ou combinações destes. Portanto, os agentes que melhoram ou reduzem os efeitos de vertigem, zumbido, perda de audição, distúrbio do equilíbrios, infecções, resposta inflamatória ou combinações destes são também contemplados para serem usados em combinação com os agentes auriculares aqui descritos que incluem esteróides, agentes antieméticos, agentes anestésicos locais, corticoesteróides, agentes quimioterapêuticos, incluindo citoxan, azatiaprina ou metotrexato; tratamento com colágeno, gama globulina, interferons, copaxona, agentes do sistema nervoso central, antibióticos, antagonistas de fator de ativação de plaquetas, inibidores de sintase de óxido nítrico e combinações destes.

Além disso, as composições ou formulações farmacêuticas compatíveis com o ouvido aqui incluídas também incluem veículos, adjuvantes, como agentes conservantes, estabilizantes, umectantes ou emulsificantes, promotores de solução, sais para regulação da pressão osmótica, e/ou tampões. Tais veículos, adjuvantes e outros excipientes serão compatíveis com o ambiente no ouvido médio e/ou ouvido interno. Portanto, especificamente contemplados são os veículos, adjuvantes e excipientes que são desprovidos de ototoxicidade ou são minimamente

ototóxicos para permitir um tratamento eficaz dos distúrbios otológicos aqui contemplados com efeitos colaterais mínimos nas regiões ou áreas-alvo. Para prevenir a ototoxicidade, as composições ou formulações farmacêuticas auriculares aqui reveladas são opcionalmente direcionadas a regiões distintas do ouvido médio e/ou ouvido interno, incluindo, sem limitação, a cavidade timpânica, labirintos ósseos vestibular e membranoso, labirintos ósseos coclear e membranoso, e outras estruturas anatômicas ou fisiológicas localizadas no ouvido interno.

Tratamento

São aqui fornecidas composições auriculares adequadas para o tratamento de qualquer condição, doença ou distúrbio auricular (por exemplo, distúrbio do ouvido médio e/ou interno) aqui descritas, que compreendem a administração de uma formulação auricular aqui descrita a um indivíduo ou paciente em necessidade destas. As formulações aqui descritas são adequadas para o tratamento de qualquer doença aqui descrita. Em alguns casos, o tratamento é tratamento de longa duração para doença crônica recorrente. Em alguns casos, o tratamento é a administração profilática de uma formulação auricular aqui descrita para o tratamento de qualquer doença ou distúrbio auricular aqui descritos. Em alguns casos, a administração profilática evita a ocorrência de doença em indivíduos suspeitos de terem uma doença ou em indivíduos geneticamente predispostos a uma doença ou distúrbio auricular. Em alguns casos, o tratamento é terapia de manutenção preventiva. Em alguns casos, a terapia de manutenção preventiva evita a recorrência da doença.

Em alguns casos, por causa de sua compatibilidade auricular e esterilidade aumentada, as formulações aqui descritas são seguras para administração de longa duração. As composições auriculares aqui descritas têm ototoxicidade muito baixa e fornecem liberação sustentada estável de um agente terapêutico por um período de pelo menos uma semana, duas semanas, três semanas ou um mês.

São aqui fornecidas as composições e formulações de liberação controlada para tratar e/ou evitar doenças associadas ao ouvido, incluindo a cóclea, o ouvido médio e ouvido interno, incluindo distúrbio autoimune do ouvido interno (AIED, doença de Méniere (*hidropisia endolinfática*)), perda de audição induzida por ruído (NIHL), perda de audição sensorineural repentina (SNL), zumbido, otosclerose, distúrbios do equilíbrio, vertigem e outros.

A etiologia de várias doenças ou distúrbios do ouvido consiste em uma síndrome de perda de audição progressiva, incluindo perda de audição induzida por ruído e perda de audição relacionada à idade, tontura, náusea, nistagmo, vertigem, zumbido, inflamação, edema, infecção e/ou congestão. Esses distúrbios podem ter quaisquer causas, como infecção, exposição a ruídos, ferimento, inflamação, tumores e/ou resposta adversa a fármacos ou outros agentes químicos. Várias causas de perda de audição e/ou equilíbrio são atribuídas à inflamação e/ou distúrbio autoimunes e/ou uma resposta inflamatória mediada por citocina.

São aqui fornecidas composições e formulações imunomoduladoras de liberação controlada para tratar inflamação ou infecção do ouvido médio, incluindo otite

média. Alguns produtos terapêuticos são disponíveis para o tratamento de AIED, incluindo agentes anti-TNF; no entanto, vias sistêmicas como vias oral, intravenosa ou intramuscular são atualmente usadas para liberar esses agentes terapêuticos.

São aqui fornecidas composições e formulações de modulação da pressão auricular de liberação controlada para tratar distúrbios da homeostasia do fluido do ouvido interno, incluindo doença de Ménière, hidropisia endolinfática, perda de audição progressiva, incluindo perda de audição induzida por ruído e perda de audição relacionada à idade, tontura, vertigem, zumbido e condições similares.

Em algumas modalidades, as composições aqui fornecidas são composições e formulações moduladoras do SNC para tratar zumbido, perda de audição progressiva, incluindo a perda de audição induzida por ruído e perda de audição relacionada à idade, e distúrbios do equilíbrio. Os distúrbios do equilíbrio incluem vertigem de posições paroxísticas benignas, tontura, *hidropisia endolinfática*, cinetose, labirintite, Mal do desembarque, doença de Ménière, Síndrome de Ménière, miringite, otite média, síndrome de Ramsay Hunt, vestibulopatia recorrente, zumbido, vertigem, síndrome de compressão microvascular, disfunção utricular e neuronite vestibular. Uns poucos produtos terapêuticos são disponíveis para o tratamento de distúrbio do equilíbrio, incluindo moduladores do receptor de $GABA_A$ e anestésicos locais 1.

Em algumas modalidades, as composições aqui fornecidas são composições e formulações de agente citotóxico para o

tratamento de doenças autoimunes do ouvido, que incluem doença autoimune do ouvido interno (AIED). Também são aqui fornecidas composições de agente citotóxico de liberação controlada para o tratamento de distúrbios do ouvido médio, que incluem otite média. As composições aqui reveladas são também úteis para o tratamento de câncer, particularmente câncer do ouvido. Alguns produtos terapêuticos são disponíveis para o tratamento de AIED, que incluem certos agentes citotóxicos. Particularmente, os agentes citotóxicos metotrexato e ciclofosfamida foram testados e são usados para o tratamento sistêmico de AIED. Também, a talidomida, embora não sendo atualmente administrada para o tratamento de AIED tem sido usada para tratar doença de Behcet, que é freqüentemente associada a AIED.

Em algumas modalidades, as composições aqui fornecidas compreendem moduladores de célula sensorial auricular para o tratamento ou melhoria ou redução da perda de audição que resulta de cílios destruídos, malfuncionais, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Além disso, são aqui reveladas composições de modulação da célula sensorial auricular de liberação controlada e formulações para tratar ototoxicidade, excitotoxicidade, perda de audição sensorineural repentina, doença/Síndrome de Ménière, *hidropisia endolinfática*, labirintite, síndrome de Ramsay Hunt, neuronite vestibular e síndrome de compressão microvascular.

Em algumas modalidades, as composições aqui fornecidas são composições e formulações de agente antimicrobiano para o tratamento de distúrbios otológicos, que incluem otite externa, otite média, síndrome de Ramsay Hunt, otosífilis,

AIED, doença de Ménière e neuronite vestibular.

Em algumas modalidades, as composições aqui fornecidas previnem, aliviam, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres e/ou à disfunção da mitocôndria.

Também são aqui fornecidas composições e formulações de modulação de canal de íon de liberação controlada para tratar distúrbios da homeostasia do fluido do ouvido interno, que incluem doença de Ménière, hidropisia endolinfática, perda de audição progressiva, que inclui perda de audição induzida por ruído e perda de audição relacionada à idade, tontura, vertigem, zumbido e condições similares. Vias sistêmicas, via oral, intravenosa ou intramuscular são atualmente usadas para liberar os agentes terapêuticos de modulação de canal de íon.

Agentes terapêuticos

Não obstante qualquer agente terapêutico usado nas formulações aqui descritas, as composições auriculares aqui descritas terão pH e osmolaridade que são aceitáveis para o ouvido. Qualquer composição auricular aqui descrita está de acordo com requisitos estritos de esterilidade aqui descritos e serão compatíveis com a endolinfa e/ou a perilinfa. Os agentes farmacêuticos que são usados junto com as formulações aqui reveladas incluem agentes que melhoram ou diminuem os distúrbios otológicos, que incluem distúrbios do ouvido interno, e seus sintomas, que incluem, sem limitação, perda de audição, nistagmo, vertigem, zumbido, inflamação, edema, infecção e congestão. Os distúrbios otológicos podem ter quaisquer causas, como infecção, dano, inflamação, tumores e resposta adversa a

fármacos ou outros agentes químicos que são responsivos aos agentes farmacêuticos aqui revelados. Um profissional habilitado será familiar com agentes que são úteis na melhoria ou erradicação de distúrbios otológicos; portanto, agentes que não são aqui revelados mas são úteis para a melhoria ou erradicação de distúrbios otológicos são expressamente incluídos e devem estar dentro do escopo das modalidades apresentadas. Em algumas modalidades, os metabólitos, sais, polimorfos, pró-fármacos, análogos e derivados farmaceuticamente ativos dos agentes auriculares aqui revelados que retêm a capacidade dos agentes antimicrobianos parentes para tratar distúrbios otológicos são úteis nas formulações.

Ingredientes ativos ou agentes auriculares terapêuticos incluem, sem limitação, agentes antiinflamatórios, antioxidantes, agentes neuroprotetores, moduladores de glutamato, moduladores de TNF-alfa, moduladores de interleucina 1 beta, moduladores de retinaldeído, moduladores *notch*, moduladores de gama-secretase, talidomida, moduladores da homeostasia de íon e/ou fluido (por exemplo, água), inibidores de vasopressina, inibidores do sistema AQP2 mediado por vasopressina (aquaporina 2), reguladores de transcrição da rede reguladora transcricional do ouvido interno (que inclui, por exemplo, reguladores transcricionais de receptor beta relacionado ao estrogênio), fatores de crescimento da célula ciliada do ouvido interno, que incluem BDNF (derivada do cérebro e NF-3, e outras modalidades terapêuticas). Os agentes explicitamente incluem um agonista de um alvo, um agonista parcial de um

alvo auricular, um antagonista de um alvo auricular, um antagonista parcial de um alvo auricular, um agonista inverso de um alvo auricular, um antagonista competitivo de um alvo auricular, um antagonista neutro de um alvo auricular, um antagonista ortostérico de um alvo auricular, um antagonista alostérico de um alvo auricular, um modulador alostérico positivo de um alvo, ou combinações destes.

Em adição, como a formulação é desenhada de modo que o ingrediente ativo tem liberação limitada ou não sistêmica, agentes que produzem toxicidades sistêmicas (por exemplo, toxicidade hepática) ou têm características fracas de PK (por exemplo meia-vida curta) são também opcionalmente usados. Portanto, os agentes farmacêuticos que se mostraram previamente como sendo tóxicos, perigosos ou não eficazes durante aplicação sistêmica, por exemplo, através de metabólitos tóxicos formados após processamento hepático, toxicidade do fármaco em órgãos, tecidos ou sistemas particulares, através de altos níveis necessários para atingir eficácia, através da incapacidade de ser liberado por vias sistêmicas ou através de características fracas de PK, são úteis em algumas modalidades nesta especificação. As formulações aqui reveladas são contempladas como sendo direcionadas diretamente para estruturas auriculares em que o tratamento é necessário; por exemplo, uma modalidade contemplada é a aplicação direta das formulações de modulação da pressão auricular aqui reveladas na membrana da janela redonda ou na *crista fenestrae* cóclea do ouvido interno, permitindo acesso direto e tratamento do ouvido interno, ou componentes do ouvido interno. Em outras

modalidades, a formulação de modulação da pressão auricular aqui revelada é aplicada diretamente à janela oval. Ainda em outras modalidades, o acesso direto é obtido através de microinjeção diretamente no ouvido interno, por exemplo, através de microperfusão coclear. Tais modalidades também compreendem opcionalmente um dispositivo de liberação de fármaco, em que o dispositivo de liberação de fármaco libera a formulações de modulação da pressão auricular através do uso de uma agulha e seringa, uma bomba, um dispositivo de microinjeção, um material esponjoso de formação *in situ*, ou qualquer combinação destes.

Ainda em outras modalidades, a aplicação de qualquer formulação de agente auricular aqui descrita é direcionada ao ouvido médio através de perfuração da membrana intratimpânica e aplicação da formulação de agente auricular diretamente às estruturas do ouvido médio afetadas, que incluem as paredes da cavidade timpânica ou ossículos auditivos. Ao fazer isso, as formulações de agente ativo auriculares aqui reveladas são confinadas à estrutura do ouvido médio, e não se perderão, por exemplo, por difusão ou vazamento através da trompa de Eustáquio ou membrana timpânica perfurada. Em algumas modalidades, as formulações compatíveis com o ouvido aqui reveladas são liberadas ao ouvido externo de qualquer maneira adequada, que inclui por cotonete, injeção ou gotas auriculares. Também, em outras modalidades, as formulações auriculares aqui descritas são direcionadas a regiões específicas do ouvido externo por aplicação com uma agulha e seringa, uma bomba, um dispositivo de microinjeção, um material esponjoso de formação *in situ*, ou qualquer combinação

destes. Por exemplo, no caso de tratamento de otite externa, as formulações de agente antimicrobiano aqui reveladas são liberadas diretamente ao canal auditivo, onde elas são retidas, assim reduzindo a perda dos agentes ativos da estrutura-alvo do ouvido por frenagem ou vazamento.

Em algumas modalidades, os agentes que foram rejeitados previamente como, por exemplo, um agente antimicrobiano, podem ter uso nesta especificação por causa da natureza direcionada das modalidades que contornam os efeitos sistêmicos, que incluem toxicidade e efeitos colaterais prejudiciais. Como exemplo apenas onercept, um agente anti-TNF previamente rejeitado devido à toxicidade e problemas de segurança é útil como um agente anti-TNF em algumas das modalidades aqui reveladas. Também contemplada no escopo das modalidades aqui descritas é a administração de doses maiores de agentes farmacêuticos, por exemplo, agentes que têm toxicidades limitantes da dose, comparados às doses atualmente aprovadas para tais agentes farmacêuticos.

Alguns agentes farmacêuticos, isoladamente ou em combinação, são ototóxicos. Por exemplo, alguns agentes quimioterapêuticos, que incluem actinomicina, bleomicina, cisplatina, carboplatina e vincristina; e antibióticos, que incluem eritromicina, gentamicina, estreptomicina, dihidrostreptomicina, tobramicina, netilmicina, amicacina, neomicina, kanamicina, etiomicina, vancomicina, metronidizol, capreomicina, são levemente a muito tóxicos, e podem afetar as estruturas vestibular e coclear diferentemente. No entanto, em algumas modalidades, a

combinação de um fármaco ototóxico, por exemplo, cisplatina, em combinação com um antioxidante, é protetora e diminui os efeitos ototóxicos do fármaco. Além disso, a aplicação localizada do fármaco potencialmente ototóxico diminui os efeitos tóxicos que ocorreriam pela aplicação sistêmica através do uso de menores quantidades com eficácia mantida, ou o uso de quantidades direcionadas por um período de tempo mais curto. Portanto, um profissional habilitado que escolhe uma duração de terapia para distúrbio auricular terá o conhecimento de evitar ou combinar um composto ototóxico, ou variar a quantidade ou duração do tratamento para evitar ou diminuir os efeitos ototóxicos.

Em certos casos, os excipientes, diluentes ou veículos farmacêuticos são potencialmente ototóxicos. Por exemplo, cloreto de benzalcônio, um conservante comum, é ototóxico e, portanto, potencialmente prejudicial se introduzido nas estruturas vestibular ou coclear. Na formulação de uma formulação auricular de liberação controlada, deve-se evitar ou combinar os excipientes, diluentes ou veículos adequados para diminuir ou eliminar potenciais componentes ototóxicos da formulação, ou para diminuir a quantidade de tais excipientes, diluentes ou veículos. Em alguns casos, a ototoxicidade dos agentes farmacêuticos, excipientes, diluentes, veículos ou formulações e composições aqui revelados pode ser verificada com o uso de um modelo animal aceito. Veja, por exemplo, Maritini, A., *e cols.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (1999) 884:85-98. Opcionalmente, a formulação auricular de liberação controlada inclui agentes otoprotetores, como antioxidantes, ácido alfa lipoico,

cálcio, fosfomicina ou quelantes de ferro, para contrabalançar os efeitos ototóxicos potenciais que podem surgir do uso de agentes terapêuticos ou excipientes, diluentes ou veículos específicos.

Outros agentes que são usados nas modalidades aqui reveladas, isoladamente ou em combinação com outros agentes do ouvido interno, incluem agentes anti-apoptóticos, que incluem caspases, inibidores de JNK (como exemplo apenas CEP/KT-7515, AS601245, SPC79766 e SP600125), antioxidantes, NSAIDs, neuroprotetores, moduladores de glutamato, moduladores de interleucina 1, antagonistas de interleucina-1, que incluem enzima de conversão de fator de necrose tumoral-α (TACE) e caspases, modulador de retinaldeído, modulador de *notch*, modulador de gama secretase, talidomida, latanoprost (Xalatan®) para redução da pressão interna, e combinações destes.

Agentes imunomoduladores

Agentes anti-TNF

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que reduzem ou melhoram os sintomas ou efeitos como um resultado de uma doença autoimune e/ou distúrbio inflamatório, que incluem AIED ou OM. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que bloqueiam os efeitos de TNF-α, que incluem agentes anti-TNF. Como exemplo apenas, agentes anti-TNF incluem terápicos com base em proteína, como etanercept (ENBREL®) infliximab (REMICADE®), adalimumab (HUMIRA®) e golimumab (CNTO 148), e terápicos de molécula pequena, como inibidores de TACE, inibidores de IKK ou inibidores de calcineurina, ou combinações destes.

Infliximab e adalimumab são anticorpos monoclonais anti-TNF, e etanercept é uma proteína de fusão desenhada para ligar especificamente à proteína de TNT. Todos são atualmente aprovados para uso no tratamento de artrite reumatóide. Golimumab, que está atualmente em experimentos clínicos de fase 3 para artrite reumatóide, artrite psoriática e espondilite anquilosante, é um anticorpo monoclonal IgG1 anti-TNF-alfa totalmente humanizado que visa e neutraliza a forma solúvel e ligada à membrana de TNF-α. Outros antagonistas de TNF, como exemplo apenas, incluem receptores de TNF (receptor de TNF solúvel peguilado tipo 1; Amgen); fatores de ligação de TNF (Onercept; Serono); anticorpos de TNF (pedido de Patente US. No. 2005/0123541; pedido de Patente US. No.2004/0185047); anticorpos de domínio único contra o receptor p55 TNF (pedido de Patente US. No.2008/00088713); receptores de TNF solúvel (pedido de Patente US. No.2007/0249538); polipeptídeos de fusão que se ligam a TNF (pedido de Patente US. No. 2007/0128177); e derivados de flavona (pedido de Patente US. No.2006/0105967), todos aqui incorporados por referência para tal revelação. O uso de onercept, um receptor solúvel de TNF p55, foi descontinuado em 2005. Três experimentos clínicos de fase 3 relataram pacientes diagnosticados com sepsis fatal. Uma análise risco para benefício foi subsequentemente realizada, resultando na interrupção dos experimentos clínicos. Como acima discutido, as modalidades nesta especificação contemplam especificamente o uso de agentes anti-TNF que mostraram previamente ter liberação sistêmica limitada ou nula, toxicidade sistêmica, características fracas de PK,

ou combinações destes.

Embora etanercept, infliximab e adalimumab sejam atualmente terapias sistêmicas aprovadas para uso em artrite reumatóide, esses agentes anti-TNF não são livres de efeitos colaterais adversos sérios. É contemplado que a aplicação localizada dos agentes anti-TNF às estruturas auriculares-alvo para o tratamento de distúrbios autoimune e/ou inflamatórios resultará na redução ou eliminação desses efeitos colaterais adversos experimentados com o tratamento sistêmico. Além disso, o tratamento localizado com os agentes anti-TNF aqui contemplados também reduzirá a quantidade de agente necessária para o tratamento eficaz do distúrbio visado, devido, por exemplo, à existência da barreira biológica sangüínea no ouvido interno ou à ausência de acesso sistêmico suficiente ao ouvido médio.

Etanercept é uma proteína de fusão dimérica que consiste na porção extracelular de ligação ao ligante do receptor de fator de necrose tumoral humano de 75 kilodalton (p75) (TNFR) ligado à porção Fc de IgG1 humana. O componente Fc de etanercept contém o domínio C_H2, o domínio C_H3 e região de dobradiça, mas não o domínio C_H1 de IgG1. Etanercept é a uma proteína recombinante que consiste em 934 aminoácidos, com um peso molecular aparente de aproximadamente 150 kilodaltons. Etanercept se liga especificamente ao fator de necrose tumoral (TNF), e age por inibição da interação de TNF com os receptores de TNF de superfície celular. Efeitos colaterais sérios com etanercept foram relatados com administração sistêmica, que incluem infecções sérias e sepsis que resultou em mortes. Outros efeitos colaterais observados com a administração

intravenosa de etanercept incluem aquisição de tuberculose; início ou exacerbação de distúrbios do sistema nervoso central, que incluem alterações do estado mental, mielite transversa, neurite ótica, esclerose múltipla e convulsões que resultam em incapacidade permanente; eventos adversos hematológicos, que incluem pancitopenia, anemia aplástica com resultado fatal, discrasias sangüíneas, febre persistente, contusões, sangramento e palidez, neutropenia e celulite. O tratamento com etanercept também pode resultar na formação de autoanticorpos, que podem se desenvolver em uma síndrome semelhante a lúpus, bem como desenvolvimento de distúrbios malignos. Além disso, mais de um terço de pacientes sistemicamente tratados com etanercept experimentam reações no local da injeção que incluem eritema leve a moderado e/ou prurido, dor e/ou edema. Sangramento do local da injeção e contusão têm sido também observados. Outros efeitos colaterais da administração sistêmica de etanercept incluem cefaléia, náusea, rinite, tontura, faringite, tosse, astenia, dor abdominal, erupções, edema periférico, distúrbio respiratório, dispepsia, sinusite, vômitos, úlceras na boca, alopécia e pneumonite. Efeitos colaterais pouco freqüentes incluem insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, isquemia miocárdica, hipertensão, hipotensão, trombose de veia profunda, tromboflebite, colecistite, pancreatite, hemorragia gastrintestinal, bursite, polimiosite, isquemia cerebral, depressão, dispnéia, embolia pulmonar e glomerulonefropatia membranosa em pacientes com artrite reumatóide. Infecções por Varicela, gastrenterite, distúrbio de depressão/personalidade, úlcera

cutânea, esofagite/gastrite, choque séptico por *Streptococcus* grupo A, diabetes mellitus tipo I, e infecção de ferimento de tecido mole e de ferida pós-operatória também foram observadas em pacientes com artrite reumatóide juvenil.

Infliximab é um anticorpo monoclonal quimérico IgG1κ humano-de camundongo com um peso molecular aproximado de 149 kilodaltons. Infliximab se liga especificamente a TNF-α com uma constante de associação de ^{1010I} M^{-1}. Infliximab é produzido por uma cultura de linhagem de células recombinantes por perfusão contínua. Infliximab age neutralizando a atividade de ligação de TNF-α por inibição da ligação de TNF a seus receptores de superfície celular. Efeitos colaterais sérios como um resultado de infusões intravenosas sistêmicas ou injeções foram relatados com o uso de infliximab, que incluem sepsis fatal e infecções sérias. Casos de histoplasmose, listeriose, pneumocistose e tuberculose também foram observados. Hipersensibilidade, que inclui urticária, dispnéia e hipotensão, ocorre após tratamento com infliximab. As reações à infusão incluem reações cardiopulmonares (dor no peito primária, hipotensão, hipertensão ou dispnéia), prurido e reações combinadas. Outros sintomas de hipersensibilidade incluem febre, erupção, cefaléia, dor de garganta, mialgias, poliartraligias, edema da Mão e facial e/ou disfagia, anafilaxia, convulsões, erupção eritematosa, edema da laringe/faringe e broncoespasmo severo. Os eventos adversos neurológicos incluem neurite ótica, convulsões e surgimento ou exacerbação e/ou evidência radiográfica de distúrbios desmielinizantes do sistema nervoso central, que incluem

esclerose múltipla. A formação de autoanticorpos também foi observada, que incluem sintomas sugestivos de uma síndrome semelhante a lúpus após o tratamento. Outros eventos adversos sérios incluem a piora da artrite reumatóide, nódulos reumatóides, hérnia abdominal, astenia, dor no peito, hérnia diafragmática, pancitopenia, infarto esplênico, esplenomegalia, síncope, hipóxia cerebral, convulsões, tontura, encefalopatia, hemiparesia, estenose espinhal, lesão do neurônio motor superior, ceruminose, endoftalmite, e outros efeitos colaterais de ocorrência pouco freqüente.

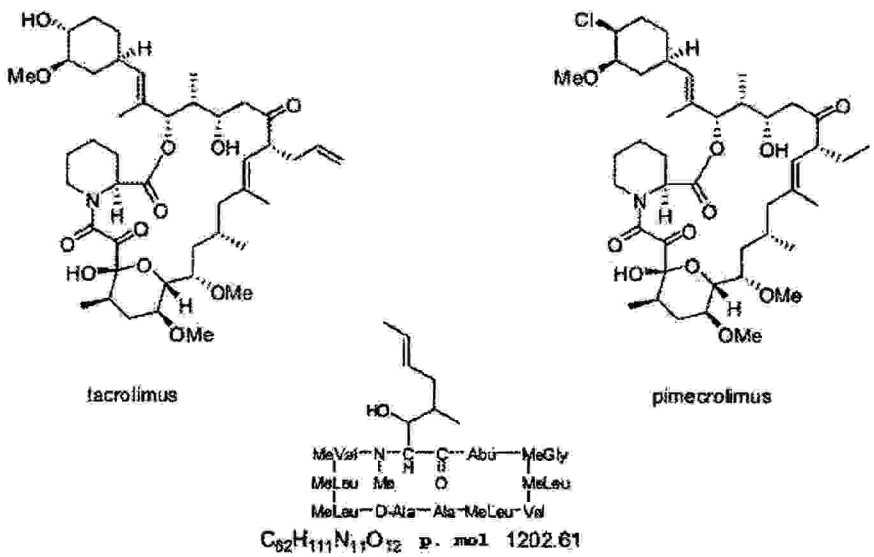
Adalimumab é um anticorpo monoclonal quimérico IgG1 recombinante humano específico para TNF humano. Adalimumab foi criado com o uso de uma tecnologia de apresentação de fago que resulta em um anticorpo com regiões variáveis de cadeia pesada e leve derivadas humanas e regiões constantes de IgG1:κ humana, e consiste em 1330 aminoácidos com um peso molecular de aproximadamente 148 kilodaltons. Adalimumab se liga especificamente a TNF-α, e bloqueia sua interação com os receptores de superfície celular de p55 e p75 TNF. Adalimumab também lisa as células que expressam TNF *in vitro* na presença de complemento. Adalimumab que se liga ou inativa linfotoxina (TNF-β). Efeitos colaterais sérios da administração sistêmica foram relatados com a administração intravenosa ou injeção de adalimumab, que incluem sepsis fatal e infecções sérias, que incluem infecções respiratórias superiores, bronquite, infecções do trato urinário, pneumonia, artrite séptica, infecções protéticas e pós-cirúrgicas, erisipelas celulite, diverticulite, pielonefrite, tuberculose, e infecções

oportunistas invasivas causadas por histoplasma, aspergillus e nocardia. Outras reações adversas sérias foram eventos neurológicos, que incluem confusão, esclerose múltipla, parestesia, hematoma subdural e tremor, e o desenvolvimento de malignidades, que incluem desenvolvimento de linfoma. A formação de autoanticorpos tem sido observada, incluindo sintomas sugestivos de uma síndrome semelhante a lúpus após o tratamento. As reações adversas mais comum foram as reações no local da injeção, com 20% dos pacientes desenvolvendo eritema e/ou prurido, hemorragia, dor e/ou edema. Outros eventos adversos como um resultado de administração sistêmica de adalimumab incluem reação de calor, erupção e pneumonia. Outros eventos adversos incluem sinusite, síndrome de gripe, náusea, dor abdominal, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, hematúria, níveis aumentados de fosfatase alcalina, dor lombar, hipertensão, bem como eventos adversos sérios menos freqüentes, que incluem dor, dor pélvica, dor torácica, arritmia, fibrilação atrial, distúrbio cardiovasculares, ineficiência cardíaca congestiva, distúrbio da artéria coronária, ataque cardíaco, encefalopatia hipertensiva, infarto do miocárdio, palpitação, efusão pericárdica, pericardite, síncope, taquicardia, distúrbios vasculares, e outros distúrbios.

Inibidores da Calcineurina

Os inibidores da calcineurina são um grupo de imunomoduladores de molécula pequena estruturalmente diversos que funcionam através da inibição da função de calcineurina. Calcineurina é uma fosfatase de proteína ativada por cálcio que catalisa a desfosforilação de NFAT

citoplasmático. Após desfosforilação, NFAT migra para o núcleo e forma um complexo regulador envolvido na transcrição de citocinas, como TNF-α, IL-2,IL-3 e IL-4. A inibição da função de calcineurina bloqueia o evento de desfosforilação e subseqüente transcrição de citocina. Um aspecto não usual da inibição de calcineurina é que ciclosporina, tacrolimus e pimecrolimus são necessários para formar um complexo com uma imunofilina para que as propriedades inibidoras sejam realizadas (Schreiber *e cols.*, *Immunol. Today* (1992), 13:136-42; Liu *e cols.*, *Cell* (1991), 66:807-15). Para ciclosporina, a imunofilina é ciclofilina; tacrolimus e pimecrolimus se ligam à proteína de ligação FK506 (FKBP).



ciclosporina R

Ciclosporina é um peptídeo cíclico de 11 resíduos produzido como um metabólito do fungo *Beauveria nivea* e tem

o nome químico ciclo[[(E)-(2S,3R,4R)-3-hidroxi-4-metil-2-(metilamino)-6-octenoil]-L-2-aminobutiril-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leticil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-valil. Ela é fornecida em várias formulações para administração sistêmica ou local. Sandimmune® fornece ciclosporina em três diferentes formulações: cápsulas de gelatina macia, uma solução oral ou uma formulação para injeção. Sandimmunet é indicado para a prevenção de rejeição a órgão em transplantes de rim, fígado ou coração. Neoral® e Gengraf® fornecem ciclosporina em duas formulações: cápsulas de gelatina macia e uma solução oral. Elas são indicadas para a prevenção de rejeição a órgão em transplantes de rim, fígado ou coração, para o tratamento de pacientes com artrite reumatóide, severa ativa, ou para o de psoríase severa. Comparado a Sandimmune®, Neoral® e Gengraf® fornecem biodisponibilidade aumentada de ciclosporina. Restasis® fornece ciclosporina em uma formulação de emulsão oftálmica. Ele é indicado para aumentar a produção de lágrima em pacientes com produção de lágrima reduzida devido a inflamação ocular associada a ceratoconjuntivite seca.

Tacrolimus, também conhecido como FK-506 ou fujimicina, é um produto natural macrolideo de 23 membros produzido por *Streptomyces tsukubaensis* e tem o nome químico [3S[3R*-[E(1S*,3S*,4S*)]. 4S*, 5R*, 8S*, 9E, 12R*, 14R*, 15S*. 16R*, 18S*, 19S*, 26aR*]]-5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-hexadecahidro-5,19-dihidroxi-3-[2-(4-hidroxi-3-metoxiciclohexil)-1-metiletenil]-14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-8-(2-propenil)-15,19-epoxi-3H-pirido[2,1-

39c][1,4]oxaazaciclotricosina-1,7,20,21(4H,23H)0-tetrona monoidrato. Ele é fornecido em formulações adequadas para administração sistêmica ou tópica. Para administração sistêmica, a formulação Prograf® fornece uma cápsula oral ou uma solução estéril para injeção. Prograf® é indicado para a prevenção de rejeição a órgão em transplantes de rim, fígado ou coração. Para administração tópica, a formulação Prograf® é indicada para o tratamento de dermatite atópica moderada a severa.

Pimecrolimus é um análogo semissintético de tacrolimus e tem o nome químico (1R,9S,12S,13R,14S,17R,18E,21S,23S,24R,25S,27R)-12-[(1E)-2-{(1R,3R,4S)-4-cloro-3-metoxiciclohexil}-1-metilvinil]-17-etil-1,14-dihidroxi-23,25-dimetoxi-13,19,21,27-tetrametil-11,28-dioxa-4-aza-triciclo[22.3.1.04,9]octacos-18-eno-2,3,10,16-tetraona. Ele é fornecido em uma formulação adequada para aplicação tópica e é indicado para o tratamento de dermatite atópica moderada a severa.

Estudos mostraram que tacrolimus e pimecrolimus não suprimem as células de Langerhans ou tecido conjuntivo dérmico e, portanto, não causam atrofia da pele, diferente de corticoesteróides (Stuetz *e cols.*, *Int. Arch, Allergy Immunol.* (2006), 141:199-212; Queille-Roussel *e cols.*, *Br. J. Dermatol.* (2001), 144:507-13). Por causa da importância de calcineurina, a administração sistêmica de inibidores da calcineurina leva a significantes efeitos colaterais. Os efeitos colaterais sistêmicos são relacionados a dose, níveis de exposição e duração da terapia. Níveis sanguíneos elevados prolongados resultam em hipertensão, nefrotoxicidade, distúrbios psiquiátricos, hiperlipidemia,

e imunossupressão profunda. A aplicação tópica de tacrolimus ou pimecrolimus mostrou gerar muito pouca, se houver, exposição sistêmica, com tacrolimus tendo demonstrado menos que 0,5% de biodisponibilidade após aplicação tópica.

Em uma modalidade, a formulação imunomoduladora de liberação controlada otogicamente aceitável compreende um inibidor de calcineurina. Em outra modalidade, a formulação imunomoduladora de liberação controlada otogicamente aceitável compreende ciclosporina. Em outra modalidade, a formulação imunomoduladora de liberação controlada otogicamente aceitável compreende tacrolimus. Em outra modalidade, a formulação imunomoduladora de liberação controlada otogicamente aceitável compreende pimecrolimus. Em outra modalidade, a formulação imunomoduladora de liberação controlada otogicamente aceitável compreende um inibidor de calcineurina que induz toxicidade após administração sistêmica.

Outros agentes farmacêuticos que são opcionalmente usados em combinação com agentes imunomoduladores-α para o tratamento de distúrbios autoimunes e/ou inflamatórios incluem outros agentes que foram usados para tratar distúrbios autoimunes e inflamatórios, que incluem corticoesteróides, agentes anestésicos locais, agentes quimioterapêuticos, que incluem citoxan, azatiaprina ou metotrexato; tratamento com colágeno, gama globulina, interferons, copaxona, ou combinações destes. Portanto, é também contemplado dentro do escopo das modalidades desta especificação o uso de outros agentes farmacêuticos em combinação com as composições e formulações

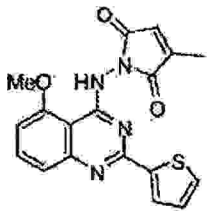
imunomoduladoras reveladas no tratamento de distúrbios otológicos autoimunes. Em adição, outros agentes farmacêuticos são opcionalmente usados para tratar sintomas de AIED ou outros distúrbios autoimunes, que incluem vômitos, tontura e indisposição geral.

Inibidores de IKK

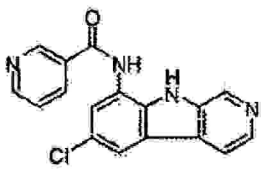
A transcrição de TNF-α é dependente do fator de transcrição NF-κB. Em células não estimuladas, NF-κB está no citoplasma como parte de um complexo de proteína com o inibidor de proteína de NF-κB, também conhecido como IκB. A ativação de NF-κB depende da ubiquitinação induzida por fosforilação de IκB. Uma vez poli-ubiquitinado, IκB sofre uma rápida degradação através do proteassomo 26S e o NF-κB livre migra para o núcleo para ativar a transcrição de gene pró-inflamatório. O evento de fosforilação que libera NF-κB é mediado pelo complexo de IκB quinase (IKK), composto de IKK quinases. Duas enzimas de IKK, geralmente referidas como IKK-α e IKK-β (Woronicz *e cols. Science* (1997), 278:866; Landi *e cols. Cell* (1997), 91:243) ou IKK-1 e IKK-2 (Mercurio *e cols. Science* (1997), 278:860), foram descobertas. Ambas as formas de IKK podem existir como homodímeros e como heterodímeros IKK-α/IKK-β. Outro componente do complexo IKK quinase é uma proteína reguladora, conhecida como IKK-γ ou NEMO (NF-κB-Essential Modulador) (Rothwarf *e cols.* Nature (1998), 395:297). NEMO não contém um domínio catalítico, e assim parece não ter atividade direta de quinase, e ele provavelmente serve a uma função reguladora. Dados existentes sugerem que a forma predominante de IKK em células é um heterodímero IKK-α/IKK-β associado a um dímero ou um trímero de NEMO (Rothwarf *e*

cols. Nature (1998) 395:297). Experimentos de bioquímica e biologia molecular identificaram IKK-α e IKK-β como os mediadores mais prováveis de fosforilação e degradação de IκB induzida por TNF-α, que resulta em ativação e suprarregulação de NF-κB de famílias de genes envolvidos nos processos inflamatórios (Woroniez *e cols*. Science (1997); Karin, Oncogene (1999) 18:6867: Karin, J. Biol. Chem. (1999) 274:27339).

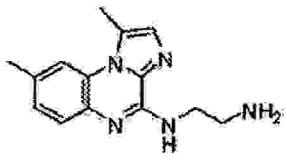
Vários inibidores de IKK-β foram identificados. SPC-839 foi extensivamente estudado. Ele inibe IKK-β com uma IC_{50} de 62 nM e reduz edema da pata em um modelo de artrite de rato a 30 mg/kg. Carbolina PS-1145 inibe o complexo de IKK com uma IC_{50} de 150 nM e reduz a produção de TNF-α em camundongos que receberam LPS. BMS-345541, um inibidor alostérico, inibe IKK-β com uma IC_{50} de de 0,3 μM. No modelo de artrite induzida por colágeno em camundongo, ele reduziu significativamente a severidade da doença em uma dose de 30 mg/kg. Uma revisão científica de inibidores de IKK foi publicada (Karin *e cols*., Nature Reviews Drugs Discovery (2004), 3, 17-26), aqui incorporado por referência para tal revelação.



SPC-839



PS-1145



BMS-345541

Em uma modalidade, a formulação imunomoduladora otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de IKK. Em uma modalidade adicional, a

formulação imunomoduladora otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de IKK-β. Em outra modalidade, a formulação imunomoduladora otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de IKK que induz toxicidade após administração sistêmica. Em uma modalidade adicional, a formulação imunomoduladora otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de IKK que não é absorvido por via oral. Em uma modalidade adicional, a formulação imunomoduladora otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de IKK selecionado de SPC-839, PS-1145, BMS-345541 ou SC-514. Em uma modalidade adicional, a formulação imunomoduladora otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de IKK selecionado de compostos revelados no seguinte grupo de publicações de patente: WO199901441, WO2001068648, WO2002060386, WO2002030353, WO2003029242, WO2002046171, WO2003024935, WO2003010163, WO2003076447, WO2002041843, WO2001058890, WO2002044153, WO2002024679, WO2001030774, WO2001000610, WO2003024936, WO200230423, WO2002094265, WO2002094322, WO2005113544 e WO2006076318, todas aqui incorporadas por referência para tal revelação.

Inibidores de Interleucina

As Interleucina são uma classe de citocinas. Em certos casos, elas são moléculas de sinalização secretadas por leucócitos que encontraram um patógeno. Em certos casos, a secreção de interleucinas ativa e recruta leucócitos adicionais para o local de infecção. Em certos casos, o recrutamento de leucócitos adicionais para o local da infecção resulta em inflamação (devido ao aumento na linfa

que contém leucócitos). IL-Iα, IL-1β, 1L-2 e IL-8 são encontradas em secreções do ouvido médio. Em certos casos, IL-Iα e IL-1β são também encontradas no epitélio de colesteatomas.

IL-1 é uma classe de interleucinas que compreende IL-Iα e IL-1β. IL-1 é produzida por macrófagos, células B, monócitos e células dendríticas (DC). Ela se liga a receptores IL1R1/CD121a e IL1R2/CD121b. A ligação de 1L-1 a seus receptores resulta em um aumento em fatores de adesão de superfície celular. Isso proporciona a migração de leucócitos ao local da infecção.

IL-2 é produzida por células TH-1 e se liga aos receptores CD25/IL2Ra, CD122/IL2Rb e CD132/IL2Rg. A secreção de IL-2 é estimulada pela ligação de um antígeno a uma célula TH-1. A ligação de IL-2 a um receptor estimula o crescimento, e diferenciação de células T de memória.

IL-8 é produzida por macrófagos, linfócitos, células epiteliais e células endoteliais. Ela se liga a CXCR1/IL8Ra e CXCR2/IL8Ra/CD128. A secreção de IL-8 inicia a quimiotaxia de neutrófilos ao local da infecção.

Em algumas modalidades, um indivíduo que necessita recebe administração de um inibidor de uma interleucina pró-inflamatória. Em algumas modalidades, a interleucina pró-inflamatória é IL-1α, IL-1β, IL-2 ou IL-8. Em algumas modalidades, o inibidor da interleucina pró-inflamatória é um WS-4 (um anticorpo contra IL-8); $[Ser\ IL\text{-}8]_{72}$; ou $[Ala\ IL\text{-}8]_{77}$ (veja, Patente U.S. No. 5.451.399, que é aqui incorporada por referência para revelações com relação a esse peptídeos); TL-1RA; SB 265610 (N-(2-Bromofenil)-N'-(7-ciano-1H-benzotriazol-4-il)uréia); SB 225002 (N-(2-

Bromofenil)-N-(2-hidroxi-4-nitrofenil)uréia); SB203580 (4-(4-Fluorfenil)-2-(4-metilsulfinil fenil)-5-(4-piridil) 1H-imidazol); SB272844 (GlaxoSmithKline); SB517785 (GlaxoSmithKline); SB656933 (Glaxo SmithKline); Sch527123 (2-hidroxi-N,N-dimetil-3-{2-[[(R)-1-(5-metil-furan-2-il)-propil]amino]-3,4-dioxo-ciclobut-1-enilamino}-benzamida); PD98059(2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-1-benzopiran-4-ona); reparixin; N-[4-cloro-2-hidroxi-3-(piperazina-1-sulfonil)fenil]-N'-(2-cloro-3-fluorfenil)uréia p-toluenossulfonato (veja, WO72007/150016 que é aqui incorporado por referência para revelações com relação a esse composto); sivelestat; bG31P (CXCL8t(3-74))K11R/G31P); basiliximab; ciclosporina A; SDZ RAD (40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina); FR235222 (Astellas Pharma); daclizumab; anakinra; AF12198 (Ac-Phe-Glu-Trp-Thr-Pro-Gly-Trp-Tyr-Gln-L-azetidina-2-carbonil-Tyr-Ala-Leu-Pro-Leu-NH_2); ou combinações destes.

Antagonistas de fator de ativação de plaquetas

Os antagonistas de fator de ativação de plaquetas são contemplados para uso, em combinação com as formulações de imunomodulação aqui reveladas. Os antagonistas de fator de ativação de plaquetas incluem, como exemplo apenas, kadsurenona, fomactina G, ginsenosides, apafant (4-(2-clorofenil)-9-metil-2[3(4-morfolinil)-3-propanol-1-il[6H-tieno[3.2f][1.2.4]triazol]4,3-1]]1.4]diazepina), A-85783, BN-52063, BN-52021, BN50730 (tetrahedra-4,7,8,10 metil-1 (cloro-1 fenil)-6 (metoxi-4 fenil-carbamoil)-9 pirido[4,3'-4,5]tieno[3,2-f]triazolo-1,2,4[4,3-a]diazepine-1,4), BN 50739, SM-12502, RP-55778, Ro 24-4736, SR27417A, CV-6209, WEB 2086, WEB 2170, 14-desoxiandrografolide, CL 184005, CV-

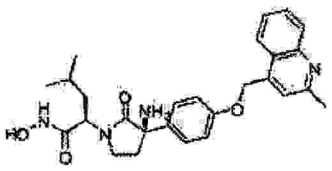
3988, TCV-309, PMS-601, TCV-309, e combinações destes

Inibidor de enzima de conversão de TNT-α (TACE)

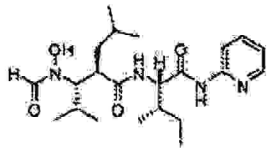
TNF-α é inicialmente expresso na superfície celular como uma proteína precursora de 233 aminoácidos de 26 kDa, ligada à membrana. A clivagem proteolítica do TNT-α ligado à membrana pela enzima de conversão de TNF-α de metaloproteinase ocorre entre Ala-76 e Val-77 e resulta em um TNF-α de 17 kDa maduro que existe como um trímero solúvel. A inibição da clivagem proteolítica pode fornecer uma alternativa para o uso de terápicos com base em proteína em terapia antiinflamatória. Uma complicação potencial, no entanto, é que TACE está envolvido no processamento de outras proteínas além de TNF-α. Por exemplo, em um experimento clínico de fase II, indicações de efeitos tóxicos no fígado ocorreram como um resultado de inibição de TACE (Car *e cols.*, *Society of Toxicology*, 46th Annual Meeting, Charlotte, North Carolina, 25-29 de março de 2007). A hipótese para essa toxicidade com base em mecanismo é que TACE também age em outras proteínas ligadas a membrana, como TNFRI e TNFRII.

Embora as toxicidades após a administração oral sejam problemáticas para um fármaco administrado sistemicamente, a liberação local ao local da ação supera esse problema. O inibidor GW3333 tem uma IC_{50} de TACE de 40 nM e uma IC_{50} de 0,97 μM para inibição da produção de TNF-α nas células PBMC humanas induzidas por LPS (Conway *e cols.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (2001), 298:900). O análogo A de nitroarginina tem uma IC_{50} de TACE de 4 nM e uma IC_{50} de 0,034 μM para inibição da produção de TNF-α nas células MonoMac-6 induzidas por LPS (Musso *e cols.*, *Bioorg. Med, Chem, Lett.*

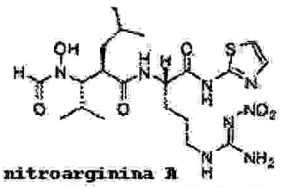
(2001), 11:2147), mas é desprovido de atividade oral. Uma revisão científica de inibidores da enzima de conversão de TNF-α foi publicada (Skotnicki *e cols.*, *Annual Reports in Medicinal Chemistry* (2003), 38, 153-162), aqui incorporada por referência para tal revelação.



BMS-561392



GW3333



análogo de nitroarginina A

Portanto, em uma modalidade, a formulação anti-TNF otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de TACE. Em outra modalidade, a formulação anti-TNF otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de TACE que induz toxicidade após administração sistêmica. Em modalidades adicionais, a formulação anti-TNF otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de TACE que não é absorvido por oral. Em outra modalidade, a formulação anti-TNF otogicamente aceitável de liberação controlada compreende um inibidor de TACE selecionado de análogo A de nitroarginina, GW3333, TMI-1, BMS-561392, DPC-3333, TMI-2, BMS-566394, TMI-005, apratastat, GW4459, W-3646, 1K-682, GI-5402, GI-245402, BB-2983, DPC-A38088, DPH-067517, R-618 ou CH-138.

Inibidores de receptor *Toll-like*

Os receptores *Toll-like* (TLR) são uma família de pelo menos 12 receptores intracelulares e de superfície celular de reconhecimento padrão. A família é definida pela presença de dois domínios: um domínio de ligação a ligante com múltiplas repetições ricas em leucina, e um domínio de receptor *Toll-like* curto; o último controlando a iniciação de cascatas de sinalização abaixo. Em certos casos, os receptores são ativados pela ligação de moléculas estruturalmente conservadas (ou seja, os "padrões") encontradas em patógenos. Cada receptor reconhece e se liga a moléculas conservadas específicas encontradas em patógenos (por exemplo, TLR2-lipopeptídeos; TLR3-dsRNA viral; TLR4 LPS; TLR5 flagelina; TLR9 CpG DNA). Em certos casos, a ligação de um TLR a um patógeno inicia a cascata de sinalização de TLR que finalmente leva à ativação de várias citocinas, quimiocinas, e respostas imunes específicas para antígeno e não específicas. Em certos casos, a expressão de TLR2 e/ou TLR4 é supra-regulada após exposição a *Hemophilus influenzae* não tipável (NTHi). A infecção por NTHi é uma causa comum de otite média.

Acredita-se que os receptores *toll-like* pertencem a uma classe de receptores não catalíticos que transpõem a membrana única, que reconhecem moléculas estruturalmente conservadas derivadas de micróbios, tenham um papel chave no sistema imune inato. Os receptores *toll-like* assim reconhecem moléculas que são amplamente partilhadas por patógenos, mas são distinguíveis das moléculas hospedeiras. Esses receptores formam uma superfamília com receptores de Interleucina-1, e têm em comum um domínio de receptor *Toll-*

like. Os agonistas de receptor *Toll-like*, como CQ-07001, podem estimular a função de receptor *Toll-like*, despertando a atividade antiinflamatória e de regeneração tecidual. Os moduladores de receptor *Toll-like*, assim, têm significância para uso em distúrbios do ouvido interno, que incluem AIED, e doenças do ouvido médio, que incluem otite média. Em algumas modalidades, os moduladores de receptor *Toll-like* incluem antagonista de receptor *Toll-like*, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico, e/ou antagonista ortostérico. Outros moduladores de receptor toll-like incluem, sem limitação, ácido poliinosínico-policitidílico (poli(I:C, poliAU, outras moléculas de ácido nucléico, que incluem agonistas de dsRNA (como AMPIAGEN®, Hemispherx, Inc., Rockville MD; e POLIADENUR® Ipsen), que são também contemplados no escopo das modalidades aqui reveladas.

Em algumas modalidades, o inibidor de TLR é um anticorpo ST2; sST2-Fc (proteína de fusão de Fc de IgG1 humana ST2 solúvel de murídeo funcional: veja Biochemical and Biophysical Research Communications, 29 de dezembro de 2006, vol, 351, no 4, 940-946, que é aqui incorporado por referência para revelação relacionada a sST2-Fc); CRX-526 (Corixa); lipídeo IV_A; RSLA (*Rhodobacter sphaeroides* lipídeo A); E5531 ((6-O-{2-desoxi-6-O-metil-4-O-fosfono-3-O-[(R)-3-Z-dodec-5-endoiloxidecil]-2-[3-oxo-tetradecanoilamino]-β-O-fosfono-α-D-glucopiranose, sal tetrasódico); E5564 (α-D-Glucopiranose,3-O-decil-2-desoxi-6-O-[2-desoxi-3-O-[(3R)-3-metoxidecil]-6-O-metil-2-[[(11Z)-1-oxo-11-octadecenil]amino]-4-O-fosfono-β-D-glucopiranosil]-2-[(1,3-dioxotetradecil)amino]-1-

(dihidrogênio fosfato), sal tetrassódico); composto 4a (hidrocinamoil-L-valil pirrolidina; veja PNAS, 24 de junho de 2003, vol. 100, no. 13, 7971-7976, que é aqui incorporado por referência para revelações relacionadas ao composto 4a); CPG 52364 (Coley Pharmaceutical Group); LY7294002 (2-(4-Morfolinil)-8-fenil-4H-1-benzopiran-4-ona); PD98059 (2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-1-Benzopiran-4-ona); cloroquina; e um oligonucleotídeo regulador imune (para revelações relacionadas a IROs, veja a Publicação de Pedido de Patente US. No. 2008/0089883),

Agentes autoimunes

São também contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que reduzem ou melhoram os sintomas ou efeitos como um resultado de doença autoimune, que incluem doença autoimune do ouvido interno (AIED). Portanto, algumas modalidades podem incorporar o uso de agentes que bloqueiam os efeitos de TNF-α, que incluem, sem limitação, agentes anti-TNF. Como exemplo apenas, alguns agentes anti-TNF incluem etanercept (ENBREL®), infliximab (REMICADE®) e adalimumab (HUMIRA®), ou combinações destes. Outros agentes farmacêuticos para tratar distúrbios autoimunes incluem agentes quimioterapêuticos, que incluem citoxan, azatiaprina ou metotrexato; tratamento com colágeno, gama globulina, interferons, copaxona, ou combinações destes.

Moduladores de IL-1

Interleucina-1 (IL-1) é uma citocina pleiotrópica que tem um papel na modulação de inflamação local bem como sistêmica, regulação imune e hemopoiese. IL-1β, um membro da família de IL-1, foi implicada nos processos de

angiogênese, que incluem angiogênese tumoral. Em adição, IL-1 mostrou estimular a sintase de eicosanóides inflamatórios em macrófagos, fibroblastos, células sinoviais e condrócitos, e deve contribuir para a ativação de leucócitos e destruição tecidual em modelos de artrite. A interferência com a atividade de IL-1, portanto, é uma abordagem para o desenvolvimento de uma terapia de modificação de doença para doenças inflamatórias crônicas, como AIED e otite média. Em algumas modalidades, os moduladores de IL-1 incluem um antagonista de IL-1, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico, e/ou antagonista ortostérico. Em algumas modalidades, moduladores de IL-1 incluem, sem limitação, anticorpos que reconhecem especificamente subunidades de IL-1 ou seus receptores, proteínas, peptídeos, ácidos nucléicos, e terápicos de molécula pequena. Em algumas modalidades, os moduladores de IL-1 são antagonistas de IL-1, que incluem, por exemplo, AF12198, antagonistas naturais de IL-1, fragmentos de receptor inativo que se ligam a molécula de IL-1, e moléculas anti-senso ou fatores que bloqueiam a expressão de proteínas de citocina IL-1. Em algumas modalidades, os antagonistas de IL-1 são anticorpos de IL-1 que incluem, como exemplo, imakinra (Kinarett®) e ACZ885 (Canakinumab®). Em algumas modalidades, moduladores de IL-1 são anticorpos que modulam citocinas e/ou fatores de crescimento que afetam a liberação e/ou a expressão de IL-1, que incluem, como exemplo, ranibizumab, tefibazumab e bevacizumab. Em algumas modalidades, moduladores de IL-1 são armadilhas de IL-1 que se anexam a IL-1 e neutralizam IL-1 antes que ele

possa se liga aos receptores de superfície celular e incluem, sem limitação, rilonocept (Arcalyst®).

RNAi

Em algumas modalidades, quando é desejada inibição ou infra-regulação de um alvo (por exemplo, genes que codificam uma ou mais calcineurinas, IKKs, TACEs, TLRs ou citocinas), a interferência com RNA é utilizada. Em algumas modalidades, o agente que inibe ou infra-regula o alvo é uma molécula de siRNA. Em certos casos, a molécula de siRNA inibe a transcrição de um alvo por interferência de RNA (RNAi). Em algumas modalidades, um RNA de molécula de filamento duplo (dsRNA) com seqüências complementares a um alvo é gerado (por exemplo, por PCR). Em algumas modalidades, uma molécula de siRNA de 20-25 bp com seqüências complementares a um alvo é gerada. Em algumas modalidades, a molécula de siRNA de 20-25 bp tem *overhangs* de 2-5 bp na extremidade 3' de cada filamento, e um terminal 5' fosfato e um terminal 3' hidroxil. Em algumas modalidades, a molécula de siRNA de 20-25 bp tem extremidades rombas. Para técnicas para geração de seqüências de RNA, veja *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, segunda edição (Sambrook *e cols.*, 1989) e *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*terceira edição (Sambrook and Russel, 2001), aqui referidos como "Sambrook"; *Current Protocols in Molecular Biology* (F. M. Ausubet *e cols.*, eds., 1987, que incluem suplementos até 2001); *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry* John Wiley & Sons, Inc., New York, 2000), que são aqui incorporados por referência para tal revelação.

Em algumas modalidades, a molécula de dsRNA ou siRNA é

incorporada em uma microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável de liberação controlada, hidrogel, lipossomo, gel curável por radiação actínica, gel de liberação de solvente, xerogel, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado no ouvido interno. Em algumas modalidades, a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável, o gel curável por radiação actínica, gel de liberação de solvente, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível é injetado através da membrana da janela redonda. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, gel curável por radiação actínica, gel de liberação de solvente, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado na cóclea, no órgão de Corti, labirinto vestibular, ou uma combinação destes.

Em certos casos, após a administração da molécula de dsRNA ou siRNA, as células no local de administração (por exemplo, as células da cóclea, órgão de Corti e/ou o labirinto vestibular) são transformadas com a molécula de dsRNA ou siRNA. Em certos casos após a transformação, a molécula de dsRNA é clivada em múltiplos fragmentos de cerca de 20-25 bp para gerar moléculas de siRNA. Em certos casos, os fragmentos têm *overhangs* de cerca de 2 bp na extremidade 3' de cada filamento.

Em certos casos, uma molécula siRNA é dividida em dois

filamentos (o filamento guia e o filamento anti-guia) por um complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC). Em certos casos, o filamento guia é incorporado no componente catalítico de RISC (ou seja, argonauta). Em certos casos, o filamento guia se liga a uma seqüência de mRNA alvo complementar. Em certos casos, RISC cliva o mRNA alvo. Em certos casos, a expressão do gene alvo é infra-regulada.

Em algumas modalidades, uma seqüência complementar a um alvo é ligada em um vetor. Em algumas modalidades, a seqüência é colocada entre dois promotores. Em algumas modalidades, os promotores são orientados em direções opostas. Em algumas modalidades, o vetor faz contato com uma célula. Em certos casos, uma célula é transformada com o vetor. Em certos casos após a transformação, filamentos senso e anti-senso da seqüência são gerados. Em certos casos, os filamentos senso e anti-senso hibridizam para formar uma molécula de dsRNA que é clivada em moléculas de siRNA. Em certos casos, os filamentos hibridizam para formar uma molécula de iRNA. Em algumas modalidades, o vetor é um plasmídeo (por exemplo, pSUPER; pSUPER,neo; pSUPER.neo+gfp).

Em algumas modalidades, o vetor é incorporado em um a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável de liberação controlada, hidrogel, lipossomo, ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado no ouvido interno. Em algumas modalidades, a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo

ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado na cóclea, órgão de Corti, labirinto vestibular, ou uma combinação destes.

Moduladores da pressão auricular

Aquaporina

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que tratam distúrbios do ouvido, e/ou modulam as células e estruturas do ouvido. Em certos casos, uma aquaporina é envolvida na homeostasia do fluido. Em certos casos, mRNA de AQP2 é elevado em ratos tratados com vasopressina acima dos níveis observados em animais de controle. Em certos casos, aquaporina-1 é expressa na cóclea e saco endolinfático. Em certos casos, aquaporina-1 é expressa no ligamento espiral, órgão de Corti, a *scala tympani* e o saco endolinfático. Aquaporina-3 é expressa na estria vascular, ligamento espiral, órgão de Corti, gânglio espiral e saco endolinfático. Em certos casos, o mRNA de aquaporina 2 (AQP2) é elevado acima dos níveis normais em indivíduos com hidropisia endolinfática.

Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam uma aquaporina. Em algumas modalidades, a aquaporina é aquaporina 1, aquaporina 2 e/ou aquaporina 3. Em algumas modalidades, o agente que modula uma aquaporina (por exemplo, aquaporina 1, aquaporina 2 ou aquaporina 3) é um antagonista de aquaporina, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico e/ou antagonista ortostérico. Em

algumas modalidades, o antagonista de aquaporina, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico e/ou antagonista ortostérico inclui, sem limitação, substância P; RU-486; tetraetilamônio (TEA); um anticorpo anti-aquaporina; uma vasopressina e/ou um antagonista de receptor de vasopressina, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico, e/ou antagonista ortostérico; ou combinações destes.

Moduladores beta de receptor relacionado ao estrogênio

Receptor beta relacionado ao estrogênio (ERR-beta; também conhecido como Nr3b2), um receptor nuclear órfão, é especificamente expresso e controla o desenvolvimento das células produtoras de endolinfa do ouvido interno: as células marginais estriadas na cóclea e as células escuras vestibulares na *ampulla* e utrículo (Chen *e cols. Dev. Cell.* (2007) 13:325-337). A expressão de Nr3b2 foi localizada nas células marginais estriadas secretoras de endolinfa e células escuras vestibulares, cóclea e aparelho vestibular, respectivamente. Estudos em camundongos *knockout* mostraram que as células marginais estriadas nesses animais falham em expressar múltiplos genes de canal de íon e transportador, sugerindo um papel no desenvolvimento e/ou função do epitélio produtor de endolinfa. Além disso, *knockout* condicional do gene de Nr3b2 resulta em surdez e volume diminuído de fluido endolinfático.

Outros estudos sugerem um papel para o receptor relacionado ao estrogênio β/NR3B2 (ERR/Nr3b2) na regulação da produção de endolinfa, e, portanto, pressão no aparelho vestibular/coclear. O tratamento com antagonistas para

ERR/Nr3b2 pode ajudar na redução do volume endolinfático, e assim alterar a pressão nas estruturas do ouvido interno. Portanto, agentes que antagonizam a expressão de ERR/Nr3b2, produção de proteína ou função da proteína são contemplados como úteis com as formulações aqui reveladas.

Proteínas de junção de *GAP*

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que tratam distúrbios do ouvido, e/ou modulam as células e estruturas do ouvido. As junções de gap são conexões intracelulares. Em certos casos, uma junção de gap conecta o citoplasma de duas células. Em certos casos, uma junção de *gap* facilita a passagem de moléculas pequenas (por exemplo, IP_3); e íons entre as células. Em certos casos, as junções de gap são formadas de conexinas (por exemplo, seis conexinas formam um connexon e dois connexons formam uma junção de *gap*). Há múltiplas conexinas (por exemplo, Cx23, Cx25, Cx26, Cx29, Cx30, Cx30,2, Cx30,3, Cx31, Cx31,1, Cx31,9, Cx32, Cx33, Cx36, Cx37, Cx39, Cx40, Cx40,1, Cx43, Cx45, Cx46, Cx47, Cx50, Cx59 e Cx62). Em certos casos, Cx26 e Cx43 são expressos em um limbo espiral, um ligamento espiral, uma estria vascular, células do órgão de Corti. Em certos casos, surdez não sindrômica é associada a mutações nos genes (por exemplo, G.1132) que codificam conexinas (por exemplo, Cx26). Em certos casos, a perda de audição sensorineural é associada a mutações nos genes que codificam conexinas (por exemplo, Cx26). Em certos casos, a expressão de Cx26 e Cx43 é supra-regulada em um colesteatoma. Em certos casos, a expressão de Cx26 é supra-regulada após trauma acústico. Em certos casos, junções de *gap* facilitam o movimento de íons

de K^+ na endolinfa.

Portanto, algumas modalidades aqui reveladas incorporam o uso de agentes que modulam proteínas de junção de *gap*. Em algumas modalidades, a proteína de junção de *gap* é uma conexina. Em algumas modalidades, o agente que modula a conexina é um agonista de conexina, agonista parcial e/ou modulador alostérico positivo da conexina. Em algumas modalidades, o agonista de conexina, agonista parcial e/ou modulador alostérico positivo inclui, sem limitação, astaxantana; rotigaptide; adenosina; hormônio de liberação de corticotropina; ou combinações destes.

Vasopressina e Receptor de vasopressina

Vasopressina (VP) é um hormônio que tem uma parte importante na homeostasia circulatória e de água. Esse hormônio é sintetizado por células neuro-secretoras localizadas predominantemente em dois núcleos hipotalâmicos específicos, o núcleo supraótico e o núcleo paraventricular. Esses neurônios têm axônios que terminam no lobo neural da glândula pituitária posterior (neurohipófise) em que elas liberam vasopressina. Os três subtipos de receptor de vasopressina (VP1a, VP1b e VP2) pertencem à família de receptor ligado à proteína G e têm diferentes distribuições de tecido. O receptor VP1a é predominantemente localizado no músculo liso vascular, hepatócitos e plaquetas. O receptor VP1b é encontrado na pituitária anterior. Os receptores VP2 são localizados no duto coletor do rim e regulam a apresentação de canais de aquaporina-2 na superfície celular apical. O efeito de modulação do subtipo VP2 fornece alterações prontamente observadas no volume da urina e níveis de eletrólitos para

determinar os efeitos farmacológicos de anti-diurese.

A vasopressina regula a osmolaridade sistêmica por controle do volume e composição da urina. A vasopressina é secretada em resposta a aumentos na tonicidade do plasma (estímulo muito sensível) ou a diminuições no volume do plasma (estímulo menos sensível). Vasopressina regula principalmente o volume urinário por ligação ao receptor de VP no duto coletor do rim. O receptor de VP também existe no ouvido interno de roedores, e aquaporina-2 (AQP2), uma proteína de canal de água mediada por VP, é também expresso (Miami *e cols.*, *Neuroreport* (1997), 8:2289-92). A homeostasia de água do fluido do ouvido interno foi confirmada para ser regulada com o uso do sistema VP-AQP2 (Takeda *e cols. Hear Res* (2000). 140:1-6; Takeda *e cols. Hear Res.* (2003), 182:9-14). Um estudo recente focou na expressão tecidual de VP2 e AQP2 no saco endolinfático humano por imunohistoquímica e notou que VP2 e AQP2 estavam localizados na camada epitelial do saco endolinfático, mas não no tecido conjuntivo circundante (Taguchi *e cols.*, *Laryngoscope* (2007), 117:695-698). Estudos sobre a administração sistêmica de vasopresina no porquinho-da-índia mostraram o desenvolvimento de hidropisia endolinfática (Takeda e cols., *Hear Res* (2000), 140:1-6). Adicionalmente, os camundongos *knockout* de aquaporina-4, embora saudáveis, são surdos (Beitz *e cols.*, *Cellular and Molecular Neurobiology* (2003) 23(3):315-29). Isso sugere que o transporte de água e solutos em uma maneira similar àquela do rim pode ter um papel na homeostasia do fluido do saco endolinfático. Uma proteína mutante de receptor de VP2 humano (D136A) foi identificada e caracterizada como

constitutivamente ativa (Morin e *cols.*, *FEBS Letters* (1998) 441(3):470-5). Essa ativação independente de hormônio do receptor de VP2 pode ter um papel na etiologia de condições como doença de Ménière.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que tratam distúrbios do ouvido, e/ou modulam as células (por exemplo, células sensoriais auriculares) e estruturas do ouvido. Em certos casos, VP está envolvida na homeostasia do fluido. Em certos casos, VP está envolvida na homeostasia da endolinfa e/ou perilinfa. Em certos casos, um aumento no volume da endolinfa aumenta a pressão nas estruturas vestibular e coclear. Em certos casos, os níveis plasmáticos de VP são elevados acima dos níveis normais em hidropisia endolinfática e/ou doença de Ménière.

Moduladores de receptor de vasopressina

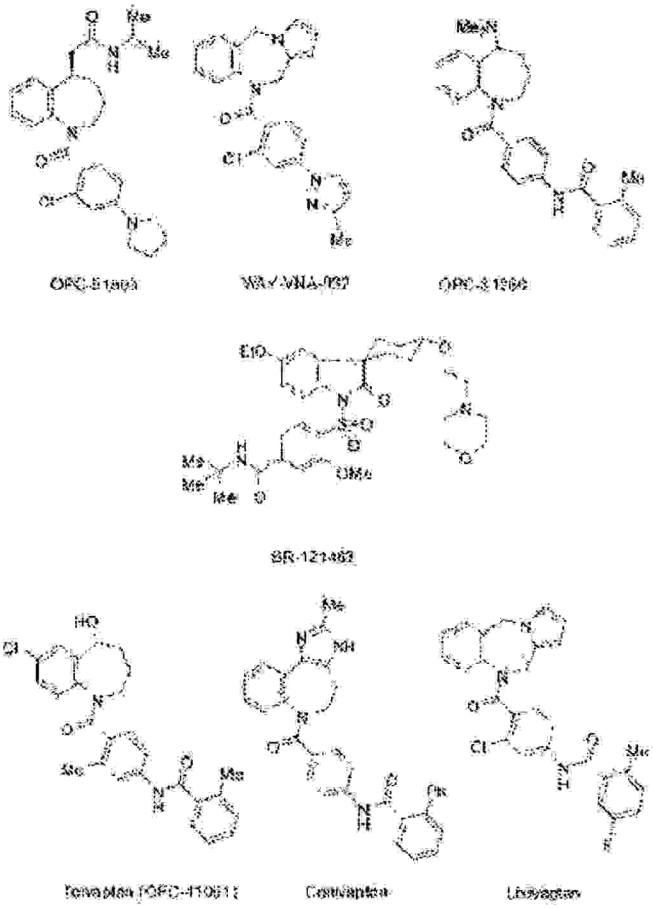
Moduladores de receptor de vasopressina podem ser diferenciados com base em sua eficácia em relação ao hormônio peptídico de vasopressina. Um receptor de vasopressina totalmente agonista é um imitador do peptídeo nativo. Um antagonista de receptor de vasopressina bloqueia o efeito do peptídeo—A nativo. Um agonista parcial pode servir como um imitador do peptídeo nativo e induz uma resposta parcial, ou na presença de níveis elevados do peptídeo nativo, um agonista parcial compete com o peptídeo nativo pela ocupação do receptor e fornece uma redução na eficácia, em relação ao peptídeo nativo isoladamente. Para um receptor de vasopressina com atividade constitutiva, um agonista inverso serve para reverter a atividade do receptor.

Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam vasopressina e/ou um receptor de vasopressina. Em algumas modalidades, os agentes que modulam vasopressina ou um receptor de vasopressina são um antagonista de vasopressina e/ou um receptor de vasopressina, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico e/ou antagonista ortostérico. Em algumas modalidades, um antagonista de vasopressina e/ou de receptor de vasopressina, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico, e/ou antagonista ortostérico inclui, sem limitação, um anticorpo anti-vasopressina; um anticorpo anti-receptor de vasopressina; lítio; OPC-31260 ((±)-5-dimetilamino-1-(4-[2-metilbenzoilamino]benzoil)-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzazepin hidrocloreto); WAY-140288 (N-[4-[3-(Dimetilaminometil)-10,11-dihidro-5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10-ilcarbonil]-2- metoxifenil]bifenil-2-carboxamida); CL-385004 (5-flúor-2-metil-N-[5-(5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepina-10(1H)-ilcarbonil)-2-piridinil]benzamida); relcovaptan, lixivaptan (VPA-985); tolvaptan; conivaptan; SR 121463A (1-(4-(N-terc-butilcarbamoil)-2-metoxibenzenossulfonil)-5-etoxi-3-spiro-(4-(2-morfolinoetoxi)ciclohexano)indol-2-ona fumarato); SR-49059 ((2S)-1-[[(2R,3S)-5-Cloro-3-(2-clorofenil)-1-[(3,4-dimetoxifenil)sulfonil]-2,3-dihidro-3-hidroxi-1H-indol-2-il]carbonil]-2-pirrolidinacarboxamide). Lixivaptan (VPA 985); AC-94544 (ACADIA Pharmaceuticals Inc.); AC 88324 (ACADIA Pharmaceuticals Inc.); AC-110484 (ACADIA Pharmaceuticals Inc.); ou combinações destes

Estudos recentes sugeriram um papel para vasopressina na regulação da pressão do ouvido interno por regulação da produção de endolinfa, assim mediando a pressão presente nas estruturas vestibular e coclear (Takeda *e cols. Hearing Res.* (2006) 218:89-97). Tratamento com antagonistas de vasopressina, que incluem OPC-31260, resultou na redução marcante de sintomas da doença de Ménière. Portanto, os antagonistas da vasopressina são contemplados como úteis com as formulações aqui reveladas. Exemplos de antagonistas da vasopressina incluem, sem limitação, OPC-31260, WAY-140288, CL-385004, tolvaptan, conivaptan, SR 121463A, VPA 985, valium (diazepam), benzodiazepinas, e combinações destes. O teste dos antagonistas da vasopressina pode incluir testes e cálculos da redução de hidropisia com tratamento em um modelo animal de porquinho-da-índia. Veja, por exemplo, Chi *e cols.* "The quantification of endolymphatic hydrops in an experimental animal model with guinea pigs", *Oto-Rhino-Latynol* (2004) 66:56-61.

Agonistas do receptor de VP2 são conhecidos, que incluem OPC-51803 e análogos relacionados (Kondo *e cols.*, *J. Med. Chem.* (2000) 43:4388; Nakamura *e cols.*, *Br. J. Pharmacol*, (2000) I29(8):1700; Nakamure *e cols.*, *J. Pharmaeol, Exp, Thor.* (2000) 295(3):1005) e WAY-VNA-932 (Caggiano, *Drugs Gut* (2002) 27(3):248). Antagonistas do receptor de VP2 incluem lixivaptan, tolvaptan, conivaptan, SR-121463 e OPC-31260 (Martin e *cols.*, *J. Am. Soc. Nephrol.* (1999) 10(10):2165; Gross *e cols.*, *Exp. Physiol*, (2000) 85: Spec No 253S; Wong e cols., *Gastroent April* 2000, vol 118, 4 Suppl. 2, Part I); Norman e cols., *Drugs Gut.* (2000), 25(11):1121; Inoue *e cols.*, *Clin, Pharm. Therap.* (1998)

63(5):561). Em testes contra o receptor de VP2 mutante constitutivamente ativado, D136A, SR1211463 e OPC-31260 se comportaram como agonista inverso (Mofin e *cols.*, *FEBS Letters* (1998) 441(3):470-75),



Modulador de receptor de NMDA

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento de ou melhora de distúrbios da audição como zumbido. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de

agentes que modulam receptores de NMDA.

Em certos casos, a super-ativação dos receptores de NMDA glutamato por uma ligação de quantidades excessivas de glutamato resulta na abertura excessiva dos canais de íons sob seu controle. Em certos casos, isso resulta em níveis anormalmente altos de Ca^{2+} e Na^{+} que entram nos neurônios. Em certos casos, o influxo de Ca^{2+} e Na^{+} no neurônio ativa múltiplas enzimas que incluem, sem limitação, fosfolipases, endonucleases e proteases. Em certos casos, a super-ativação dessas enzimas resulta em zumbido, e/ou dano ao citoesqueleto, membrana plasmática, mitocôndria e DNA do neurônio. Em certos casos, o modulador de receptor de NMDA neramexano trata e/ou melhora os sintomas de zumbido.

Em algumas modalidades, os agentes que modulam o receptor de NMDA são um antagonista de receptor de NMDA. Em algumas modalidades, os agentes que modulam um receptor de NMDA são um antagonista receptor de NMDA, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo antagonista alostérico e/ou antagonista ortostérico. Em algumas modalidades, o agente que antagoniza o receptor de NMDA inclui, sem limitação, 1-aminoadamantano, dextrometorfano, dextrorfan, ibogaina, quetamina, óxido nitroso, fenciclidina, riluzol, tiletamina, memantina, neramexano, dizocilpina, aptiganel, remacimida, 7-cloroquinurenato, DCKA (ácido 5,7-dicloroquinurênico), ácido quinurênico, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico (ACPC), AP7 (ácido 2-amino-7-fosfonoheptanoico), APV (R-2-amino-5-fosfonopentanoato), CPPene (ácido 3-(R)-2-carboxipiperazin-4-il]-prop-2-enil-fosfônico); (+)-(1S,2S)-1-(4-hidroxi-fenil)-2-(4-hidroxi-4-fenilpiperidino)-1-pro-

panol; (1S,2S)-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-hidroxi-4-fenilpiperidino)-1-propanol; (3R,4S)-3-(4-(4-fluorfenil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-croman-4,7-diol; (1R*,2R*)-1-(4-hidroxi-3 -metilfenil)-2-(4-(4-flúor-fenil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-propan-1-ol-mesilato; e/ou combinações destes.

Moduladores de receptor ENaC

O canal de sódio epitelial (ENaC, canal de sódio não neuronal I (SCNN1) ou canal de sódio sensível a amilorida (ASSC)) é um canal de íon ligado a membrana que é permeável aos íons Li^+, prótons e íons Na^+. O ENaC está localizado na membrana apical de células epiteliais polarizadas e está envolvido no transporte transepitelial de íons Na^+. Na^+/K^+-ATPase está também envolvida no transporte de Na^+ e homeostasia do íon.

ENaC tem um papel na homeostasia dos íons Na^+ e K^+ do sangue, epitélio e fluidos extraepiteliais por reabsorção de íons Na^+. Moduladores da atividade de ENaC modulam a pressão auricular e incluem, como exemplo, o mineralcorticoide aldosterona, triamterena e amilorida.

Diuréticos osmóticos

São contemplados para uso com as composições aqui reveladas agentes que regulam a pressão auricular. Portanto, algumas modalidades compreendem diuréticos osmóticos. Um diurético osmótico é uma substância que produz um gradiente osmótico entre dois espaços. Em certos casos, um diurético osmótico produz um gradiente osmótico entre os espaços endolinfático e perilinfático. Em certos casos, um gradiente osmótico entre os espaços endolinfático e perilinfático exerce um efeito de desidratação sobre o

espaço endolinfático. Em certos casos, a desidratação do espaço endolinfático diminui a pressão auricular.

Portanto, em algumas modalidades das composições e formulações aqui reveladas, o modulador da pressão auricular é um diurético osmótico. Em algumas modalidades, o diurético osmótico é ertritol, manitol, glicose, isossorbida, glicerol; uréia; ou combinações destes.

Em alguns casos, são contemplados para uso em combinação com as formulações auriculares de modulação da pressão aqui reveladas agentes diuréticos. Um agente diurético é um fármaco que eleva a taxa de micção. Tais diuréticos incluem triamtereno, amilorida, bendroflumetiazida, hidroclorotiazida, furosemida, torsemida, bumetanida, acetazolamida, dorzolamida, e combinações destes.

Receptores de Progesterona

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes auriculares terapêuticos que tratam distúrbios (por exemplo, inflamação) do ouvido, e/ou modulam as células e estruturas do ouvido. Progesterona é um hormônio esteroidal. Em certos casos, a progesterona é um ligante para um receptor de progesterona. Em certos casos, a progesterona é encontrada no cérebro. Em certos casos, a progesterona afeta o funcionamento sináptico. Em certos casos, a progesterona é associada à perda parcial ou completa da audição. Em certos casos, mulheres que tomam progesterona e estrogênio experimentaram maior perda de audição que mulheres que tomam estrogênio isoladamente (por exemplo, cerca de 10% a cerca de 30%).

Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de

agentes que modulam progesterona e/ou um receptor de progesterona. Em algumas modalidades, os agentes que modulam progesterona e/ou um receptor de progesterona são um antagonista de progesterona e/ou de receptor de progesterona, um agonista parcial, um agonista inverso, um agonista neutro ou competitivo, um antagonista alostérico e/ou um antagonista ortostérico. Em outras modalidades, os agentes que modulam progesterona e/ou um receptor de progesterona incluem, sem limitação, RU-486((11b,1 b)-11-[4-(Dimetilamino)fenil]-17-hidroxi-17-(1-propinil)-estra-4,9-dien-3-ona); CDB-2914 (17α-acetoxi-11β-[4-N,N-dimetil aminofenil]-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona); CDB-4124 (17α-acetoxi-21-metoxi-11β-[4-N,N-dimetilaminofenil]-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona); CDB-4453 (17α-acetoxi-21-metoxi-11β-[4-N-metilaminofenil]-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona); RTI 3021-022 (Research Triangle Institute); ZK 230211 (11-(4-acetilfenil)-17-hidroxi-17-(1,1,2,2,2-pentafluorotil)estra-4,9-dien-3-ona); ORG 31710 (11-(4-dimetilaminofenil)-6-metil-4',5'-dihidro(estra-4,9-dieno-17,2'-(3H)-furan)-3-ona); ORG 33628 (Organon); onapristona (ZK 98299); asoprisnil; ulipristal; um anticorpo anti-progesterona; um anticorpo de anti-receptor de progesterona, ou combinações destes.

Prostaglandinas

Prostaglandinas são membros de um grupo de compostos derivados de ácido graxo e, dependendo do subtipo, participam em várias funções, que incluem controle da constrição ou dilatação em células de músculo liso vascular, agregação ou desagregação de plaquetas, sensibilização de neurônios espinhais à dor, aumento ou

diminuição na pressão intraocular, regulação de mediação inflamatória, regulação de movimento de cálcio, controle da regulação hormonal e controle da regulação hormonal. As prostaglandinas têm funções parácrinas e autócrinas, e são uma subclasse de compostos eicosanóides.

Os análogos da prostaglandina, como latanoprost, travoprost, unoprostona, minprostin F2 alfa e bimtoprost, reduzem a pressão intraocular em pacientes com glaucoma por aumento do fluxo uveoscleral, possivelmente através de mecanismos de vasodilatação, além de efeitos sobre a rede trabecular. Em modelos animais de perda de audição sensorineural repentina, a exposição a ruídos induz a produção de 8-isoprostaglandina F2α na cóclea, concomitante com um aumento na vasoconstrição, e reduz o fluxo de sangue. Tratamento com SQ29548, um antagonista específico de 8-isoprostaglandina F2α, evita essas alterações induzidas por ruído no fluxo de sangue coclear e condutância vascular. Além disso, o análogo de prostaglandina JB004/A melhora a audição, e trata os sintomas de zumbido e vertigem em pacientes que sofrem de doença de Ménière. A inibição da função da prostaglandina F2α também reduz zumbido em pacientes que sofrem de doença de Ménière, bem como melhora a audição e vertigem. Finalmente, as prostaglandinas estão envolvidas em inflamação crônica associada a otite média.

Portanto, uma modalidade aqui revelada é o uso de moduladores de prostaglandina, que incluem latanoprost, travoprost, unoprostona, minprostin F2-alfa, bimtoprost e SQ29548 e JB004/A (Syriphora AB), para melhorar ou diminuir os distúrbios do ouvido interno e ouvido médio, que incluem

doença de Ménière, zumbido, vertigem, perda de audição e otite média.

RNAi

Em algumas modalidades, quando a inibição ou infra-regulação de um alvo é desejada (por exemplo, genes ERR e Nr3b2), interferência de RNA é utilizada. Em algumas modalidades, o agente que inibe ou infra-regula o alvo é uma molécula de siRNA. Em certos casos, a molécula de siRNA é como aqui descrito.

Agentes citotóxicos

Em alguns casos, imunomoduladores e/ou moduladores da pressão auricular são úteis no tratamento de distúrbios inflamatórios auriculares.

Qualquer agente citotóxico útil para o tratamento de distúrbios auriculares, por exemplo, doenças inflamatórias do ouvido ou câncer do ouvido, é adequado para uso nas formulações e métodos aqui revelados. Em certas modalidades, o agente citotóxico é um antimetabólito, um antifolato, um agente alquilante, um intercalador de DNA, um agente anti-TNT, um agente anti-angiogênico, um agente antiinflamatório e/ou um agente imunomodulador. Em algumas modalidades, o agente citotóxico é uma proteína, um peptídeo, um anticorpo, DNA, um carboidrato, uma molécula inorgânica ou uma molécula orgânica. Em certas modalidades, os agentes citotóxicos são moléculas pequenas citotóxicas. Tipicamente, as moléculas pequenas citotóxicas são de peso molecular relativamente baixo, por exemplo, menos que 1.000, ou menos que 600-700, ou entre 300-700 de peso molecular. Em algumas modalidades, as moléculas pequenas citotóxicas também terão propriedades antiinflamatórias.

Em certas modalidades, os agentes citotóxicos são metotrexato (RHEUMATREX®, Ametopterin) ciclofosfamida (CYTOXAN®) e talidomida (THALIDOMID®). Todos os compostos podem ser usados para tratar câncer, que incluem câncer do ouvido. Além disso, todos os compostos têm propriedades antiinflamatórias e podem ser usados nas formulações e composições aqui reveladas para o tratamento de distúrbios inflamatórios do ouvido, que incluem AIED.

Embora a administração sistêmica de metotrexato, ciclofosfamida e talidomida seja atualmente usada para tratar ou esteja sendo investigada para o tratamento de distúrbios auriculares, como distúrbios inflamatórios auriculares, que incluem AIED, doença de Ménière e doença de Behcet, bem como câncer do ouvido, os agentes citotóxicos não são desprovidos de potencial para efeitos colaterais adversos sérios. Além disso, os agentes citotóxicos que demonstram eficácia, mas não são aprovados por considerações de segurança, são também contemplados nas modalidades aqui reveladas. É contemplado que a aplicação localizada dos agentes citotóxicos às estruturas auriculares-alvo para o tratamento de distúrbios autoimunes e/ou inflamatórios, bem como câncer do ouvido, resultará na redução ou eliminação de efeitos colaterais adversos experimentados com tratamento sistêmico. Além disso, o tratamento localizado com os agentes citotóxicos aqui contemplados também reduzirá a quantidade do agente necessária para tratamento eficaz do distúrbio visado, devido, por exemplo, à retenção aumentada dos agentes ativos no ouvido interno e/ou médio, à existência de barreira biológica sangüínea no ouvido interno, ou à

ausência de acesso sistêmico suficiente ao ouvido médio.

Em algumas modalidades, os agentes citotóxicos usados nas composições, formulações e métodos aqui revelados são metabólitos, sais, polimorfos, pró-fármacos, análogos e derivados de agentes citotóxicos, que incluem metotrexato, ciclofosfamida e talidomida. Particularmente preferidos são metabólitos, sais, polimorfos, pró-fármacos, análogos e derivados de agentes citotóxicos, por exemplo, metotrexato, ciclofosfamida e talidomida, que retêm pelo menos parcialmente a citotoxicidade e propriedades antiinflamatórias dos compostos parentes. Em certas modalidades, análogos de talidomida usados nas formulações e composições aqui reveladas são lenalidomida (REVLIMID®) e CC-4047 (ACTIMID®).

A ciclofosfamida é um pró-fármaco que sofre metabolismo *in vivo* quando administrada sistemicamente. O metabólito oxidado 4-hidroxiciclofosfamida existe em equilíbrio com aldofosfamida, e os dois compostos servem como formas de transporte do agente ativo fosforamida mostarda e o subproduto de degradação acroleina. Portanto, em algumas modalidades, os metabólitos preferidos de ciclofosfamida para incorporação nas formulações e composições aqui reveladas são 4-hidroxiciclofosfamida, aldofosfamida, fosforamida mostarda, e combinações destes.

Outros agentes citotóxicos usados nas composições, formulações e métodos aqui revelados, particularmente para o tratamento de câncer do ouvido, são quaisquer agentes quimioterapêuticos convencionais, que incluem acridina carboxamida, actinomicina, 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina, aminopterina, amsacrina,

antraciclina, antineoplásicos, antineoplastona, 5-azacitidina, azatioprina, BL22, bendamustina, biricodar, neomicina, bortezomib, briostatina, busulfan, caliculina, camptotecina, capecitabina, carboplatina, clorambucil, cisplatina, cladribina, clofarabina, citarabina, dacarbazina, dasatinib, daunorrubicina, deditabina, ácido dicloroacético, diseodermolida, docetaxel, doxorrubicina, epirrubicina, epotilona, ecribulina, estramustina, etoposida, exatecan, exisulind, ferruginol, floxurridina, fludarabina, fluoruracil, fosfestrol, foteraustina, genicitabina, hidroxiuréia, IT-101, idarrubicina, ifosfamida, imiquimod, irinotecan, irofulven, ixabepilona, laniquidar, lapatinib, lenalidomida, lomustina, lurtotecan, mafosfamida, masoprocol, mecloretamina, melfalan, mercaptopurina, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nelarabina, nilotinib, oblimersen, oxaliplatina, PAC-1, paclitaxel, pemetrexed, pentostatina, pipobroman, pixantrona, plicamicina, procarbazina, inibidores de proteassomo (por exemplo, bortezomib), raltitrexed, rebeccamicina, rubitecan, SN-38, salinosporamida A, satraplatina, estreptozotocina, swainsonina, tariquidar, taxano, tegafur-uracil, temozolomida, testolactona, tioTEPA, tioguanina, topotecan, trabectedina, tretinoina, tetranitrato de triplatina, tris(2-cloroetil)amina, troxacitabina, uracil mostarda, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, vorinostat e zosuquidar.

Moduladores da célula sensorial auricular

Em alguns casos, imunomoduladores e/ou moduladores da pressão auricular modulam a função de neurônios e/ou células sensoriais auriculares. São contemplados para uso

com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, promovem o crescimento de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhoria da perda ou redução da audição resultante de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que promovem a sobrevivência de neurônios e células ciliadas auriculares, e/ou o crescimento de neurônios e de células ciliadas auriculares. Em algumas modalidades, o agente que promove a sobrevivência de células ciliadas auriculares é um fator de crescimento. Em algumas modalidades, o modulador de fator de crescimento é um antagonista de modulador de fator de crescimento, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico e/ou antagonista ortostérico.

Aminofostina

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhoria de perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que resgatam neurônios e células ciliadas auriculares da ototoxicidade induzida por cisplatina.

Amifostina (também conhecida como WR-2721, ou ETHYOL®) é um agente citoprotetor. Em certos casos, ela previne ou melhora o dano ao neurônio e células ciliadas auriculares

causado por cisplatin. Em certos casos, doses de 40 mg/kg ou mais são necessárias para proteger contra ou melhorar os efeitos ototóxicos da cisplatina.

Anticorpo de molécula anti-adesão intercelular-1

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas anticorpos para molécula anti-adesão intercelular (ICAM). Em alguns casos, ICAM bloqueia a cascata de espécies de oxigênio reativo associadas à exposição ao ruído. Em alguns casos, a modulação da cascata de espécies de oxigênio reativo associadas à exposição ao ruído melhora ou reduz a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que são anticorpos para ICAMs (por exemplo, anti-ICAM-1Ab, anti-ICAM-2Ab ou outros).

Modulação de Atoh/Math1

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que promovem o crescimento e/ou regeneração de neurônios e/ou células ciliadas auriculares. Atoh1 é um fator de transcrição que se liga a uma caixa *E*. Em certos casos, ele é expresso durante o desenvolvimento das células ciliadas dos sistemas vestibular e auditivo. Em certos casos, camundongos com Atoh1 *knocked-out* não desenvolveram células ciliadas auriculares. Em certos casos, adenovírus que expressam Atoh1 estimulam o crescimento e/ou regeneração de células ciliadas auriculares em porquinhos-da-índia tratados com antibióticos ototóxicos. Portanto, algumas modalidades incorporam a modulação do de Atoh1.

Em algumas modalidades, um indivíduo é administrado com um vetor projetado para carregar o gene de Atoh1 (o

"vetor de Atoh1"). Para a revelação de técnicas para a criação do vetor de Atoh1, veja Pub. U.S. No: 2004/02475750, que é aqui incorporada por referência para aquelas revelações. Em algumas modalidades, o vetor de Atoh1 é um retrovírus. Em algumas modalidades, o vetor de Atoh1 não é um retrovírus (por exemplo, ele é um adenovírus: um lentivírus; ou um sistema de liberação polimérico como METAFECTENE, SUPERFECT®, EFFECTENE® ou MIRUS TRANSIT).

Em algumas modalidades, o vetor de Atoh1 é incorporado em uma microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável de liberação controlada, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado no ouvido interno. Em algumas modalidades, a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo ou gel termorrevesível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado na cóclea, órgão de Corti, o labirinto vestibular, ou uma combinação destes.

Em certos casos, após a administração do vetor de Ato1, o vetor de Ato1 infecta as células no local da administração (por exemplo, as células da cóclea, órgão de Corti e/ou o labirinto vestibular). Em certos casos, a seqüência de Atoh1 é incorporada no genoma do indivíduo (por exemplo, quando o vetor de Atoh1 é um retrovírus). Em

certos casos, a terapia precisará ser periodicamente re-administrada (por exemplo, quando o vetor de Atoh1 não for um retrovírus). Em algumas modalidades, a terapia é re-administrada anualmente. Em algumas modalidades, a terapia é re-administrada semi-anualmente. Em algumas modalidades, a terapia é re-administrada quando a perda de audição do indivíduo é moderada (ou seja, o indivíduo não pode ouvir consistentemente freqüências de menos que 41 db a 55 dB) a profunda (ou seja, o indivíduo não pode ouvir consistentemente freqüências de menos 90 dB).

Em algumas modalidades, um indivíduo é administrado com o polipeptídeo de Atoh1. Em algumas modalidades, o polipeptídeo de Atoh1 é incorporado em microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável de liberação controlada, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável ou micropartícula, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado no ouvido interno. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável ou micropartícula, hidrogel, lipossomo, ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível

é injetado na cóclea, órgão de Corti, o labirinto vestibular, ou uma combinação destes. Em algumas modalidades, a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é colocado em contato com a membrana da janela redonda.

Em algumas modalidades, um indivíduo é administrado com um agente farmaceuticamente aceitável que modula a expressão do gene de Atoh1 ou a atividade do polipeptídeo de Atoh1. Em algumas modalidades, a expressão do gene de Atoh1 ou a atividade do polipeptídeo de Atoh1 é supra-regulada. Em algumas modalidades, a expressão do gene de Atoh1 ou a atividade do polipeptídeo de Atoh1 é infra-regulada.

Em certos casos, um composto que é agonista ou antagonista de Atoh1 é identificado (por exemplo, pelo uso de um rastreamento de alto rendimento). Em algumas modalidades, uma construção é projetada de modo que um gene repórter é colocado abaixo de uma seqüência de caixa -E. Em algumas modalidades, o gene repórter é luciferase, CAT, GFP, β-lactamase ou β -galactosidase. Em certos casos, o polipeptídeo de Atoh1 se liga à seqüência da caixa E e inicia a transcrição e expressão do gene repórter. Em certos casos, um agonista de Atoh1 ajuda ou facilita a ligação de Atoh1 à seqüência da caixa-E, assim aumentando a transcrição e expressão do gene repórter em relação a um nível de expressão de base predeterminado. Em certos casos,

um antagonista de Atoh1 bloqueia a ligação de Atoh1 à caixa E, assim diminuindo a transcrição e expressão do gene repórter em relação a um nível de expressão de base predeterminado.

Moduladores de BRN3

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que promovem o crescimento e/ou regeneração de neurônios e/ou células ciliadas auriculares. BRN-3 é um grupo de fatores de transcrição que incluem, sem limitação, BRN-3a, BRN-3b e BRN-3c. Em certos casos, eles são expressos em células ciliadas pós-mitóticas. Em certos casos, as células ciliadas de camundongos com BRN-3c *knocked-out* não desenvolveram *stereocilia* e/ou sofreram apoptose. Em certos casos, os genes de BRN3 regulam a diferenciação das células de suporte do ouvido interno em células sensoriais do ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam a modulação dos genes e/ou polipeptídeos de BRN3.

Em algumas modalidades, um indivíduo é administrado com um vetor projetado para carregar um gene de BRN3 humano (o "vetor de BRN3"). Em algumas modalidades, o vetor de BRN3 é um retrovírus. Em algumas modalidades, o vetor de BRN3 não é um retrovírus (por exemplo, ele é um adenovírus; lentivírus; ou um sistema de liberação polimérico como METAFECTENE®, SUPERFECT®, EFFECTENE® ou MIRUS TRANSIT®).

Em algumas modalidades, o indivíduo é administrado com o vetor de BRN3 antes, durante ou depois da exposição a um agente ototóxico (por exemplo, um aminoglicosídeo ou cisplatina), ou um som de amplitude suficiente para induzir trauma acústico.

Em algumas modalidades, o vetor de BRN3 é incorporado em uma microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável de liberação controlada, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado no ouvido interno. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável ou micropartícula, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado na cóclea, órgão de Corti, o labirinto vestibular ou uma combinação desses.

Em certos casos, após a administração do vetor de BRN3, o vetor de BRN3 infecta as células no local da administração (por exemplo, as células da cóclea, órgão de Corti, e/ou o labirinto vestibular). Em certos casos, a seqüência de BRN3 é incorporada no genoma do indivíduo (por exemplo, quando o vetor de BRN3 é um retrovírus). Em certos casos, a terapia precisará ser periodicamente re-administrada (por exemplo, quando o vetor de BRN3 não é um retrovírus).

Em algumas modalidades, um indivíduo é administrado com um polipeptídeo de BRN3. Em algumas modalidades, o polipeptídeo de BRN3 é incorporado na microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável de liberação controlada, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável,

hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanosfera ou gel termorreversível é injetado no ouvido interno. Em algumas modalidades, a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é injetado na cóclea, órgão de Corti, o labirinto vestibular, ou uma combinação destes. Em algumas modalidades, a microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo ou gel termorreversível. Em algumas modalidades, a microesfera otogicamente aceitável, hidrogel, lipossomo, tintura, espuma, material esponjoso de formação *in situ*, nanocápsula ou nanoesfera ou gel termorreversível é colocado em contato com a membrana da janela redonda.

Em algumas modalidades, um indivíduo é administrado com um agente farmaceuticamente aceitável que modula a expressão do gene de BRN3 ou a atividade do polipeptídeo de BRN3. Em algumas modalidades, a expressão do gene de BRN3 ou a atividade do polipeptídeo de BRN3 é supra-regulada. Em algumas modalidades, a expressão do gene de BRN3 ou a atividade do polipeptídeo de BRN3 é infra-regulada.

Em algumas modalidades, um composto que reconhece ou antagoniza BRN3 é identificado (por exemplo, pelo uso de um rastreamento de alto rendimento). Em algumas modalidades, uma construção é projetada de modo que um gene repórter é colocado abaixo do sítio de ligação de BRN3. Em algumas modalidades, o sítio de ligação de BRN3 tem a seqüência ATGAATTAAT (SBNR3). Em algumas modalidades, o gene repórter é luciferase, cAT, GFP, β-lactamase ou β -galactosidase. Em certos casos, o polipeptídeo de BRN3 se liga à seqüência de SBNR3 e inicia a transcrição e expressão do gene repórter. Em certos casos, um agonista de BRN3 ajuda ou facilita a ligação de BRN3 à seqüência de SBNR3, assim aumentado a transcrição e expressão do gene repórter em relação a um nível de expressão de base a predeterminado. Em certos casos, um antagonista de BRN3 bloqueia a ligação de BRN3 a SBNR3, assim diminuindo a transcrição e expressão do gene repórter em relação a um nível de expressão de base predeterminado.

Carbamatos

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Em certos casos, os compostos de carbamato protegem os neurônios e células ciliadas auriculares de excitotoxicidade induzida por glutamato. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de compostos de carbamato. Em algumas modalidades, os compostos de carbamato são 2-fenil-

1,2-etanodiol monocarbamatos e dicarbamatos, derivados destes, e/ou combinações destes.

Receptores de estrogênio

Em algumas modalidades, o agente que promove a sobrevivência de células ciliadas auriculares é um agonista de receptor de estrogênio. Em algumas modalidades, o agonista de receptor de estrogênio é um agonista parcial ou agonista inverso.

Em certos casos, o receptor β de estrogênio (ER β) é expresso em uma célula ciliada externa, uma célula ciliada interna, um neurônio do gânglio espiral, ou combinações destes. Em certas modalidades, agonismo de ERα e/ou ERβ melhora a perda de audição que resulta de trauma acústico. Em certas modalidades, o agonismo de ERα e/ou ERβ aumenta e/ou supra-regula a expressão de um gene neurotrofo e/ou a atividade de um polipeptídeo neurotrofo (por exemplo BDNF). Em certas modalidades, o antagonismo de ERα e/ou ERβ aumenta a perda de audição que resulta de trauma acústico. Em certas modalidades, o antagonismo de ERα e/ou ERβ infra-regula a expressão de um gene neurotrofo e/ou a atividade de um polipeptídeo neurotrofo (por exemplo BDNF).

Em algumas modalidades, o agonista de ERα é PPT (4,4',4"-(4-Propil-[1H]-pirazol-1,3,5-triil)trisfenol); SKF-82958 (6-cloro-7,8-dihidroxi-3-alil-1-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina); estrogênio; estradiol; derivados de estradiol, que incluem, sem limitação, 17-β estradiol, estrona, estriol, composições de estrogênio sintético, ou combinações destes. Em algumas modalidades, o agonista de ERβ é ERβ-131,fitoestrogênio, MK 101 (bioNovo); VG-1010 (bioNovo); DPN (diarilpropionitrila); ERB-041; WAY-

202196; WAY-214156; genisteina; estrogênio; estradiol; derivados de estradiol, que incluem, sem limitação, 17-β estradiol, estrona, estriol, composições de estrogênio sintético, ou combinações destes. Outros agonistas de ERβ incluem benzopiranos selecionados e triazolo tetrahidrofluorenonas, revelados na Patente U.S. No, 7.279.499, e Parker *e cols.*, *Bioorg. & Med. Chem. Ltrs*, 16: 4652-4656 (2006), cada um destes aqui incorporado por referência para tal revelação. Em algumas modalidades, um neurotrofo é administrado antes, depois ou simultaneamente com um agonista de receptor β de Estrogênio (ERβ). Em algumas modalidades, o neurotrofo é BDNF, CNTF, GDNF, neurotrofina-3, neurotrofina-4, e/ou combinações destes.

Ácidos graxos

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de ácidos graxos. Em certos casos, a membrana que circunda os neurônios auditivos e o nervo vestibulococlear compreende ácidos graxos. Em certos casos, uma deficiência em ácido graxo ômega-3 resulta em uma resposta diminuída a estímulos auditivos. Em certos casos, deficiência maternal de ácido alfa-linolênico (ALA) leva a descendentes com deficiência de audição. Em algumas modalidades, o ácido graxo inclui, sem limitação, um ácido graxo Omega-3, um ácido graxo Omega-6, ou combinações destes. Em algumas modalidades, o ácido graxo Omega-3 é um ácido linolênico, ácido estearidônico, ácido eicosatrienóico, ácido eicosatetraenóico, ácido eicosapentaenóico, ácido

docosapentaenóico, ácido clupanodônico, ácido docosahexaenóico, ácido tetracosapentaenóico, ácido tetracosahexaenóico (ácido nisínico), ou combinações destes. Em algumas modalidades, o ácido graxo Omega-3 é ácido α-linolênico, ácido docosahexaenóico, ácido eicosapentaenóico, ou combinações destes. Em algumas modalidades, o ácido graxo Omega-6 é ácido linoléico, ácido gama-linolênico, ácido eicosadienóico, ácido dihomo-gama-linolênico, ácido araquidônico, ácido docosadienóico, ácido adrênico, ácido docosapentaenoico, ácido calêndico, ou combinações destes.

Inibidores de Gama-Secretase

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que inibem a sinalização de Notch1. Notch1 é um polipeptídeo de transmembrana que participa no desenvolvimento celular. Em algumas modalidades, os agentes que inibem a sinalização de Notch1 são inibidores de γ-secretase. Em certos casos, a inibição de Notch1 por um inibidor de γ-secretase, após tratamento com um agente ototóxico, resulta na produção de células ciliadas auriculares. Em algumas modalidades, o inibidor de γ-secretase PE LY450139 (hidroxilvaleril monobenzocaprolactama), L685458 (éster terc-butílico de ácido 1S-benzil-4R[1-[1-S-carbamoil-2-fenetilcarbamoil)-1S-

3-metilbutilcarbamoil]-2R-hidroxi-5-fenilpentil}carbâmico); LY411575 (N^2-[(2S)-2-(3,5-ditluorfenil)-2-hidroxietanoil]-N^1[(7S)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-dibenzo[bid]azepin-7il]-L-alaninamida), MK-0752 (Merck), tarenflurbil e/ou BMS-299897 (ácido 2-[(1R)-1-[[(4-clorofenil)sulfonil](2,5-difluorfenil)amino]etil]-5-fluorbenzenopropanóico).

Modulador de receptor de glutamato

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam os receptores de glutamato. Em algumas modalidades, o receptor de glutamato é o receptor de AMPA, o receptor de NMDA e/ou um receptor de mGlu de grupo II ou III.

Em algumas modalidades, os agentes que modulam o receptor de AMPA são um antagonista de receptor de AMPA. Em algumas modalidades, o agente que antagoniza os receptores de AMPA é CNQX (6-ciano-7-nitroquinoxalina-2,3-diona); NBQX (2,3-dihidroxi-6-nitro-7-sulfamoil-benzo[f]quinoxalina-2,3-diona); DNQx (6,7-dinitroquinoxalina-2,3-diona); ácido quinurênico; 2,3-dihidroxi-6-nitro-7-sulfamoilbenzo-[f]-quitioxalina; ou combinações destes.

Em algumas modalidades, os agentes que modulam o receptor de NMDA são um antagonista de receptor de NMDA. Em algumas modalidades, o agente que antagoniza o receptor de NMDA é 1-aminoadamantano, dextrometorfan, dextrorfan,

ibogaina, quetamina, óxido nitroso, fenciclidina, riluzol, tiletamina, memantina, dizocilpina, aptiganel, remacimida, 7-cloroquinurenato, DCKA (ácido 5,7-dicloroquinurênico), ácido quinurênico, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico (ACPC), AP7 (ácido 2-amino-7-fosfonoheptanóico), APC (R-2-amino-5-fosfonopentanoato), CPPene (ácido 3-[(R)-2-carboxipiperazin-4-ili-prop-2-enil-1-fosfônico); (+)-(1S, 2S)-1-(4-hidroxi-fenil)-2-(4-hidroxi-4-fenilpiperidino)-1-propanol; (1S,2S)-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-hidroxi-4-fenilpiperidino)-1-propanol; (3R,4S)-3-(4-(4-fluorfenil)-4-hidroxipiperidin-1-il-)-croman-4,7-diol; (1R*,2R*)-1-(4-hidroxi-3-metilfenil)-2-(4-(4-flúor-fenil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-propan-1-ol-mesilato; e/ou combinações destes.

Em certos casos, a super-ativação dos receptores de glutamato de AMPA e NMDA por uma ligação de quantidades excessivas de glutamato resulta na abertura excessiva do canal de íons sob seu controle. Em certos casos, isso resulta em níveis anormalmente altos de Ca^{2+} e Na^{+} que entram nos neurônios. Em certos casos, o influxo de Ca^{2+} e Na^{+} no neurônio ativa múltiplas enzimas, que incluem, sem limitação, fosfolipases, endonucleases e proteases. Em certos casos, a super-ativação dessas enzimas resulta em dano ao citoesqueleto, membrana plasmática, mitocôndria e DNA do neurônio. Ainda, em certos casos, a transcrição de múltiplos genes pró-apoptóticos e genes anti-apoptóticos é controlada pelos níveis de Ca^{2+}.

Os receptores de mGlu, diferente dos receptores de AMPA e de NMDA, não controlam diretamente um canal de íon. No entanto, em certos casos, eles controlam indiretamente a

abertura do canal de íons pela ativação das cascatas bioquímicas. Os receptores de mGlu são divididos em três grupos. Em certos casos, os membros dos grupos II e III reduzem ou inibem potenciais pós-sinápticos por prevenção ou diminuição da formação de cAMP. Em certos casos, isso causa uma redução na liberação de neurotransmissores, especialmente glutamato. GRM7 é o gene que codifica o receptor de mGlu7, um receptor de grupo III. Em certos casos, o agonismo de mGlu7 resulta em uma diminuição nas concentrações sinápticas de glutamato. Isso melhora a excitotoxicidade de glutamato.

Em algumas modalidades, o receptor de glutamato é um receptor de mGlu de grupo II. Em algumas modalidades, o agente que modula o receptor de mGlu de grupo II é um agonista de receptor de mGlu de grupo II. Em algumas modalidades, agonista de receptor de mGlu de grupo II é LY389795 ((-)-2-tia-4-aminobiciclo-hexano-4,6-dicarboxilato); LY379268 ((-)-2-oxa-4-aminobiciclo-hexano-4,6-dicarboxilato); LY354740 ((+)-2-aminobiciclo-hexano-2,6-dicarboxilato); DCG-IV ((S,2'R,3'R)-2-(2',3'-dicarboxiciclopropil)glicina); 2R,4R-APDC(2R,4R-4-aminopirrolidina-2,4-dicarboxilato), (S)-3C4HPG ((S)-3-carboxi-4-hidroxifenilglicina); (S)-4C3HPG((S)-4-carboxi-3-hidroxifenilglicina); L-CCG-I ((2S,1'S,2'S)-2-(carboxiciclopropil)glicina); e/ou combinações destes.

Em algumas modalidades, o receptor de mGlu é um receptor de mGlu de grupo III. Em algumas modalidades, o receptor de mGlu de grupo III é mGlu7. Em algumas modalidades, o agente que modula o receptor de mGlu de grupo III é um agonista de receptor de mGlu de grupo III.

Em algumas modalidades, o agonista de receptor de mGlu de grupo III é ACPT-I (ácido (1S,3R,4S)-1-aminociclopentano-1,3,4-tricarboxílico); L-AP4 (ácido L-(+)-2-Amino-4-fosfonobutírico); (S)-3,4-DCPG((S)-3,4-dicarboxifenilglicina); (RS)-3,4-DCPG((RS)-3,4-dicarboxifenilglicina); (RS)-4-fosfonofenilglicina ((RS)PPG); AMN082 (N'-bis(difenilmetil)-1,2-etanodiamina dihidrocloreto); DCG-IV ((2S,2'R,3'R)-2-(2',3'-dicarboxiciclopropil)glicina); e/ou combinações destes. Em algumas modalidades, o receptor de mGlu é mGlu7. Em algumas modalidades, o agonista de mGlu7 é AMN082. Em algumas modalidades, o modulador de receptor de mGlu é ácido 3,5-dimetil pirrol-2,4-dicarboxílico 2-propil éster 4-(1,2,2-trimetil-propil)éster (3,5-dimetil PPP); 3,3'-difluorbenzaldazina (DFB), 3,3'-dimetoxibenzaldazina (DMeOB), 3,3'-diclorobenzaldazina (DCB) e outros moduladores alostéricos de $mGluR_5$ revelados em *Mol. Pharmacol.* 2003, 64, 731-740; (E)-6-metil-2-(fenildiazenil)piridin-3-ol (SIB 1757); (E)-2-metil-o-stirilpiridina (SIB 1893); 2-metil-6-(feniletinil)piridina (MPEP), 2-metil-4-((6-metilpiridin-2-il)etinil)tiazol (MTEP); 7-(Hidroxiimino)ciclopropa[b]cromen-1α-acarboxilato etil éster (CPCCOEt), N-ciclohexil-3-metilbenzo[ditiazolo[3,2-a]imidazol-2-carboxamida (YM-298198), triciclo[3.3.3.1]nonanil quinoxidina-2-carboxamida (NPS 2390); 6-metoxi-N-(4-metoxifenil)quinazolin-4-amina (LY 456239); antagonistas de mGluR1 revelados em WO2004/058754 e WO2005/009987; 2-(4-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,6,7,8-tetrahidroquinazolin-2-iltio)etanol; 3-(5-(piridin-2-il)-2H-tetrazol-2-il)benzonitrila, 2(2-

metoxi-4-(4-(piridin-2-il)oxazol-2-il)fenil)acetonitrila; 2-(4-(benzo[dioxazol-2-il)-2-metoxifenil)acetonitrile; 6-(3-metoxi-4-(piridin-2-il)fenil)imidazo[2,1-b]tiazol; (S)-(4-fluorfenil)(3-(3-(4-fluorfenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il) piperidin-1-il)metanone (ADX 7273), e/ou combinações destes.

Em algumas modalidades, um modulador de receptor de glutamato é um agente nootrópico. São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes nootrópicos que modulam a sinalização neuronal por ativação de receptores de glutamato. Em alguns casos, os agentes nootrópicos tratam ou melhoram a perda de audição (por exemplo, NIHL) ou zumbido. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes nootrópicos que incluem, sem limitação, piracetam, oxiracetam, Aniracetam, Pramiracetam, Fenilpiracetam (Carphedon), Etiracetam, Levetiracetam, Nefiracetam, Nicoracetam, Rolziracetam, Nebracetam, Fasoracetam, Coluracetam, Dimiracetam, Brivaracetam, Seletracetam e/ou Rolipram para o tratamento de NIHL ou zumbido.

Fatores do crescimento

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, promovem a sobrevivência e/ou crescimento de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que promovem a sobrevivência de

neurônios e células ciliadas auriculares, e/ou o crescimento de neurônios e de células ciliadas auriculares. Em algumas modalidades, o agente que promove a sobrevivência de células ciliadas auriculares é um fator do crescimento. Em algumas modalidades, o fator do crescimento é um neurotrofo. Em certos casos, os neurotrofos são fatores do crescimento que previnem que as células iniciem apoptose, reparam neurônios e células ciliadas auriculares danificados, e/ou induzem diferenciação em células progenitoras. Em algumas modalidades, o neurotrofo é fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator neurotrófico ciliar (CNTF), fator neurotrófico derivado de linhagem de células da glia (GDNF), neurotrofina-3, neurotrofina-4, e/ou combinações destes. Em algumas modalidades, o fator de crescimento é um fator de crescimento de fibroblasto (FFF), um fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), um fator de crescimento epidérmico (EGF), um fator de crescimento derivado de plaquetas (PGF), e/ou agonistas destes. Em algumas modalidades, o fator do crescimento é um agonista do receptor de fator do crescimento de fibroblasto (FGP), o receptor de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), o receptor de fator de crescimento epidérmico (EGF), e/ou o fator de crescimento derivado de plaquetas (PGF). Em algumas modalidades, o fator do crescimento é fator do crescimento de hepatócito.

Em algumas modalidades, o fator do crescimento é um fator de crescimento epidérmico (EGF). Em algumas modalidades, o EGF é heregulina (HRG). Em certos casos, HRG estimula a proliferação de epitélio sensorial utricular. Em certos casos, receptores de ligação a HRG são encontrados

no epitélio vestibular e sensorial auditivo.

Em algumas modalidades, o fator do crescimento é um fator de crescimento semelhante à insulina (IGF). Em algumas modalidades, o IGF é IGF-1. Em algumas modalidades, o IGF-1 é mecasermin. Em certos casos, IGF-I atenua o dano induzido pela exposição a um aminoglicosídeo. Em certos casos, IGF-I estimula a diferenciação e/ou maturação de células do gânglio coclear.

Em algumas modalidades, o agonista de receptor de FGF é FGF-2. Em algumas modalidades, o agonista de receptor de IGF é IGF-I. Tanto receptores de FGF quanto receptores de IGF são encontrados nas células que compreendem o epitélio do utrículo.

Em algumas modalidades, o fator do crescimento é fator do crescimento de hepatócito (HGF). Em alguns casos, HGF protege as células ciliadas cocleares de dano induzido por ruído e reduz a troca de limiares de ABR causada por exposição ao ruído.

São também contemplados para uso nas formulações auriculares aqui descritas fatores do crescimento que incluem Eritropoietina (EPO), fator estimulante de colônia de granulócito (G-CSF), fator estimulante de colônia de granulócito-macrófago (GM-CSF), fator de diferenciação de crescimento-9 (GDF9), fator do crescimento semelhante à insulina (IGF), Miostatina (CDF-8), fator do crescimento derivado de plaquetas (PDGF), Trombopoietina (TPO), fator do crescimento de transformação alfa (TGF-α), fator do crescimento de transformação beta (TGF-β), fator do crescimento endotelial vascular (VEGF), ou combinações destes.

Neurotrofos

Em algumas modalidades, o fator do crescimento é um neurotrofo. Em certos casos, neurotrofos são fatores do crescimento que previnem células de iniciar a apoptose, reparam neurônios e células ciliadas auriculares danificadas, e/ou induzem diferenciação em células progenitoras. Em algumas modalidades, o neurotrofo é fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator neurotrófico ciliar (CNTF), fator neurotrófico derivado de linhagem de células da glia (GDNF), neurotrofina-3, neurotrofina-4, e/ou combinações destes.

Em algumas modalidades, o neurotrofo é BDNF. Em certos casos, BDNF é um neurotrofo que promove a sobrevivência de neurônios existentes (por exemplo, neurônios do gânglio espiral), e células ciliadas auriculares por reparação de células danificadas, inibição da produção de ROS, e inibição da indução de apoptose. Em certas modalidades, ele também promove a diferenciação de progenitores de célula neural e ciliar auricular. Além disso, em certas modalidades, ele protege o nervo craniano VII de degeneração. Em algumas modalidades, BDNF é administrado junto com fator do crescimento de fibroblasto.

Em algumas modalidades, o neurotrofo é neurotrofina-3. Em certas modalidades, neurotrofina-3 promove a sobrevivência de neurônios existentes e células ciliadas auriculares, e promove a diferenciação de progenitores de célula neural e ciliar auricular. Além disso, em certas modalidades, ele protege o nervo VII da degeneração.

Em algumas modalidades, o neurotrofo é CNTF. Em certas modalidades, CNTF promove a síntese de neurotransmissores e

o crescimento de neurite. Em algumas modalidades. CNTF é administrado junto com BDNF.

Em algumas modalidades, o neurotrofo é GDNF. Em certas modalidades, a expressão de GDNF é aumentada por tratamento com agentes ototóxicos. Além disso, em certas modalidades, as células tratadas com GDNF exógeno têm maiores taxas de sobrevivência após trauma do que as células não tratadas.

Células do sistema imune

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de células que participam na reparação de células ciliadas auriculares e neurônios. Em algumas modalidades, as células que participam na reparação de células ciliadas auriculares e neurônios são macrófagos, microglia, e/ou células microglia-*like*. Em certos casos, a concentração de macrófagos e microglia aumenta em ouvidos doentes por tratamento com agentes ototóxicos. Em certos casos, as células microglia-*like* eliminam os restos do órgão de Corti e participam na reparação estrutural das células ciliadas após tratamento com o antibiótico ototóxico neomicina.

Agentes ototóxicos

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que destroem neurônios e/ou células ciliadas auriculares. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que fatalmente danificam e/ou

induzem apoptose nos neurônios e/ou células ciliadas auriculares do ouvido. Em algumas modalidades, os agentes que fatalmente danificam e/ou induzem apoptose nos neurônios e/ou células ciliadas auriculares do ouvido são os antibióticos aminoglicosídeos (por exemplo, gentamicina, e amicacina), os antibióticos macrolídeos (por exemplo, eritromicina), os antibióticos glicopeptídicos (por exemplo vancomicina), os diuréticos em alça (por exemplo, furosemida), ácido salicílico e nicotina.

Modulação da proteína de retinoblastoma

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, promovem o crescimento de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Também são contemplados nesta especificação agentes que destroem neurônios e/ou células ciliadas auriculares. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam a proteína de retinoblastoma (pRB). pRB é um membro da família de *pocket* proteína. Ele é codificado pelo gene RB1. Em certos casos, ele inibe a transição de fase G1 para S por ligação e inativação da família E2f de fatores de transcrição. Em certos casos, ele também regula a diferenciação e sobrevivência de células ciliadas. Em certos casos, camundongos *knock-out* com pRB demonstram proliferação aumentada de células ciliadas.

Em algumas modalidades, o agente que modula um ou mais dos pRB é um agonista de pRB. Em algumas modalidades, os

agentes que modulam um ou mais dos pRB é um antagonista de pRB. Em certos casos, um composto que reconhece ou antagoniza pRB é identificado (por exemplo, pelo uso de um rastreamento de alto rendimento). Em algumas modalidades, uma construção é projetada de modo que um gene repórter é colocado abaixo de uma seqüência de ligação de E2f. Em algumas modalidades, a seqüência de ligação é TTTCOCGC. Em algumas modalidades, o gene repórter é luciferase, CAT, GFP, β-lactamase ou β -galactosidase. Em certos casos, E2f se liga à seqüência de ligação, causando a transcrição e expressão do gene repórter. Em certos casos, um agonista de pRB causa um aumento na ligação de pRB a E2f. Em certos casos, o aumento na ligação de pRB e E2f resulta em uma diminuição na transcrição e expressão do gene repórter. Em certos casos, um antagonista de pRB causa uma diminuição na ligação de pRB a E2f. Em certos casos, a diminuição na ligação em pRB e E2f resulta em um aumento na transcrição e expressão do gene repórter.

Em algumas modalidades, o agente que modula pRB é uma molécula de siRNA. Em certos casos, a molécula de siRNA é como aqui descrita.

Ácido salicílico

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda de audição ou redução que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de ácido salicílico. Em certos casos, quando administrado antes do

tratamento com um aminoglicosídeo, ele protege as células ciliadas auriculares e neurônios do gânglio espiral da ototoxicidade dos aminoglicosídeos.

Bloqueadores do canal de sódio

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e células ciliadas, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Em certos casos, a excitotoxicidade causa a abertura excessiva de canais de Na^+. Em certos casos, isso resulta em excesso de íons Na^+ que entram no neurônio. Em certos casos, o excesso de influxo de íons Na^+ no neurônio faz o neurônio se desgastar mais freqüentemente. Em certos casos, essa descarga aumentada gera um acúmulo rápido de radicais livres e compostos inflamatórios. Em certos casos, os radicais livres danificam a mitocôndria, esgotando os estoques de energia das células. Além disso, em certos casos, os níveis em excesso de íons Na^+ ativam níveis em excesso de enzimas que incluem, sem limitação, fosfolipases, endonucleases e proteases. Em certos casos, a super-ativação dessas enzimas resulta em dano ao citoesqueleto, membrana plasmática, mitocôndria e DNA do neurônio sensorial. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que antagonizam a abertura de canais de Na^+. Em algumas modalidades, os bloqueadores de canal de sódio são como aqui descritos.

Células-tronco e células sensoriais auriculares diferenciadas

São contemplados para uso com as formulações aqui

reveladas transplantes de células que suplementam e/ou substituem os neurônios e/ou células ciliadas do ouvido pré-existentes. Em algumas modalidades, o agente é uma célula-tronco. Em algumas modalidades, o agente é uma célula sensorial auricular parcialmente ou totalmente diferenciada. Em algumas modalidades, a célula sensorial auricular diferenciada é derivada de um doador humano. Em algumas modalidades, a célula sensorial auricular diferenciada é derivada de uma célula-tronco, a diferenciação da qual foi induzida sob condições artificiais (por exemplo, laboratório).

As células-tronco são células que possuem a capacidade de se diferenciar em múltiplos tipos de células. As células-tronco totipotentes podem se diferenciar em células embriônicas ou células extraembriônicas. As células pluripotentes podem se diferenciar em células de qualquer uma da origem de endoderma, mesoderma ou ectodema. As células multipotentes podem se diferenciar em células intimamente relacionadas (por exemplo, células-tronco hematopoiéticas). As células unipotentes podem se diferenciar em apenas um tipo de célula, mas, como outras células-tronco, têm a característica de auto-renovação. Em algumas modalidades, a célula-tronco é totipotente, pluripotente, multipotente ou unipotente. Além disso, as células-tronco podem sofrer divisão mitótica sem se diferenciarem (ou seja, auto-renovação).

As células-tronco embriônicas (ES) são células-tronco derivadas de tecido epiblasti da massa de células internas de um blastocisto ou embrião em estágio anterior. As células ES são pluripotentes. Em algumas modalidades, a

célula-tronco é uma célula ES. As células-tronco adultas (também conhecidas como células somáticas ou células de linhagem germinativa) são células isoladas de um organismo desenvolvido em que as células possuem a característica de auto-renovação, e a capacidade de se diferenciarem em múltiplos tipos de células. As células-tronco adultas são pluripotentes (por exemplo, células-tronco encontradas em sangue do cordão umbilical), multipotentes ou unipotentes. Em algumas modalidades, a célula-tronco é uma célula-tronco adulta.

Em algumas modalidades, uma célula-tronco e/ou uma célula sensorial auricular diferenciada é administrada em combinação com um agente de estimulação da diferenciação. Em algumas modalidades, o agente de estimulação da diferenciação é um fator do crescimento. Em algumas modalidades, o fator do crescimento é uma neurotrofina (por exemplo, fator do crescimento de nervo (NGF), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), neurotrofina-3 (NT-3), neurotrofina-4 (NT-4) ou nova neurotrofina-1 (NNT1)). Em algumas modalidades, o fator do crescimento é EGF, IGF, PGF, ou combinações destes.

Em algumas modalidades, uma célula-tronco e/ou uma célula sensorial auricular diferenciada é administrada a um indivíduo em necessidade como um agente de liberação controlada. Em algumas modalidades, uma célula-tronco e/ou uma célula sensorial auricular diferenciada é administrada a um indivíduo em necessidade como um agente de liberação imediata (por exemplo, em uma suspensão de células) em combinação com um agente de modulação de célula sensorial auricular de liberação controlada. Em algumas modalidades,

um agente de modulação de célula sensorial auricular de liberação controlada é um vetor que compreende um gene de Atoh1 ou BRN3, uma seqüência de siRNA que visa Rb1, um fator do crescimento, ou combinações destes.

Em algumas modalidades, uma célula-tronco e/ou uma célula sensorial auricular diferenciada é administrada à cóclea ou labirinto vestibular. Em algumas modalidades, uma célula-tronco e/ou uma célula sensorial auricular diferenciada é administrada por meio de injeção intratimpânica, e/ou uma incisão pós-auricular. Em algumas modalidades, uma célula-tronco e/ou uma célula sensorial auricular diferenciada faz contato com órgão de Corti, nervo vestibulococlear, e/ou crista ampular.

Modulação do receptor do hormônio da tireóide

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, promovem o crescimento de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam os receptores do hormônio da tireóide (TH). Os receptores de TH são uma família de receptores de hormônio nuclear. A família inclui, sem limitação, TRα1 e TRβ. Em certos casos, camundongos *knock-out* de TRβ demonstram uma responsividade diminuída a estímulos auditivos, e uma diminuição na corrente de K^+ em células ciliadas.

Em algumas modalidades, os agentes que modulam um ou mais dos receptores de TH são um agonista de um ou mais

receptores de TH. Em algumas modalidades, o agonista de um ou mais dos receptores de TH é T3(3,5,3'-triiodo-L-tironina); KB-141 (ácido 3,5-dicloro-4-(4-hidroxi-3-isopropilfenoxi)fenilacético): GC-1 (ácido 3,5-dimetil-4-(4'-hidroxi-3'-isopropilbenzil)-fenoxi acético); GC-24 (ácido 3,5-dimetil-4-(4'-hidroxi-3'-benzil) benzilfenoxiacético); sobetirome (QRX-431); 4-OH-PCB106 (4-OH-2',3,3',4',5'-pentaclorobifenil); MB07811 ((2R,4S)-4-(3-clorofenil)-2-[(3,5-dimetil-4-(4-hidroxi-3-isopropilbenzil) fenoxi)metil]-2-oxido-[1,3,2]-dioxafosfonano); MB07344 (ácido 3,5-dimetil-4-(4-hidroxi-3-isopropilbenzil)fenoxi) metilfosfônico); e combinações destes. Em certos casos, KB-141; GC-1; sobetiroma; e GC-24 são seletivos para TRβ.

Modulação de TRPV

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a degeneração de neurônios e células ciliadas, e agentes para o tratamento ou melhora da perda de audição ou redução que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam os receptores de TRPV. Os receptores de TRPV (receptor de potencial de canal transitório tipo vaniloide) são uma família de canais de íons permeáveis ao cálcio não seletivos, entre outros íons. Há seis membros da família: TRPV 1-6. Em certos casos, após o tratamento com kanamicina, TRPV 1 é supra-regulado. Adicionalmente, em certos casos, antagonismo do receptor de TRPV 4 torna os camundongos vulneráveis a trauma acústico. Alem disso, em certos casos, capsaicina, um agonista de TRPV 1, previne

hiperlocomoção após um evento isquêmico.

Em algumas modalidades, os agentes que modulam um ou mais dos receptores de TRPV são um agonista de um ou mais receptores de TRPV. Em algumas modalidades, o agonista de um ou mais receptores de TRPV é capsaicina, resiniferatoxina, ou combinações destes. Em algumas modalidades, a modulação de TRPV inclui os moduladores de TRPV revelados nas publicações de pedidos US 2005/0277643, 2005/0215572, 2006/0194801, 2006/0205773, 2006/0194801, 2008/0175794, 2008/0153857, 2008/0085901, 20080015183, 2006/0030618, 2005/0277646, 2005/0277631, 2005/0272931, 2005/0227986, 2005/0153984, 2006/0270682, 2006/0211741, 2006/0205980, e 2006/0100490, e/ou combinações destes.

Agentes de restauração de célula ciliada sensorial

Em alguns casos, imunomoduladores e/ou moduladores da pressão auricular modulam a função de neurônios e/ou células sensoriais auriculares. Agentes terapêuticos que ajudam a restaurar a presença ou função das células ciliadas sensoriais são também aqui contemplados. Esses agentes terapêuticos ajudam no tratamento de perda de audição em pacientes, incluindo perda de audição sensorineural repentina, presbiacusia e perda de audição por ruído excessivo. Estudos recentes demonstraram o uso de fator do crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) na restauração da função auditiva para pacientes com perda de audição induzida por ruído (Lee e cols., *Otol, Neurotol.* (20(P) 28:976-981). Portanto, agentes de IGF-1, agonistas de IGF-1 ou agentes que supra-regulam a expressão, produção ou função de IGF-1 são opcionalmente incluídos com as formulações aqui descritas.

Moduladores de adenosina

Adenosina compreende adenina anexada a ribofuranose por meio de uma ligação β-N9-glicosídica. Em certos casos, a adenosina é um neurotransmissor inibidor. Em certos casos, ela funciona como um ligante para quatro GPCRs — receptor de adenosina A1, receptor de adenosina A2A, receptor de adenosina A2B e receptor de adenosina A3. Em certos casos, a ligação de adenosina a um receptor de adenosina resulta em um efeito antiinflamatório (parcial ou total). Em certos casos, a ligação de adenosina a um receptor de adenosina resulta em vasodilatação (parcial ou total). Em certos casos, ela é produzida em resposta a dano celular (por exemplo, hipoxia e isquemia). Por exemplo, despolarização e asfixia no ouvido induz a liberação de adenosina na perilinfa em que ela exerce um efeito protetor.

Portanto, em algumas modalidades, os moduladores de adenosina são usados no tratamento de distúrbios cocleares e vestibulares. Em algumas modalidades, o modulador de adenosina é ATL 313 (éster metílico de ácido 4-(3-(6-amino-9-(5-ciclopropilcarbamoil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)-9H-purin-2-il)prop-2-inil)piperidina-1-carboxílico); GW 328267X ((2R,3R,4S,5R)-2-{6-amino-2-[(1-benzil-2-hidroxietil)amino]-9H-purin-9-il}-5-(2-etil-2H-tetrazol-5-il)tetrahidrofuran-3,4-diol); CGS 21680 hidrocloreto (ácido 4-[2-[[6-Amino-9-(N-etil-b-D-ribofuranuronamidosil)-9H-purin-2-il]amino]etil]benzenopropanoico hidrocloreto); CV 1808 (2-Fenilaminoadenosina); p-DITC-APEC (2-[4-[2-[2-[(4-Isotiocianatofenil)tiocarbonilamino]etilaminocarbonil]etil]fenetilamino]-5'-N-etilcarboxamidadenosina); SDZ WAG994 (N-

Ciclohexil-2'-O-metiladenosina); CVT-3146 (regadenoson; 1-(9-(3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il)-6-aminopurin-2-il)pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida); ATL-146e (éster metílico de ácido 4-{3[6-Amino-9-(5-etilcarbamoil-3,4-dihidroxi-tetrahidro-furan-2-il)-9H-purin-2-il]-prop-2-inil-ciclohexanocarboxílico); 5'-n-Etil-carboxamido adenosina; tecadenoson; CVT-510 (N-(3(R)-tetrahidrofuranil)-6-aminopurina riboside); CCPA (2-Cloro-N6-ciclopentiladenosina); CPA (N6-Ciclopentiladenosina); GR 79236 (N-[(1S,2S)-2-Hidroxiciclopentil]adenosina); 2'-MeCCPA; PD 81723 ((2-Amino-4,5-dimetil-3-tienil)-[3-(trifluormetil)fenil]metanona); PSB 36 (1-Butil-8-(hexahidro-2,5-metanopentalen-3a(1H)-il)-3,7-dihidro-3-(3-hidroxipropil)-1H-purina-2,6-diona); ribavirina; CHA (N6-ciclohexiladenosina); GW493838 (GSK); (-)-N6-(2-fenilisopropil)adenosina; GW684067 ((2R,,3R,4S,5R)-5-etinil-2-[6-tetrahidro-2H-piran-4-ilamino)-9H-purin-9-il]tetrahidrofuran-3,4-diol); CVT-3619 (2-(6-((2-hidroxiciclopentil)amino)purin-9-il)-5-((2-fluorfeniltio) metil)oxolano-3,4-diol); 2-Cl-IB-MECA(CF102; 2-cloro-N^6-(3-iodobenzil)-5'-N-metilearbamoiladenosina); HEMADO; IB-MECA (CF 101; N^6-(3-iodobenzil)-5'-N-metilcarbamoiladenosina); CP-532903 (N^6-(2,5-Diclorobenzil)-3'-aminoadenosina-5'-N-metilcarboxamida); CE502 (Can-Fite BioPharma); LJ-529 (2-cloro-N(6)-(3-iodobenzil)-5'-N-metilcarbamoil-4'-tioadenosina); BAA (8-butilaminoadenosina); 6-Amino-2-cloropurina riboside; 2-cloroadenosina; NECA etilcarboxamidoadenosina); APNEA (N6-2-(4-aminofenil)etiladenosina); ou combinações destes.

Moduladores de Atoh1

Agentes de restauração de célula ciliada sensorial adicionais são direcionados a moduladores para os produtos dos genes Atoh1/ (atonal; ATOH), Neurod1 e Neurog1. Atoh1 pertence a uma família de genes básicos Hélice-alça- Hélice (bHLH) que são envolvidos na determinação do destino da célula nos filos e sistemas, tipicamente sendo expressos em precursores de proliferação. Em mamíferos, pelo menos três fatores de transcrição de bHLH são essenciais para o desenvolvimento de neurônio sensorial, incluindo células ciliadas e neurônios sensoriais do ouvido: Atoh1, Neurod1 e Neurog1. Atoh1, em particular, é essencial para a diferenciação da célula ciliada, e tem um papel como um fator de diferenciação de células ciliadas pós-mitóticas. Estudos também mostraram que a expressão de Atoh1, em combinação com Bdnf, forma inervação aferente e eferente em células não diferenciadas de origem epitelial.

Tratamento com proteína de ATOH sustenta o papel de Atoh1 no desenvolvimento de célula ciliada sensorial, induzindo a formação de novas células ciliadas sensoriais em estruturas cocleares, e restauração da audição e fnção de equilíbrio. A terapia genética que usa vetores inseridos com o gene de Atoh1 também sustenta o papel de ATOH na promoção e manutenção da função da célula ciliada sensorial. Portanto, uma modalidade aqui revelada é o uso de proteínas de ATOH ou manipulação da expressão de Atoh1 para induzir o desenvolvimento da célula ciliada sensorial na audição e distúrbios do equilíbrio.

Em modalidades adicionais, um fator do crescimento neurotrófico é administrado ao ouvido interno por meio das formulações aqui descritas para estimular os fatores do

crescimento neurotróficos de célula ciliada do ouvido interno. O dano causado aos neurônios do gânglio espiral remove não apenas a atividade neural, mas também o suporte de neurotrofina que é normalmente suprida por células ciliadas, cuja ausência leva a morte celular via apopotose

Em uma modalidade, o fator do crescimento neurotrófico inclui, sem limitação, fator neurotrófico derivado do cérebro, neurotrofina-3, fator neurotrófico derivado da glia, neurotrofina-4/5, fator do crescimento de nervo, clorfeniltio-cAMP (eptcAMP; um análogo de cAMP), fator neurotrófico derivado ciliar (CNTF) ou combinações desses. Em outro exemplo, o agente de restauração da célula sensorial é um fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Ainda em outro exemplo, o fator do crescimento neurotrófico é neurotrofina-3 (NT-3). Em outros exemplos, o fator do crescimento neurotrófico é fator neurotrófico derivado da glia (CIDNF). Em alguns exemplos, o fator do crescimento neurotrófico é um peptídeo ou proteína. Em outras modalidades, o fator do crescimento neurotrófico estimula ou melhora a sobrevivência do neurônio do gânglio espiral.

Antagonistas de ERR/NR3B2

Estudos também sugeriram um papel para o estrogênio de receptor órfão β/Nr3b2 na regulação da produção de endolinfa, assim possivelmente tendo um papel na mediação da pressão coclear e vestibular no fluido da endolinfa. (Chen *e cols. Dev. cell* (2007) 13:325-337). Portanto, agentes que antagonizam expressãa de ERR/Nr3b2, produção da proteína ou função da proteína são contemplados como úteis com as formulações aqui reveladas.

Moduladores de KCNQ

Moduladores de KCNQ são também contemplados no escopo das modalidades aqui reveladas. As proteínas de KCNQ formam canais de potássio, que têm um papel por prevenção do acúmulo de potássio nas células ciliadas. As concentrações de potássio são altas na endolinfa, proporcionado ao fluido endococlear um potencial positivo alto, que por sua vez, fornece uma grande força para a entrada de potássio na célula ciliada. A função de KCNQ é correlacionada com a sobrevivência da célula ciliada externa (OHC); a inibição de KCNQ altera a homeostasia de potássio, que resulta ao final em degeneração do OM. Portanto, o tratamento do ouvido interno com moduladores de KCNQ, em alguns casos ativadores, é contemplado no escopo das modalidades aqui reveladas como úteis na manutenção da função da célula ciliada sensorial nas estruturas vestibular e coclear.

Moduladores de P2X

Moduladores da função do canal de P2X são também contemplados no escopo das modalidades, para uso, por exemplo, em distúrbios do ouvido interno, como inflamação coclear e perda de audição induzida por ruído. Os canais de P2X, que são ligados por adenosina trifosfato, estão presente se em uma ampla distribuição de tecidos, e têm um papel na transmissão neuronal periférica e central, contração de músculo liso e inflamação. Accredita-se que os nucleotídeos de purina t}em um papel na doença coclear, em que ATP tem um papel citotóxico por meio de apoptose e necrose devido à ativação de receptores de P2X. Por exemplo, a perfusão crônica do espaço perilinfático com ATP causa a proliferação de tecido fibroso e neoosteogênese na

scala tympani. Além disso, a exposição ao ruído e hipóxia causam uma elevação significativa da concentração de ATP nos compartimentos endolinfático e perilinfático, o que pode representar uma resposta adaptativa das células ao dano.

Portanto, uma modalidade é o uso de moduladores de P2X no tratamento de distúrbios coclear e vestibular, que incluem distúrbio da audição e do equilíbrios. Antagonistas e agonistas para os canais de P2X incluem BzATP, TNP-ATP, α,β-meATP, A-317491. PPADS, NT279, meSuramin, acul reativo II, RO-1, amidas de adamantano, RO-3 e 4,5-diarilimidazolinas.

Agentes de modulação do SNC

Em alguns casos, imunomoduladores e/ou moduladores da pressão auricular modulam a atividade do sistema nervoso central.

Anticolinérgicos

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que melhoram distúrbios otológicos, que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que inibem a liberação do neurotransmissor acetilcolina no SNC. Agentes anticolinérgicos são substâncias que bloqueiam acetilcolina no sistema nervoso central e periférico. Eles tratam distúrbios do equilíbrio por supressão da condução nas vias cerebelares vestibulares, assim aumentando a tolerância ao movimento.

Em algumas modalidades, o anticolinérgico é glicopirrolato, bomatropina, escopolamina ou atropina. Em

algumas modalidades, o anticolinérgico é glicopirrolato. Em algumas modalidades, o anticolinérgico é bomatropina. Em algumas modalidades, o anticolinérgico é escopolamina. Em algumas modalidades, o anticolinérgico é atropina.

Anti-histamínicos

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que melhoram os distúrbios otológicos, que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que bloqueiam a ação de neurotransmissores no SNC. Histamina é um neurotransmissor no SNC. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam receptores de histamina (por exemplo, o receptor H1, receptor H2, e/ou o receptor H3). Em algumas modalidades, os anti-histamínicos são como aqui descritos.

Bloqueadores do canal de cálcio

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que melhoram distúrbios otológicos, que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que bloqueiam ou antagonizam canais de Ca^{+}. Os canais de cálcio são canais formados na membrana plasmática de neurônios (entre outras células) por proteínas de membrana integral. Esses canais conduzem Ca+ através de uma membrana plasmática da célula, em neurônios, o fluxo de Ca^{2+} é parcialmente responsável pela criação e propagação de potenciais de ação nos neurônios. Eles também podem ser responsáveis pela liberação de certos neurotransmissores.

Em algumas modalidades, o antagonista de canal de cálcio é cinarizina, flunarizina, ou nimodipina. Em algumas modalidades, o antagonista de canal de cálcio é cinarizina. Em algumas modalidades, o antagonista de canal de cálcio é flunarizina. Em algumas modalidades, o antagonista de canal de cálcio é nimodipina. Outros bloqueadores de canal de cálcio incluem verapamil, diltiazem, omega-conotoxina, GVIA, amlodipina, felodipina, lacidipina, mibefradil, NPPB (ácido 5-Nitro-2-(3-fenilpropilamino)benzóico), flunarizina, e/ou combinações desses

Moduladores de receptor de GABA

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que melhoram distúrbios otológicos, que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam a ação de receptores de GABA no SNC. GABA, ou acido γ-aminobutírico, é um neurotransmissor inibidor no SNC. Ele age nas sinapses inibidoras de processos neuronais pré e pos-sinápticos. A ligação de GABA aos seus receptores (o receptor de $GABA_A$, o receptor de $GABA_B$, e o receptor de $GABA_C$) resulta na abertura de canais de íon, e o fluxo de Cl na célula e/ou K para fora do neurônio. O resultado é a hiperpolarização do neurônio. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que aumentam ou diminuem a sensibilidade dos receptores de GABA, ou ativam os receptores de GABA por imitação de GABA.

A classe de benzodiazepinas de agentes terapêuticos são agonistas do receptor de $GABA_A$. Quando a benzodiazepina se liga ao receptor de $GABA_A$ ela induz uma alteração

conformacional que aumenta a afinidade de GABA por seu receptor. o resultado do aumento na ligação de GABA é um aumento na freqüência com a qual os canais de Cl^- nos neurônios se abrem. Isso causa hiperpolarização da membrana neural. Em algumas modalidades, a benzodiazepina é selecionada d grupo que consiste em alprazolam, bromazepam, brotizolam, clordiazepóxido, clonazepam, clorazepato, diazepam, estazolam, flunitrazepam,flurazepam, loprazolam, lorazepam, lormetazepam, idazolam, nimetazepam, nitrazepam, oxazepam, prazepam, temazepam, triazolam ou combinações desses. Em algumas modalidades, a benzodiazepina é clonazepam, diazepam, lorazepam, ou combinações desses. Em algumas modalidades, a benzodiazepina é diazepam.

Em algumas modalidades, o modulador de receptor de GABA é um diurético de alça. Em algumas modalidades, o diurético de alça é furosemida, bumetanida, ou ácido etacrínico. Em algumas modalidades, o diurético de alça é furosemida. Em algumas modalidades, o diurético de alça é bumetanida. Em algumas modalidades, o diurético de alça é ácido etacrínico. Furosemida, por exemplo, se liga ao receptor de $GABA_A$ e antagoniza de modo reversível correntes incitadas por GABA dos receptores $\alpha 6$, $\beta 2$ e $\gamma 2$. Como exemplo apenas, os diuréticos de alça úteis incluem, sem limitação, furosemida, bumetanida, e ácido etacrínico.

Em algumas modalidades, o modulador de um receptor de GABA é um análogo de GABA. Os análogos de GABA imitam GABA. Portanto, quando ele se liga a um receptor de GABA, o receptor age como se GABA se liga a ele e o receptor é ativado, Em algumas modalidades, o análogo de GABA é gabapentina, pregabalina, muscinol, ou baclofen. Em algumas

modalidades, o análogo de GABA é gabapentina. Em algumas modalidades, o análogo de GABA é pregabalina. Em algumas modalidades, o análogo de GABA é muscimol. Em algumas modalidades, o análogo de GABA é baclofen. Baclofen é um análogo de GABA que se liga e ativa o receptor de $GABA_B$. Muscimol é também um análogo de GABA. Ele é agonista do receptor de $GABA_A$.

Inibidores de recaptação de neurotransmissor

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que melhoram distúrbios otológicos, que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que inibem a recaptação de neurotransmissores no SNC. Em algumas modalidades, o modulador de recaptação de neurotransmissor é um antagonista de um alvo de de recaptação de neurotransmissor, agonista parcial, agonista inverso, agonista neutro ou competitivo, antagonista alostérico, e/ou ortostérico antagonist. Os inibidores de recaptação de neurotransmissor inibem a de recaptação de neurotransmissores em células pré-sinápticas do SNC. Isso aumenta a concentração de neurotransmissor disponível para estimular células pós-sinápticas do SNC.

Em algumas modalidades, os inibidores de de recaptação de neurotransmissor são antidepressivos tricíclicos. Os antidepressivos tricíclicos funcionam por inibição da recaptação dos neurotransmissores norepinefrina e serotonina por células pré-sinápticas. Isso aumenta o nível de serotonina e/ou norepinefrina disponíveis para se ligar ao receptor pós-sináptico. Em algumas modalidades, o

antidepressivo tricíclico é amitriptilina, nortriptilina, ou trimipramina. Em algumas modalidades, o antidepressivo tricíclico é amitriptilina. Em algumas modalidades, o antidepressivo tricíclico é nortriptilina. Em algumas modalidades, o antidepressivo tricíclico é trimipramina.

Em algumas modalidades, o inibidor de de recaptação de neurotransmissor é um inibidor de recaptação de serotonina seletivo. Por inibição da recaptação de serotonina nas células pré-sinápticas, SSRIs aumentam o nível extracelular de serotonina. Isso aumenta o nível de serotonina disponível para se ligar ao receptor pós-sináptico. SSRIs supostamente estimulam novo crescimento neural no ouvido interno.

Em algumas modalidades, o inibidor de de recaptação de serotonina seletivo é fluoxetina, paroxetina, ou sertralina. Em algumas modalidades, o inibidor de de recaptação de serotonina seletivo é fluoxetina. Em algumas modalidades, o inibidor de de recaptação de serotonina seletivo é paroxetina. em algumas modalidades, o inibidor de de recaptação de serotonina seletivo é sertralina.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que melhoram distúrbios otológicos que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que antagonizam receptores de neuroquinina. Há pelo menos três receptores de neuroquinina: NK1, NK2 e NK3. Em certas modalidades, a ligação de um ligante (por exemplo um peptídeo de taquinina, substância P, neuroquinina A e neuroquinina B) a um receptor de neuroquinina induz a

ativação de fosfolipase C. A ativação da fosfolipase C produz inositol trifosfato. Em algumas modalidades, o receptor de neuroquinina é o receptor NK1, o receptor NK2, o receptor NK3 receptor, ou combinações desses. Em algumas modalidades, o receptor de neuroquinina é o receptor NK1. Em algumas modalidades, o antagonista do receptor NK1 é vestipitant.

Em algumas modalidades, o inibidor de SSRI é administrado em combinação com um antagonista de receptor de neuroquinina. Em algumas modalidades, o SSRI é paroxetina e o receptor de neuroquinina é NK1. Em algumas modalidades, o antagonista de receptor NK1 é vestipitant. Em certas modalidades, a co-administração de paroxetina e vestipitant trata os sintomas de zumbido.

Anestésicos locais

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que melhoram distúrbios otológicos, que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que diminuem a taxa de despolarização e repolarização de neurônios, por exemplo, por bloqueio dos canais de Na em membranas de células.

Em algumas modalidades, o modulador do SNC é um anestésico local. Em algumas modalidades, o anestésico local é selecionado do grupo que consiste em: benzocaína, carticaína, cinchocaína, ciclometicaína, lidocaína, prilocaína, propoxicaína, proparacaína, tetracaína, tocainida, e trimecaína. Em algumas modalidades, o anestésico local é lidocaína. Em algumas modalidades, o

anestésico local é tocainida.

Bloqueadores de canal de sódio

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que melhoram distúrbios otológicos, que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que bloqueiam ou antagonizam os canais de Na^+. Os canais de sódio são canais formados na membrana plasmática de neurônios (entre outras células) por proteínas de membrana integral. Esses canais conduzem Na^+ através da membrana plasmática da célula. Em neurônios, o fluxo de Na^+ é parcialmente responsável pela criação e propagação de potenciais nos neurônios.

Em algumas modalidades, o bloqueador de canal de sódio é carbamazepina, oxcarbazepina, fenifeina, ácido valpróico, ou valproato de sódio. Em algumas modalidades, o bloqueador de canal de sódio é carbamazepina. Em algumas modalidades, o bloqueador de canal de sódio é oxcarbazepina. Em algumas modalidades, o bloqueador de canal de sódio é feniteina. Em algumas modalidades, o bloqueador de canal de sódio é ácido valpróico. Em algumas modalidades, o bloqueador de canal de sódio é valproato de sódio.

Em algumas modalidades, o bloqueador de canal de sódio é vinpocetina (éster etílico de ácido (3a,16a)-Eburnamenina-14-carboxílico); sipatrigina (2-{4-Metilpiperazin-1-il)-5-(2,3,5-triclorofenil)-pirimidin-4-amina); amilorida (3,5-diamino-N-(aminoiminometil)-6-cloropirazinacarboxamida cloridrato); carbamazepina (5H-dibenzo[b,f]azepina-5-carboxamida); TTX (octahidro-12-

(hidroximetil)-2-imino-5,9:7,10a-dimetano-10aH-[1,3]dioxocino[6,5-d]pirimidina-4,7,10,11,12-pentol); RS100642 (1-(2,6-dimetil-fenoxi)-2-etilaminopropano cloridrato); mexiletina ((1-(2,6-dimetilfenoxi)-2-aminopropano cloridrato)); QX-314(N-(2,6-Dimetilfenilcarbamoilmetil) brometo de trietilamônio); fenitoina (5,5-difenilimidazolidina-2,4-diona); lamotrigina (6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina-3,5-diamina); 4030W92 (2,4-diamino-5-(2,3-dichorofenil)-6-fluormetilpirimidina); BW1003C87 (5(2,3,5-triclorofenil)pirimidina-2,4-1.1 etanossulfonato); QX-222 (2-[(2,6-dimetilfenil)amino]-N,N,N-trimetil-2-oxoetaniminio cloreto); ambroxol (trans-4-[[(2-Amino-3,5-dibromofenil)metil]amino]ciclo hexanol cloridrato); R56865 (N-[1-(4-(4-fluorfenoxi)butil]-4-piperidinil-N-metil-2-benzo-tiazolamina); lubeluzol; ajmalina ((17R,21alfa)-ajmalan-17,21-diol); procainamida (4-amno-N-(2-dietilaminoetil)benzamida cloridrato); flecainide; riluzol ou combinações desses.

Em algumas modalidades, agentes que diminuem a taxa da despolarização e repolarização de neurônios, por exemplo, por bloqueio dos canais de Na^+ nas membranas das célula incluem anestésicos locais. Em algumas modalidades, o anestésico local é selecionado do grupo que consiste em benzocaína, carticaína, cinchocaína, ciclometicaína, lidocaína, prilocaína, propoxicaína, proparacaína, tetracaína, tocainida, e trimecaína. Em algumas modalidades, o anestésico local é lidocaína. Em algumas modalidades, o anestésico local é tocainida.

Hormônio de liberação de Tirotrofina

São contemplados para uso com as formulações aqui

reveladas agentes que melhoram distúrbios otológicos, que incluem distúrbios vestibulares e/ou zumbido, através da modulação local da atividade do sistema nervoso central (SNC). Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam neurotransmissores. O hormônio de liberação de tirotrofina é um neurotransmissor que inibe a excitação induzida por glutamato de neurônios. Em algumas modalidades, o modulador dos SNC é hormônio de liberação de tirotropina.

Agentes antimicrobianos

Qualquer agente antimicrobiano útil para o tratamento de distúrbios otológicos, por exemplo, doenças inflamatórias do ouvido ou câncer do ouvido, é adequado para uso nas formulações e métodos aqui revelados. Em algumas modalidades, o agente antimicrobiano é um agente antibacteriano, um agente antifúngico, um agente antiviral, um agente antiprotozoário, e/ou um agente antiparasítico. Os agentes antimicrobianos incluem agentes que agem inibindo ou erradicando micróbios, que incluem bactérias, fungos, vírus, protozoários e/ou parasitas. Agentes antimicrobianos específicos são usados para combates micróbios específicos. Portanto, um profissional habilitado saberá qual agente antimicrobiano deve ser relevante ou útil dependendo do micróbio identificado, ou dos sintomas apresentados.

Em algumas modalidades, o agente antimicrobiano é uma proteína, um peptídeo, um anticorpo. DNA, um carboidrato, uma molécula inorgânica, ou uma molécula orgânica. Em certas modalidades, os agentes antimicrobianos são moléculas pequenas antimicrobianas. Tipicamente, as

moléculas pequenas antimicrobianas são de peso molecular relativamente baixo, por exemplo, menos que 1.000, ou menos que 600-700, ou entre 300-700 de peso molecular.

Os agentes antibacterianos incluem amicacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomicina, tobramicina, paramomicina, geldamicina, herbimicina, loracarbef, ertapenem, doripenem, imipenem, cilastatina, meropenem, cefadroxil, cefazolina, cefalotina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, defprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, celobiprol, teicoplanina, vancomicina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina, espectinomicina, aztreonam, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, ineziocilina, meticilina, nafcilina, oxacilina, piperacilina, ticarcilan, bacitracina, colistina, polimixina B, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levoloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina. norfloxacina, ofloxacina, trovfloxacina, mafenida, prontosil, sulfacetamida, sulfametizol, sulfanimilimde, sulfsalazina, sulfsioxazol, trimetoprim, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxtetraciclina, tetraciclina, arsfenamina, cloranfenicol, clindamicina, lincomicina, etambutol, fosfomicina, ácido fusídico, furazolidona, isoniazid, linezolid, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoina, platensimicina, pirazinamida, quinuspristina/dalfopristina, rifampin, tinidazol, AL-15469A (Alcon Research), e AL-38905 (Alcon Research) e

combinações desses

Agentes antivirais incluem aciclovir, famciclovir e valaciclovir. Outros agentes antivirais incluem abacavir, aciclovir, adfovir, amantadina, amprenavir, arbidol, atazanavir, artipla, brivudina, cidofovir, combivir, edoxudina, efavirenz, emtricitabina, enfuvirtida, entecavir, fomvirsen, fosamprenavir, foscarnet, fosfonet, ganciclovir, gardasil, ibacitabina, imunovir, idoxuridina, imiquimod, indinavir, inosina, inibidores da integrase, interferons, que incluem interferon tipo III, interferon tipo II, interferon tipo I, lamivudina, lopinavir, loviride, MK-0518, maraviroc, moroxidina, nelfinavir, nevirapina, nexavir, análogos de nucleosídeo, oseltamivir, penciclovir, peramivir, pleconaril, podofilotoxina, inibidores da protease, inibidores da transcriptase reversa, ribavirina, rimantadina, ritonavir, saquinavir, stavudina, tenofovir, tenofovir disoproxil, tipranavir, trifluridina, trizivir, tromantadina, truvada, valganciclovir, vicriviroc, vidarabina, vimidina, zalcitabina, zanamivir, zidovudina, e combinações desses.

Agentes antifúngicos incluem amrolfina, butenafina, naftifina, terbinaftno, flucitosina, fluconazol, itraconazol, cetoconazol, posaconazol, ravuconazol, voriconazol, clotrimazol, econazol, miconazol, oxiconazol, sulconazol, terconazol, tioconazol, nicomicina Zm caspofungina, micafungina, anidulafungina, nfotericina B, nistatina lipossômica, pimaricina, griseofulvina, ciclopirox olamina, haloprogina, tolnaftato, undecilenato, clioquinol, e combinações desses.

Agentes antiparasíticos incluem amitraz, amoscanato,

avenectina, carbadox, dietilcarbamizina, dimetridazol, diminazeno, ivermectina, macrofilaricide, malation, mitaban, oxamniquina, permetrin, praziquantel, pamoato de prantel, selamectina, estibogluconato de sódio, tiabendazole, e combinações desses.

Em algumas modalidades, os metabólitos farmaceuticamente ativos, sais, polimorfos, pró-fármacos, análogos, e derivados dos agentes antimicrobianos acima discutidos que retêm a capacidade dos agentes antimicrobianos parentes para tratar distúrbios otológicos do ouvido são também úteis nas formulações aqui reveladas.

Moduladores de radical livre

Em alguns casos, imunomoduladores e/ou moduladores da pressão auricular aliviam, evitam, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria.

Antioxidantes

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, evitam, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou a disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que previnem e/ou melhoram o dano causado por radicais livres. Em algumas modalidades, o agentes que previne e/ou melhora o dano causado por radicais livres é um antioxidante.

Os antioxidantes, como aqui revelados, são também úteis como protetores contra agentes ototóxicos através da prevenção de espécies de oxigênio reativo, neutralização de produtos tóxico ou bloqueio da via de apoptose. Resveratrol

(3,5,4'-trihidroxistilbeno), um exemplo representativo de um antioxidante, exerce seus efeitos através de várias vias, que incluem a inibição de MnSOD, que reduz superóxido a H_2O_2, que inibem reações de cadeia de radical livre, reduzindo os níveis de superóxido na célula. Além disso, resveratrol foi envolvido na prevenção de disfunção da célula neuronal e morte celular. Outros antioxidantes incluem sem limitação vitamina E (tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), glutationa, ácido lipóico, ácido alfa lipóico, ácido úrico, carotenos, ubiquinol, melatonina, tocotrienóis, selênio, flavonóides, polifenóis, licopeno, latente, lignan, butil hidroxitolueno, coenzima Q 10, salicilato, ou combinações desses.

Em certas modalidades, nitronas agem sinergicamente com antioxidantes. Em certas modalidades, nitronas arisionam radicais livres. Em algumas modalidades, a uma nitrona (por exemplo, alfa-fenil-terc butilnitrona (PBN), alpurinol) é co-administrada com um antioxidante. Em certas modalidades, uma nitrona co-administrada com um antioxidante trata perda de audição aguda induzida por ruído acústico.

Em algumas modalidades, o antioxidante é N-acetilcisteína; vitamine E (tocoferols e tocotrienóis); vitamina C; vitamina A; luteína; selênio glutationa; melatonina; um polifenol, um carotenóide (por exemplo, glicopeno, carotenos); coenzima Q-10; Ebselen (2-fenil-1, 2-benzisoselenazol3(2H)-ona (também chamado PZ 51 ou DR3305); L-metionina; azulenil nitronas (por exemplo stilbazulenil nitrona); L-(+)-Ergotioneina (sal interno de (S)-a-Carboxi-2,3-dihidro-N,N,N-trimetil-2-tioxo-1H-

imidazol-4-etanamínio); éster fenílicod e ácido cafeico (CAPE); dimetiltiouréia; dimetilsulfóxido; dissufenton sódio (NXY-059; disódio 4-[(Z)-(terc-butil oxidoazaniumilideno)metil]benzeno-1,3-dissulfonato); pentoxifilina; MC1-186 (3-Metil-1-fenil-2-pirazolin-5-ona); Ambroxol (trans-4-(2-Amino-3,5-dibromobenzilamino) ciclohexano-HCl; U-83836E ((-)-2-((4-(2,6-di-1-Pirrolidinil-4-pirimidinil)-1-piperazinil)metil)-3,4-dihidro-2,5,7,8-tetrametil-2H-1-henzopiran-6-ol- 2HCl); MITOQ (mitoquinona mesilato, Antipodean Pharmaceuticals); Idebenona (2-(10-hidroxidecil)-5,6-dimetoxi-3-metil-ciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona); (+)-cianidanol-3; ou combinações desses.

Moduladores de receptor de glutamato

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que modulam a produção de radicais livres e/ou inibem dano à mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam receptores de glutamato. Em algumas modalidades, o receptor de glutamato é o receptor de AMPA, o receptor de NMDA, e/ou um receptor de mGlu de grupo II ou III. Em algumas modalidades, um modulador de receptor de glutamato é como aqui descrito.

Quelantes de ferro.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, reverterm ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incomoram o uso de agentes que previnem e/ou melhoram o dano causados por

radicais livres. Em algumas modalidades, os agentes que previnem e/ou melhoram o dano causado por radicais livres, é m quelante de ferro. O quelante de ferro, deferoxamina, evita o dano ototóxico aop ouvido que resulta de tratamento com neomicina quando ele é co-administrado com neomicina.

Em algumas modalidades, o quelante de ferro é desferrioxamina (DFO); hidroxibenzil etileno diamina; fulerenol-1, pirrolidina ditiocarbamato; desferal; Vk-28 (5-[4-(2-hidroxietil)piperazina-1-ilmetil]-quinolina-8-ol); clioquinol; equinocromo; PIHl (piridoxal isonicotinoil hidrazona); deferasirox; HBED (ácido N,N'-bis(2-hidroxibenzil) etilenodiamina-N,N'-diacético); SIH (salicilaldeído isonicotinoil hidrazona); deferiprona; L1 (1,2-dimetil-3-hidroxi-4- piridona); ácido de Kojic (5-hidroxi-2-hidroximetil-4-pirona); deferoxamina; 2,3 dihidroxibenzoato; ou combinações desses

Moduladores de mitocôndria

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam a atividade da mitocôndria. Em algumas modalidades, os agentes que modulam a atividade da mitocôndria é acetilcamitina; ácido lipóico; ou combinações desses.

Moduladores de sintase de óxido nítrico

São contemplados para uso com as composições aqui reveladas agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos,

desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes no ouvido interno. Óxido nítrico (NO) é um neurotransmissor. Ele é sintetizado por múltiplas sintases de óxido nítrico (NOS) de arginina e oxigênio. Ele é também derivado da redução de nitrato inorgânico. Em certos casos, ele induz a vasodilatação; portanto, aumentando o fluxo de sangue. Em certos casos, ele aumenta o fluxo de sangue coclear. Em certos casos, NO danifica as paredes de vasos sanguíneos. Em certos casos, NO melhora o vazamento de proteína vascular na cóclea. Em certos casos, NO aumenta a sensibilidade das células ciliadas. Em certos casos, NO reage com superóxido para formar o radical livre peroxinitrito. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam óxido nítrico e/ou sintase de óxido nítrico (NOS).

Em algumas modalidades, os agentes que modulam NO e/ou NOS é um antagonista de NO ou NOS. Em algumas modalidades, o antagonista de NO e/ou NOS é aminoguanidina; 1-Amino-2-hidroxiguanidina-p-toluenossulfato; GED (guanidinoetil dissulfeto); bromocriptina mesilato; dexametasona; SDMA (N^G,N^G-Dimetil-L-arginina simétrica); ADMA (N^G,N^G-Dimetil-L-arginina assimétrica); L-NMMA (N^G-monometil-L-arginina); L-NMEA (N^G-monoetil-L-arginina); D-MMA (N^G-monometil-D-arginina); L-NIL (N^G-(1-Iminoetil)-L-lisina cloridrato); L-NNA (N^G-nitro-L-arginina); L-NPA (N^G-propil-L-arginina); L-NAME (N^G-nitro-L-argininametil éster dicloridrato); L-VNIO (N^5-(1-imino-3-butenil)-1-ornitina); difenilenoiodônio cloreto; 2-etil-2-tiopseudouréia; haloperidol; L-NIO (L-N^5-(1-iminoetil)ornitina); MEG (metilecgonidina); SMT (S-metilisotiouréia sulfato); SMTC (S-metil-L-tiocitrulina);

7-Ni(7-nitroindazol); inibidor de nNOS I((4S)-N-(4-Amino-5[aminoetil]aminopentil)-N'-nitroguanidina); 1,3-PBITU (S,S'-1,3-fenileno-bis(1,2-etanodiil)-bis-isotiouréia); L-tiocitrulina; TRIM (1-(2-trifluormetilfenil)imidazol); MTR-105 (S-etilisotiourônio dietilfosfato): BBS-1; BBS -2; ONO-1714 ((1S,5S,6R,7R)-7cloro-3-amino-5metil-2-azabiciclo[4.1.0]heptano cloridrato); GW273629 (3-[[2-[(1-iminoetoil)amino]etil]sulfonil]-L-alanina): GW 274150 (ácido (S)-2-amino-(1-iminoetilamino)-5-tioheptanóico); PPA250 (3-(2,4-difluorfenil)-6-{2-[4-(1H-imidazol-1-ilmetil)fenoxi]etoxi}-2-fenilpiridina); AR-R17477 ([N-(4-(2-((3-clorofenilmetil)amino)etil)fenil)-2-tiofecarboxamidina dicloridrato); AR-R18512 (N(2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-7-il)-2-tiofenocarboximidamida); espiroquinazolona; 1400W (N-[[3-(aminometil)fenil]metil]-etanimidamida dicloridrato); ou combinações desses.

Em algumas modalidades, os agentes que modulam NO e/ou NOS é um agonista de NO e/ou NOS, ou um doador de NO. Em algumas modalidades, o agonista de NO e/ou NOS, ou doador de NO, é S-NC (S-nitrosocisteína); NTG (nitroglicerina); SNP (sódio nitroprusside); tapsigargina: fator do crescimento vascular endotelial (VE(E); bradiquinina; MP; esfingosina-1-fosfato; estrogênio; angiopoietina; acetilcolina; SIN-1 (3-morfolinosidnonimina); GEA 3162 (1,2,3,4-oxatriazólio,5-amino-3-(3,4-dieclorofenil)-cloreto): GEA 3175 (3-(3-cloro-2-metilfenil)-5-[[4-metilfenil)sulfonil]amino]-)hidróxido); GEA 5024 (1,2,3,4-oxatriazolm,5-amino-3-(30cloro-2-metil-fenil)cloreto); GEA 5538 (2,3,4-Oxatriazólio,3-(3-cloro-2-metilfenil)-5-

[[[cianometilamino] carbonil]amino]-hidróxido sal inerno); SNAP (S-nitroso-N-acetilpenicilamina); molsidomina; CNO-4(1-[(4',5'-Bis(carboximetoxi)-2'-nitrofenil)metoxi1-2-oxo-3,3,dietil-1 -triazeno sal dipotássico); CNO-5 ([1-(4',5'-Bis (carboximetoxi)-2'-nitrofenil)metoxi]-2-oxo-3,3-dietil-1-triazina diacetoximetil éster); DEA/NO, IPA/NO, SPER/NO, SULFI/NO, OXI/NO, DETA/NO; ou combinações desses.

Moduladores de Sirtuina

As sirtuínas (ou Proteínas Sir2) compreendem a classe 1H das histonas desacetilases (HDACs). Embora elas sejam classificadas como proteínas desacetilases algumas também funcionam como mono-ADPribosiltransferases. Cada proteína sirtuína tem uma seqüência de núcleo homóloga de 250 aminoácidos. Essa seqüência é altamente conservada em múltiplas espécies. Além disso, para catalisar a desacetilação da proteína, cada sirtuína requer NAD+ como um cofator. Há sete membros da família; Sirt1, Sirt2, Sirt3, Sirt4, Sirt5, Sirt6, e Sirt7. Sirt1 e Sirt3 são proteínas desacetilases. Sirt2 está envolvida na mitose.

O agonismo de Sirt1 gera múltiplos benefícios que foram previamente identificados em indivíduos que passam por restrição de calorias. Esses benefícios incluem, sem limitação, níveis diminuídos de glicose e sensibilidade aumentada à insulina, atividade mitocondrial aumentada, e adiposidade reduzida (devido a repressão medida por Sirt1 de PPAR-γ). Diminuições nos níveis de glicose e adiposidade podem contribuir para a melhora da presbiacusia uma vez que o diabetes e aterosclerose são ambos fatores que contribuem para o desenvolvimento e progressão de presbiacusia.

Sirt1 por prevenir a apoptose por desacetilação dos

genes pró-apoptóticos p53 e Ku-70. Substratos adicionais para Sirt1 incluem, sem limitação, os fatores de transcrição NFκB, Fox01, Fox03a, Fox04, Fox05; o repressor de transcrição Hic1; e Pgc-1α, que regula, entre outras funções celulares, termogênese adaptativa, metabolismo da glicose, e metabolismo de triglicerídeos. O agonismo de Sirt3 resulta em respiração celular aumentada e uma diminuição na produção de espécies de oxigênio reativo (ROS).

O catalisador de desacetilação por sirtuínas é dependente de NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleotídeo). Após ligação a uma proteína acetilada, a sirtuína hidrolisa NAD^+ por quebra da ligação glicosídica entre nicotinamida e ADP-ribose. O grupo acetil da proteína acetilada é então transferidos para ADP-ribose. Ao final da reação de nicotinamida, a proteína desacetilada, e 2^3-O-acetil-ADP-ribose são liberados.

Múltiplos compostos modulam a desacetilação catalisada por sirtuína de proteínas. A administração de certos polifenóis como, sem limitacao, stilbenos, chalconas, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas, catequinas, resulta na diminuição de Km da reação de desacetilação. Além disso, como a nicotinamida livre antagoniza a reação de desacetilação, os compostos que inibem a ligação de nicotinamida a sirtuínas também serão agonistas da atividade de sirtuínas.

A administração do agente agonista de sirtuína resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxistilbeno) diminui a apoptose. Ele também aumenta a captação de glutamato e assim melhora a excitotoxicidade. Além disso, a

administração de resveratrol resulta em níveis menores de espécies de oxigênio reativo (ROS) e assim melhora o dano causado por isquemia„ excitotoxicidade, ototoxicidade causada por cisplatina e aminoglicosídeos, trauma acústico e presbiacusia.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades. os agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína é a stilbeno. Em algumas modalidades, o stilbeno é trans-stilbeno, cis-stilbeno, resveratrol, piceatarmol, rapontin, desoxirapontin, buteina ou combinações desses.

Em algumas modalidades, o stilbeno é resveratrol. Em algumas modalidades, o stilbeno é um análogo de resveratrol, Em algumas modalidades, o análogo de resveratrol é SRT-501 (RM-1821). Para análogos adicionais de resveratrol veja a Pub. De Pedido de Patente U.S. No. 2006/0.276.393, que é aqui incorporado por referência para essa revelação.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria, Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam as reações de

desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades, os agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína é uma chalcona. Em algumas modalidades, a chalcona é chalcona; isoliquirtigen; buteina; 4,2',4'-trihidroxichalcona; 3,4,2',4',6'-pentahidroxichalcona ou combinações desses.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades, os agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína é uma flavona. Em algumas modalidades, a flavona é flavona, morina, fisetina; luteolina; quercetina; kaempferol, apigenina; gossipetina; miricetina; 6-hidroxiapigenina; 5-hidroxiflavona; 5,7,3',4',5'-pentahidroxiflavona; 3,7,3',4',5'-pentahidroxiflavona; 3,6,3',4'-tetrahidroxiflavona; 7,3',4',5'-tetrahidroxiflavona; 3,6,2',4'-tetrahidroxiflavona; 7,4-dihidroxiflavona; 7,8,3',4'-tetrahidroxiflavona 3,6,2 ,3'-tetrahidroxiflavona; 4'-hidroxiflavone; 5-hidroxiflavona; 5,4'-dihidroxiflavona; 5,7-dihidroxiflavona; ou combinações desses.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da

mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades, os agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína é uma isoflavona. Em algumas modalidades, a isoflavona é daidzeína, genisteína, ou combinações desses.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades, os agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína é uma flavanona. Em algumas modalidades, a flavonona é naringenina; flavanona; 3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavanona; ou combinações desses.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades, os agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína é uma antocianidina, Em algumas modalidades, a antocianidina é cloreto de pelargonidina, cloreto de cianidina, cloreto de delfinidina ou combinações desses.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades, os agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína é uma catequina. Em algumas modalidades, a catequina é (−)-epicatequina (Locais do hidroxi: 3,5,7,3',4'); (−)-catequina (Locais do hidroxi: 3,5,7,3',4'), (-)-galocatequina (Locais do hidroxi: 3,5,7,3',4',5')(+)-catequina (Locais do hidroxi: 3,5,7,3',4'); (+)-epicatequina (Locais do hidroxi: 3,5,7,3',4'); ou combinações desses.

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam a taxa catalítica das reações de desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades, os agentes que modulam a taxa catalítica das reações de desacetilação catalisada por sirtuína é dipiridamol, ZM 336372 (3-(dimetilamino)-N-[3-[(4-hidroxibenzoil)-amino]-4-metilfenilibenzamida), camptotecina, coumestrol, ácido nordihidroguaiaéetico, esculetina, SRT-1720 (Sirtris), SRT-1460 (Sirtris), SRT-2183 (Sirtris), ou combinações desses.

São contemplados para uso com as formulações aqui

reveladas agentes que aliviam, previnem, revertem ou melhoram a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido devido a radicais livres ou à disfunção da mitocôndria. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de um ou mais agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína. Em algumas modalidades, os agentes que modulam as reações de desacetilação catalisada por sirtuína é um antagonista de ligação de nicotinamida. Em algumas modalidades, o antagonista de ligação de nicotinamida é isonicotinamida ou um análogo de isonicotinamida. Em algumas modalidades, o análogo de isonicotinamida é β-1'-5-metil-nicotinamida-2'-desoxirribose; β-D-1'-5-metil-nicotinamida-2'-desoxirribofuranosida; β-1'-4,5-dimetil-nicotinamida-2'-desoxirribose; ou β-D-1'-4,5-dimetil-nicotinamida-2'-desoxirribofuranosida. Para análogos adicionais de isonicotinamida veja as Pat. U.S. Nos. 5.985.848; 6.066.722; 6.228.847; 6.492.347; 6.803.455; e Publicações de Patente U.S. Nos. 2001/0019823; 2002/0061898; 2002/0132783; 2003/0149261; 2003/0229033; 2003/0096830; 2004/0053944; 2004/0110772; e 2004/0181063, que são aqui incorporadas por referência para aquela revelação.

Moduladores de canal de íon

Moduladores de canal de íon potássio

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes para o tratamento ou melhoria da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágeis ou ausentes e neurônios no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam as

concentrações de íon potássio. Em algumas modalidades, os agentes que modulam as concentrações de íon potássio são agonistas ou antagonistas de canais de íon potássio. Os canais de íon potássio são canais que regulam o fluxo de íons potássio para o interior e exterior das células. Na cóclea a corrente de transdução através das células sensoriais é realizada por íons potássio e depende da alta concentração de íons potássio na endolinfa. Mutações nos genes que codificam a proteína de canal de potássio resultam em perda de audição adquirida e congênita.

A família KCNQ de canais de potássio é uma família de canais de potássio de reparador retardado de *voltagem-gated* encontrado na cóclea. As subunidade KCNQ1 formam canais de potássio nas células escuras vestibulares e células marginais da estria vascular. Esses canais regulam o nível de potássio na endolinfa. As subunidades KCNQ4 formam células ciliadas de canais. Camundongos com genes que codificam subunidades KCNQ *knocked-out* apresentam a perda de audição durante o desenvolvimento, iniciando em quatro semanas de vida pós-natal.

Em algumas modalidades, os agentes que modulam um canal de potássio é um agonista de um canal de potássio (por exemplo, um abridor de canal de potássio). Em algumas modalidades, o agonista de um canal de potássio é nicorandil; minoxidil, leecromacalim; lemacalim; cromacalim; L-735,334 (14-hidroxi CAF-603 oleato); retigabina; flupirtina; BMS-204352 (3S)-(+)-(5-Cloro-2-metoxifenil)-1,3-dihidro-3-flúor-6-(trifluormetil)-2H-indol-2-ona); DMP-543 10,10-bis((2-flúor-4-piridinil)metil)-9(10H)-antracenona); ou combinações

desses.

Em algumas modalidades, os agentes que modulam um canal de potássio é um antagonista de um canal de potássio (por exemplo, um bloqueador de canal de potássio). Em algumas modalidades, o antagonista de um canal de potássio é linopiridina; XE991 (10,10-bis(4-piridinilmetil)-9(10H)-antracenona); 4-AP(4-aminopiridina); 3,4-DAP(3,4-Diaminopiridina); E-4031 (4'-[[1-[2-(6-metil-2-Piridil)etil]-4-piperidinil]carbonil]-metanossulfonanilida); DIDS (ácido 4,4'-diisotiocianostilbeno-2,2'-dissulfônico); Way 123,398 (N-metil-N-(2-(metil(1-metil-1H-benzimidazol-2-il)amino)etil)-4-((metilsulfonil)amino)benzenossulfonamida HCl); CGS-12066A (7-Trifluormetil-4-(4-metil-1-piperazinil)pirrolo-[1,2-a]quinoxalina); dofetilida; sotalol; apamina; amiodarona; azintilida; bretílio; clofílio; tedisamil; ibutilida; sematilida; nifecalant; tamulustoxina e combinações desses.

Moduladores de receptor purigênico

São contemplados para uso com as formulações aqui reveladas agentes para a modulação de canais de íon. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam a concentração de íons. Em algumas modalidades, os agentes que modulam a concentração de íons são agonistas ou antagonitas de receptores purigênicos.

Os receptores purigênicos são uma família de receptores ligados a membrana plasmática. A família inclui os receptores P2X, P2Y, e P1. Os receptores P2X compreendem canais de íon. Quando ATP se liga ao receptor o canal se abre. Os receptores P217 compreendem receptores de

proteína ligados a G. Os ligantes para esses receptores são ATP, ADP, UTP, UDP, UDP-glicose. Os receptores de P1 compreendem receptores de proteína ligados a G. O ligante para esses receptores é adenosina. Os receptores purigênicos regulam a homeostasia de íons no ouvido. A endolinfa, por exemplo, requer altos níveis de íon potássio (K^+), baixo sódio (Na+), e baixo cálcio (Ca^{2+}) para transdução auditiva normal.

Em algumas modalidades, o agonista de um receptor purigênico é ATP, ADP, UTP, UDP, UDP-glicose; adenosina; 2-MeSATP: 2-MeSADP: αβmeATP: dATPαS; ATPγS; Bz-ATP, MRS2703 (2-MeSADP com o grupo beta-fosfato bloqueado por um 1-(3,4-dimetiloxifenil)et-1-il fosfoéster)); denufosol tetrasódio; MRS2365 ([[(1R,2R,3S,4R,5S)-4-[6-amino-2-(metiltio)-9H-purin-9-il]-2,3-dihidroxibiciclo[3.1.0]hex-1-il]metil] ácido difosfórico mono éster trissódio sal); MRS 2690 (1-a-D-glucopiranosil éster de ácido difosfórico 2-[(4'-metiltio)uridin-5"-il] éster dissódio sal); PSB 0474 (3-(2-oxo-2-feniletil)-uridina-5'-difosfato dissódio sal); ou combinações desses.

Em algumas modalidades, o antagonista de um receptor purigênico é A-317491 (ácido (5-([(3-fenoxibenzil)[(1S)-1,2,3,4-tetrahidro-1-naftalenil]amino]carbonil)-1,2,4-benzenotricarboxílico)); RO-3 (Roche); suramin; PPADS (ácido piridoxalfosfato-6-azofenil-2',4'-dissulfônico); PPNDS (Piridoxal-5'-fosfato-6-(2'-naftilazo-6'-nitro-4',8'-dissulfonato) tetrasódio sal); DIDS; piridoxal-5-fosfato; 5-(3-bromofenil)-1,3-dihidro-2H-benzofuro[3,2,e]-diazepin-2-ona; cibacron azul: basilen azul; ivermectina; A-438079 (3-[[5-(2,3-diclorofenil)-1H-tetrazol-1-il]metil]piridina

cloridrato); A-740003 ((N-(1-[[(cianoimino)(5-quinolinilamino)metil]amino]-2,2-dimetilpropil)-2-(3,4-dimetoxifenil)acetamida); NF449 (ácido 4,4',4'',4''' -(carbonilbis(imino-5,1,3-benzenotriilbis(carbonilimino)))tetracis-benzeno-1,3-dissulfônico); NF110 (ácido para-4,4',4'',4'''-(carbonilbis(imino-5,1,3-benzenotriilbis carbonilimino)))tetracis-benzenessulfônico); MRS 2179 (2'-Desoxi-N6-metiladenosina 3',5'-bifosfato tetrasódio sal); MRS 2211 (2-[(2-cloro-5-nitrofenil)azo]-5-hidroxi-6-metil-3-[(fosfonooxi)metil]-4-piridinacarboxaldeído dissódio sal); MRS 2279 ((1R,2S,4S,5S)-4-[2-cloro-6-(metilamino)-9H-purin-9-il]-2-(fosfonooxi)biciclo[3.1.0]hexano-1-metanol dihidrogênio fosfato éster diamônio sal); MRS 2500 sal tetrassódico (1R,2S,4S,5S)-4-[2-iodo-6-(metilamino)-9H-purin-9-il]-2-(fosfonooxi)biciclo[3.1.0]hexano-1-metanol dihidrogênio fosfato éster tetraamôonio sal); NF157 (8,8'-[carbonilbis[imino-3,1-fenileenocarbonilimino (4-flúor-3,1-fenileno)carbonilimino]]bis-1,3,5-nagtalenoe trissulfônico ácido hexasódio sal); TNP-ATP; tetrametilpirazina; Ip_5I; βγ-carboximetileno ATP; βγ-clorofosfometileno ATP: KN-62 (éster de ácido 4-[(2S)-2-[(5-isoquinoolinilsulfonil)metilaminol-3-oxo- 3-(4-fenil-1-piperazinil)propil]fenil isoquinolinassulfônico); NF023 (ácido 8,8'-[carbonilbis(imino-3,1-fenilenocarbonilimino)]bis-1,3,5-naftaleno-trissulfônico, hexasódio sal); NF279 (8,8'-[Carbonilbis(imino-4,1-fenilenocarbonilimino-4,1-fenilenocarbonilimino)]bis-1,3,5-naftalenotrissulfônico ácido hexassódio sal); espinoifina; ou combinações desses.

RNAi

Em algumas modalidades, quando a inibição ou infra-regulação de um alvo é desejada (por exemplo, genes que codificam um componente de um canal de potássio, genes que codificam um receptor purigênico), a interferência de RNA é opcionalmente utilizada. Em algumas modalidades, o agente que inibe ou infra-regula o alvo é uma molécula de siRNA. Em certos casos, a molécula de siRNA é como aqui descrita.

Terapia de combinação

Em certas modalidades, qualquer agente auricular ativo (por exemplo, um imunomodulador ou um modulador da pressão auricular) é administrado em combinação com um ou mais de outros agentes auriculares ativos aqui descritos. Em algumas modalidades, um agente auricular é administrado com um agente anti-emético (por exemplo, quando um distúrbio do equilíbrio é acompanhado por náusea). Em algumas modalidades, um agente auricular é administrado em combinação com um ou mais otoprotetores (por exemplo, quando a administração de um agente citotóxico é acompanhada por ototoxicidade). Em certas modalidades, um agente auricular é administrado em combinação com, por exemplo, um anti-emético, um agente antimicrobiano, um inibidor de sintase de óxido nítrico, um antioxidante, um inibidor de recaptação de neurotransmissor, um otoprotetor, um modulador de homeostasia (por exemplo, modulador de homeostasia de íon/fluido (por exemplo, água)) ou outros.

Agentes anti-eméticos/Agentes do Sistema nervoso central

Agentes anti-eméticos são opcionalmente usados em combinação com quaisquer formulações auriculares aqui rveladas. Os agentes anti-eméticos incluem anti-histamínicos e agentes do sistema nervoso central, que

incluem agentes antipsicóticos, barbituratos, benzodiazepinas e fenotiazinas. Outros agentes anti-eméticos incluem os antagonistas de receptor de serotonina, que include dolasetron, granisetron, ondansetron, tropisetron, palonosetron, e combinações desses; antagonistas de dopamina, que incluem domperidona, properidol, haloperidol, clorpromazina, prometazina, proclorperazina e combinações desses; canabinóides, que incluem dronabinol, nabilona, sativex, e combinações desses; anticolinérgicos, que incluem escopolamina; e esteróides, que incluem, dexametasona; trimetobenzamina, emetrol, propofol, museimol, e combinações desses.

Opcionalmente, os agentes do sistema nervoso central e barbituratos são úteis no tratamento de sintomas de náusea e vômitos que acompanham um distúrbio autoimune auricular. Quando usado, um barbiturato adequado e/ou agente do sistema nervoso central é selecionado para aliviar ou melhorar os sintomas específicos sem possíveis efeitos colaterais, que incluem ototoxicidade. Além disso, como acima discutido, o direcionamento de fármacos para a membrana da janela redonda do ouvido interno reduz possíveis efeitos colaterais e toxicidade causados por administração sistêmica desses fármacos. Barbituratos, que agem como um depressor do sistema nervoso central, incluem alobarbital, alfenal, amobarbital, aprobarbital, barnexaclona, barbital, bralobarbital, butabarbital, butalbital, butaililonal, butobarbital, corvalol, crotilbarbital, ciclobarbital, ciclopal, etalobarbital, febarbamato, heptabarbital, hexetal, hexobarbital, metarbital, metohexital, metilfenobarbital, narcobarbital,

nealbarbital, pentobarbital, fenobarbital, primidona, probarhital, propalilonal, proxibarbital, reposal, secobarbital, sigmodal, tiopental sódico, talbutal, tialbarbital, tiatnilal, tiobarbital, tiobutabarbital, tuinal, valofano, vinbarbital, vinilbital, e combinações desses.

Outros agentes do sistema nervoso central que são opcionalmente usados junto com as formulações otológicas aqui reveladas incluem benzodiazepinas ou fenotiazinas. Benzodiazepinas úteis incluem, sem limitação diazepam, lorazepam, oxazepam, prazepam, alprazolam, bromazepam, clordiazepóxido, clonazepam, clorazepato, brotizolam, estazolam, flunitrazepam, flurazepam, loprazolam, lormetazepam, midazolam„ nimetazepam, nitrazepam, ternazepam, triazolam, e combinações desses. Exemplos de fenotiazinas incluem proclorperazina, clorpromazina, promazina, trifluprομazina, levopromazina, metotrimepramazina, mesoridazina, tiroridazina, flufenazina, pelfenazina, flupentixol, trifluoperazina, e combinações desses.

Anti-histamínicos, ou antagonistas da histamina, agem inibindo a liberação ou ação de histamina. Anti-histamínicos que visam o receptor H1 são úteis no alívio ou redução de sintomas de náusea e vômitos que são associados a AIED, outros distúrbios autoimunes, bem como distúrbios antiinflamatórios. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que modulam receptores de histamina (por exemplo, o receptor H1, receptor H2, e/ou o receptor H3).

Tais anti-histamínicos incluem, sem limitação meelizina, difenidramina, loratadina e quetiapina. Outros

anti-histamínicos incluem mepiramina, piperoxan, antazolina, carbinoxamina, doxilamina, clemastina, dimenidrinato, feniramina, clorfenamina, clorfeniramina, dexclorfeniramina, bromfeniramina, triprolidina, ciclizina, clorciclizina, hidroxizina, prometazina, alimemazina, trimeprazina, ciproheptadina, azatadina, cetotifen, oxatomida e combinações desses.

Em algumas modalidades, o antagonista de receptor H1 é cloridrato de meclizina. Em algumas modalidades, o antagonista de receptor H1 é cloridrato de prometazina. Em algumas modalidades, o antagonista de receptor H1 é dimenidrinato. Em algumas modalidades, o antagonista de receptor H1 é difenidramina. Em algumas modalidades, o antagonista de receptor H1 é cinarizina. Em algumas modalidades, o antagonista de receptor H1 é pamoato de hidroxizina.

Anti-histamínicos que visam o receptor H3 incluem, sem limitação dicloridrato de betahistina.

Agentes antimicrobianos

Agentes antimicrobianos são também contemplados como úteis com as formulações aqui reveladas. Em algumas modalidades, o agente antimicrobiano é como aqui descrito.

Corticoesteróides

Contemplados para uso em combinação com qualquer formulação auricular aqui descrita (por exemplo, formulações de modulação da pressão auricular, formulações de imunomodulador aqui descritas) são agentes corticosteróides que reduzem ou melhoram os sintomas ou efeitos como um resultado de uma doença autoimune e/ou distúrbio inflamatório, que incluem AIED. Tais respostas

autoimunes são um fator contribuinte para distúrbios otológicos como doença de Meniere. Em algumas modalidades, os corticoesteróides modulam a degeneração de neurônios e/ou células ciliadas do ouvido, e agentes para o tratamento ou melhora da perda ou redução da audição que resulta de cílios destruídos, desviados, malfuncionantes, danificados, frágéis ou ausentes no ouvido interno. Portanto, algumas modalidades incorporam o uso de agentes que protegem as células ciliadas auriculares de ototoxinas. Em algumas modalidades, o agente que protege as células ciliadas auriculares de ototoxinas é um corticosteróide. Tais esteróides incluem prednisolona, dexametasona, fosfato de dexametasona, beelometasona, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasona, clobetasoae, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasoae, diflorasona, diflucortolona, difluprednato, enoxolona, fluzzacort, flucloronida, flumetasona, flunisolida, fluocinolona acetonida, fluocinonida, fluocortin butil, fluocortolona, fluormetolona, fluperolona acetato, fluprednideno acetato, fluprednisolona, flurandrenolida, flutieasona propionato, formocortal, halcinonida, halobetasol propionato, halometasona, halopredona acetato, hidrocortamato, hidrocortisona, loteprednol etabonato, mazipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, mometasona furoato, parametasona, prednicarbato, prednisolona, prednisolona 25-dietilamino-acetato, prednisolona sódio fosfato, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona,

tixocortol, triameinolona, triameinolona acetonida, triamcinolona benetonida, triamcinolona hexacetonida e combinaçãos desse. Em certos casos, triamicinolona actenoide e dexametasona protegem as células ciliadas auriculares de dano causado pela toxina de ocorrência natural 4-hidroxi-2,3-nonenal (HNE), que é produzida no ouvido interno em resposta a estresse oxidativo.

Otoprotetores

Em algumas modalidades, qualquer formulação auricular aqui descrita (por exemplo, formulações de agente de modulação de célula sensorial auricular aqui reveladas) também compreendem otoprotetores que reduzem, inibem ou melhoram a ototoxicidade de agentes como agentes quimioterapêuticos e/ou antibióticos, como aqui descritos, ou reduzem, inibem ou melhoram os efeitos de outros fatores ambientais, que incluem ruído excessivo e outros. Exemplos de otoprotetores incluem, e não são limitados a, tióis e/ou derivados de tiol e/ou sais farmaceuticamente aceitáveis, ou derivados (por exemplo, pró-fármacos) desses (por exemplo, D-metionina, L-metionina, etionina, hidroxil metionina, metioninol, amifostina, mesna (sódio 2-sulfaniletanossulfonato), uma mistura de D e L metionina, normetionina, homometionina, S-adenosil-L-metionina), dietilditiocarbamato, ebselen (2-fenil-1,2-benzisoselenazol-3(2H)-ona), sódio tiossulfato, AM-111 (um inibidor de JNK permeavel a célula, (Laboratoires Auris SAS)), leucovorina, leucovorina cálcica, dexrazoxana, piracetam, Oximcetam, Aniracetam, Pramiracetam, Fenilpiracetam (carfedon), Etiracetam, Levetiracetam, Nefiracetam, Nicoracetam, Rolziracetam, Nebracetam,

Fasoracetam, Coluracetam, Dimiracetam, Brivaracetam, Seletracetam, Rolipramand ou combinações desses. Otoprotetores permitem a administração de agentes quimioterapêuticos e/ou antibióticos em doses que são maiores que as doses tóxicas máximas; os agentes quimioterapêuticos e/ou antibióticos devem ser administrados em doses menores devido a ototoxicidade. Otoprotetores, quando opcionalmente administrados em si, também proporcionam uma melhora, redução ou eliminação do efeito de fatores ambientais que contriem para a perda de audição e efeitos acompanhantes, que incluem, sem limitação, perda de audição induzida por ruído e zumbido.

A quantidade de otoprotetor em qualquer formulação aqui descrita em uma base de mol:mol em relação ao agente quimioterapêutico ototóxico (por exemplo, cisplatina) e/ou um antibiótico ototóxico (por exemplo, gentamicina) está na faixa de cerca de 5:1 a cerca de 200:1, de cerca de 5:1 a cerca de 100:1, ou de cerca de 5:1 a cerca de 20:1. A quantidade de otoprotetor em qualquer formulação aqui descrita em uma base molar em relação ao agente quimioterapêutico ototóxico (por exemplo, cisplatina) e/ou um antibiótico ototóxico (por exemplo, gentamicina) é cerca de 50:1, cerca de 20:1 ou cerca de 10:1. Qualquer formulação de agente de modulação de célula sensorial auricular aqui descrita compreende de cerca de 10 mg/ml a cerca de 50 mg/ml, de cerca de 20 mg/ml a cerca de 30 mg/ml, ou de cerca de 25 mg/ml, de otoprotetor.

Agentes quimioterapêuticos

Os agentes quimioterapêuticos são também contemplados para uso com as formulações aqui reveladas. Agentes

quimioterapêuticos agem matando as células cancerosas ou microorganismos, e podem incluir agentes antineoplásicos que visam as células de câncer ou malignas. Alguns agentes quimioterapêuticos, isoladamente ou em combinação, são também ototóxicos. Por exemplo, cisplatina é um agente cocleotóxico conhecido. No entanto, o uso de cisplatina em combinação com antioxidantes é protetor e diminui os efeitos ototóxicos do agente quimioterapêutico. Além disso, a aplicação localizada do fármaco citotóxico pode diminuir os efeitos ototóxicos que devem ocorrer através da aplicação sistêmica pelo uso de menores quantidades com eficácia mantida, ou o uso de quantidades direcionadas por um período de tempo mais curto. Portanto, um profissional habilitado que escolhe uma duração de terapia para crescimento tumoral terá o conhecimento de evitar ou combinar um composto ototóxico, ou de variar a quantidade ou duração do tratamento para evitar ou diminuir os efeitos ototóxicos.

Os agentes quimioterapêuticos que são usados em combinação com as formulações aqui reveladas incluem, por exemplo, sem limitação adriamicina, imidazol carboxamida, ciclofosfamida, mecloretamina, clorambucil, melfalan, daunorrubicina, epirrubicina, idarrubicina, mitoxantrona, valrubicina, paclitaxel, docetaxel, etoposide, teniposide, tafluposide, azacitidina, azatioprina, capecitabina, citarabina, doxifluridina, fluoruracil, gemcitabina, mercaptopurina, metotrexato, tioguanina, bleomicina, carboplatina, cisplatina, oxatiplatina, ácido all-trans retinóico, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, e combinações desses.

Moduladores da homeostasia

Moduladores da homeostasia são contemplados como úteis com as formulações aqui descritas. Moduladores da homeostasia incluem moduladores da homeostasia de íon e fluido (por exemplo, água). Em alguns casos, os moduladores da homeostasia incluem moduladores de Na/K-ATPase, moduladores de ENaC, moduladores de receptor de vasopressina, diuréticos ou outros como aqui descrito.

Moduladores de N/K ATPase

Os moduladores de N/K ATPase são contemplados para uso com as formulações aqui reveladas. A homeostasia coclear é dependente da composição de eletrólitos da endolinfa, que é regulada por uam troca ativa de Na^+ e K^+ via ATPase. Exemplos de moduladores de N/K ATPase incluem, e não são limitados a, nimodipina (um estimulante de sódio-potássio adenosina trifosfatase), ouabaina, e furosemida.

São apresentados abaixo (Tabela 1) exemplos de agentes ativos contemplados para uso com as formulações aqui reveladas.

Agentes ativos (que incluem sais farmaceuticamente aceitáveis desses agentes ativos) para uso com as formulações aqui reveladas

(TABELA I)

Auris Condição	Agente terapêutico
Vertigem Posicional Paroxística Benigna	Difenidramina
Vertigem Posicional Paroxística Benigna	Lorazepam
Vertigem Posicional Paroxística Benigna	Meclizina

Vertigem Posicional Paroxística Benigna	Oldansetron
Perda de audição	Estrogênio
Perda de audição	Estrogênio e progesterona (E+P)
Perda de audição	Ácido fólico
Perda de audição	Ringer lactato com 0,03% Ofloxacina
Perda de audição	Metotrexato
Perda de audição	Metilprednisolona sódio succinato
Perda de audição	N-acetil cisteína
doença de Meniere	betahistidina
doença de Meniere	sildenafil
Secreção do Ouvido médio	Vacina Pneumonocócica
Otite Externa	Diclofenaco sódico; dexote
Otite Externa, aguda	AL-15469A/AL-38905
Otite média	Amoxicilina/clavulanato
Otite média	Amoxicilina
Otite média	Clorfeniramina maleate
Otite média	Dornase alfa
Otite média	*Echinacea purpurea*
Otite média	Faropenem medoxomil
Otite média	Levofloxacina
Otite média	PNCRM9
Otite média	Vacina Pneumonocócica
Otite média	Telitromicina
Otite média	Triamcilonona acetonida
Otite média	Zmax

Otite média com Secreção	Lansoprazol
Otite média, Aguda	AL-15469A; AL-38905
Otite média, Aguda	Amoxicilina
Otite média, Aguda	Amoxicilina-clavulanato
Otite média, Aguda	Azitromicina
Otite média, Aguda	Azitromicina SR
Otite média, Aguda	Cefdinir
Otite média, Aguda	Gotas otológicas de Hiland
Otite média, Aguda	Montelukast
Otite média, Aguda	Vacina Pneumonocócica
Otite média, Aguda com tubos de Timpanostomia	AL-15469A/AL38905
Otite média, Crônica	Sulfametoxazoletrimetoprim
Otite média,Supurativa	Azitromicina
Otite média, Suppurative	Telitromicina
Otosclerose	Acetilcisteína
Ototoxicidade	Aspirina
Zumbido	Acamprosato
Zumbido	Gabapentina
Zumbido	Modafinil
Zumbido	Neramexano
Zumbido	Neramexano mesilato
Zumbido	Piribedil
Zumbido	Vardenatil
Zumbido	Vestipitant + Paroxetina
Zumbido	Vestiplitant
Zumbido	Sulfato de zinco

dispositivos

Também é aqui contemplados o uso de dispositivos para

a liberação das formulações farmacêuticas aqui reveladas, ou alternativamente para medição ou vigilância da função das formulações auriculares aqui reveladas. Por exemplo, em uma modalidade bombas, dispositivos osmóticos ou outros meios de liberar mecanicamente as formulações farmacêuticas são usados para a liberação das formulações farmacêuticas aqui reveladas. dispositivos de reservatório são opcionalmente usados com a liberação farmacêutica de unidades de fármaco, e residem internamente junto com a unidade de liberação de fármaco, ou externamente das estruturas auriculares.

Outras modalidades contemplam o uso de dispositivos mecânicos ou de imagem para monitorar ou vigiar a audição, equilíbrio ou outro distúrbio otológico. Por exemplo, dispositivos de imagem de ressonância magnética (MRI) são especificamente contemplados no escopo das modalidades, em que os dispositivos de MRI (por exemplo, dispositivos 3 Tesla MRI) são capazes de avaliar a progressão de doença de Meniere e subseqüente tratamento com as formulações farmacêuticas aqui reveladas. Veja, Cartrae *e cols.*, *Laryngoscope* 118:501-505 (Março de 2008). *Scanners* de corpo inteiro, ou alternativamente *scanners* cranianos, são contemplados, bem como resolução maior (7 Tesla, 8 Tesla, 9,5 Tesla ou 11 Tesla para humanos) são opcionalmente usados em rastreamento de MRI.

Métodos gerais de esterilização

São aqui fornecidas composições auriculares que melhoram ou diminuem os distúrbios otológicos aqui descritos. Também são aqui fornecidos métodos que compreendem a administração das referidas composições

auriculares. Em algumas modalidades, as composições são esterilizadas. São incluídos nas modalidades aqui reveladas meios e processos para a esterilização de uma composição farmacêutica aqui revelada para uso em humanos. O objetivo é para fornecer um produto farmacêutico seguro, relativamente livre de infecção causada por microorganismos. A "U. S. Food and Drug Administration" tem fornecido guia regulador na publicação "Guidance for Industry: Sterile Drug Produtos Produced by Aseptic Processing" disponível em: http://www.fdagov/cderguidance1582fill.htm, que é aqui incorporado por referência em sua totalidade. Nenhuma diretriz específica é disponível para produtos farmacêuticos seguros para o tratamento do ouvido interno.

Como aqui usado, esterilização significa um processo usado para destruir ou remove microorganismos que são presentes em um produto ou embalagem. Qualquer método adequado disponível para esterilização de objetos e composições é usado. Os métodos adequados para a inativação de microorganismos incluem, sem limitação, a aplicação de calor extremo, químicos letais, ou radiação gama. Em algumas modalidades, é um processo para a preparação de uma formulação terapêutica auricular que compreende submeter a formulação a um método de esterilização selecionado de esterilização por calor, esterilização química, radiação esterilização ou esterilização por filtração. O método usado depende da natureza do dispositivo ou composição a ser esterilizada. Descrições detalhadas de vários métodos de esterilização são dados no capítulo 40 de Remington: *The Science and Practice of Pharmacy* publicado por Lippincott,

Williams & Wilkins, e é aqui incorporado por referência com relação a esse assunto individual.

Esterilização por calor

Vários métodos são disponíveis para a esterilização pela aplicação de calor extremo. Um método é através do uso de um autoclave de calor saturado. Nesse método, vapor saturado em uma temperatura de pelo menos 121°C faz contato com o objeto a ser esterilizado. A transferência de calor é diretamente ao microorganismo, no caso de um objeto a ser esterilizado, ou indiretamente ao microorganismo por aquecimento do volume de uma solução aquosa a ser esterilizada. Esse método é amplamente praticado Yuma vez que ele permite flexibilidade, segurança e economia no processo de esterilização.

Esterilização com calor seco é um método que é usado para matar microorganismos e realizar despirogenação em temperaturas elevadas. Esse processo ocorre em um aparelho adequado para aquecer ar livre de microorganismo filtrado por HEPA a temperaturas de pelo menos 130-180°C para o processo de esterilização e a temperaturas de pelo menos 230-250°C para o processo de despirogenação. Água para reconstituir formulações concentradas ou em pó é também esterilizada por autoclave.

Esterilização química

Métodos de Esterilização química são uma alternativa para produtos que não resistem aos extremos da esterilização por calor. Nesse método, uma variedade de gases e vapores com propriedades germicidas, como óxido de etileno, dióxido de cloro, formaldeído ou ozônio são usados como os agentes anti-apoptoticos. A atividade germicida de

óxido de etileno, por exemplo, surge de sua capacidade de servir como um agente de alquilação reativo. Portanto, o processo de esterilização requer que o óxido de etileno vaporize para fazer contato direto com o produto a ser esterilizado.

Esterilização por radiação

Uma vantagem da esterilização por radiação é a capacidade de esterilizar vários tipos de produtos sem degradação por calor ou outro dano. A radiação comumente empregada é radiação beta ou alternativamente, radiação gama de uma fonte de ^{60}Co. a capacidade de penetração de radiação gama permite seu uso na esterilização de vários tipos de produtos, que incluem soluções, composições e misturas heterogêneas. Os efeitos germicidas da irradiação surge da interação de radiação gama com macromoléculas biológicas. Essa interação gera espécies carregadas e radicais livres. Reações químicas subseqüentes, como processos de rearranjo e entrecruzamento, resultam na perda da função normal para essas macromoléculas biológicas. As formulações aqui descritas são também opcionalmente esterilizadas com o uso de irradiação beta.

Filtração

A esterilização por filtração é um método usado para remover sem destruir microorganismos de soluções. Os filtros de membrana são usados para filtrar soluções sensíveis ao calor. Tais filtros são polímeros finos, fortes, homogêneos de ésteres celulósicos mistos (MCE), polivinilideno fluoreto (PVF; também conhecido como MIDI), ou politetrafluoretileno (PTFE) e têm tamanhos de poro que variam de 0,1 a 0,22 µm. Soluções de várias características

são opcionalmente filtradas com o uso de diferentes membranas de filtro. Por exemplo, membranas de PVF e PTFE são bem adequadas para filtrar solventes orgânicos embora soluções aquosas sejam filtradas através de membranas de PVF ou MCL. Os aparelhos de filtro são disponíveis para uso em várias escalas que variam do filtro descartável de ponto de uso único anexado a seringa até filtros de escala comercial para uso na fabricação de plantas. Os filtros de membrana são esterilizados por autoclave ou esterilização química. A validação dos sistemas de filtração de membrana é realizada seguindo protocolos padronizados (Microbiological Evaluation of Filters for Sterilizing Liquids, Vol 4, No. 3. Washington, D.C: Health Industry Manufacturers Association, 1981) e envolve desafio do filtro da membrana com uma quantidade conhecida (ca, 10^{7} cm^{2}) o de microorganismos não usualmente pequenos, como *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146).

As composições farmacêuticas são opcionalmente esterilizadas por passagem através de filtros de membrana. As formulações que compreendem nanopartículas (Pat U.S. No. 6.139.870) ou vesículas multilamelares (Richard *e cols.*, *International Journal of Pharmaceutics* (2006), 312(1-2):144-50) são passíveis de esterilização por filtração através de filtros de 0,22 µm sem destruir sua estrutura organizada.

Em algumas modalidades, os métodos aqui revelados compreendem a esterilização da formulação (ou componentes dessa) por meio de esterilização por filtração. Em outra modalidade a formulação de agente auricular terapêutico otologicamente aceitável compreende uma partícula em que a

formulação da partícula é adequadas para esterilização por filtração. Em uma modalidade adicional a referida formulação de partícula compreende partículas de menos que 300 nm de tamanho, de menos que 200 nm de tamanho, de menos que 100 mn de tamanho. Em outra modalidade a formulação otologicamente aceitável compreende uma formulação de partícula em que a esterilidade da partícula é assegurada por filtração estéril das soluções do componente precursor. Em outra modalidade a formulação otologicamente aceitável compreende uma formulação de partícula em que a esterilidade da formulação de partícula é assegurada por filtração estéril de baixa temperatura. Em uma modalidade adicional, a referida filtração estéril de baixa temperatura ocorre em uma temperatura entre 0 e 30°C, ou entre 0 e 20°C ou entre 0 e 10°C, ou entre 10 e 20°C, ou entre 20 e 30°C. Outra modalidade é um processo para a preparação de uma formulação de partícula otologicamente aceitável que compreendem filtração da solução aquosa que contém a formulação de partícula em baixa temperatura através de um filtro de esterilização; liofilização da solução estéril; e reconstituição da formulação de partícula com água estéril antes da administração.

Em modalidades específicas, procedimentos de filtração e/ou preenchimento são realizados em cerca de 5°C abaixo da temperatura de gel (Tgel) da formulação aqui descrita e com viscosidade abaixo de um valor teórico de 100cP para permitir filtração em um tempo razoável com o uso de uma bomba peristáltica.

Em outra modalidade a formulação de agente terapêutico auricular otologicamente aceitável compreende uma

formulação de nanopartícula em que a formulação de nanopartícula é adequada para esterilização por filtração. Em uma modalidade adicional a formulação de nanopartícula compreende nanopartículas de menos que 300 nm de tamanho, de menos que 200 nm de tamanho, ou de menos que 100 nm de tamanho. Em outra modalidade a formulação otologicamente aceitável compreende uma formulação de microesfera em que a esterilidade da microesfera é assegurada por filtração estéril da solução orgânica precursora e soluções aquosas. Em outra modalidade a formulação otologicamente aceitável compreende uma formulação de gel termorreversível em que a esterilidade da formulação em gel é assegurada por filtração estéril de baixa temperatura. Ainda em outra modalidade, a filtração estéril de baixa temperatura ocorre em uma temperatura entre 0 e 30°C, ou entre 0 e 20°C, ou entre 0 e 10°C, ou entre 10 e 20°C, ou entre 20 e 30°C. Em outra modalidade, é apresentado um processo para a preparação de uma formulação de gel termorreversível otologicamente aceitável que compreende: filtração da solução aquosa que contém os componentes do gel termorreversível em baixa temperatura através de um filtro de esterilização; liofilização da solução estéril; e reconstituição da formulação de gel termorreversível com água estéril antes da administração

Em certas modalidades, os ingredientes ativos são dissolvidos em um veículo adequado (por exemplo, um tampão) e esterilizados separadamente (por exemplo, por tratamento com calor, filtração, radiação gama); os excipientes restantes (por exemplo, componentes de gel fluido presentes em formulações auriculares) são esterilizados em uma etapa

separada por um método adequado (por exemplo, filtração e/ou irradiação de uma mistura resfriada de excipientes); as duas soluções que foram separadamente esterilizadas são então misturadas assepticamente para fornecer uma formulação auricular final.

Em alguns casos, métodos de esterilização convencionalmente usados (por exemplo, tratamento com calor, por exemplo, em um autoclave), irradiação gama, filtração) levam à degradação irreversível dos componentes poliméricos (por exemplo, termo-ajuste, gelação ou componentes de polímero mucoadesivo) e/ou o agente ativo na formulação. Em alguns casos, a esterilização de uma formulação auricular por filtração através de membranas (por exemplo, membranas de 0,2 µM) não é possível se a formulação compreende polímeros tixotrópicos que gelificam durante o processo de filtração.

Portanto, são aqui fornecidos métodos para a esterilização de formulações auriculares que evitam a degradação de componentes poliméricos (por exemplo, termo-ajuste, gelação ou componentes de polímero mucoadesivo) e/ou o agente ativo durante o processo de esterilização. Em algumas modalidades, a degradação do agente ativo (por exemplo, qualquer agente terapêutico auricular aqui descrito) é reduzida ou eliminada com o uso de faixas específicas de pH para componentes de tampão e proporções específicas de agentes de gelação nas formulações. Em algumas modalidades, a escolha de um agente de gelação adequado e/ou polímero de termo-ajuste permite a esterilização de formulações aqui descritas por filtração. Em algumas modalidades, o uso de um polímero de termo-

ajuste adequado e um copolímero adequado (por exemplo, um agente de gelação) em combinação com uma faixa específica de pH para a formulação permite a esterilização em alta temperatura das formulações descritas com substancialmente nenhuma degradação do agente terapêutico ou dos excipientes poliméricos. Uma vantagem dos métodos de esterilização aqui fornecidos é que em certos casos, as formulações são isubmetidas a esterilização terminal por meio de autoclave sem qualquer perda do agente ativo e/ou excipientes e/ou componentes poliméricos durante a etapa de esterilização e são substancialmente livres de micróbios e/ou pirógenos.

Microorganismos

São aqui fornecidas composições otologicamente aceitáveis que melhoram ou diminuem distúrbios otológicos aqui descritos. Além disso, são aqui fornecidos métodos que compreendem a administração das referidas composições auriculares. Em algumas modalidades, as composições são substancialmente livres de microorganismos. Níveis de esterilidade aceitáveis são baseados em padrões aplicáveis que definem as composições auriculares terapeuticamente aceitáveis, que incluem, sem limitação, "United States Pharmacopeia" capítulo <1111> *et seq*. Por exemplo, níveis aceitáveis de esterilidade incluem 10 unidades formadoras de colônia (cfu) por grama de formulação, 50 cfu por grama de formulação, 100 cfu por grama de formulação, 500 cfu por grama de formulação ou 1.000 cfu por grama de formulação. Em adicao, níveis aceitáveis de esterilidade incluem a exclusão de agentes microbiológicos inaceitáveis especificados. Como um exemplo, agentes microbiológicos inaceitáveis especificados incluem, sem limitação,

Escherichia coli (E. cali), Salmonella sp., Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa) e/ou outros agentes microbianos específicos.

A esterilidade da formulação terapêutica de agente auricular otologicamente aceitável é confirmada por um programa de garantia de esterilidade de acordo com "United States Pharmacopeia" capítulos <61>, <62> e <71>. Um componente chave do controle de qualidade da de garantia de esterilidade, garantia de esterilidade e processo de validação é o método de teste de esterilidade. O teste de esterilidade, como exemplo apenas, é realizado por dois métodos. O primeiro é inoculação direta em que uma amostra da composição a ser testada é adicionada ao meio de crescimento e incubada por um período de tempo de até 21 dias. A turvação do meio de crescimento indica contaminação. As desvantagens desse método incluem o pequeno tamanho da amostra de materiais volumosos que reduz a sensibilidade, e detecção do crescimento do microorganismo com base em uma observação visual. Um método alternativo é teste de esterilidade de filtração de membrana. Nesse método, um volume de produto é passado através de um papel filtro de membrana pequena. O papel filtro é então colocado no meio para promover o crescimento de microorganismos. Esse método tem a vantagem de maior sensibilidade uma vez que o produto inteiro é amostrado. O sistema de teste de esterilidade comercialmente disponível "Millipore Steritest" é opcionalmente usado para determinações por teste de esterilidade de filtração de membrana. Para o teste de filtração de cremes ou pomadas, o sistema de filtro *Steritest* No. TLHVSL.,210 é usado. Para o

teste de filtração de emulsões ou produtos viscosos sistema de filtro *Steritest* No. TLAREM210 ou TDAREM210 são usados. Para o teste de filtração de seringas pré-enchidas o sistema de filtro *Steritest* No. TTHASY210 é usado. Para o teste de filtração de material distribuído como um aerossol ou espuma, sistema de filtro *Steritest* No. TTHVA210 é usado. Para o teste de filtração de pós solúveis em ampolas ou frascos sistema de filtro *Steritest* No. TTHADA210 ou TTHADV210 são usados.

O teste para *E. coli* e*Salmonella* inclui o uso de caldos de lactose incubados a 30 – 35°C por 24-72 horas, incubação em Agar de MacConkey e/ou EMB por 18-24 horas, e/ou o uso de meio de Rappaport. O teste para a detecção de *P. aeruginosa* inclui o uso de Agar NAC. "United States Pharmacopeia" capítulo <62> enumera adicionalmente procedimentos de teste para microorganismos inaceitáveis especificados.

Em certas modalidades, qualquer formulação de liberação controlada aqui descritas tem menos que cerca de 60 unidades formadoras de colônia (CPU), menos que cerca de 50 unidades formadoras de colônia, menos que cerca de 40 unidades formadoras de colônia, ou menos que cerca de 30 unidades formadoras de colônia de agentes microbianos por grama de formulação. Em certas modalidades, a formulações auriculares aqui descritas são formuladas para serem isotônicas com a endolinfa e/ou perilinfa.

Endotoxinas

São aqui fornecidas composições auriculares que melhoram ou diminuem distúrbios otológicos aqui descritos. São também aqui fornecidos métodos que compreendem a

administração das referidas composições. Em algumas modalidades, as composições são substancialmente livres de endotoxinas. Um aspecto adicional do processo de esterilização é a remoção de subprodutos da morte de microorganismos (aqui, "Produto"). O processo de despirogenação remove pirógenos da amostra. Pirógenos são endotoxinas ou exotoxinas que induzem uma resposta imune. Um exemplo de uma endotoxina é a molécula de lipopolissacarídeo (LPS) encontrada na parede celular de bactérias gram-negativas. Embora os procedimentos de esterilização como autoclavagem ou tratamento com óxido de etileno matem as bactérias, o resíduo de LPS induz uma resposta pró-inflamatória imune, como choque séptico. Pelo fato de o tamanho molecular das endotoxinas poder variar amplamente, a presença de endotoxinas é expressa em "unidades de endotoxina" (EU). Uma EU é equivalente a 100 picogramas de LPS de *E. coli*. Humanos podem desenvolver uma resposta a tão pouco quanto 5 EU/kg de peso corporal. A esterilidade é expressa em qualquer unidade como reconhecido na técnica. Em certas modalidades, as composições auriculares aqui descritas contêm níveis menores de endotoxina (por exemplo <4 EU/kg de peso corporal de um indivíduo) quando comparados a níveis de endotoxina convencionalmente aceitos (por exemplo, 5 EU/kg de peso corporal de um indivíduo). Em algumas modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 5 EU/kg de peso corporal de um indivíduo. Em outras modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 4 EU/kg de peso corporal de um indivíduo. Em modalidades

adicionais, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 3 EU/kg de peso corporal de um indivíduo. Em modalidades adicionais, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 2 EU/kg de peso corporal de um indivíduo.

Em algumas modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 5 EU/kg de formulação. Em outras modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 4 EU/kg de formulação. Em modalidades adicionais, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 3 EU/kg de formulação. Em algumas modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 5 EU/kg de produto. Em outras modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 1 EU/kg de produto. Em modalidades adicionais, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 0,2 EU/kg de produto. Em algumas modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 5 EU/g de unidade ou produto. Em outras modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 4 EU/g de unidade ou produto. Em modalidades adicionais., a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 3 EU/g de unidade ou produto. Em algumas modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 5 EU/mg de unidade ou produto. Em outras

modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 4 EU/mg de unidade ou produto. Em modalidades adicionais, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de EU/mg de unidade ou produto. Em certas modalidades, as composições auriculares aqui descritas contêm de cerca de 1 a cerca de 5 EU/ml da formulação. Em certas modalidades, composições auriculares aqui descritas contêm de cerca de 2 a cerca de 5 EU/ml da formulação, de cerca de 3 a cerca de 5 EU/ml da formulação, ou de cerca de 4 a cerca de 5 EU/ml da formulação.

Em certas modalidades, as composições auriculares aqui descritas contêm níveis menores de endotoxina (por exemplo, <0,5 EU/ml de formulação) quando comparados a níveis de endotoxina convencionalmente aceitáveis (por exemplo, 0,5 EU/ml de formulação). Em algumas modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 0,5 EU/ml de formulação. Em outras modalidades, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 0,4 EU/ml de formulação. Em modalidades adicionais, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem menos que cerca de 0,2 EU/ml de formulação.

A detecção de pirógeno, como exemplo apenas, é realizado por vários métodos. Testes adequados para esterilidade incluem testes descritos na "United States Pharmacopoeia" (USP) <71> Sterility Tests (23ª edição, 1995). O teste de pirógeno de Coelho e o teste de lisado de *Limulus amebocyte* são ambos especificados na "United States Pharmacopeia" capítulos <85> e <151> (USP23/NF18,

Biological Tests, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, 1995). Ensaios alternatives de pirógeno have foram desenvolvidos com base no ensaio de citocina de ativação de monócito. Linhagens de células uniformes adequadas para aplicaçoes de controle de qualidade tem sido desenvolvido e demonstraram a capacidade de detectar pirogenicidade em amostras que passaram no teste de pirógeno de coelho e o teste de lisado de *Limulus amebocyte* (Taktak *e cols., J. .Pharm. Pharmacol.* (1990), 43:578-82). Em uma modalidade adicional, a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável é submetida a despirogenação. Em uma modalidade adicional, o processo para a fabricação da a formulação de agente terapêutico otologicamente aceitável tem compreende teste da formulação para pirogenicidade. Em certas modalidades, as formulações aqui descritas são substancialmente livres de pirógenos.

pH e Osmolaridade

O cátion principal presente na endolinfa é potássio. Em adição, a endolinfa tem uma alta concentração de aminoácidos positivamente carregados. O cátion principal presente na perilinfa é sódio. Em certos casos, a composição iônica da endolinfa e perilinfa regula os impulsos eletroquímicos de células ciliadas. Em certos casos, qualquer alteração no equilíbrio iônico da endolinfa ou perilinfa resulta em uma perda de audição devido a mudanças na condução de impulsos eletroquímicos ao longo das células ciliadas auriculares. Em algumas modalidades, a composição aqui revelada não rompe o equilíbrio iônico da perilinfa. Em algumas modalidades, a composição aqui revelada tem um equilíbrio iônico que é o mesmo que ou

substancialmente o mesmo que o da perilinfa. Em algumas modalidades, a composição aqui revelada não rompe o equilíbrio iônico da endolinfa. Em algumas modalidades, a composição aqui revelada tem um equilíbrio iônico que é o mesmo que ou substancialmente o mesmo que o da endolinfa. Em algumas modalidades, uma formulação auricular aqui descrita é formulada para fornecer um equilíbrio iônico que é compatível com fluidos da do ouvido interno(ou seja, endolinfa e/ou perilinfa).

A endolinfa e a perilinfa têm um pH que é próximo ao pH fisiológico do sangue. A endolinfa tem uma faixa de pH de cerca de 7,2-7,9; a perilinfa tem uma faixa de pH de cerca de 7,2- 7,4. O pH *in situ* da endolinfa proximal é cerca de 7,4 enquanto o pH da endolinfa distal é cerca de 7,9.

Em algumas modalidades, o pH da composição aqui descrita é ajustado (por exemplo, pelo uso de um tampão) para uma faixa de pH compatível com a endolinfa de cerca de 7,0 a 8,0, e uma faixa preferida de pH de cerca de 7,2-7,9. Em algumas modalidades, o pH das formulações auriculares aqui descritas é ajustado (por exemplo, pelo uso de um tampão) a um pH compatível com a endolinfa de cerca 7,0-7,6, e uma faixa preferida de pH de cerca de 7,2-7,4.

Em algumas modalidades, as formulações úteis também incluem um ou mais agentes de ajuste de pH ou agentes de tamponamento. Agentes de ajuste de pH adequados ou tampões incluem, sem limitação, acetato, bicarbonato, cloreto de amônio, citrato, fosfato, sais farmaceuticamente aceitáveis desses e combinações ou misturas desses.

Em uma modalidade, quando um ou mais tampões são utilizados nas formulações da presente revelação, eles são combinados, por exemplo, com um veículo farmaceuticamente aceitável e são presentes na formulação final, por exemplo, em uma quantidade que varia de cerca de 0,1% a cerca de 20%, de cerca de 0,5% a cerca de 10%. Em certas modalidades da presente revelação, a quantidade de tampão incluída mas formulações em são uma quantidade de odo que o pH da formulação em gel não interfere com o sistema de tamponamento natural do corpo. Em algumas modalidades, de cerca de 5 mM a cerca de 200 mM de concentração de um tampão estão presentes na formulação em gel. Em certas modalidades, de cerca de a 20 mM a cerca de a 100 mM de concentração de um tampão estão presentes. Em outras modalidades, a concentração de tampão é tal que um pH da formulação é entre 3 e 9, entre 5 e 8, ou alternativamente entre 6 e 7. Em outras modalidades, o pH da formulação em é cerca de 7. Em uma modalidade, é um tampão como acetato ou citrato em pH levemente ácido. Em uma modalidade o tampão é um tampão de acetato de sódio que tem um pH de cerca de 4,5 a cerca de 6,5. Em outra modalidade o tampão é tampão de acetato de sódio que tem um pH de cerca de 5,5 a cerca de 6,0. Em outra modalidade o tampão é tampão de acetato de sódio que tem um pH de cerca de 6,0 a cerca de 6,5. Em uma modalidade o tampão é um tampão de citrato de sódio que tem um pH de cerca de 5,0 a cerca de 8,0. Em outra modalidade o tampão é um tampão de citrato de sódio que tem um pH de cerca de 5,5 a cerca de 7,0. Em uma modalidade o tampão é um tampão de citrato de sódio que tem um pH de cerca de 6,0 a cerca de 6,5.

Em algumas modalidades, a concentração de tampão é tal que um pH da formulação é entre 6 e 9, entre 6 e 8, entre 6 e 7,6, entre 7 e 8. Em outras modalidades, o pH da formulação em gel é cerca de 6,0, cerca de 6,5, cerca de 7 ou cerca de 7,5. Em uma modalidade é um tampão como tris(hidroximetil)aminometano, bicarbonato, carbonato ou fosfato em pH levemente básico. Em uma modalidade, o tampão é um tampão de bicarbonato de sódio que tem um pH de cerca de 7,5 a cerca de 8,3. Em outra modalidade o tampão é um tampão de bicarbonato de sódio que tem um de cerca de 7,0 a cerca de 8,0. Em uma modalidade adicional o tampão é um tampão de bicarbonato de sódio que tem um pH de cerca de 6,5 a cerca de 7,0. Em uma modalidade o tampão é um tampão de fosfato dibásico de sódio que tem um pH de cerca de 6,0 a cerca de 9,0. Em outra modalidade o tampão é um tampão de fosfato dibásico de sódio que tem um pH de cerca de 7,0 a cerca de 8,5. Em uma modalidade o tampão é um tampão de fosfato dibasico de sódio que tem um pH de cerca de 7,5 a cerca de 8,0.

Em uma modalidade, diluentes são também usados para estabilizar compostos porque ele pode fornecer um ambiente mais estável. Sais dissolvidos em soluções tamponadas (que também podem fornecer controle oi manutenção de pH) são utilizados como diluentes na técnica, que incluem, sem limitação, solução salina tamponada por fosfato.

Em uma modalidade específica o pH da composição aqui descrita é entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6, entre 7 e cerca de 7,8, entre cerca de 7,0 e cerca de 7,6, entre cerca de 7,2 e cerca de 7,6, ou entre cerca de 7,2 e cerca de 7,4. Em certas modalidades o pH da composição aqui

descrita é cerca de 6,0, cerca de 6,5, cerca de 7,0, cerca de 7,1, cerca de 7,2, cerca de 7,3, cerca de 7,4, cerca de 7,5, ou cerca de 7,6. Em algumas modalidades, o pH de qualquer formulação aqui descrita é desenhado para ser compatível com a estrutura auditiva visada (por exemplo, endolinfa, perilinfa ou outras).

Em algumas modalidades, qualquer formulação em gel aqui descrita tem um pH que permite a esterilização (por exemplo, por filtração ou mistura asséptica ou tratamento com calor e/ou autoclavagem (por exemplo, esterilização terminal)) da formulação em gel sem degradação do agente auricular ou os polímeros que compreendem o gel. Para reduzir a hidrólise e/ou degradação do agente auricular e/ou o polímero em gel durante a esterilização, o pH do tampão é desenhado para manter o pH da formulação na faixa de 7-8 durante o processo de esterilização.

Em modalidades específicas, qualquer formulação em gel aqui descrita pH que permite a esterilização terminal (por exemplo, por tratamento com calor e/ou autoclavagem) da formulação em gel sem degradação do agente auricular ou os polímeros que compreendem o gel. Por exemplo, para reduzir a hidrólise e/ou degradação do agente auricular e/ou o polímero em gel durante autoclavagem, o pH do tampão é desenhado para manter o pH da formulação na faixa de 7-8 em temperaturas elevadas. Qualquer tampão adequado é usado dependendo do agente auricular usado na formulação. Em alguns casos, uma vez que pK_a de TRIS diminui à medida que a temperatura aumenta em aproximadamente -0,03/°C e pK_a de PBS aumenta à medida que a temperatura aumenta em aproximadamente 0,003/°C, autoclave a 250°F (121°C) resulta

em um movimento para baixo significativo do pH (ou seja, mais ácido) no tampão de TRIS enquanto um movimento para cima relativamente muito menor do pH no tampão de PBS e portanto, hidrólise muito aumentada e/ou degradação de um agente auricular em TRIS que em PBS. A degradação de um agente auricular é reduzida pelo uso de uma combinação adequada de um tampão e aditivos poliméricos (por exemplo, P407, CMC) como aqui descrito.

Em algumas modalidades, um pH entre cerca de 6,0 e cerca de 7,6, entre cerca de 7 e cerca de 7,8, entre cerca de 7,0 e cerca de 7,6, entre cerca de 7,2 e 7,6, entre cerca de 7,2 e cerca de 7,4 é adequado para esterilização (por exemplo, por filtração ou mistura asséptica ou tratamento com calor e/ou autoclavagem (por exemplo, esterilização terminal)) de formulações auriculares aqui descritas. Em modalidades específicas um pH da formulação de cerca de 6,0, cerca de 6.5, cerca de 7,0, cerca de 7A , cerca de 7,2, cerca de 7,3, cerca de 7,4, cerca de 7,5, ou cerca de 7,6 é adequado para esterilização (por exemplo, por filtração ou mistura asséptica ou tratamento com calor e/ou autoclavagem (por exemplo, esterilização terminal)) de qualquer composição aqui descrita.

Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas têm um pH entre cerca de 3 e cerca de 9, ou entre cerca de 4 e 8, ou entre cerca de 5 e 8, ou entre cerca de 6 e cerca de 7, ou entre cerca de 6,5 e cerca de 7, ou entre cerca de 5,5 e cerca de 7,5, ou entre cerca de 7,1 e cerca de 7,7, e têm uma concentração de ingrediente farmacêutico ativo entre cerca de 0,1 mM e cerca de 100 mM. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas têm um pH entre

cerca de 5 e cerca de 8, ou entre cerca de 6 e cerca de 7, ou entre cerca de 6,5 e cerca de 7, ou entre cerca de 5,5 e cerca de 7,5, ou entre cerca de 7,1 e cerca de 7,7, e têm uma concentração de ingrediente farmacêutico ativo entre cerca de 1 e cerca de 100 mM. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas têm um pH entre cerca de 5 e cerca de 8, ou entre cerca de 6 e cerca de 7, ou entre cerca de 6,5 e cerca de 7, ou entre cerca de 5,5 e cerca de 7,5, ou entre cerca de 7,1 e cerca de 7,7, e têm uma concentração de ingrediente farmacêutico ativo entre cerca de 50 e cerca de 80 mM. Em algumas modalidades, a concentração de ingrediente farmacêutico ativo é entre cerca de 10 e cerca de 100 mM. Em outras modalidades, a concentração de ingrediente farmacêutico ativo é entre cerca de 20 e cerca de 80 mM. Em modalidades adicionais, a concentração de ingrediente farmacêutico ativo é entre cerca de 10 e cerca de 50 mM.

Em algumas modalidades, as formulações têm um pH como aqui descrito, e incluem um agente espessante (ou seja, um agente intensificador de viscosidade) como, por exemplo, sem limitação, um agente espessante com base em celulose aqui descrito, em alguns casos, a adição de um polímero secundário (por exemplo, um agente espessante) em um pH da formulação como aqui descrito, proporciona a esterilização da formulação aqui descrita sem qualquer degradação substancial do agente auricular e/ou dos componentes do polímero na formulação auricular. Em algumas modalidades, a proporção de um poloxâmero termorreversível para um agente espessante na formulação que tem um pH como aqui descrito, é cerca de 40:1, cerca de 35:1, cerca de 30:1, cerca de

25:1, cerca de 20:1, cerca de 15:1 ou cerca de 10:1. Por exemplo, em certas modalidades, uma formulação de liberação sustentada e/ou estendida aqui descritas compreende uma combinação de poloxâmero 407 (pluronic F127) e carboximetilcelulose (CMC) em uma proporção de cerca de 40:1, cerca de 35:1, cerca de 30:1, cerca de 25:1, cerca de 20:1, cerca de 15:1 ou cerca de 10:1. Em algumas modalidades, a quantidade de polímero termorreversível em qualquer formulação aqui descrita é cerca de 10%, cerca de 15%, cerca de 20%, cerca de 25%, cerca de 30%, ou cerca de 35% do peso total da formulação. Em algumas modalidades, a quantidade de polímero termorreversível em qualquer formulação aqui descrita é cerca de 14%, cerca de 15%, cerca de 16%, cerca de 17%, cerca de 18%, cerca de I9%, cerca de 20%, cerca de 21%, cerca de 22%, cerca de 23%, cerca de 24% ou cerca de 25% do peso total da formulação. Em algumas modalidades, a quantidade de agente espesssante (por exemplo, um agente de gelação) em qualquer formulação aqui descrita é cerca de 1%, 5%, cerca de 10%, ou cerca de 15% do peso total da formulação. Em algumas modalidades, a quantidade de agente espesssante (por exemplo, um agente de gelação) em qualquer formulação aqui descrita é cerca de 0,5%, cerca de 1%, cerca de 1,5%, cerca de 2%, cerca de 2,5%, cerca de 3%, cerca de 3,5%, cerca de 4%, cerca de 4,5%, ou cerca de 5% do peso total da formulação.

Em algumas modalidades, as formulações farmacêuticas aqui descritas são estáveis com relação ao pH por um período qualquer de pelo menos cerca de 1 dia, pelo menos cerca de 2 dias, pelo menos cerca de 3 dias, pelo menos cerca de 4 dias, pelo menos cerca de 5 dias, pelo menos

cerca de 6 dias, pelo menos cerca de 1 semana, pelo menos cerca de 2 semanas, pelo menos cerca de 3 semanas, pelo menos cerca de 4 semanas, pelo menos cerca de 5 semanas, pelo menos cerca de 6 semanas, pelo menos cerca de 7 semanas, pelo menos cerca de 8 semanas, pelo menos cerca de 1 mês, pelo menos cerca de 2 meses, pelo menos cerca de 3 meses, pelo menos cerca de 4 meses, pelo menos cerca de 5 meses, ou pelo menos cerca de 6 meses. Em outras modalidades, as formulações aqui descritas são estáveis com relação ao pH por um período de pelo menos cerca de 1 semana. São também aqui descritas formulações que são estáveis com relação ao pH por um período de pelo menos cerca de 1 mês.

Agentes de tonicidade

Em geral, a endolinfa tem uma maior osmolalidade que a perilinfa. Por exemplo, a endolinfa tem uma osmolalidade de cerca de 304 mOsm/kg H_2O, enquanto a perilinfa tem uma osmolalidade de cerca de 294 mOsm/kg H_2O. Em algumas modalidades, as composições auriculares aqui descritas são formuladas para fornecer uma osmolaridade de cerca de 250 a cerca de 320 mM (osmolalidade de cerca de 250 a cerca de 320 mOsm/kg H_2O); e preferivelmente cerca de 270 a cerca de 320 mM (osmolalidade de cerca de 270 a cerca de 320 mOsm/kg H_2O). Em modalidades específicas, a osmolaridade/osmolalidade das presentes formulações é ajustada, por exemplo, pelo uso de concentrações adequadas de sal (por exemplo, concentração de sais de potássio) ou o uso de agentes de tonicidade que tornam as formulações compatíveis com a endolinfa e/ou perilinfa (ou seja, isotônicas com a endolinfa e/ou perilinfa. Em alguns casos,

as formulações compatíveis com a endolinfa e/ou perilinfa aqui descritas causam perturbação mínima ao ambiente do ouvido interno e causam desconforto mínimo (por exemplo, vertigem e/ou náusea) a um mamífero após administração.

Em algumas modalidades, qualquer formulação aqui descrita é isotônica com a perilinfa. As formulações isotônicas são fornecidas pela adição de um agente de tonicidade. Agentes de tonicidade adequados incluem, sem limitação, qualquer açúcar farmaceuticamente, sal ou quaisquer combinações ou misturas desses, como, sem limitação, dextrose, glicerina, manitol, sorbitol, cloreto de sódio, e outros eletrólitos.

As composições auriculares úteis incluem um ou mais sais em uma quantidade necessária para trazer a osmolalidade da composição a juma faixa aceitável. Tais sais incluem aqueles que têm cátions de sódio, potássio ou amônio e ânions de cloreto, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiossulfato ou bissulfito; sais adequados incluem cloreto de sódio, cloreto de potássio, tiossulfato de sódio, bissulfito de sódio e sulfato de amônio.

Em modalidades adicionais, os agentes de tonicidade são presentes em uma quantidade para fornecer uma osmolalidade final de uma formulação auricular de cerca de 100 mOsm/kg a cerca de 500 mOsm/kg, de cerca de 200 mOsm/kg a cerca de 400 mOsm/kg, de cerca de 250 mOsm/kg a cerca de 350 mOsm/kg ou de cerca de 280 mOsm/kg a cerca de 320 mOsm/kg. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas têm uma osmolaridade de cerca de 100 mOsm/L a cerca de 500 mOsm/L, cerca de 200 mOsm/L a cerca de 400

mOsm/L, cerca de 250 mOsm/L a cerca de 350 mOsm/L, ou cerca de 280 mOsm/L a cerca de 320 mOsm/L. Em algumas modalidades, a osmolaridade de qualquer formulação aqui descrita é desenhada para ser isotônica com a estrutura auricular visada, (por exemplo, endolinfa, perilinfa ou outros).

Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas têm um pH e osmolaridade como aqui descrito, e têm uma concentração de ingrediente farmacêutico ativo entre cerca de 1 µM e cerca de 10 µM, entre cerca de 1 mM e cerca de 100 mM, entre cerca de 0,1 mM e cerca de 100 mM, entre cerca de 0,1 mM e cerca de 100 mM. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas têm um pH e osmolaridade como aqui descrito, e têm uma concentração de ingrediente farmacêutico ativo entre cerca de 0,2 cerca de 20%, entre cerca de 0,2 e cerca de 10%, entre cerca de 0,2 e cerca de 7,5%, entre cerca de 0,2-5%, entre cerca de 0,2 e cerca de 3%, entre cerca de 0,1 e cerca de 2% do ingerediente ativo do peso da formulação. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas têm um pH e osmolaridade como aqui descrito, e têm uma concentração de ingrediente farmacêutico ativo entre cerca de 0,1 e cerca de 70 mg/ml, entre cerca de 1 mg e cerca de 70 mg/ml, entre cerca de 1 mg e cerca de 50 mg/ml, entre cerca de 1 mg/ml e cerca de 20 mg/ml, entre cerca de 1 mg/ml a cerca de 10 mg/ml, entre cerca de 1 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, ou entre cerca de 0,5 mg/ml, a cerca de 5 mg/ml, do agente ativo por volume da formulação.

Tamanho da partícula

A redução de tamanho é usada para aumentar a área de

superfície e/ou modular as propriedades de dissolução da formulação. Ela também é usada para manter uma distribuição de tamanho de partícula médio consistente (PSI)) (por exemplo, partícula de tamanho em micrômetro, partículas de tamanho em nanômetro ou outros) para qualquer formulação aqui descrita. Em alguns casos, qualquer formulação aqui descrita compreende multiparticulados, ou seja, uma pluralidade de tamanhos de partícula (por exemplo, partículas micronizadas, partículas de tamanho em nanômetro, partículas de tamanho não determinado); ou seja, a formulação é uma formulação multiparticulada. Em algumas modalidades, qualquer formulação aqui descrita compreende um ou mais agentes terapêuticos multiparticulados (por exemplo, micronizados). A micronização é um processo de reducao do diâmetro médio de partículas de um material sólido. Partículas micronizadas são de tamanho em diâmetro de cerca de micrômetro a cerca de tamanho em diâmetro de cerca de picômetro. Em algumas modalidades, o uso de multiparticulados (por exemplo, partículas micronizadas) de um agente auricular permite uma liberação estendida e/ou sustentada do agente auricular de qualquer formulação aqui descrita comparada a uma formulação que compreende agente auricular não multiparticulado (por exemplo, não micronizado). Em alguns casos, as formulações que contêm agentes auriculares multiparticulados (por exemplo, micronizados) são ejetadas de uma seringa de 1 ml adaptada com uma agulha de 27G sem entupimento ou obstrução.

Em alguns casos, qualquer partícula em qualquer formulação aqui descrita é uma partícula revestida (por exemplo, uma partícula micronizada revestida) e/ou uma

microesfera e/ou uma partícula lipossomal. As técnicas de redução de tamanho de partícula incluem, como exemplo, moagem, trituração (por exemplo, trituração com atrito de ar (trituração de jato), trituração com bola), coacervação, homogeneização de alta pressão, secagem com spray e/ou cristalização de fluido supercrítica. Em alguns casos, as partículas são dimensionadas por impacto mecânico (por exemplo, por moedores de martelo, moedor de bola e/ou moedores de alfinete). Em alguns casos, as partículas são dimensionadas por meio de e de fluido (por exemplo, por moedores de jato espiral, moedores de jato de alça, e/ou moedores de jato de leito fluidizado). Em algumas modalidades as formulações aqui descritas compreendem partículas cristalinas. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas compreendem partículas amorfas. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas compreendem partículas de agente terapêutico em que o agente terapêutico é uma base livre, ou um sal, ou um pró-fármaco de um agente terapêutico, ou qualquer combinação desses.

Em alguns casos, uma combinação de um agente auricular e um sal do agente auricular é usado para preparar formulações de agente auricular de liberação pulsada com o ujso dos procedimentos aqui descritos. Em algumas formulações, uma combinação de um agente auricular micronizado (e/ou sal ou pró-fármaco desses) e partículas revestidas (por exemplo, nanopartículas, lipossomos, microesferas) é usada para preparar formulações de agente auricular de liberação pulsada com o uso de qualquer procedimento aqui descrito. Alternativamente, um perfil de

liberação pulsada é atingido por solubilização de até 20% da dose liberada do agente auricular (por exemplo, agente auricular micronizado, ou base livre ou sal ou pró-fármaco desse; agente auricular multiparticulado, ou base livre ou sal ou pró-fármaco desse) com a ajuda de ciclodextrinas, surfactantes (por exemplo, poloxâmeros (407, 338, 188), tween (80, 60, 20, 81), óleo de rícino hidrogenado com PEG co-solventes como N-metil-2-Pirrolidona ou ourtos e preparação de formulações de liberação pulsada com o uso de qualquer procedimento aqui descrito.

Em algumas modalidades específicas, qualquer formulação auricular aqui descrita compreende um ou mais agentes auriculares micronizados. Em algumas de tais modalidades, um agente auricular micronizado compreende partículas micronizadas, partículas micronizadas revestidas (por exemplo, com um revestimento de liberação estendida), ou uma combinação desses. Em algumas de tais modalidades, um agente auricular micronizado que compreende partículas micronizadas, partículas micronizadas revestidas, ou uma combinação desses compreende um agente auricular como uma base livre, um sal, um pró-fármaco ou qualquer combinação desses.

Formulações auriculares de liberação controlada

Em certas modalidades, qualquer formulação auricular de liberação controlada aqui descrita aumenta a exposição de um agente auricular e aumenta a Área sob a Curva (AUC) em fluidos auriculares (por exemplo, endolinfa e/ou perilinfa) em cerca de 30%, cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80% ou cerca de 90% comparado a uma formulação que não é uma formulação

auricular de liberação controlada. Em certas modalidades, qualquer formulação auricular de liberação controlada aqui descrita aumenta a exposição de um agente auricular e diminui a C_{max} em fluidos aurciulares (por exemplo, endolinfa e/ou perilinfa) em cerca de 40%, cerca de 30%, cerca de 20%, ou cerca de 10%, comparada a uma formulação que não é uma formulação auricular de liberação controlada. Em certas modalidades, qualquer formulação auricular de liberação controlada aqui descrita altera (por exemplo reduz) a proporção de C_{max} para C_{min} comparada a uma formulação que não é uma formulação auricular de liberação controlada. Em certas modalidades, a proporção de C_{max} para C_{min}; é 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 ou 1:1. Em certas modalidades, qualquer formulação auricular de liberação controlada aqui descrita aumenta a exposição de um agente auricular e aumenta a duração de tempo que a concentração de um agente auricular está acima da C_{min} em cerca de 30%, cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80% ou cerca de 90% comparada a uma formulação que não é uma formulação auricular de liberação controlada. Em certos casos, as formulações de liberação controlada aqui descritas retardam o tempo para C_{max}. Em certos casos, a liberação estável controlada de um fármaco prolonga o tempo em que concentração do fármaco estará acima da C_{min}. Em algumas modalidades, as composições auriculares aqui descritas prolongam o tempo de residência de um fármaco no ouvido interno. Em certos casos, uma vez que a exposição ao fármaco (por exemplo, concentração na endolinfa ou perilinfa) de um fármaco atinge estado estável, a concentração do fármaco na endolinfa ou

perilinfa permanece na dose terapêutico por um período de tempo estendido (por exemplo, um dia, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias, ou 1 semana).

As formulações auriculares aqui descritas liberam um agente ativo ao ouvido externo, médio e/ou interno, que inclui a cóclea e labirinto vestibular. A liberação auricular local das composições auriculares aqui descritas permite a liberação controlada de agentes ativos às estruturas auriculares e supera as desvantagens associadas à, sistêmica administração (por exemplo, baixa biodisponibilidade do fármaco na endolinfa ou perilinfa, variabilidade na concentração do no ouvido médio e/ou interno).

As opções de liberação controlada incluem formulações em gel, lipossomos, ciclodextrinas, polímeros biodegradáveis, polímeros dispersíveis, emulsões, microesferas ou micropartículas, hidrogéis (por exemplo, um hidrogel de auto-montagem que apresenta propriedades tixotrópicas que também funcionam como um intensificador de absorção; incluindo casos em que o intensificador de penetração é um surfactante que compreende um alquil-glicosídeo e/ou um éster de alquil sacarídeo), outros meios viscosos, tintiras, espumas, materiais esponjosos de formação *in situ*, xerogéis, géis curáveis por radiação actínica, lipossomos, gel de liberação de solvente, nanocápsulas ou nanoesferas, e combinações desses; outras opções ou componentes incluem mucoadesivos, intensificador de penetraçãos, bioadesivos, antioxidantes, surfactantes, agentes de tamponamento, diluentes, sais e conservantes. Nessa extensão, considerações de viscosidade limitam

potencialmente o uso de um sistema de liberação de seringa/agulha, géis termorreversíveis ou opções de intensificação de viscosidade pós-administração são também previstas, como sistemas de liberação alternativos, que incluem bombas, dispositivos de microinjeção e outros.

Em uma modalidade das formulações de modulação da pressão auricular otogicamente aceitáveis aqui descritas, o modulador da pressão auricular é fornecido em uma formulação em gel, também aqui referida como "formulações em gel otologicamente aceitáveis", "formulações em gel aceitáveis para o ouvido interno", "formulações em gel auriculares" ou variações desses. Todos os componentes da formulação em gel devem ser compatíveis com o ouvido interno. Além disso, as formulações em gel fornecem liberação controlada do modulador da pressão auricular ao local desejado no ouvido interno. Em algumas modalidades, a formulação em gel também tem um componente de liberação imediata ou rápida para a liberação do modulador da pressão auricular ao local alvo desejado.

São aqui fornecidas, em algumas modalidades, formulações auriculares que compreendem polímeros de gelação termorreversível e/ou hidrogéis. Em alguns casos, as formulações são líquidas em temperatura ambiente ou abaixo dela mas gelificam em temperaturas corporais. Em alguns casos, a injeção intratimpânica de formulações frias (por exemplo, formulação com temperaturas de < 20°C) causa uma alteração dramática no ambiente do ouvido interno e causa vertigem em indivíduos que sofrem tratamento para distúrbios do ouvido interno. Preferivelmente, as formulações aqui descritas são desenhadas para serem

líquidas e são administradas em temperatura ambiente ou próxima a ela e não causam vertigem ou outro desconforto quando administradas a um indivíduo ou paciente.

Em algumas modalidades, as formulações são formulações bimodais e compreendem um componente de liberação imediata e um componente de liberação estendida. Em alguns casos, as formulações bimodais permitem uma taxa constante de liberação de um componente de liberação imediata (agente multiparticulado (por exemplo, agente ativo micronizado)) do polímero gelificado em uma taxa constante de liberação de um componente de liberação estendida (por exemplo, um agente ativo encapsulado que serve como um depósito para extensão da liberação de um agente ativo). Em outras modalidades, as composições auriculares aqui descritas são administradas como uma formulação de liberação controlada, liberada continuamente ou em uma maneira pulsátil, ou variantes de ambos. Ainda em outras modalidades, a formulação do agente ativo é administrada como uma formulação de liberação imediata e formulação de liberação controlada, liberada continuamente ou em uma maneira pulsátil, ou variantes de ambas. Em certas modalidades, as formulações compreendem intensificadores de penetração que permitem a liberação dos agentes ativos através da janela oval ou da janela redonda do ouvido.

Em algumas modalidades, as formulações em gel auriculares são biodegradáveis. Em outras modalidades, as formulações em gel auriculares incluem um excipiente mucoadesivo para permitir a adesão à membrana mucosa externa da janela redonda. Ainda em outras modalidades, as formulações em gel auriculares incluem um excipiente de

intensificador de penetração; em modalidades adicionais, a formulação em gel auricular contém um agente de aumento de viscosidade. Em outras modalidades, as formulações farmacêuticas auriculares fornecem uma microesfera ou micropartícula otogicamente aceitável; ainda em outras modalidades, as formulações farmacêuticas auriculares fornecem um lipossomo otologicamente aceitável. Em outras modalidades, as formulações farmacêuticas auriculares fornecem uma tintura, espuma ou xerogel otologicamente aceitável. Em outras modalidades, as formulações farmacêuticas auriculares fornecem um material esponjoso de formação *in situ* otologicamente aceitável. Modalidades adicionais incluem um gel termorreversível ou gel curável por radiação actínica na formulação farmacêutica auricular, de modo que após a preparação do gel em temperatura ambiente ou abaixo dela, a formulação é um fluido, mas após a aplicação no local alvo do ouvido interno e/ou ouvido médio que inclui a cavidade timpânica, membrana da janela redonda ou a *crista fenestrae cochleae*, a formulação farmacêutica auricular enrijece ou endurece e uma substância semelhante a um gel. Algumas modalidades include o uso de uma combinação de um mucoadesivo e um gel termorreversível em qualquer formulação auricular aqui descrita.

As formulações aqui reveladas alternativamente englobam um agente otoprotetor além de pelo menos um agente ativo e/ou excipientes, que incluem, sem limitação, tais antioxidantes, ácido alfa lipóico, cálcio, fosfomicina ou quelantes de ferro, para neutralizar potenciais efeitos ototóxicos que podem surgir do uso de agentes terapêuticos

específicos ou excipientes, diluentes ou veículos.

Um aspecto das modalidades aqui reveladas é para fornecer uma composição ou formulação de modulação da pressão auricular de liberação controlada otogicamente aceitável para o tratamento de distúrbios da homeostasia do fluido. O aspecto da liberação controlada das composições e/ou formulações aqui reveladas é transmitido através de vários agentes, que incluem, mas não são limitados a excipientes, agentes ou materiais que são aceitáveis para uso no ouvido interno ou outras estruturas do ouvido. Como exemplo apenas, tais excipientes, agentes ou materiais incluem um polímero otogicamente aceitável, um agente de aumento da viscosidade otogicamente aceitável, um gel otogicamente aceitável, uma microesfera otogicamente aceitável, um hidrogel otogicamente aceitável, um lipossomo otogicamente aceitável, uma nanocápsula ou microesfera otogicamente aceitável, um gel termorreversível otogicamente aceitável, ou combinações desses.

Portanto, são aqui fornecidas composições farmacêuticas que incluem pelo menos um agente terapêutico auricular e diluentes, excipientes, e/ou veículos otogicamente aceitáveis. Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas incluem outros agentes medicinais ou farmacêuticos, veículos, adjuvantes, como agentes conservantes, estabilizantes, umectantes ou emulsificantes, promotores de solução, sais para a regulação da pressão osmótica, e/ou tampões. Em outras modalidades, as composições farmacêuticas também contêm outras substâncias terapêuticas.

Formulações em gel otogicamente aceitáveis

Géis, algumas vezes referidos como geléias, foram definidos de várias formas. Por exemplo, a "United States Pharmacopoeia" define géis como sistemas semi-sólidos que consistem em suspensões feitas de partículas inorgânicas pequenas ou moléculas orgânicas grandes interpenetradas por um líquido. Os géis também podem consistir em um sistema de fase única ou de duas fases. Um gel de fase única consiste em macromoléculas orgânicas distribuídas uniformemente através de um líquido de tal maneira que não existe qualquer limite entre as macromoléculas dispersas e o líquido. Géis de fase única são comumente preparados a partir de macromoléculas sintéticas (por exemplo, Carbomer®) ou de gomas naturais, (por exemplo, tragacanto). Em algumas modalidades, géis de fase única são geralmente aquosos, mas também serão feitos com o uso de álcoois e óleos. Os géis de duas fases consistem uma rede de pequenas partículas distintas.

Os géis também podem ser classificados como senso hidrofóbicos ou hidrofílicos. As bases de um gel hidrofóbico comumente consistem em uma parafina líquida com polietileno ou óleos graxos gelificados com sílica coloidal, ou sabões de alumínio ou zinco. Em contraste, as bases de géis comumente consistem em água, glicerol, ou propileno glicol gelificado com um agente de gelação adequado (por exemplo, tragacanto, amido, derivados da celulose, carboxivinilpolímeros, e/ou silicatos de magnésio -alumínio).

Em certas modalidades, a reologia da formulação em gel é pseudo plástica, plástica, tixotrópica, ou dilatante.

Géis termorreveríveis

Polímeros compostos de polioxipropileno e polioxietileno são conhecidos por formarem géis termorreversíveis quando incorporados em soluções aquosas. Esses polímeros têm a capacidade de mudar do estado líquido para o estado de gel em temperaturas próximas à temperatura do corpo, portanto fornecendo formulações tópicas úteis. A transição de fase de estado líquido -para-estado de gel é dependente da concentração de polímero e dos ingredientes na solução.

"ReGel™" é um nome comercial de MacroMed Incorporated para uma classe de copolímeros em bloco biodegradáveis, de baixo peso molecular, que possuem propriedades de gelificação térmica reversa, como descrito nas Patentes U.S. Nos. 6.004.573, 6.117.949, 6.201.072 e 6.287.588. Ela também inclui veículos poliméricos biodegradáveis de fármacos revelados nos Pedidos de Patente U.S. pendentes Nos. de Série 09/906.041, 09/559.799 e 101919.603. O veículo biodegradável de fármacos compreende copolímeros em tribloco do tipo ABA ou do tipo BAB ou misturas destes, em que os blocos A são relativamente hidrofóbicos e compreendem poliésteres ou poli(orto ésteres)biodegradáveis, e os blocos B são relativamente hidrofílicos e compreendem polietileno glicol (PEG), os referidos copolímeros possuindo um teor hidrofóbico entre 50,1 e 83% do peso e um teor hidrofílico entre 17 e 499% do peso, e um peso molecular global do copolímero em bloco entre 2.000 e 8.000 dáltons. Os veículos de fármacos exibem hidrossolubilidade em temperaturas abaixo das temperaturas corporais normais de mamíferos e passam por gelificação térmica reversível para então saírem como um gel em

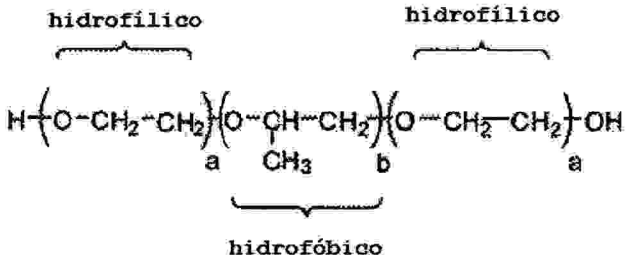
temperaturas iguais às temperaturas corporais fisiológicas de mamíferos. O bloco de polímero biodegradável hidrofóbico A compreende um poliéster ou poli (orto éster), em que o poliéster é sintetizado a partir de monômeros selecionados do grupo que consiste em DL-lactida, D-lactida, ácido D,L-lático, ácido D-lático, ácido L-lático, glicolida, ácido glicólico, ε-caprolactona, ácido ε-hidroxihexanóico, γ-butirolactona, ácido γ-hidroxibutírico, δ-valerolactona, ácido δ-hidroxivalérico, ácidos hidroxibutíricos, ácido málico, e copolímeros destes, e que possuem um peso molecular médio entre cerca de 600 e 3.000 dáltons. O segmento hidrofílico do bloco B é preferivelmente polietileno glicol (PEG) que possui um peso molecular médio entre cerca de 500 e 2.200 dáltons.

Poliésteres termoplásticos biodegradáveis adicionais incluem AtriGel™ (fornecido por Atrix Laboratories, Inc.) e/ou aqueles revelados, por exemplo, nas Patentes U.S. Nos. 5.324.519, 4.938.763, 5.702.716, 5.744.153, e 5.990.194; em que o poliéster termoplástico biodegradável adequado é revelado como um polímero termoplástico. Exemplos de poliésteres termoplásticos biodegradáveis adequados incluem polilactidas, poliglicolidas, policaprolactonas, copolímeros destas, terpolímeros destas, e quaisquer combinações destas. Em algumas dessas modalidades, o poliéster termoplástico biodegradável adequado é uma polilactida, uma poliglicolida, um copolímero destas, um terpolímero destas, ou uma combinação destas. Em uma modalidade, o poliéster termoplástico biodegradável é 50/50 poli (DL-lactida-co-glicolida) que possui um grupo terminal carboxi; está presente em cerca de 30% do peso a cerca de

40% do peso da composição; e possui um peso molecular médio de cerca de 23.000 a cerca de 45.000. Alternativamente, em outra modalidade, o poliéster termoplástico biodegradável é 75/25 poli (DL-lactida-co-glicolida) sem um grupo terminal carboxi; está presente em cerca de 40% do peso a cerca de 50% do peso da composição; e possui um peso molecular médio de cerca de 15.000 a cerca de 24.000. Em modalidades adicionais ou alternativas, os grupos terminais da poli(n-lactida-co-glicolida) são hidroxil, carboxil ou éster, dependendo do método de polimerização. A policondensação de ácido lático ou glicólico fornece um polímero com grupos terminais hidroxil e carboxil. A polimerização com abertura do anel dos monômeros cíclicos de lactida ou glicolida com água, ácido lático ou ácido glicólico fornece polímeros com os mesmos grupos terminais. No entanto, a abertura do anel dos monômeros cíclicos com um álcool monofuncional como metanol, etanol ou 1-dodecanol fornece um polímero com um grupo hidroxil e um grupo terminal éster. A polimerização com abertura do anel dos monômeros cíclicos com um diol como, por exemplo, 1,6-hexanodiol ou polietileno glicol, fornece um polímero apenas com grupos terminais hidroxil.

Modalidades adicionais incluem copolímeros termorreversíveis de poloxâmero. Poloxâmero 407 (PP-127) é um tensoativo não iônico composto por copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno. Outros poloxâmeros comumente usados incluem 188 (grau F-68), 237 (grau F-87), 338 (grau F-108). Soluções aquosas de poloxâmeros são estáveis na presença de ácidos, substâncias alcalinas e íons metálicos. PF-127 é um copolímero em tribloco de polioxietileno-polioxipropileno comercialmente disponível

de fórmula geral E106 P70 E106, com uma massa molar média de 13.000. Ele contém aproximadamente 70% de óxido de etileno, que é responsável por sua hidrofilia. Ele é um da série de copolímeros em bloco ABA de poloxâmero, cujos membros compartilham a fórmula química mostrada abaixo.



P-F127 é de particular interesse, na medida em que soluções concentradas (>20% p/p) do copolímero são transformadas de soluções transparentes de baixa viscosidade em géis sólidos mediante aquecimento com a temperatura corporal. Esse fenômeno, portanto, sugere que, quando colocada em contato com o corpo, a preparação em gel formará uma estrutura semi-sólida e um depósito de liberação controlada. Além disso, PF-127 possui boa capacidade solubilizante, baixa toxicidade, e é, portanto, considerado um bom meio para sistemas de liberação de fármacos.

Em uma modalidade alternativa, o termogel é um copolímero em tribloco de PEG-PGLA-PEG (Jeong *e cols.*, *Nature* (1997), 38S: 860-2; Jeong *e cols.*, *J. Control. Release* (2000), 63: 155-63: Jeong *e cols.*, *qAdv. Drug Delivery Rev.* (2002), 54: 37-51). O polímero exibe comportamento sol-gel em uma concentração de cerca de 5% p/p a cerca de 40% p/p. Dependendo das propriedades desejadas, a proporção molar lactida/glicolida no

copolímero de PGLA pode variar de cerca de 1:1 a cerca de 20:1. Os copolímeros resultantes são solúveis em água e formam um líquido que flui livremente em temperatura ambiente, mas formam um hidrogel na temperatura corporal. Um copolímero em tribloco de PEG-PGLA-PEG comercialmente disponível é RESOMER RGP t50106 fabricado por Boehringer Ingelheim. Esse material é composto por um copolímero de PGLA de 50:50 de poli(DL-lactida-co-glicolida) e é 10% p/p d PEG e possui um peso molecular de cerca de 6.000.

Em algumas modalidades, uma combinação adequada de agentes de gelificação e um gel termorreversível é utilizada nas formulações de liberação controlada aqui descritas. Agentes de gelificação adequados para uso na preparação da formulação em gel incluem, sem limitação, celuloses, derivados de celulose, éteres de celulose (por exemplo, carboximetilcelulose, etilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroximetilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose, metilcelulose), goma guar, goma xantana, goma de alfarroba, alginatos (por exemplo, ácido algínico), silicatos, amido, tragacanto, polímeros de carboxivinila, carragenana, parafina, vaselina, e quaisquer combinações ou misturas destes. Em outras modalidades, hidroxipropilmetilcelulose (Methocel®) é utilizada como o agente de gelificação. Em certas modalidades, os agentes espessantes (ou seja, agentes intensificadores da viscosidade) aqui descritos também são utilizados como o agente de gelificação para as formulações em gel aqui apresentadas.

Combinações adequadas de géis termorreversíveis com um agente espessante incluem, apenas como exemplo não

limitante, uma combinação de copolímeros termorreversíveis de poloxâmero com agentes espessantes à base de celulose aqui descritos. Em alguns casos, a adição de um polímero secundário (por exemplo, um agente espessante) introduz uma barreira à difusão e reduz a taxa de liberação do agente auricular. Um agente espessante adequado (por exemplo, um polímero à base de celulose, por exemplo, polímero CMC) é selecionado com base na viscosidade de uma solução 2% do polímero secundário (por exemplo, CMC); o polímero secundário selecionado (por exemplo, CMC) fornece uma solução de polímero de 2% com viscosidade menor que 15.000 cP. Em formulações específicas, o polímero secundário selecionado (por exemplo, CMC) fornece uma solução de polímero de 2% com viscosidade de cerca de 4.000 cP a cerca de 10.000 cP. Em algumas modalidades, a proporção de um poloxâmero termorreversível para um agente de gelificação é de cerca de 50:1, cerca de 40:1, cerca de 35:1, cerca de 30:1, cerca de 25:1, cerca de 20:1, cerca de 15:1 ou cerca de 10:1. Por exemplo, em certas modalidades, uma formulação de liberação controlada aqui descrita compreende uma combinação de poloxâmero 407 (plurônico F127) e carboximetilcelulose (CMC) em uma proporção de cerca de 50:1, 40:1, cerca de 35:1, cerca de 30:1, cerca de 25:1, cerca de 20:1, cerca de 15:1 ou cerca de 10:1.

Hidrogéis

O glicerofosfato de quitosana (CGP) é uma matriz biodegradável para a formação de hidrogéis. CGP demonstrou ser adequado para liberação local de dexametasona ao ouvido interno, em que 50% do agente ativo eram liberados após 24 horas, seguidos por um declínio linear ao longo de 5 dias

dos níveis farmacológicos perilinfa. Em algumas modalidades, CGP é usado como um agente intensificador da viscosidade ou agente de gelificação biodegradável para a liberação controlada de agentes ativos pelas formulações aqui reveladas. Em certas modalidades, quando CGP é usado como um agente intensificador da viscosidade ou como agente de gelificação, as composições também compreendem lipossomos. Lipossomos são adicionados para controlar ainda mais a liberação de agentes ativos pelas formulações aqui reveladas, sejam elas pequenas moléculas antimicrobianas hidrofóbicas ou hidrofílicas.

Em algumas modalidades, outras formulações em gel também são contempladas como sendo úteis, dependendo da modalidade particular e, dessa forma, são consideradas como incluídas no escopo da presente revelação. Por exemplo, outros géis à base de glicerina atualmente disponíveis comercialmente, compostos derivados de glicerina, géis, matrizes, hidrogéis e polímeros conjugados ou entrecruzados, bem como gelatinas e seus derivados, alginatos, e géis à base de alginato, e espera-se que até mesmo vários compostos de hidrogel nativos e sintéticos e derivados de hidrogel, sejam úteis nas formulações aqui descritas. Em algumas modalidades, géis incluem, sem limitação, hidrogéis de alginato SAF-Gel (ConvaTec, Princeton, N.J.), "Duoderm Hidroactive Gel" (ConvaTec), Nu-gel (Johnson & Johnson Medical, Arlington, Tex.); Carrasyn (V) Acemannan Hydrogel (Carrington Laboratories, Inc., Irving Tex.); géis de glicerina Etta Hidrogel (Swiss-American Products, Inc., Dallas, Tex.) e K-Y Estéril (Johnson & Johnson). Em uma modalidade, uma solução

esterilizada de alginato de sódio é misturada com uma solução esterilizada de um sal de cálcio compatível otologicamente, o(s) agente(s) terapêutico(s) e um polissacarídeo. Com mistura, um gel é formado em uma quantidade de tempo desejada que possui uma viscosidade desejada. Em modalidades adicionais, géis biodegradáveis biocompatíveis também representam compostos presentes em formulações aqui reveladas e descritas. Em algumas modalidades, um agente endurecedor (por exemplo, glutaraldeído, formaldeído) é adicionado a um gel de hidrogel biodegradável. São contemplados para uso nas formulações aqui descritas hidrogéis biodegradáveis que compreendem, por exemplo, 0,1, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ou 100 mM de glutaraldeído (por exemplo, um gel de gelatina e/ou um gel de glicerina e/ou um hidrogel de quitosana que compreendem 10 mM de glutaraldeído). Em modalidades adicionais, géis biodegradáveis biocompatíveis também representam compostos presentes em formulações otologicamente aceitáveis aqui reveladas e descritas. Para exemplos de formulações e suas características, veja a Tabela 1.

Em algumas formulações desenvolvidas para administração a um mamífero, e para composições formuladas para administração humana, o gel compreende substancialmente todo o peso da composição. Em outras modalidades, o gel compreende até cerca de 98% ou cerca de 99% da composição em peso. Em uma modalidade adicional, isso é desejado quando é necessária uma formulação substancialmente não fluida, ou substancialmente viscosa.

Em uma modalidade adicional, quando são desejadas formulações ligeiramente menos viscosas, ou ligeiramente mais fluidas, a porção de gel biocompatível da formulação compreende pelo menos cerca de 50% do peso, pelo menos cerca de 60% do peso, pelo menos cerca de 70% do peso, ou até mesmo pelo menos cerca de 80% ou 90% do peso do composto. Evidentemente, todos os números inteiros intermediários dentro dessas faixas são contemplados como incluídos no escopo desta revelação e, em algumas modalidades, são formuladas composições em gel ainda mais fluidas (e, conseqüentemente, menos viscosas) como, por exemplo, aquelas nas quais o componente em gel ou da matriz da mistura compreende no máximo cerca de 50% do peso, no máximo cerca de 40% do peso, no máximo cerca de 30% do peso, ou até mesmo aquelas que compreendem no máximo cerca de 15% ou cerca de 20% do peso da composição.

Se desejado, os géis também podem conter conservantes, co-solventes, agentes de suspensão, agentes intensificadores da viscosidade, ajustadores da potência iônica e da osmolaridade, e outros excipientes além dos agentes de tamponamento. Conservantes hidrossolúveis adequados que são empregados no veículo de liberação de fármaco são bissulfito de sódio, tiossulfato de sódio, ascorbato, cloreto de benzalcônio, clorobutanol, timerosal, parabenos, álcool benzílico, feniletanol, e outros. Esses agentes estão presentes, geralmente, em quantidades de cerca de 0,001% a cerca de 5% do peso e, preferivelmente, na quantidade de cerca de 0,01 a cerca de 2% do peso.

Agentes de tamponamento hidrossolúveis adequados são carbonatos, fosfatos, bicarbonatos, citratos, boratos,

acetatos, succinatos e outros de metal alcalino ou alcalino terroso, como fosfato, citrato, borato, acetato, bicarbonato, carbonato de sódio e trometamina (TRIS). Esses agentes estão presentes em quantidades suficientes para manter o pH do sistema em 7,4 ± 0,2 e, preferivelmente, 7,4. Dessa forma, o agente de tamponamento pode ser até 5% em termos de peso da composição total.

Co-solventes podem ser usados para aumentar a solubilidade fármaco do fármaco; no entanto, alguns fármacos são insolúveis. Esses podem freqüentemente ser suspensos no veículo de polímero com o auxílio de agentes de suspensão ou agentes intensificadores da viscosidade adequados.

Como os sistemas de polímero do gel termorreversível se dissolvem mais completamente em temperaturas reduzidas, os métodos preferidos de solubilização são a adição da quantidade de polímero necessária à quantidade de água a ser usada. Geralmente, após umidificação do polímero por agitação, a mistura é tampada e colocada em uma câmara fria ou em um recipiente termostático a cerca de 0-10°C a fim de dissolver o polímero. A mistura pode ser agitada para produzir uma dissolução mais rápida do polímero. O ingrediente farmacêutico ativo e vários aditivos como, por exemplo, tampões, sais e conservantes, podem subseqüentemente ser adicionados e dissolvidos. Em algumas modalidades, a substância farmacologicamente ativa é suspensa, caso seja insolúvel em água. O pH é modulado pela adição de agentes de tamponamento apropriados.

Em certas modalidades, os sistemas de polímero dos géis termorreversíveis são projetados para que permaneçam

líquidos em temperaturas de até cerca de 15-25°C, cerca de 18-22°C ou cerca de 20°C. Em alguns casos, as formulações aqui descritas são fabricadas sob condições tais que a temperatura da sala de fabricação seja mantida abaixo de 25°C para reter a temperatura de uma solução de polímero em cerca de 25°C, cerca de 23°C, cerca de 21°C ou cerca de 19°C. Em certos casos, as formulações aqui descritas são fabricadas sob condições tais que a temperatura de uma sala de fabricação seja mantida em cerca de 19°C. Em alguns desses casos, a temperatura da solução de polímero é mantida em torno ou abaixo de cerca de 19°C por até 3 horas do início da fabricação, sem a necessidade de resfriar o recipiente. Em alguns casos, a temperatura da solução é mantida em torno ou abaixo de cerca de 19°C por até 3 horas do início da fabricação pelo uso de um recipiente revestido para a solução de polímero.

Gel curável por radiação otologicamente aceitável

Em outras modalidades, o gel é um gel curável por radiação actínica, de tal forma que, após administração em uma estrutura auricular visada, ou perto dela, o uso de radiação actínica (ou luminosa, que inclui luz UV, luz visível ou luz infravermelha) faz com que sejam formadas as propriedades desejadas do gel. Apenas como exemplo, fibras ópticas são usadas para fornecer a radiação actínica de modo a formar as propriedades desejadas do gel. Em algumas modalidades, as fibras ópticas e o dispositivo de administração do gel formam uma unidade única. Em outras modalidades, as fibras ópticas e o dispositivo de administração do gel são fornecidos separadamente.

Gel de liberação de solvente otologicamente aceitável

Em algumas modalidades, o gel é um gel de liberação de solvente de tal forma que as propriedades desejadas do gel são formadas após administração a uma estrutura auricular visada, ou perto dela, ou seja, à medida que o solvente na formulação em gel injetada sai do gel por difusão, é formado um gel que possui as propriedades desejadas do gel. Por exemplo, uma formulação que compreende acetato isobutirato de sacarose, um solvente farmaceuticamente aceitável, um ou mais aditivos, e o agente terapêutico auricular é administrado na membrana da janela redonda ou perto dela: a difusão do solvente para fora da formulação injetada fornece um depósito que possui as propriedades desejadas do gel. Por exemplo, o uso de um solvente hidrossolúvel fornece um depósito de alta viscosidade quando o solvente se difunde rapidamente para fora da formulação injetada. Por outro lado, o uso de um solvente hidrofóbico (por exemplo, benzoato de benzila) fornece um depósito menos viscoso. Um exemplo de uma formulação em gel de liberação de solvente otologicamente aceitável é o sistema de liberação SABER™, comercializado por DURECT Corporation.

Serão apresentados abaixo exemplos de excipientes de liberação controlada potenciais:

Formulação de exemplo	**Características do exemplo**
Glicerofosfato de quitosana (CGP)	- degradação ajustável da matriz *in vitro* - liberação do modulador de VP2 *in vitro*: por exemplo, aproximadamente 50% do fármaco liberados após 24 horas

	- biodegradável - compatível com liberação de fármaco no ouvido interno - adequado para macromoléculas e fármacos hidrofóbicos
Polímeros em tribloco de PEG-PGLA	- alta estabilidade ajustável; por exemplo, mantém a integridade mecânica > 1 mês *in vitro* - liberação rápida ajustável de fármacos hidrofílicos: por exemplo, aproximadamente 50% do fármaco são liberados após 24 horas, e o restante liberado ao longo de aproximadamente 5 dias - liberação lenta ajustável de fármacos hidrofóbicos: por exemplo, aproximadamente 80% liberados após 8 semanas - biodegradável - injeção subcutânea de solução: por exemplo, o gel se forma em segundos e está intacto após 1 mês
Copolímeros em tribloco de PEO-PPO-PEO (por exemplo, Plurônico ou Poloxâmeros) (por exemplo, F127)	- temperatura da transição sol-gel ajustável: por exemplo, diminui com concentração crescente de F127
Glicerofosfato de quitosana com	- formulação de CGP tolera lipossomos: por exemplo, até 15

lipossomos carregados com fármaco	µM/ml de lipossomos - lipossomos reduzem de forma ajustável o tempo de liberação do fármaco (por exemplo, até 2 semanas *in vitro*) - o aumento do diâmetro do lipossomo opcionalmente reduz a cinética de liberação do fármaco (por exemplo, lipossomos com tamanho entre 100 e 300 nm) - os parâmetros de liberação são controlados alterando-se a composição dos lipossomos

Excipientes mucoadesivos do ouvido interno

As características mucoadesivas também podem ser transmitidas ao gel ou a outras formulações para o ouvido interno aqui reveladas, que incluem um gel termorreversível, por incorporação de carbômeros mucoadesivos como, por exemplo, Carbopol 934P, à composição (Majithiya *e cols.*, *AAPS PharmSci Tech*. (2006), 7(3), p. E1; EP0551626).

O termo "mucoadesão" é comumente usado para materiais que se ligam à camada principal de uma membrana biológica. Para servir como polímeros mucoadesivos, os polímeros devem possuir algumas características físico-químicas gerais como, por exemplo, hidrofilia predominante aniônica com vários grupos formadores de ligação hidrogênio, propriedades de superfície adequadas para umidificação de superfícies de tecidos mucosos e flexibilidade suficiente para penetrar na rede mucosa. Em algumas modalidades, as

formulações mucoadesivas aqui descritas aderem à janela redonda e/ou à janela oval e/ou a qualquer estrutura do ouvido interno.

Os agentes mucoadesivos incluem, sem limitação, pelo menos um polímero solúvel de polivinilpirrolidona (PVP); um polímero fibroso carboxi-funcional entrecruzado que pode ser deglutido em água, mas que é insolúvel em água; um poli(ácido acrílico) entrecruzado (por exemplo, Carbopol 947P); um homopolímero de carbômero; um copolímero de carbômero; uma goma hidrofílica de polissacarídeo, maltodextrina, um gel de goma entrecruzada de alginato, um polímero de vinil policarboxilado dispersível em água, pelo menos dois componentes particulados selecionados do grupo que consiste em dióxido de titânio, dióxido de silício e argila, ou uma mistura destes. Os agentes mucoadesivos são usados em combinação com um excipiente de aumento da viscosidade, ou são usados isoladamente para aumentar a interação da composição com uma camada mucosa. Em um exemplo não limitante, o agente mucoadesivo é maltodextrina e/ou uma goma de alginato. Aqueles habilitados na técnica reconhecerão que o caráter mucoadesivo transmitido à composição deve ser em um nível que seja suficiente para liberar uma quantidade eficaz da composição, por exemplo, à membrana mucosa da janela redonda em uma quantidade que possa revestir a membrana mucosa e, portanto, liberar a composição às áreas afetadas, que incluem, apenas como exemplo, as estruturas vestibulares e/ou cocleares do ouvido interno. Aqueles habilitados na técnica podem determinar as características mucoadesivas das composições aqui fornecidas, e podem, dessa forma, determinar faixas

apropriadas. Um método para determinação de mucoadesividade suficiente pode incluir o monitoramento de alterações na interação da composição com uma camada mucosa, o que inclui, sem limitação, a medida de alterações no tempo de residência ou de retenção da composição na ausência e presença do excipiente.

Foram descritos agentes mucoadesivos, por exemplo, nas Patentes U.S. Nos. 6.638.521, 6.562.363, 6.509.028, 6.348.502, 6.319.513, 6.306.789, 5.814.330 e 4.900.552, cada um deles aqui incorporado por referência em sua totalidade.

Em um exemplo não limitante, o agente mucoadesivo é maltodextrina. Maltodextrina é um carboidrato produzido pela hidrólise de amidos que são derivados de milho, batata, trigo ou de outros produtos de planta. Maltodextrinas são usadas isoladamente ou em combinação com outros agentes mucoadesivos para transmitir características mucoadesivas nas composições aqui reveladas. Em uma modalidade, uma combinação de maltodextrina e um polímero de carbopol são usados para aumentar as características mucoadesivas das composições aqui reveladas.

Em outro exemplo não limitante, um agente mucoadesivo pode ser, por exemplo, pelo menos dois componentes particulados selecionados de dióxido de titânio, dióxido de silício e argila, em que a composição não é adicionalmente diluída com nenhum líquido antes da administração, e o nível de dióxido de silício, se presente, é de cerca de 3% a cerca de 15% do peso da composição. O dióxido de silício, se presente, é selecionado do grupo que consiste em dióxido de silício vaporizado, dióxido de silício precipitado,

dióxido de silício coacervado, dióxido de silício em gel, e misturas destes; argilas, se presentes, são minerais de caulim, minerais de serpentina, esmectitas, ilita, ou uma mistura destes. Por exemplo, a argila pode ser laponita, bentonita, bectorita, saponita, montmorilonitas, ou uma mistura destas.

Estabilizantes

Em uma modalidade, estabilizantes são selecionados de, por exemplo, ácidos graxos, álcoois graxos, álcoois, ésteres de ácido graxo de cadeia longa, ésteres de cadeia longa, derivados hidrofílicos de ácidos graxos, polivinil pirrolidonas, éteres polivinílicos, álcoois polivinílicos, hidrocarbonetos, polímeros hidrofóbicos, polímeros absorventes de umidade, e combinações destes. Em algumas modalidades, análogos de amida de estabilizantes também podem ser usados. Em uma modalidade adicional, o estabilizante escolhido altera a hidrofobicidade da formulação (por exemplo, ácido oléico, ceras), ou aumenta a mistura de vários componentes na formulação (por exemplo, etanol), controla o nível de umidade na fórmula (por exemplo, PVC ou polivinil pirrolidona), controla a mobilidade da fase (substâncias com pontos de fusão maiores do que a temperatura ambiente como, por exemplo, ácidos graxos de cadeia longa, álcoois, ésteres, éteres, amidas etc., ou misturas destes; ceras), e/ou aumenta a compatibilidade da fórmula com materiais de encapsulação (por exemplo, ácido oléico ou cera). Em outra modalidade, alguns desses estabilizantes são usados como solventes/co-solventes (por exemplo, etanol). Em uma modalidade adicional, os estabilizantes estão presentes em uma

quantidade suficiente para inibir a degradação do ingrediente farmacêutico ativo. Exemplos desses agentes estabilizantes incluem, sem limitação: (a) cerca de 0,5% a cerca de 2% p/v de glicerol, (b) cerca de 0,1% a cerca de 1% p/v de metionina, (c) cerca de 0,1% a cerca de 2% p/v de monotioglicerol, (d) cerca de 1 mM a cerca de 10 mM de EDTA, (e) cerca de 0,01% a cerca de 2% p/v de ácido ascórbico, (f) 0,003% a cerca de 0,02% p/v de polissorbato 80, (g) 0,001% a cerca de 0,05% p/v de polissorbato 20, (h) arginina, (i) heparina, (j) sulfato de dextrana, (k) ciclodextrinas, (l) polissulfato de pentosana e outros heparinóides, (m) cátions divalentes como, por exemplo, magnésio e zinco; ou (n) combinações destes.

Formulações otologicamente aceitáveis úteis adicionais incluem um ou mais aditivos antiagregação para aumentar a estabilidade de formulações auriculares por redução da taxa de agregação de proteína. O aditivo antiagregação selecionado depende da natureza das condições às quais os agentes auriculares, por exemplo, anticorpos anti-TNF, são expostos. Por exemplo, certas formulações que passam por agitação e estresse térmico exigem um aditivo antiagregação diferente do que uma formulação que passa por liofilização e reconstituição. Aditivos antiagregação úteis incluem, apenas como exemplo, uréia, cloreto de guanidínio, aminoácidos simples como, por exemplo, glicina ou arginina, açúcares, poliálcoois, polissorbatos, polímeros como polietileno glicol e dextranas, alquil sacarídeos como, por exemplo, alquil glicosídeo, e tensoativos.

Outras formulações úteis incluem um ou mais antioxidantes para aumentar a estabilidade química, quando

necessário. Antioxidantes adequados incluem, apenas como exemplo, ácido ascórbico e metabissulfito de sódio. Em uma modalidade, os antioxidantes são selecionados de agentes quelantes de metal, compostos que contêm tiol e outros agentes estabilizantes gerais.

Ainda outras composições úteis incluem um ou mais tensoativos para aumentar a estabilidade física ou para outras finalidades. Tensoativos não iônicos adequados incluem glicerídeos de ácido de graxo polioxietileno e óleos vegetais, por exemplo, polioxietileno (60), óleo de rícino hidrogenado; e alquiléteres de polioxietileno e alquilfenil éteres, por exemplo, octoxinol 10, octoxinol 40.

Em algumas modalidades, as formulações farmacêuticas aqui descritas são estáveis com relação à degradação do composto ao longo de um período de pelo menos cerca de 1 dia, pelo menos cerca de 2 dias, pelo menos cerca de 3 dias, pelo menos cerca de 4 dias, pelo menos cerca de 5 dias, pelo menos cerca de 6 dias, pelo menos cerca de 1 semana, pelo menos cerca de 2 semanas, pelo menos cerca de 3 semanas, pelo menos cerca de 4 semanas, pelo menos cerca de 5 semanas, pelo menos cerca de 6 semanas, pelo menos cerca de 7 semanas, pelo menos cerca de 8 semanas, pelo menos cerca de 1 mês, pelo menos cerca de 2 meses, pelo menos cerca de 3 meses, pelo menos cerca de 4 meses, pelo menos cerca de 5 meses, ou pelo menos cerca de 6 meses. Em outras modalidades, as formulações aqui descritas são estáveis com relação à degradação do composto ao longo de um período de pelo menos cerca de 1 semana. Também são aqui descritas formulações que são estáveis com relação à

degradação do composto ao longo de um período de pelo menos cerca de 1 mês.

Em outras modalidades, um tensoativo adicional (co-tensoativo) e/ou agente de tamponamento é combinado com um ou mais dos veículos farmaceuticamente aceitáveis previamente aqui descritos, de modo que o tensoativo e/ou agente de tamponamento mantenha o produto em um pH ótimo para estabilidade. Co-tensoativos adequados incluem, sem limitação: a) agentes lipofílicos naturais e sintéticos, por exemplo, fosfolipídeos, colesterol e ésteres de ácido graxo de colesterol e derivados destes; b) tensoativos não iônicos, que incluem, por exemplo, ésteres de álcool graxo de polioxietileno, ésteres de ácido graxo de sorbitano (Spans), ésteres de ácido graxo de polioxietileno sorbitano (por exemplo, monooleato de polioxietileno (20) sorbitano (Tween 80), monoestearato de polioxietileno (20) sorbitano (Tween 60), monolaurato de polioxietileno (20) sorbitano (Tween 20) e outros Tweens, ésteres de sorbitano, ésteres de glicerol, por exemplo, Myrj e triacetato de glicerol (triacetina), polietileno glicóis, álcool cetílico, álcool cetoestearílico, álcool estearílico, polissorbato 80, poloxâmeros, poloxaminas, derivados de polioxietileno de óleo de rícino (por exemplo, Cremophor® RH40, Cremophor A25, Cremophor A20, Cremophor® EL) e outros Cremophor, sulfossuccinatos, alquil sulfatos (SLS): ésteres de ácido graxo de PEG gliceril como, por exemplo, PEG-8 gliceril caprilato/caprato (Labrasol), PEG-4 gliceril caprilato/caprato (Labrafac Hydro WL 1219), PEG-32 gliceril laurato (Gelucire 444/14), monooleato de PEG-6 gliceril (Labrafil M 1944 CS), linoleato de PEG-6 gliceril (Labrafil

M 2125 CS); mono- e diésteres de ácido graxo de propileno glicol, por exemplo, laurato de propileno glicol, caprilato/caprato de propileno glicol, Brij® 700, ascorbil-6-palmitato, estearilamina, lauril sulfato de sódio, trirricinoleato de polioxetilenoglicerol, e combinações ou misturas destes; c) tensoativos aniônicos incluem, sem limitação, carboximetilcelulose cálcica, carboximetilcelulose sódica, sulfossuccinato de sódio, dioctil, alginato de sódio, sulfatos de alquil polioxietileno, lauril sulfato de sódio, estearato de trietanolamina, laurato de potássio, sais biliares, e quaisquer combinações ou misturas destes; e d) tensoativos catiônicos como compostos de amônio quaternário, cloreto de benzalcônio, brometo de cetiltrimetilamônio e cloreto de laurildimetilbenzil-amônio.

Em uma modalidade adicional, quando um ou mais co-tensoativos são utilizados nas formulações da presente revelação, eles são combinados, por exemplo, com um veículo farmaceuticamente aceitável e estão presentes na formulação final, por exemplo, em uma quantidade que varia cerca de 0,1% a cerca de 20%, de cerca de 0,5% a cerca de 10%. Em uma modalidade, o tensoativo possui um valor de HLB de 0 a 20. Em modalidades adicionais, o tensoativo possui um valor de HLB de 0 a 3, de 4 a 6, de 7 a 9, de 8 a 18, de 13 a 15, de 10 a 18.

Conservantes

Em algumas modalidades, uma formulação auricular de liberação controlada aqui descrita é livre de conservantes. Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada compreende um conservante. Conservantes otologicamente

aceitáveis adequados para uma composição aqui revelada incluem, sem limitação, ácido benzóico, ácido bórico, p-hidroxibenzoatos, álcool benzílico, álcoois de alquil inferior (por exemplo, etanol, butanol ou semelhantes), compostos quaternários, dióxido de cloro estabilizado, mercuriais como, por exemplo, merfeno e timerosal, misturas dos citados anteriormente, e outros. Conservantes adequados para uso com uma formulação aqui revelada não são ototóxicas. Em algumas modalidades, uma formulação aqui revelada não inclui um conservante que seja ototóxico. Em algumas modalidades, uma formulação aqui revelada não inclui cloreto de benzalcônio ou cloreto de benzetônio.

Em certas modalidades, qualquer formulação de liberação controlada aqui descrita possui um nível de endotoxina de menos que 0,5 EU/kg, menos que 0,4 EU/kg ou menos que 0,3 EU/kg. Em certas modalidades, qualquer formulação de liberação controlada aqui descrita possui menos que cerca de 60 unidades formadoras de colônia (CFU), possui menos que cerca de 50 unidades formadoras de colônia, possui menos que cerca de 40 unidades formadoras de colônia, menos que cerca de 30 unidades formadoras de colônia de agentes microbianos por grama de formulação. Em certas modalidades, qualquer formulação de liberação controlada aqui descrita é substancialmente livre de pirógenos.

Em uma modalidade adicional, o conservante é, apenas como exemplo, um agente antimicrobiano, dentro da formulação aqui apresentada. Em uma modalidade, a formulação inclui um conservante como, apenas como exemplo, metil parabeno. Em outra modalidade, o metil parabeno está

em uma concentração de cerca de 0,05% a cerca de 1,0%, cerca de 0,1% a cerca de 0,2%. Em uma modalidade adicional, o gel é preparado por mistura de água, metilparabeno, hidroxietilcelulose e acetato de sódio. Em uma modalidade adicional, a mistura é esterilizada por autoclavagem a 120°C por cerca de 20 minutos, e testada quanto ao pH, à concentração de metilparabeno e viscosidade, antes da mistura com a quantidade apropriada do ingrediente farmacêutico ativo aqui revelado. Em certas modalidades, o conservante empregado em qualquer formulação compatível otologicamente aqui descrita é um antioxidante (por exemplo, butil hidroxitolueno (BHT), ou semelhantes, como aqui descrito). Em certas modalidades, um conservante antioxidante é atóxico e/ou não irritante ao ambiente do ouvido interno.

Veículos

Veículos adequados para uso em uma formulação aqui descrita incluem, sem limitação, qualquer solvente farmaceuticamente aceitável. Por exemplo, solventes adequados incluem polialquileno glicóis como, por exemplo, sem limitação, polietileno glicol (PEG) e quaisquer combinações ou misturas destes. Em outras modalidades, a base é uma combinação de um tensoativo e solventes farmaceuticamente aceitáveis.

Em algumas modalidades, outros excipientes incluem estearil fumarato de sódio, cetil sulfato de dietanolamina, isoestearato, óleo de rícino polietoxilado, cloreto de benzalcônio, nonoxil 10, octoxinol 9, lauril sulfato de sódio, ésteres de sorbitano (monolaurato de sorbitano, monooleato de sorbitano, monopalmitato de sorbitano,

monoestearato de sorbitano, sesquioleato de sorbitano, trioleato de sorbitano, triestearato de sorbitano, laurato de sorbitano, oleato de sorbitano, palmitato de sorbitano, estearato de sorbitano, dioleato de sorbitano, sesqui-isoestearato de sorbitano, sesquiestearato de sorbitano, tri-isoestearato de sorbitano), lecitinas, fosfolipídeos, fosfatidil colinas (C8-C18), fosfatidiletanolaminas (C8-C18), fosfatidilgliceróis (C8-C18), sais farmacêuticos aceitáveis destes, e combinações ou misturas destes.

Em modalidades adicionais, o veículo é polietileno glicol. Polietileno glicol está disponível em muitos graus diferentes que possuem pesos moleculares variáveis. Por exemplo, polietileno glicol está disponível como PEG 200; PEG 300; PEG 400; PEG 540 (mistura); PEG 600; PEG 900; PEG 1000; PEG 1450; PEG 1540; PEG 2000; PEG 3000; PEG 3350; PEG 4000; PEG 4600 e PEG 8000. Para os objetivos da presente revelação, todos os graus de polietileno glicol são contemplados para uso na preparação de uma formulação aqui descrita. Em algumas modalidades, o polietileno glicol usado para preparar uma formulação aqui descrita é PEG 300.

Em outras modalidades, o veículo é um polissorbato. Polissorbatos são tensoativos não iônicos de ésteres de sorbitano. Polissorbatos úteis na presente revelação incluem, sem limitação, polissorbato 20, polissorbato 40, polissorbato 60, polissorbato 80 (Tween 80) e quaisquer combinações ou misturas destes. Em modalidades adicionais, polissorbato 80 é utilizado como o veículo farmaceuticamente aceitável.

Em uma modalidade, formulações espessadas hidrossolúveis à base de glicerina utilizadas na preparação

de veículos de liberação farmacêutica que compreendem pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo que contém pelo menos cerca de 0,1% do composto hidrossolúvel de glicerina ou mais. Em algumas modalidades, a percentagem de ingrediente farmacêutico ativo é variada, entre cerca de 1% e cerca de 95%, entre cerca de 5% e cerca de 80%, entre cerca de 10% e cerca de 60% ou mais do peso ou volume da formulação farmacêutica total. Em algumas modalidades, a quantidade do(s) composto(s) em cada formulação terapeuticamente útil é preparada de tal forma que uma dosagem adequada seja obtida em certa dose unitária do composto. Fatores como, por exemplo, solubilidade, biodisponibilidade, meia-vida biológica, via de administração, validade do produto, bem como outras considerações farmacológicas, são aqui contemplados, e a preparação dessas formulações farmacêuticas é aqui apresentada.

Agentes de suspensão

Em uma modalidade, é fornecido um ingrediente farmacêutico ativo em uma formulação espessada farmaceuticamente aceitável, em que uma formulação compreende pelo menos um agente de suspensão.

Em uma modalidade, pelo menos um agente citotóxico é incluído em uma formulação com viscosidade aumentada farmaceuticamente aceitável em que uma formulação ainda compreende pelo menos um agente de suspensão, em que o agente de suspensão ajuda a transmitir características de liberação controlada à formulação. Em algumas modalidades, os agentes de suspensão também servem para aumentar a viscosidade das formulações e composições otologicamente

aceitáveis de agente citotóxico.

Agentes de suspensão incluem, apenas como exemplo, compostos como polivinilpirrolidona, por exemplo, polivinilpirrolidona K12, polivinilpirrolidona K17, polivinilpirrolidona K25 ou polivinilpirrolidona K30, copolímero de vinil pirrolidona / acetato de vinila (S630), polietileno glicol, por exemplo, o polietileno glicol pode ter um peso molecular de cerca de 300 a cerca de 6.000, ou cerca de 3.350 a cerca de 4.000, ou cerca de 7.000 a cerca de 5.400, carboximetilcelulose sódica, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, acetato estearato de hidroximetilcelulose, polissorbato-80, hidroxietilcelulose, alginato de sódio, gomas como, por exemplo, goma tragacanto e goma acácia, goma guar, xantanas, que incluem goma xantana, açúcares, celulósicos como, por exemplo, carboximetilcelulose sódica, metilcelulose, carboximetilcelulose sódica, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxietilcelulose, polissorbato-80, alginato de sódio, monolaurato de sorbitano polietoxilado, monolaurato de sorbitano polietoxilado, povidona e outros. Em algumas modalidades, suspensões aquosas úteis também contêm um ou mais polímeros como agentes de suspensão. Polímeros úteis incluem polímeros hidrossolúveis como, por exemplo, polímeros celulósicos, por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose, e polímeros insolúveis em água como, por exemplo, polímeros entrecruzados que contêm carboxil.

Em uma modalidade, a presente revelação fornece composições que compreendem uma quantidade terapeuticamente eficaz de um ingrediente farmacêutico ativo em um gel de

hidroxietilcelulose. Hidroxietilcelulose (HEC) é obtida como um pó seco que pode ser reconstituído em água ou em uma solução aquosa de tampão para gerar a viscosidade desejada (geralmente cerca de 200 cps a cerca de 30.000 cps, que corresponde a cerca de 0,2 a cerca de HEC 10%). Em uma modalidade, a concentração de HEC é entre cerca de 1% e cerca de 15%, cerca de 1% e cerca de 2%, ou cerca de 1,5% e cerca de 2%.

Em algumas modalidades, as formulações incluem excipientes, outros agentes medicinais ou farmacêuticos, veículos, adjuvantes como, por exemplo, agentes conservantes, estabilizantes, umectantes ou emulsificantes, promotores de solução e sais. Em algumas modalidades, os excipientes, veículos, adjuvantes são úteis na formação de uma formulação espessada farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades, a formulação espessada compreende um estabilizante. Em outra modalidade, a formulação compreende um solubilizante. Em uma modalidade adicional, a formulação compreende um agente antiespuma. Ainda em outra modalidade, a formulação compreende um antioxidante. Ainda em outra modalidade, a formulação compreende um agente dispersante. Em uma modalidade, a formulação compreende um tensoativo. Ainda em outra modalidade, a formulação compreende um agente umectante.

Agentes intensificadores da viscosidade

Em uma modalidade, é fornecida uma formulação espessada que compreende pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo e um agente de viscosidade. Também são aqui descritas formulações de liberação controlada que compreendem um agente modulador de pressão auricular e um

agente intensificador da viscosidade. Agentes intensificadores da viscosidade adequados incluem, apenas como exemplo, agentes de gelificação e agentes de suspensão. Em uma modalidade, a formulação com viscosidade aumentada não inclui um tampão farmaceuticamente aceitável. Em outras modalidades, a formulação com viscosidade aumentada inclui um tampão farmaceuticamente aceitável. Cloreto de sódio ou outros agentes de tonicidade são opcionalmente usados para ajustar a tonicidade, se necessário.

São aqui descritas formulações que compreendem um ingrediente farmacêutico ativo e um agente espessante. Agentes espessantes adequados incluem, apenas como exemplo, agentes de gelificação e agentes de suspensão. Em uma modalidade, a formulação espessada não inclui um tampão farmaceuticamente aceitável. Em outra modalidade, a formulação espessada inclui um tampão farmaceuticamente aceitável.

Apenas como exemplo, o agente de viscosidade otologicamente aceitável inclui hidroxipropilmetilcelulose, hidroxietilcelulose, polivinilpirrolidona (PVP: povidona), carboximetilcelulose, álcool polivinílico, sulfato sódico de condroitina, hialuronato de sódio. Outros agentes de viscosidade que são usados em composições farmacêuticas aqui descritas incluem, sem limitação, acácia (goma arábica), ágar, silicato de alumínio magnésio, alginato de sódio, estearato de sódio, *bladderwrack*, bentonita, carbômero, carragenana, Carbopol, xantana, celulose, celulose microcristalina (MCC), ceratônia, côndrulo, dextrose, furcelarana, gelatina, goma Ghatti, goma guar,

bectorita, lactose, sacarose, maltodextrina, manitol, sorbitol, mel, amido de milho, amido de trigo, amido de arroz, amido de batata, gelatina, goma estercúlia, goma xantana, polietileno glicol (por exemplo, PEG 200-4500), goma tragacanto, etil celulose, etilhidroxietil celulose, etilmetil celulose, metil celulose, hidroxietilcelulose, hidroxietilmetil celulose, hidroxipropil celulose, poli(hidroxietil metacrilato), oxipoligelatina, pectina, poligelina, povidona, propileno carbonato, copolímero de metil vinil éter/anidrido maléico (PVM/MA), poli(metoxietil metacrilato), poli (metoxietoxietil metacrilato), hidroxipropil celulose, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), carboximetilcelulose sódica (CMC), dióxido de silício, Splenda® (dextrose, maltodextrina e sucralose), ou combinações destes. Em modalidades específicas, o excipiente intensificador da viscosidade é uma combinação de metilcelulose (MC) e CMC. Em outra modalidade, o agente intensificador da viscosidade é uma combinação de quitosana carboximetilada, ou quitina, e alginato. A combinação de quitina e alginato com os moduladores SNC aqui revelada atua como uma formulação de liberação controlada, restringindo a difusão do modulador do SNC pela formulação. Além disso, a combinação de quitosana carboximetilada e alginato é opcionalmente usada para auxiliar no aumento da permeabilidade de qualquer agente ativo aqui descrito através da membrana da janela redonda.

Em uma modalidade, a formulação espessada farmaceuticamente aceitável compreende pelo menos um agente de gelificação. Em uma modalidade, a formulação farmacêutica é uma formulação espessada que compreende pelo

menos um ingrediente farmacêutico ativo, em que o composto é utilizado em uma concentração de cerca de 0,05 g a cerca de 5 mg por grama de agente de gelificação. Em outra modalidade, é fornecido um ingrediente farmacêutico ativo utilizado em uma concentração de cerca de 0,005 mg a cerca de 0,05 mg por grama de agente de gelificação. Em outra modalidade, é fornecido um ingrediente farmacêutico ativo utilizado em uma concentração de cerca de 0,05 mg a cerca de 0,5 mg por grama de agente de gelificação. Em outra modalidade, é fornecido um ingrediente farmacêutico ativo utilizado em uma concentração de cerca de 0,5 mg a cerca de 5 mg por grama de agente de gelificação. Em outra modalidade, é fornecido um ingrediente farmacêutico ativo em uma concentração de cerca de 0,1 mg a cerca de 5 mg por grama de agente de gelificação.

Em algumas modalidades, é fornecida formulação espessada que compreende de cerca de 0,1 mM e cerca de 100 mM de um ingrediente farmacêutico ativo, um agente de viscosidade farmaceuticamente aceitável e água para injeção, a concentração do agente de viscosidade na água sendo suficiente para fornecer uma formulação espessada com viscosidade aparente final de cerca de 100 a cerca de 1.000.000 cp. Em certas modalidades, a viscosidade do gel está na faixa de cerca de 100 a cerca de 500.000 cP, de cerca de 100 cP a cerca de 1.000 cP, de cerca de 500 cP a cerca de 1.500 cP, de cerca de 1.000 cP a cerca de 3.000 cP, cerca de 2.000 cP a cerca de 8.000 cP, de cerca de 4.000 cP a cerca de 10.000 cP, de cerca de 10.000 cP a cerca de 50.000 cP. Em modalidades adicionais, a formulação auricular em gel contém um agente intensificador da

viscosidade suficiente para fornecer uma viscosidade entre cerca de 500 e 1.000.000 centipoise, entre cerca de 750 e 1.000.000 centipoise; entre cerca de 1.000 e 40.000 centipoise; entre cerca de 2.000 e 35.000 centipoise; entre cerca de 3.000 e 30.000 centipoise; entre cerca de 4.000 e 25.000 centipoise; entre cerca de 5.000 e 20.000 centipoise; ou entre cerca de 6.000 e 15.000 centipoise.

Em outras modalidades, quando é desejado um meio ainda mais viscoso, o gel biocompatível compreende pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, ou até mesmo pelo menos cerca de 80% ou mais por peso do ingrediente farmacêutico ativo. Em amostras altamente concentradas, a formulação espessada biocompatível compreende pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90% ou pelo menos cerca de 95% ou mais do peso do ingrediente farmacêutico.

Em algumas modalidades, a viscosidade de qualquer formulação aqui descrita é projetada para fornecer uma taxa de liberação ótima por um gel auricular compatível. Em algumas modalidades específicas, uma viscosidade da formulação de pelo menos 700 cP (por exemplo, a 20°C, ou seja, a 2 graus abaixo da T_{gel}, medida em uma taxa de cisalhamento de 0,6 s^{-1}) diminui substancialmente a taxa de liberação de um agente auricular por um gel, ou seja, aumenta substancialmente o tempo de dissolução médio (MDT) de um agente auricular. Em modalidades específicas, a taxa de liberação de um agente auricular por uma formulação aqui descrita é modulada pela incorporação de um polímero

secundário. Em modalidades específicas, um polímero hidrossolúvel (por exemplo, polímeros à base de celulose (por exemplo, carboximetilcelulose sódica), ou poloxâmero ou semelhante) é incorporado como um polímero secundário para modulação da taxa de liberação e/ou do tempo de dissolução médio de um agente auricular por uma formulação aqui descrita. Em alguns casos, a concentração e o grau dos polímeros são selecionados pelo uso de gráficos mostrados nas Figuras 2 e 3 para polímeros hidrossolúveis comumente disponíveis.

Em alguns casos, uma combinação de polímeros (por exemplo, um poloxâmero e um polímero à base de celulose) fornece uma viscosidade que é maior do que a viscosidade de uma formulação que compreende um único polímero (por exemplo, um poloxâmero). Em modalidades específicas, uma combinação de um poloxâmero e um polímero à base de celulose (por exemplo, carboximetilcelulose sódica) fornece uma composição de viscosidade acima de 500 cP, acima de 300 cP ou acima de 100 cP.

Em uma modalidade, a formulação espessada aqui descrita não é um líquido em temperatura ambiente. Em outras modalidades, a formulação espessada formulação aqui descrita é um líquido em temperatura ambiente. Em algumas modalidades, a viscosidade das formulações em gel aqui apresentadas é medida por qualquer meio aqui descrito. Por exemplo, em algumas modalidades, um viscômetro "LVDV-II+CP Cone Plate" e um "Cone Spindle CPE-40" são usados para calcular a viscosidade da formulação em gel aqui descrita. Em outras modalidades, um viscômetro Brookfield (fuso e copo) é usado para calcular a viscosidade da formulação em

gel aqui descrita. Em algumas modalidades, as faixas de viscosidade aqui citadas são medidas em temperatura ambiente. Em outras modalidades, as faixas de viscosidade aqui citadas são medidas na temperatura corporal. Em certas modalidades, a formulação espessada é caracterizada por uma transição de fase entre a temperatura ambiente e a temperatura corporal. Em algumas modalidades, a transição de fase ocorre a 1°C abaixo da temperatura corporal, a 2°C abaixo da temperatura corporal, a 3°C abaixo da temperatura corporal, a 4°C abaixo da temperatura corporal, a 6°C abaixo da temperatura corporal, a 8°C abaixo da temperatura corporal, a 10°C abaixo da temperatura corporal.

Em algumas modalidades, as formulações em gel são projetadas para que sejam líquidos na temperatura ambiente ou perto dela. Em alguns casos, a injeção intratimpânica de formulações geladas (por exemplo, formulação com temperaturas < 20°C) causa vertigem. Em algumas modalidades, as formulações em gel são injetadas como líquidos em temperaturas de cerca de 15°C a cerca de 25°C, cerca de 18°C a cerca de 22°C, ou cerca de 20°C.

Em alguns casos, as formulações em gel otologicamente aceitáveis não necessitam do uso de um agente espessante. Essas formulações em gel incorporam pelo menos um tampão farmaceuticamente aceitável. Em um aspecto, é fornecida uma formulação em gel que compreende um ingrediente farmacêutico ativo e um tampão farmaceuticamente aceitável. Em outra modalidade, o excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável é um agente de gelificação.

Intensificadores de penetração otologicamente aceitáveis

Em outra modalidade, a formulação ainda compreende um

ou mais intensificadores de penetração. A penetração em membranas biológicas pode ser intensificada pela presença de intensificadores de penetração. Intensificadores de penetração são entidades químicas que facilitam o transporte de substâncias coadministradas através de membranas biológicas. Intensificadores de penetração podem ser agrupados de acordo com a estrutura química. Tensoativos, tanto iônicos quanto não iônicos, como lauril sulfato de sódio, laurato de sódio, polioxietileno-20-cetil éter, laureth-9, dodecilsulfato de sódio, dioctil sulfossuccinato de sódio, polioxietileno-9-lauril éter (PLE), Tween 80, nonilfenoxipolietileno (NP-POE), polissorbatos e outros, funcionam como intensificadores de penetração. Sais biliares (por exemplo, glicocolato de sódio, desoxicolato de sódio, taurocolato de sódio, taurodiidrofusidato de sódio, glicodiidrofusidato de sódio e outros), ácidos graxos e derivados (por exemplo, ácido oléico, ácido caprílico, mono- e diglicerídeos, ácidos láuricos, acilcolinas, ácidos caprílicos, acilcarnitinas, capratos de sódio e outros), agentes quelantes (por exemplo, EDTA, ácido cítrico, salicilatos e outros), sulfóxido (por exemplo, dimetil sulfóxido (DMSO), decilmetil sulfóxido e outros) e álcoois (por exemplo, etanol, isopropanol, propileno glicol, polietileno glicol, glicerol, propanodiol e outros) também funcionam como intensificadores de penetração. Além disso, os intensificadores de penetração peptídeo-*like* descritos nas Patentes U.S. Nos. 7.151.191, 6.221.367 e 5.714.167, aqui incorporadas por referências quanto às suas revelações, são contemplados como uma modalidade adicional. Esses

intensificadores de penetração são derivados de aminoácidos e peptídeos e permitem a absorção do fármaco por difusão transcelular passiva, sem afetar a integridade de membranas ou junções intercelulares. Em algumas modalidades, um intensificador de penetração é ácido hialurônico.

Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil glicosídeo e/ou um sacarídeo alquil éster. Como aqui usado, um "alquil-glicosídeo" significa um composto que compreende qualquer sacarídeo hidrofílico (por exemplo, glicose, frutose, sacarose, maltose ou glicose) ligado a um alquil hidrofóbico. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil-glicosídeo, em que o alquil-glicosídeo compreende um açúcar ligado a um alquil hidrofóbico (por exemplo, um alquil que compreende cerca de 6 a cerca de 25 átomos de carbono) por uma ligação amida, uma ligação amina, uma ligação carbamato, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ligação glicosídica, uma ligação tioglicosídica e/ou uma ligação ureida. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende hexil-, heptil-, octil-, decil-, undecil-, dodecil-, tridecil-, tetradecil, pentadecil-, hexadecil-, heptadecil e octadecil α- ou β-D-maltosida; hexil-, heptil-, octil-, decil-, undecil-, dodecil-, tridecil- tetradecil, pentadecil-, hexadecil-, heptadecil- e octadecil α- ou β-D-glicosídeo; hexil-, heptil-, octil-, nonil-, decil-,

undecil-, dodecil-, tridecil- tetradecil, pentadecil-, hexadecil-, heptadecil-, e octadecil α- ou β-D-sacarosídeo; hexil-, heptil-, octil-, dodecil-, tridecil-, e tetradecil-β-D-tiomaltosida; heptil- ou octil-1-tio-α- ou β-D-glicopiranosídeo; alquil tiossacaroses; alquil maltotriosídeos; amidas de ácido carbônico alifáticas de cadeia longa de sacarose β-amino-alquil éteres; derivados de palatinose ou isomaltamina ligados por uma ligação amida a uma cadeia alquil e derivados de isomaltamina ligados por uma uréia a uma cadeia alquil; ureidas de ácido carbônico alifáticas de cadeia longa de sacarose β-amino-alquil éteres e amidas de ácido carbônico alifáticas de cadeia longa de sacarose α-amino-alquil éteres. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil-glicosídeo, em que o alquil glicosídeo é maltose, sacarose, glicose, ou uma combinação destes, ligado por uma ligação glicosídica a uma cadeia alquil de 9-16 átomos de carbono (por exemplo, nonil, decil-, dodecil- e tetradecil sacarosídeo; nonil-, decil-, dodecil- e tetradecil glicosídeo; e nonil-, dodecil- e tetradecil maltosida). Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil-glicosídeo, em que o alquil glicosídeo é dodecilmaltosida, tridecilmaltosida e tetradecilmaltosida. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil-glicosídeo, em que o alquil glicosídeo é tetradecil-β-D-maltosida. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que

compreende um alquil-glicosídeo, em que o alquil-glicosídeo é um dissacarídeo com pelo menos uma glicose. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende α-D-glicopiranosil-β-glicopiranosídeo, n-Dodecil-4-O-α-D-glicopiranosil-β-glicopiranosídeo e/ou n-tetradecil-4-O-α-D-glicopiranosil-β-glicopiranosídeo. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil-glicosídeo, em que o alquil-glicosídeo possui uma concentração de micela crítica (CMC) de menos que cerca de 1 mM em água pura ou em soluções aquosas. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil-glicosídeo, em que um átomo de oxigênio dentro do alquil-glicosídeo é substituído com um átomo de enxofre. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil-glicosídeo, em que o alquil-glicosídeo é o anômero β. Em algumas modalidades, o intensificador de penetração otologicamente aceitável é um tensoativo que compreende um alquil-glicosídeo, em que o alquil-glicosídeo compreende 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.1%, 99,5% ou 99,9% do anômero β.

Em certos casos, o agente intensificador de penetração é uma hialuronidase. Em certos casos, a hialuronidase é uma hialuronidase humana ou bovina. Em alguns casos, a hialuronidase é uma hialuronidase humana (por exemplo, hialuronidase encontrada no esperma humano, PH20 (Halozyme), Hyelenex® (Baxter International, Inc.)). Em

alguns casos, a hialuronidase é uma hialuronidase bovina (por exemplo, hialuronidase testicular bovina), Amphadase® (Amphastar Pharmaceuticals), Hydase® (PrimaPharm, Inc.). Em alguns casos, a hialuronidase é uma hialuronidase ovina, Vitrase® (ISTA Pharmaceuticals). Em certos casos, a hialuronidase aqui descrita é uma hialuronidase recombinante. Em alguns casos, a hialuronidase aqui descrita é uma hialuronidase recombinante humanizada. Em alguns casos, a hialuronidase aqui descrita é uma hialuronidase peguilada (por exemplo, PEGPH20 (Halozyme)).

Espumas e tinturas

Em algumas modalidades, os agentes terapêuticos auriculares aqui revelados são dispensados como uma tintura otologicamente aceitável. Como aqui usado, o termo "tinturas" (também conhecidas como formadores de película) são soluções compostas por um solvente, um monômero ou polímero, um agente ativo e, opcionalmente, um ou mais excipientes farmaceuticamente aceitáveis. Após aplicação em um tecido, o solvente evapora, deixando para trás um revestimento fino composto pelos monômeros ou polímeros, e o agente ativo. O revestimento protege os agentes ativos e os mantém em um estado imobilizado no local de aplicação. Isso diminui a quantidade de agente ativo que é perdida e aumenta de forma correspondente a quantidade liberada ao indivíduo. Como um exemplo não limitante, tinturas incluem colódios (por exemplo, Colódio Flexível, USP), e soluções que compreendem copolímeros de sacarídeo-siloxano; e um agente de entrecruzamento. Colódios são soluções de éter etílico/etanol que contêm piroxilina (uma nitrocelulose). Após aplicação, a solução de éter etílico/etanol evapora,

deixando para trás uma fina película de piroxilina. Em soluções que compreendem copolímeros de sacarídeo-siloxano, os copolímeros de sacarídeo-siloxano formam o revestimento após a evaporação do solvente iniciar o entrecruzamento dos copolímeros de sacarídeo-siloxano. Para mais detalhes em relação às tinturas, veja: "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", que é aqui incorporado em sua totalidade. As tinturas contempladas para uso nesta invenção são flexíveis, de tal forma que não interferem com a propagação de ondas de pressão através do ouvido. Além disso, as tinturas são aplicadas como um líquido (ou seja, solução, suspensão ou emulsão), um semi-sólido (ou seja, um gel, uma espuma, uma pasta ou geléia) ou um aerossol.

Em algumas modalidades, os agentes terapêuticos auriculares aqui revelados são dispensados como uma espuma de liberação controlada. Exemplos de veículos para espuma adequados para uso nas composições aqui reveladas incluem, sem limitação, alginato e derivados deste, carboximetilcelulose e derivados desta, colágeno, polissacarídeos, que incluem, por exemplo, dextrana, derivados de dextrana, pectina, amido, amidos modificados como, por exemplo, amidos que possuem grupos carboxil e/ou carboxamida adicionais e/ou que possuem cadeias laterais hidrofílicas, celulose e derivados desta, ágar e derivados deste como, por exemplo, ágar estabilizado com poliacrilamida, óxidos de polietileno, glicol metacrilatos, gelatina, gomas como, por exemplo, goma xantana, guar, karaya, gelana, arábica, tragacanto e goma de alfarroba, ou combinações destas. Também são adequados os sais dos veículos mencionados anteriormente, por exemplo, alginato

de sódio. A formulação opcionalmente ainda compreende um agente formador de espuma, que promove a formação da espuma, que inclui um tensoativo ou propelente externo. Exemplos de agentes formadores de espuma adequados incluem cetrimida, lecitina, sabões, silicones e outros. Tensoativos comercialmente disponíveis como, por exemplo, Tween®, também são adequados.

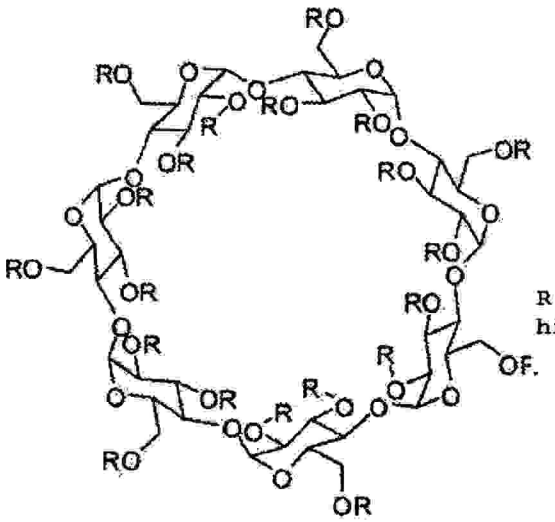
Material esponjoso formado in situ otologicamente aceitável

Também está contemplado dentro do escopo das modalidades o uso de um material esponjoso formado *in situ* no ouvido interno ou no ouvido médio. Em algumas modalidades, o material esponjoso é formado a partir de ácido hialurônico ou seus derivados. O material esponjoso é impregnado com um agente terapêutico auricular desejado e colocado dentro do ouvido médio de modo a fornecer liberação controlada do agente terapêutico auricular dentro do ouvido médio, ou em contato com a membrana da janela redonda de modo a fornecer liberação controlada do agente terapêutico auricular no ouvido interno. Em algumas modalidades, o material esponjoso é biodegradável.

Formulações de ciclodextrina

Em uma modalidade específica, a formulação alternativamente compreende uma ciclodextrina. Ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos que contêm 6, 7 ou 8 unidades de glicopiranose, denominadas α-ciclodextrina, β-ciclodextrina ou γ-ciclodextrina, respectivamente. Verificou-se que as ciclodextrinas são particularmente úteis em formulações farmacêuticas. As ciclodextrinas possuem um exterior hidrofílico, que aumenta

a hidrofilia, e um interior hidrofóbico, que forma uma cavidade. Em um ambiente aquoso, as porções hidrofóbicas de outras moléculas freqüentemente entram na cavidade hidrofóbica da ciclodextrina para formar compostos de inclusão. Adicionalmente, as ciclodextrinas também são capazes de outros tipos de interações não-ligação com moléculas que não estão dentro da cavidade hidrofóbica. As ciclodextrinas possuem três grupos hidroxil livres para cada unidade de glicopiranose, ou 18 grupos hidroxil na α-ciclodextrina, 21 grupos hidroxil na β-ciclodextrina e 24 grupos hidroxil na γ-ciclodextrina. Um ou mais desses grupos hidroxil podem ser reagidos com qualquer um entre diversos reagentes para formar uma ampla variedade de derivados de ciclodextrina. Alguns dos derivados de ciclodextrina mais comuns são hidroxipropil éteres, sulfonatos e sulfoalquiléteres. É mostrada abaixo a estrutura de β-ciclodextrina e a hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD).



O uso de ciclodextrinas em composições farmacêuticas é bem conhecido na técnica, já que ciclodextrinas e derivados

de ciclodextrina são freqüentemente usados para aumentar a solubilidade de um fármaco. Compostos de inclusão estão envolvidos em muitos casos de solubilidade aumentada; no entanto, outras interações entre ciclodextrinas e compostos insolúveis também podem aumentar a solubilidade. Hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) é comercialmente disponível como um produto sem pirogênio. Ele é um pó branco não higroscópico que rapidamente se dissolve em água. HPβCD é termicamente estável e não se degrada em pH neutro. Dessa forma, as ciclodextrinas aumentam a solubilidade de um agente terapêutico em uma composição ou formulação. Portanto, em algumas modalidades, são incluídas ciclodextrinas para aumentar a solubilidade dos agentes auriculares otologicamente aceitáveis dentro das formulações aqui descritas. Em outras modalidades, as ciclodextrinas também servem como excipientes de liberação controlada dentro das formulações aqui descritas.

Derivados de ciclodextrina preferidos para uso incluem α-ciclodextrina, β-ciclodextrina, γ-ciclodextrina, hidroxietil β-ciclodextrina, hidroxipropil γ-ciclodextrina, β–ciclodextrina sulfatada, α-ciclodextrina sulfatada, sulfobutil éter β-ciclodextrina.

A concentração da ciclodextrina usada nas composições e métodos aqui revelados pode variar de acordo com as propriedades físico-químicas, propriedades farmacocinéticas, efeitos colaterais ou eventos adversos, considerações de formulação ou outros fatores associados ao agente terapeuticamente ativo, ou um sal ou pró-fármaco deste. As propriedades de outros excipientes em uma composição também podem ser importantes. Dessa forma, a

concentração ou a quantidade de ciclodextrina usada de acordo com as composições e métodos aqui revelados pode variar.

Em certas modalidades, a formulação também compreende um agente de viscosidade adequado como, por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxietil celulose, polivinilpirrolidona, carboximetil celulose, álcool polivinílico, sódio condrointina sulfato, hialuronato de sódio etc. como um dispersante, se necessário. Um tensoativo não iônico como, por exemplo, polissorbato 80, polissorbato 20, tiloxapol, Cremophor, HCO 40 etc. é opcionalmente usado. Em certas modalidades, as preparações opcionalmente contêm um sistema de tamponamento adequado, como fosfato, citrato, borato, tris etc., e reguladores do pH como, por exemplo, hidróxido de sódio e ácido clorídrico, também são opcionalmente usados nas formulações da invenção. Cloreto de sódio ou outros agentes de tonicidade também são usados para ajustar a tonicidade, se necessário.

Microesferas e nanoesferas otologicamente aceitáveis

Agentes auriculares e/ou outros agentes farmacêuticos aqui revelados são opcionalmente incorporados dentro de partículas de liberação controlada, complexos lipídicos, lipossomos, nanopartículas, microesferas, nanocápsulas ou outros agentes que aumentam ou facilitam a liberação localizada do agente auricular. Em algumas modalidades, é usada uma única formulação espessada, em que pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo está presente, enquanto, em outras modalidades, uma formulação farmacêutica que compreende uma mistura de duas ou mais formulações

espessadas distintas é usada, em que pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo está presente. Em algumas modalidades, combinações de soluções, géis e/ou matrizes biocompatíveis também são empregadas para fornecer características desejáveis das formulações espessadas. Em certas modalidades, as composições da formulação espessada são entrecruzadas por um ou mais agentes para alterar ou aprimorar as propriedades da composição.

Microesferas foram descritas nas referências seguintes, que são aqui incorporadas por referência: Luzzi, L.A., *J. Pharm. Psy.* 59: 1.367 (1970); Patente U.S. No. 4.530.840; Lewis, D.R., "Controlled Release of Bioactive Agents from Lactides/Glycolide Polymers" em "Biodegrdable Polymers as Drug Delivery Systems", Chasin, M. e Langer, R., eds., Marcel Decker (1990); Patente U.S. No. 4.675.189; Beck *e cols.*, "Poli(lactic acid) and Poli(lactic acid -co-glicolic acid) Contraceptive Delivery Systems", em "Long Acting Steroid Contraception", Mishell, D.R., ed., Raven Press (1983); Patente U.S. No. 4.358.435: Patente U.S. No. 3.773.919; Patente U.S. No. 4.474.572; G. Johns *e cols.* "Broad Applicability of a Continuous Formation Process", *Drug Release Technology* vol. 4 (Jan/Fev 2004); cada um aqui incorporado por referência quanto suas revelações. Exemplos de terapêuticos protéicos formulados como microesferas incluem: Patente U.S. No. 6.458.387; Patente U.S. No. 6.268.053; Patente U.S. No. 6.090.925; Patente U.S. No. 5.981.719; e Patente U.S. No. 5.578.709, e suas revelações são aqui incorporadas por referência.

Microesferas normalmente possuem um formato esférico, embora micropartículas com formato irregular sejam

possíveis. As microesferas variam em termos de tamanho, variando de um tamanho submícron a diâmetros de 1.000 mícrons. Preferivelmente, são desejáveis microesferas submícron a 250 mícrons de diâmetro, permitindo a administração por injeção com uma agulha de calibre padronizado. Dessa forma, as microesferas podem ser preparadas por qualquer método que produza microesferas em uma gama de tamanhos aceitável para uso em uma composição injetável. As injeções são feitas com agulhas com calibre padronizado usadas para administração de composições líquidas.

Exemplos adequados de materiais de matriz polimérica incluem poli(ácido glicólico), ácido poli-d,1-lático, ácido poli-1-lático, copolímeros dos citados anteriormente, poli(ácidos carboxílicos alifáticos), copolioxalatos, policaprolactona, polidioxoneno, poli(ortocabonatos), poli(acetais), poli(ácido lático-caprolactona), poliortoésteres, poli(ácido glicólico-caprolactona), polidioxoneno, polianidridos, polifosfazinas, e polímeros naturais que incluem albumina, caseína e algumas ceras, por exemplo, mono- e diestearato de glicerol, e outros. Vários materiais de poli(lactida-co-glicolida) (PLGA) comercialmente disponíveis são usados no método aqui revelado. Por exemplo, poli (ácido d,1-lático-co-glicólico) é comercialmente disponível por Boehringer-Ingelheim como RESOMER RG 503 H. Esse produto possui uma composição percentual molar de 50% de lactida e 50% de glicolida. Esses copolímeros estão disponíveis em uma ampla gama de pesos moleculares e proporções de ácido lático para ácido glicólico. Um polímero preferido para uso é poli(d,1-

lactida-co-glicolida). Prefere-se que a proporção molar de lactida para glicolida em um copolímero desse tipo esteja na faixa de cerca de 95:5 a cerca de 50:50. Em outras modalidades, copolímeros de PLGA com polietileno glicol (PEG) são matrizes poliméricas adequadas para as formulações aqui reveladas. Por exemplo, polímeros em bloco de PEG-PLGA-PEG são matrizes biodegradáveis para a formação de gel que fornecem alta estabilidade mecânica do gel resultante. As estabilidades mecânicas de géis usando polímeros em bloco de PEG-PLGA-PEG foram mantidas por mais de um mês *in vitro*. Em algumas modalidades, polímeros em bloco de PEG-PLGA-PEG são usados para controlar a taxa de liberação de agentes citotóxicos com diferentes propriedades físicas. Particularmente, em algumas modalidades, agentes citotóxicos hidrofílicos são liberados mais rapidamente, por exemplo, aproximadamente 50% da liberação do fármaco após 24 horas, e o restante liberado ao longo de aproximadamente 5 dias, enquanto agentes hidrofóbicos são liberados mais lentamente, por exemplo, aproximadamente 80% após 8 semanas.

O peso molecular do material da matriz polimérica é de extrema importância. O peso molecular deve ser suficientemente elevado a fim de que forme revestimentos poliméricos satisfatórios, ou seja, o polímero deve ser um bom formador de película. Normalmente, um peso molecular satisfatório está na faixa de 5.000 a 500.000 dáltons. O peso molecular de um polímero também é importante do ponto de vista de que o peso molecular influencia a taxa de biodegradação do polímero. Para um mecanismo de difusão da liberação de fármaco, o polímero deve permanecer intacto

até que todo o fármaco seja liberado pelas micropartículas e depois seja degradado. O fármaco também pode ser liberado pelas micropartículas à medida que o excipiente polimérico sofre bioerosão. Selecionando-se adequadamente os materiais poliméricos, pode ser feita uma formulação de microesfera de tal forma que as microesferas resultantes exibam propriedades tanto de liberação por difusão quanto por biodegradação. Isso é útil para a geração de padrões de liberação multifásicos.

São conhecidos vários métodos pelos quais os compostos podem ser encapsulados em microesferas. Nesses métodos, o ingrediente farmacêutico ativo é geralmente disperso ou emulsificado, usando agitadores, ou outras técnicas de mistura dinâmicas, em um solvente que contém um material formador de parede. O solvente é então removido das microesferas e, portanto, o produto da microesfera é obtido.

Em uma modalidade, formulações de liberação controlada são feitas por meio da incorporação dos agentes auriculares e/ou de outros agentes farmacêuticos em matrizes de copolímero de etileno-acetato de vinila (veja a Patente U.S. No. 6.083.534, aqui incorporada quanto à sua revelação). Em outra modalidade, agentes auriculares são incorporados em microesferas de poli(ácido lático-glicólico) ou ácido poli-L-lático. Ainda em outra modalidade, os agentes auriculares são encapsulados em microesferas de alginato (veja a Patente U.S. No. 6.036.978, aqui incorporada quanto à sua revelação). Polímeros biocompatíveis à base de metacrilato para encapsular os agentes ou composições auriculares são

opcionalmente usados nas formulações e métodos aqui revelados. Uma ampla gama de sistemas de polímero à base de metacrilato é comercialmente disponível, como os polímeros EUDRAGIT comercializados por Evonik. Um aspecto útil de polímeros de metacrilato é que as propriedades da formulação são variadas por incorporação de vários copolímeros. Por exemplo, micropartículas de poli(ácido acrílico-co-metilmetacrilato) exibem propriedades de mucoadesão aumentadas, na medida em que os grupos de ácido carboxílico no poli(ácido acrílico) formam ligações hidrogênio com mucina (Park *e cols.*, *Pharm. Res.* (1987) 46): 457-464). A variação da proporção entre ácido acrílico e monômeros de metilmetacrilato serve para modular as propriedades do copolímero. Micropartículas à base de metacrilato também foram usadas em formulações terapêuticas de proteína (Naha *e cols.*, *Journal of Microencapsulation* 04 de fevereiro de 2008 (publicação online)). Em uma modalidade, as formulações otologicamente aceitáveis com viscosidade aumentada aqui descritas compreendem microesferas de agente auricular nas quais as microesferas são formadas a partir de um polímero ou copolímero de metacrilato. Em uma modalidade adicional, a formulação com viscosidade aumentada aqui descrita compreende microesferas de agente auricular nas quais as microesferas são mucoadesivas. Outros sistemas de liberação controlada, que incluem a incorporação ou depósito de materiais ou matrizes poliméricas sobre esferas sólidas ou ocas contendo agentes auriculares, também estão explicitamente contemplados dentro das modalidades aqui reveladas. Os tipos de sistemas de liberação controlada disponíveis sem perda significativa

da atividade do agente auricular são determinados usando os ensinamentos, exemplos e princípios aqui revelados.

Um exemplo de um processo de microencapsulação convencional para preparações farmacêuticas é mostrado na Patente U.S. No. 3.737.337, aqui incorporada por referência. As substâncias a serem encapsuladas ou embutidas são dissolvidas ou dispersas na solução orgânica do polímero (fase A), usando misturadores convencionais, que incluem (na preparação de dispersão) vibradores e agitadores de alta velocidade etc. A dispersão de fase (A), que contém o material central em solução ou em suspensão, é realizada na fase aquosa (B), novamente usando misturadores convencionais, como misturadores de alta velocidade, misturadores por vibração, ou até mesmo bocais pulverizadores, quando então o tamanho de partícula das microesferas será determinado não apenas pela concentração de fase (A), mas também pelo tamanho do material emulsificado ou da microesfera. Com técnicas convencionais para a microencapsulação de ingredientes farmacêuticos ativos, as microesferas se formam quando o solvente que contém um agente ativo e um polímero é emulsificado ou disperso em uma solução imiscível por agitação, vibração, ou alguma outra técnica de mistura dinâmica, freqüentemente por um período de tempo relativamente longo.

Métodos convencionais para a construção de microesferas também são descritos na Patente U.S. No. 4.389.330 e na Patente U.S. No. 4.530.840, aqui incorporadas por referência. O agente desejado é dissolvido ou disperso em um solvente adequado. Ao meio que contém o agente, é adicionado o material da matriz polimérica em uma

quantidade relativa em relação ao ingrediente ativo que gere um produto da carga desejada de agente ativo. Opcionalmente, todos os ingredientes do produto de microesfera podem ser misturados no meio solvente em conjunto. Solventes adequados ao agente e ao material de matriz polimérica incluem solventes orgânicos como, por exemplo, acetona, hidrocarbonetos halogenados como, por exemplo, clorofórmio, cloreto de metileno e outros, compostos de hidrocarbonetos aromáticos, compostos de hidrocarbonetos aromáticos halogenados, éteres cíclicos, álcoois, acetato de etila e outros.

Em algumas modalidades, as microesferas otologicamente aceitáveis de liberação controlada são combinadas em uma formulação com viscosidade aumentada de liberação controlada otologicamente aceitável, que inclui um gel.

Um exemplo adequado de microesfera de liberação controlada otologicamente aceitável para uso com os agentes terapêuticos otologicamente aceitáveis aqui revelados inclui CHRONIJECT™, um sistema injetável de liberação de fármaco de liberação controlada à base de PLGA. Microesferas de CHRONIJECT são úteis para agentes terapêuticos auriculares tanto hidrofóbicos quanto hidrofílicos, com durações de liberação obtidas variando de apenas 1 semana até 1 ano. Os perfis de liberação para as microesferas são obtidos por modificação do polímero e/ou as condições do processo, com liberação inicial ou ataque do agente terapêutico auricular também disponível. O processo de fabricação é adaptável às condições assépticas, permitindo o uso terapêutico direto do produto fabricado. Processos de fabricação de CHRONIJECT são descritos nas

Patentes U.S. Nos. 5.945.126, 6.270.802 e 6.3361.798, cada uma delas aqui incorporada por referência quanto às suas revelações.

A mistura de ingredientes no solvente é emulsificada em um meio de processamento de fase contínua; o meio de fase contínua sendo tal que uma dispersão de microgotículas contendo os ingredientes indicados é formada no meio de fase contínua. Naturalmente, o meio de processamento de fase contínua e o solvente orgânico devem ser imiscíveis, e mais comumente é água, embora meios não aquosos como, por exemplo, xileno e tolueno, e óleos sintéticos e óleos naturais, possam ser usados. Normalmente, um tensoativo é adicionado ao meio de processamento de fase contínua para evitar que as micropartículas se aglomerem e para controlar o tamanho das microgotículas de solvente na emulsão. Uma combinação de tensoativo-meio de dispersão preferida é 1 a 10% do peso de álcool polivinílico em mistura de água. A dispersão é formada por agitação mecânica dos materiais misturados. Uma emulsão também pode ser formada por adição de pequenas gotas da solução de agente ativo-material formador de parede ao meio de processamento de fase contínua. A temperatura durante a formação da emulsão não é especialmente crucial, mas pode influenciar o tamanho e a qualidade das microesferas e a solubilidade do fármaco na fase contínua. É desejável ter a menor quantidade de agente na fase contínua possível. Além disso, dependendo do solvente e do meio de processamento de fase contínua empregados, a temperatura não deve ser muito baixa, ou o solvente e o meio de processamento se solidificarão, ou o meio de processamento ficará muito viscoso para fins

práticos, ou muito alta, já que o meio de processamento irá evaporar, ou o meio de processamento líquido não será mantido. Além disso, a temperatura do meio não pode ser muito elevada, já que a estabilidade do agente particular que está sendo incorporado nas microesferas será afetada de forma adversa. Portanto, o processo de dispersão pode ser realizado em qualquer temperatura que mantenha condições de operação estáveis, com a temperatura preferida sendo de cerca de 30°C a 60°C, dependendo do fármaco e do excipiente selecionados.

A dispersão que é formada é uma emulsão estável e dessa dispersão o fluido do solvente orgânico imiscível pode opcionalmente ser parcialmente removido na primeira etapa do processo de remoção de solvente. O solvente pode ser facilmente removido por técnicas comuns como, por exemplo, aquecimento, aplicação de uma pressão reduzida ou uma combinação de ambos. A temperatura empregada para evaporar o solvente das microgotículas não é crucial, mas não deve ser muito elevada a ponto de degradar o agente empregado na preparação de certa micropartícula, e não deve ser muito elevada a ponto de evaporar o solvente em uma taxa rápida, causando defeitos no material formador de parede. Geralmente, de 5 a 75% do solvente são removidos na primeira etapa de remoção de solvente.

Após o primeiro estágio, as micropartículas dispersas no meio fluido de solvente imiscível são isoladas do meio fluido por qualquer meio de separação conveniente. Dessa forma, por exemplo, o fluido pode ser decantado da microesfera ou a suspensão de microesferas pode ser filtrada. Além disso, várias combinações de técnicas de

separação podem ser usadas, se desejado.

Após o isolamento das microesferas do meio de processamento de fase contínua, o restante do solvente nas microesferas é removido por extração. Nessa etapa, as microesferas podem ser suspensas no mesmo meio de processamento de fase contínua usado na etapa um, com ou sem tensoativo, ou em outro líquido. O meio de extração remove o solvente das microesferas, embora não dissolva as microesferas. Durante a extração, o meio de extração com solvente dissolvido pode opcionalmente ser removido e substituído com meio de extração fresco. O melhor modo para que isso seja feito é de forma contínua. Obviamente, a taxa de substituição do meio de extração de certo processo é uma variável que pode ser facilmente determinada no momento em que o processo é realizado e, portanto, não devem ser determinados limites precisos para a taxa. Após a maior parte do solvente ter sido removida das microesferas, as microesferas são secas por exposição ao ar ou por outras técnicas de secagem convencionais como, por exemplo, secagem a vácuo, secagem em um dessecante, ou semelhantes. Esse processo é muito eficiente na encapsulação do agente, na medida em que são obtidas cargas centrais de até 80% do peso, preferivelmente até 60% do peso.

Alternativamente, microesferas de liberação controlada que contêm um agente farmacêutico ativo podem ser preparadas pela utilização de misturadores estáticos. Misturadores estáticos ou sem movimento consistem em um conduto ou tubo no qual são recebidos diversos agentes de mistura estática. Misturadores estáticos fornecem uma mistura homogênea em um comprimento de conduto

relativamente curto, e em um período de tempo relativamente curto. Com misturadores estáticos, o fluido se move através do misturador, e não em alguma parte do misturador, como uma lâmina que se move através do fluido.

Um misturador estático pode ser usado para criar uma emulsão. Quando se utiliza um misturador estático para formar uma emulsão, vários fatores determinam o tamanho de partícula da emulsão, que incluem a densidade e viscosidade das várias soluções ou fases a serem misturadas, a proporção de volume das fases, a tensão interfacial entre as fases, os parâmetros do misturador estático (diâmetro do conduto; o comprimento do elemento de mistura; o número de elementos de mistura), e a velocidade linear através do misturador estático. A temperatura é uma variável, pois afeta a densidade, viscosidade e a tensão interfacial. As variáveis de controle são a velocidade linear, a taxa de cisalhamento e a queda de pressão por unidade de comprimento do misturador estático.

A fim de criar microesferas que contêm um agente farmacêutico ativo, uma fase orgânica e uma fase aquosa são combinadas. As fases orgânicas e aquosas são em grande parte ou substancialmente imiscíveis, com a fase aquosa constituindo a fase contínua da emulsão. A fase orgânica inclui um agente farmacêutico ativo, bem como um polímero formador de parede ou material de matriz polimérica. A fase orgânica pode ser preparada por dissolução de um agente farmacêutico ativo em um solvente orgânico ou em outro solvente adequado, ou por formação de uma dispersão ou uma emulsão contendo o agente ativo. A fase orgânica e a fase aquosa são bombeadas, de tal modo que as duas fases fluam

simultaneamente através de um misturador estático, formando, dessa forma, uma emulsão que compreende microesferas que contêm o agente farmacêutico ativo encapsulado no material de matriz polimérica. As fases orgânicas e aquosas são bombeadas através do misturador estático em um grande volume de líquido de extinção para extrair ou remover o solvente orgânico. O solvente orgânico é removido das microesferas enquanto elas estão sendo lavadas ou agitadas no líquido de extinção. Após as microesferas terem sido lavadas em um líquido de extinção, elas são isoladas, por exemplo, através de uma peneira, e secas.

O processo pelo qual as microesferas são preparadas com o uso de um misturador estático é opcionalmente realizado por várias técnicas usadas para a encapsulação de agentes ativos. O processo não se limita à técnica de extração de solvente discutida acima, mas pode ser usado com outras técnicas de encapsulação. Por exemplo, o processo também pode ser usado com uma técnica de encapsulação de separação de fase. Para fazê-lo, é preparada uma fase orgânica que compreende um agente farmacêutico ativo suspenso ou disperso em uma solução de polímero. A segunda fase não solvente é livre de solventes para o polímero e agente ativo. Uma segunda fase não solvente preferida é óleo de silicone. A fase orgânica e a fase não solvente são bombeadas através de um misturador estático em um líquido de extinção não solvente como, por exemplo, heptano. As partículas semi-sólidas são extintas para endurecimento completo e lavagem. O processo de microencapsulação também pode incluir liofilização,

evaporação de solvente, uma combinação de evaporação e extração, e extrusão por fusão.

Em outra modalidade, o processo de microencapsulação envolve o uso de um misturador estático com um único solvente. Esse processo é descrito em detalhes no Pedido U.S. No. de Série 08/338.805, aqui incorporado por referência. Um processo alternativo envolve o uso de um misturador estático com co-solventes. Nesse processo para a preparação de microesferas biodegradáveis que compreendem um ligante polimérico biodegradável e um agente farmacêutico ativo, uma mistura de pelo menos dois solventes substancialmente atóxicos, livres de hidrocarbonetos halogenados, é usada para dissolver tanto o agente quanto o polímero. A mistura solvente que contém o agente e o polímero dissolvidos é dispersa em uma solução aquosa para formar gotículas. A emulsão resultante é então adicionada em um meio de extração aquoso que preferivelmente contém pelo menos um dos solventes da mistura, em que a taxa de extração de cada solvente é controlada, e a seguir as microesferas biodegradáveis que contêm o agente farmaceuticamente ativo são formadas. O processo possui as vantagens de que é necessário menos meio de extração, pois a solubilidade de um solvente em água é substancialmente independente do outro, e a seleção do solvente é aumentada, especialmente com solventes que são particularmente difíceis de extrair.

Nanopartículas são estruturas materiais com tamanho de cerca de 100 nm ou menos. Um uso de nanopartículas em formulações farmacêuticas é a formação de suspensões, já que a interação da superfície da partícula com o solvente é

suficientemente forte para superar as diferenças em densidade. Suspensões de nanopartículas podem ser esterilizadas, já que as nanopartículas são suficientemente pequenas para serem individualizadas para filtração esterilizante (U.S. 6.139.870). Nanopartículas compreendem pelo menos um polímero ou copolímero hidrofóbico, insolúvel em água e não dispersível em água, emulsificado em uma solução ou dispersão aquosa de tensoativos, fosfolipídeos ou ácidos graxos. O ingrediente farmacêutico ativo é introduzido com o polímero ou copolímero nas nanopartículas.

Nanocápsulas lipídicas que atuam como estruturas de liberação controlada, bem como para penetração na membrana da janela redonda e alcançar alvos no ouvido interno, também são aqui contempladas. Veja Zou *e cols. J. Biomed. Materials Res.*, publicação online (24 de abril de 2008). Nanocápsulas lipídicas são formadas por emulsificação de 1,028 g de triglicerídeos de ácido cáprico e caprílico (LABRAFAC WL 1349; peso molecular médio 512), 0,075 g de lecitina de soja (LIPOID S75-3; 69% de fosfatidilcolina e outros fosfolipídeos), 0,846 g de tensoativo (SOLUTOL HS15), mistura de hidroxiestearato de polietileno glicol 660 e polietileno glicol 660 livre; 0,089 g de NaCl e 2,962 g de água. A mistura é agitada em temperatura ambiente até obter uma emulsão oleosa em água. Após aquecimento progressivo em uma taxa de 4°C/min sob agitação magnética, deve ocorrer um intervalo curto de transparência perto de 70°C, e a fase invertida (gotículas de água em óleo) obtida a 85°C. Três ciclos de resfriamento e aquecimento são então aplicados entre 85°C e 60°C na taxa de 4°C/min, e uma

diluição rápida em água gelada em uma temperatura perto de 0°C para produzir uma suspensão de nanocápsulas. Para encapsular agentes ativos no ouvido interno, os agentes são adicionados imediatamente antes da diluição com água gelada.

Os agentes também podem ser inseridos nas nanocápsulas lipídicas por incubação por 90 minutos com uma solução aquosa micelar do agente ativo do ouvido interno. A suspensão é então turbilhonada a cada 15 minutos, e depois extinta em um banho gelado por 1 minuto.

Tensoativos adequados são, por exemplo, sais de ácido cólico ou de ácido taurocólico. O ácido taurocólico, o conjugado formado a partir de ácido cólico e taurina, é um tensoativo de ácido sulfônico totalmente metabolizável. Um análogo de ácido taurocólico, ácido tauro-ursodesoxicólico (TUDCA), é um ácido biliar de ocorrência natural e é um conjugado de taurina e ácido ursodesoxicólico (UDCA). Outros tensoativos aniônicos (por exemplo, sulfato de galactocerebrosídeo), neutros (por exemplo, lactosilceramida) ou zwitteriônicos (por exemplo, esfingomielina, fosfatidil colina, palmitoil carnitina) de ocorrência natural também poderiam ser usados para a preparação de nanopartículas.

Os fosfolipídeos são escolhidos, por exemplo, de fosfolipídeos naturais, sintéticos ou semi-sintéticos; lecitinas (fosfatidilcolina) como, por exemplo, lecitinas purificadas do ovo ou de soja (lecitina E100, lecitina E80 e fosfolipons, por exemplo, fosfolipon 90), fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol,

dipalmitoilfosfatidilcolina, dipalmitoilglicerofosfatidilcolina, dimiristoilfosfatidilcolina, diestearoilfosfatidilcolina e ácido fosfatídico, ou misturas destes, são usados mais particularmente.

Os ácidos graxos são escolhidos, por exemplo, de ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido isoesteárico, ácido araquídico, ácido behênico, ácido oléico, ácido miristoléico, ácido palmitoléico, ácido linoléico, ácido alfa-linoléico, ácido araquidônico, ácido eicosapentaenóico, ácido crúcico, ácido docosahexaenóico, e outros.

Tensoativos adequados podem ser selecionados preferivelmente de excipientes farmacêuticos orgânicos e inorgânicos conhecidos. Esses excipientes incluem vários polímeros, oligômeros de baixo peso molecular, produtos naturais e tensoativos. Modificadores da superfície preferidos incluem tensoativos não iônicos e iônicos. Dois ou mais modificadores da superfície podem ser usados em combinação.

Exemplos representativos de tensoativos incluem cetil piridínio cloreto, gelatina, caseína, lecitina (fosfatidas), dextrana, glicerol, goma acácia, colesterol, tragacanto, ácido esteárico, cloreto de benzalcônio, estearato de cálcio, monoestearato de glicerol, álcool cetoestearílico, cera emulsificante de cetomacrogol, ésteres de sorbitano, éteres de polioxietileno alquil, derivados de polioxietileno de óleo de rícino, ésteres de ácido graxo de polioxietileno sorbitano; polietileno glicóis, brometo de dodecil trimetil amônio,

polioxietilenoestearatos, dióxido de silício coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sódio, carboximetilcelulose cálcica, hidroxipropil celulose (HPC, HPC-SL e HPC-L), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), carboximetilcelulose sódica, metilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropilcelulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, celulose não cristalina, silicato de magnésio alumínio, trietanolamina, álcool polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenol com óxido de etileno e formaldeído (também conhecido como tiloxapol, superione e triton), poloxâmeros, poloxaminas, um fosfolipídeo carregado como, por exemplo, dimiristoil fosfatidil glicerol, dioctilsulfossuccinato (DOSS); Tetronic 1508, dialquilésteres de ácido sódio sulfossuccínico, Duponol P, Tritons X-200, Crodestas F-110, p-isononilfenoxipoli-(glicidol), Crodestas SL-40, RTM (Croda, Inc..); e SA9OHCO, que é $C_{38}H_{37}CH_2(CON(CH_3)-CH_2-(CHOH)_4(CH_2OH)_2$ (Eastman Kodak Co.); decanoil-N-metilglucamida; n-decil β-D-glicopiranosídeo; n-decil β-D-maltopiranosídeo; n-dodecil β-D-glicopiranosídeo; n-dodecil β-D-maltosida; heptanoil-N-metilglucamida; n-heptil-β-D-glicopiranosídeo; n-heptil β-D-tioglicosídeo; n-hexil β-D-glicopiranosídeo; nonanoil-N-metilglucamida; n-noil β-D-glicopiranosídeo; octanoil-N-metilglucamida; n-octil-β-D-glicopiranosídeo; octil β-D-tioglicopiranosídeo; e outros.

A maioria desses tensoativos consiste em excipientes farmacêuticos conhecidos e são descritos em detalhes em "Handbook of Pharmaceutical Excipients", publicado em conjunto pela "American Pharmaceutical Association" e "The

Pharmaceutical Society of Great Britain" (The Pharmaceutical Press, 1986), especificamente incorporado por referência.

O polímero ou copolímero hidrofóbico, insolúvel em água e não dispersível em água, é escolhido entre polímeros biocompatíveis e biodegradáveis, por exemplo, polímeros de ácido lático ou glicólico e copolímeros destes, ou copolímeros de óxido de polilático/polietileno (ou polipropileno), preferivelmente com pesos moleculares entre 1.000 e 200.000, polímeros de ácido polihidroxibutírico, polilactonas de ácidos graxos contendo pelo menos 12 átomos de carbono, ou polianidridos.

Em uma modalidade, as nanopartículas são adequadas para uso com princípios ativos hidrofóbicos. Os princípios ativos que podem ser usados são escolhidos das classes principais de medicamentos para uso em medicina humana ou veterinária. Em algumas modalidades, os princípios ativos são escolhidos de princípios para uso na indústria de cosméticos ou de alimentos ou em medicina esportiva ou de agentes diagnósticos. Por exemplo, princípios ativos que são de interesse na indústria farmacêutica são escolhidos, de uma forma não limitante, de agentes antirreumáticos, antiinflamatórios não esteróides (por exemplo, NSAIDs), analgésicos, anti-tussígenos e psicotrópicos, esteróides, barbituratos, antimicrobianos, antialérgicos, antiasmáticos, antiespasmódicos, anti-secretores e cardiovasculares, vasodilatadores cerebrais, agentes protetores cerebrais e hepáticos, agentes terapêuticos do trato gastrointestinal, agentes anticâncer ou antivirais, vitaminas, contraceptivos, vacinas etc.

As nanopartículas são obtidas pela técnica de evaporação de solvente, por uma dispersão ou solução aquosa de fosfolipídeos e de um sal de ácido oléico no qual é adicionada uma fase orgânica imiscível que compreende o princípio ativo e o polímero ou copolímero hidrofóbico, não solúvel em água e não dispersível em água. A mistura é pré-emulsificada e depois submetida à homogeneização e evaporação do solvente orgânico para obter uma suspensão aquosa de nanopartículas com tamanho muito pequeno.

Diversos métodos podem ser empregados para fabricar nanopartículas. Esses métodos incluem métodos de vaporização como, por exemplo, expansão de jato livre, vaporização a laser, erosão ativada, eletro-explosão e depósito de vapor químico; métodos físicos que envolvem atrito mecânico (por exemplo, a tecnologia de "*pearlmilling*", Elan Nanosystems), $_{CO2}$ supercrítico e depósito interfacial após deslocamento de solvente. Em uma modalidade, é usado o método de deslocamento do solvente. O tamanho das nanopartículas produzidas por esse método é sensível à concentração de polímero no solvente orgânico; à taxa de mistura; e ao tensoativo empregado no processo. Misturadores de fluxo contínuo podem fornecer a turbulência necessária para assegurar um tamanho de partícula pequeno. Foi descrito um tipo de dispositivo de mistura de fluxo contínuo que pode ser usado para preparar nanopartículas (Hansen *e cols. J. Phys. Chem.* 92, 2.189-96, 1988). Em outras modalidades, dispositivos ultra-sônicos, homogeneizadores de fluxo ou dispositivos de CO_2 supercrítico são usados para preparar nanopartículas.

Se a homogeneidade adequada da nanopartícula não é

obtida com a síntese direta, poderá ser usada cromatografia por exclusão de tamanho para produzir partículas contendo fármaco altamente uniformes que são livres de outros componentes envolvidos em sua fabricação. Técnicas de cromatografia por exclusão de tamanho (SEC) como, por exemplo, cromatografia por filtração em gel, podem ser usadas para separar fármaco ligado à partícula de fármaco livre ou para selecionar uma faixa de tamanho adequada das nanopartículas contendo fármaco. Vários meios de SEC, por exemplo, Superdex 200, Superose 6, Sephacril 1000, são disponíveis comercialmente e são facilmente empregados por aqueles habilitados na técnica para o fracionamento baseado no tamanho da mistura. Adicionalmente, as nanopartículas podem ser purificadas por centrifugação, filtração em membrana e pelo uso de outros dispositivos de peneiramento molecular, géis/materiais entrecruzados e membranas.

Lipossomos ou partículas lipídicas também podem ser empregados para encapsular as formulações ou composições de agente auricular. Fosfolipídeos que são gentilmente dispersos em um meio aquoso formam vesículas multicamadas com áreas de meios aquosos capturados que separam as camadas lipídicas. A sonificação, ou agitação turbulenta, dessas vesículas multicamadas resulta na formação de vesículas de camada única, comumente denominadas lipossomos, com tamanhos de cerca de 10-1.000 nm. Esses lipossomos possuem muitas vantagens como veículos de fármacos. Eles são biologicamente inertes, biodegradáveis, atóxicos e não antigênicos. Lipossomos podem ser formados em vários tamanhos e com composições e propriedades de superfície variáveis. Adicionalmente, eles são capazes de

capturar uma ampla variedade de fármacos de pequena molécula e liberar o fármaco no local do colapso do lipossomo.

Fosfolipídeos adequados para uso nas presentes composições são, por exemplo, fosfatidil colinas, etalonaminas e serinas, esfingomielinas, cardiolipinas, plasmalógenos, ácidos fosfatídicos e cerebrosídeos, em particular aqueles que são solúveis junto com piroxicam em solventes orgânicos atóxicos, farmaceuticamente aceitáveis. Fosfolipídeos preferidos são, por exemplo, fosfatidil colina, fosfatidil etanolamina, fosfatidil serina, fosfatidil inositol, lisofosfatidil colina, fosfatidil glicerol e outros, e misturas destes, especialmente lecitina, por exemplo, lecitina de soja. A quantidade de fosfolipídeo usada na presente formulação pode variar de cerca de 10 a cerca de 30%, preferivelmente de cerca de 15 a cerca de 25% e, em particular, é cerca de 20%.

Aditivos lipofílicos são empregados vantajosamente para modificar seletivamente as características dos lipossomos. Exemplos desses aditivos incluem, por exemplo, estearilamina, ácido fosfatídico, tocoferol, colesterol, hemissuccinato de colesterol e extratos de lanolina. A quantidade de aditivo lipofílico usado pode variar de 0,5 a 8%, preferivelmente de 1,5 a 4% e, em particular, é cerca de 2%. Geralmente, a proporção da quantidade de aditivo lipofílico para a quantidade de fosfolipídeo varia de cerca de 1:8 a cerca de 1:12 e, em particular, é cerca de 1:10. Os referidos fosfolipídeo, aditivo lipofílico e o ingrediente ativo piroxicam são empregados juntos com um sistema solvente orgânico atóxico, farmaceuticamente

aceitável, que pode dissolver os referidos ingredientes. O referido sistema solvente deve não apenas dissolver o ingrediente farmacêutico ativo completamente, mas também tem que permitir a formulação de lipossomos de bicamada única estáveis. O sistema solvente compreende dimetilisosorbida e tetraglicol (glicofurol, tetrahidrofurfuril álcool, éter de polietileno glicol) em uma quantidade de cerca de 8 a cerca de 30%. No referido sistema solvente, a proporção da quantidade de dimetilisosorbida para a quantidade de tetraglicol pode variar de cerca de 2:1 a cerca de 1:3, em particular de cerca de 1:1 a cerca de 1:2,5 e, preferivelmente, é cerca de 1:2. Dessa forma, a quantidade de tetraglicol na composição final pode variar de 5 a 20%, em particular de 5 a 15% e, preferivelmente, é de aproximadamente 10%. Assim, a quantidade de dimetilisosorbida na composição final pode variar de 3 a 10%, em particular de 3 a 7% e, preferivelmente, é de aproximadamente 5%.

O termo "componente orgânico", como aqui usado, refere-se às misturas que compreendem os referidos fosfolipídeos, aditivos lipofílicos e solventes orgânicos.

O ingrediente farmacêutico ativo é dissolvido no componente orgânico. É vantajoso utilizar formas micronizadas do ingrediente ativo para facilitar sua dissolução. A quantidade de ingrediente ativo na formulação final varia de 0,1 a 5,0%. Além disso, outros ingredientes como, por exemplo, antioxidantes, são adicionados ao componente orgânico. Exemplos incluem tocoferol, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ascorbil palmitato, ascorbil oleato e semelhantes.

O componente aquoso da presente formulação compreende principalmente água e muitas contêm vários aditivos como, por exemplo, eletrólitos, sistemas-tampão, conservantes e outros. Eletrólitos adequados incluem sais de metal, em particular sais de metal alcalino e de metal alcalino terroso como, por exemplo, cloretos de cálcio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, preferivelmente cloreto de sódio. A concentração dos eletrólitos pode variar amplamente, e depende da natureza e da concentração de cada um dos ingredientes na formulação final e deve ser suficiente para estabilizar as membranas lipossômicas. Na presente composição, a quantidade de cloreto de sódio pode variar de 0,05 a 0,2%. Sistemas-tampão compreendem misturas de quantidades adequadas de um ácido como, por exemplo, ácido fosfórico, succínico ou preferivelmente cítrico, e uma base, em particular, hidróxido de sódio. Os referidos sistemas-tampão devem manter o pH da formulação em uma faixa de 3 a 9, alternativamente dentro de uma faixa de 6 a 8, ou entre a faixa de 5 a 7. Conservantes que podem ser empregados na presente composição para evitar a degradação por microorganismos podem compreender ácido benzóico, metilparabeno e propilparabeno.

Formulações lipossômicas são opcionalmente preparadas por: (a) aquecimento do fosfolipídeo e do sistema solvente orgânico até cerca de 60-80°C em um vaso, dissolução do ingrediente ativo, e depois adição de quaisquer agentes de formulação adicionais, e agitação da mistura até que seja obtida a dissolução completa; (b) aquecimento da solução aquosa até 90-95°C em um segundo vaso e dissolução dos conservantes, resfriamento da mistura e depois adição do

restante dos agentes de formulação auxiliares e o restante da água, e agitação da mistura até que seja obtida a dissolução completa; preparando-se, dessa forma, o componente aquoso; (c) transferência da fase orgânica diretamente no componente aquoso, durante homogeneização da combinação com um aparelho de mistura de alto desempenho, em particular um misturador de alto cisalhamento; e (d) adição de um espessante à mistura resultante durante homogeneização adicional. Preferivelmente, o componente aquoso é colocado em um vaso adequado que pode ser equipado com um homogeneizador, e a homogeneização é efetuada por criação de uma grande turbulência durante a injeção do componente orgânico. Qualquer meio de mistura ou homogeneizador que exerça forças de alto cisalhamento sobre a mistura é empregado. Geralmente, é empregado um misturador capaz de velocidades de cerca de 1.500 a 20.000 rpm, em particular de cerca de 3.000 a cerca de 6.000 rpm. Agentes espessantes adequados para uso na etapa do processo (d) são, por exemplo, goma xantana, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose ou misturas destes, derivados de celulose sendo preferidos. A quantidade de agente espessante depende da natureza e da concentração dos outros ingredientes e, em geral, varia de cerca de 0,5 a 1,5% e, em particular, é de aproximadamente 1,5%. A fim de evitar a degradação dos materiais usados durante a preparação da formulação lipossômica, é vantajoso depurar todas as soluções com um gás inerte como, por exemplo, nitrogênio ou argônio, e realizar todas as etapas sob uma atmosfera inerte. Lipossomos preparados pelo método descrito acima normalmente contêm a maior parte do ingrediente ativo

ligada na bicamada lipídica e a separação dos lipossomos do material não encapsulado não é necessária.

Formulações lipídicas otologicamente aceitáveis

Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco é uma formulação a base de lipídeos. Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos é uma emulsão lipídica (por exemplo, microemulsões e emulsões óleo-em-água), uma vesícula lipídica (por exemplo, lipossomos, liossomos, micelas e transferossomos) ou uma combinação destes. Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos é uma vesícula lipídica, em que a vesícula lipídica é um lipossomo. Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos é uma formulação a base de fosfolipídeos. Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos é uma formulação a base de fosfolipídeos, em que o fosfolipídeo natural ou sintético é fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidil inositol, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, lisofosfolipídeos, fosfolipídeo de ovos ou soja, ou uma combinação destes. O fosfolipídeo é opcionalmente salgado ou sem sal, hidrogenado ou parcialmente hidrogenado, natural, sintético ou semi-sintético. Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos é uma formulação a base de fosfolipídeos (por exemplo, fosfolipídeos hidrogenados ou não hidrogenados, lecitinas, fosfatidil colinas (C8-C18), fosfatidiletanolaminas (C8-C18), fosfatidilgliceróis (C8-C18)), em que o fosfolipídeo é fosfolipon 90H (1,2-dia-cil-SN-glicero-3-fosfatidil colina), fosfolipídeos do ovo P123,

Lipóide E80; Fosfolipon 80H®, 80G®, 90H® e 100H®, ou combinações destes.

Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende um conservante hidrossolúvel (ou seja, um componente que evita substancialmente o crescimento e multiplicação de micróbios). Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende um conservante hidrossolúvel, em que o conservante é um sal de benzetônio (por exemplo, cloreto de benzetônio), ácido benzóico e/ou a sal de benzalcônio (por exemplo, cloreto de benzalcônio). Como aqui usado, o termo "hidrossolúvel" significa que o componente possui uma solubilidade em água de cerca de 100 µg/ml (0,01%) a cerca de 0,01 µg/ml (0,1%).

Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende um antioxidante lipossolúvel. Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende vitamina E.

Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende menos que cerca de 2% p/p, menos que cerca de 1,5%, menos que cerca de 1,0%, menos que cerca de 0,5%, ou menos que cerca de 0,25% de um agente intensificador da viscosidade.

Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos possui uma viscosidade de pelo menos cerca de 10.000 centipoise, pelo menos cerca de 20.000 centipoise, pelo menos cerca de 30.000 centipoise, pelo menos cerca de 40.000 centipoise, pelo menos cerca de 50.000 centipoise, pelo menos cerca de 60,000 centipoise,

ou pelo menos cerca de 70.000 centipoise, todas a 58°C, sem a presença de qualquer metilcelulose ou outros agentes intensificadores da viscosidade. Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende álcool oleílico para aumentar a penetração transmembrana.

Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende um intensificador de penetração (por exemplo, um álcool de baixo peso molecular (por exemplo, etanol, álcool oleílico), alquil metanol. sulfóxidos, N-metil-2-pirrolidona, aminas graxas (por exemplo, oleilamina), ácidos graxos (por exemplo, ácido oléico, ácido palmitoléico, ácido linoléico, miristato ácido), ácido glucônico (o ácido hexônico derivado de glicose por oxidação do grupo aldeído em C-1 em um grupo carboxil) e seus derivados, por exemplo, gliconolactona (especialmente, glicono-D-lactona, um agente quelante produzido pela oxidação de glicose), azona e propileno glicol, isoladamente ou em combinação). Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende um intensificador de penetração, em que o intensificador de penetração é propileno glicol, isoladamente ou em uma proporção de até 1:1 com outro intensificador, como ácido oléico ou etanol. Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende um intensificador de penetração, em que o intensificador de penetração é gliconolactona (por exemplo, glicono-D-lactona), isoladamente ou em uma proporção de até 1:1 com outro intensificador, como propileno glicol.

Em algumas modalidades, a formulação de liberação de fármaco a base de lipídeos compreende cerca de 25% v/v ou menos de qualquer um ou mais intensificadores químicos de penetração, mais preferivelmente de cerca de 2% a 15% v/v, embora a formulação exata irá variar, dependendo da presença e de quantidades de excipientes, conservantes, água, moduladores do pH, e outros aqui incluídos.

Em algumas modalidades, os lipossomos preparados carregados com os moduladores da pressão auricular aqui apresentados são gentilmente com agentes de aumento da viscosidade, adesivos mucosos ou intensificadores da absorção e de penetração. Por exemplo, moduladores da pressão auricular carregados em lipossomos são misturados com uma composição de glicerofosfato de quitosana, permitindo a gelificação no local da composição em temperaturas corporais internas de aproximadamente 37°C. O tamanho dos lipossomos é opcionalmente aumentado ou diminuído para modular a cinética de liberação das partículas de liberação controlada. Em aspectos adicionais, a cinética de liberação é alterada por mudança da composição lipídica dos lipossomos, como descrito acima.

As formulações aqui descritas são administradas em qualquer forma adequada. Como exemplos não limitantes, as formulações são administradas como gotas auriculares, como injeções intratimpânicas, como espumas ou como tinturas auriculares. As formulações são administradas por meio de uma cânula e/ou injeção, por meio de um dispensador de gotas, como um spray no canal auditivo, ou como uma tintura por meio de um cotonete de algodão.

Cinética de liberação controlada

O objetivo de todas as técnicas de liberação de fármaco é liberar a quantidade de fármaco adequada no local de ação no momento certo para obter um benefício terapêutico. Em geral, as formulações de liberação controlada de fármacos transmitem controle sobre a liberação de fármaco com relação ao local da liberação e o momento da liberação dentro do corpo. Como aqui discutido, liberação controlada refere-se a qualquer liberação diferente da liberação unicamente imediata. Em alguns casos, a liberação controlada é liberação retardada, liberação estendida, liberação sustentada e/ou liberação pulsátil (por exemplo, uma combinação de liberação estendida e liberação imediata) ou uma combinação destas. Muitas vantagens são oferecidas pela liberação controlada. Primeiro, a liberação controlada de um agente farmacêutico permite uma dosagem menos frequente e, dessa forma, minimiza o tratamento repetido. Segundo, o tratamento por liberação controlada resulta em uma utilização do fármaco mais eficiente e menos do composto permanece como resíduo. Terceiro, a liberação controlada defere a possibilidade de liberação localizada de fármaco por colocação de um dispositivo ou formulação de liberação no local da doença. Além disso, a liberação controlada defere a oportunidade para administrar e liberar dois ou mais fármacos diferentes, cada um tendo um perfil de liberação exclusivo, ou liberar o mesmo fármaco em taxas diferentes ou por durações diferentes, por meio de uma única unidade de dosagem.

Em uma modalidade específica, as formulações aqui descritas fornecem uma quantidade terapeuticamente eficaz

de pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo no local da doença, sem exposição sistêmica. Em uma modalidade adicional, as formulações aqui descritas fornecem uma in quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo no local da doença, sem exposição sistêmica detectável.

As formulações são projetadas para fornecer liberação de fármaco ao longo de um período de tempo desejado, que incluem períodos de até várias semanas. Dessa forma, o paciente não precisará repetir a administração do fármaco ou, pelo menos, será necessária uma administração menos frequente do fármaco.

Os fármacos liberados ao ouvido interno comumente têm sido administrados sistemicamente por via oral ou por via intravenosa ou intramuscular. No entanto, a administração sistêmica para patologias locais no ouvido interno aumenta a probabilidade de toxicidades e efeitos colaterais sistêmicos, e cria uma distribuição não produtiva do fármaco, em que níveis elevados de fármaco são encontrados no soro e níveis baixos correspondentes são encontrados no ouvido interno.

Em uma modalidade, as formulações aqui reveladas adicionalmente fornecem a liberação imediata de um agente auricular pela formulação, ou em até 1 minuto, ou em até 5 minutos, ou em até 10 minutos, ou em até 15 minutos, ou em até 30 minutos, ou em até 60 minutos ou em até 90 minutos. Em outras modalidades, uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um agente auricular é liberada pela formulação imediatamente, ou em até 1 minuto, ou em até 5 minutos, ou em até 10 minutos, ou em até 15 minutos, ou em

até 30 minutos, ou em até 60 minutos ou em até 90 minutos. Em certas modalidades, a formulação compreende uma formulação em gel otologicamente aceitável que fornece liberação imediata de pelo menos um agente auricular. Modalidades adicionais da formulação também podem incluir um agente que aumenta a viscosidade das formulações aqui incluídas.

Uma opção de liberação imediata ou rápida inclui o uso de diferentes polímeros de aumento da viscosidade, géis e nanoesferas multicomponentes (ou esferas submícron). Além disso, as microesferas são opcionalmente revestidas com um componente de liberação imediata e um componente de liberação controlada.

Em certas modalidades, a formulação compreende uma formulação em gel que fornece liberação imediata de pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo. Modalidades adicionais da formulação também podem incluir um espessante que espessa as formulações aqui incluídas. Em outras modalidades, o espessante compreende uma formulação lipossômica que fornece liberação imediata de pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo. Em algumas outras modalidades, a formulação compreende uma formulação contendo ciclodextrina que fornece liberação imediata de pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo. Em modalidades adicionais, a formulação compreende uma formulação de microesferas que fornece liberação imediata de pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo. Em modalidades adicionais, a formulação compreende uma formulação de nanopartículas que fornece liberação imediata de pelo menos um ingrediente farmacêutico ativo.

Em outras modalidades ou em modalidades adicionais, a formulação fornece uma formulação de liberação controlada de pelo menos um agente auricular. Em certas modalidades, a difusão de pelo menos um agente auricular pela formulação ocorre por um período de tempo que excede 5 minutos, ou 15 minutos, ou 30 minutos, ou 1 hora, ou 4 horas, ou 6 horas, ou 12 horas, ou 18 horas, ou 1 dia, ou 2 dias, ou 3 dias, ou 4 dias, ou 5 dias, ou 6 dias, ou 7 dias, ou 10 dias, ou 12 dias, ou 14 dias, ou 18 dias, ou 21 dias, ou 25 dias, ou 30 dias, ou 45 dias, ou 2 meses ou 3 meses ou 4 meses ou 5 meses ou 6 meses ou 9 meses ou 1 ano. Em outras modalidades, uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um agente auricular é liberada pela formulação por um período de tempo que excede 5 minutos, ou 15 minutos, ou 30 minutos, ou 1 hora, ou 4 horas, ou 6 horas, ou 12 horas, ou 18 horas, ou 1 dia, ou 2 dias, ou 3 dias, ou 4 dias, ou 5 dias, ou 6 dias, ou 7 dias, ou 10 dias, ou 12 dias, ou 14 dias, ou 18 dias, ou 21 dias, ou 25 dias, ou 30 dias, ou 45 dias, ou 2 meses ou 3 meses ou 4 meses ou 5 meses ou 6 meses ou 9 meses ou 1 ano.

Em outras modalidades, a formulação fornece tanto uma formulação de liberação imediata quanto uma formulação de liberação estendida de um agente auricular. Ainda em outras modalidades, a formulação contém uma proporção de 0,25:1, ou uma proporção de 0,5:1, ou uma proporção de 1:1, ou uma proporção de 1:2, ou uma proporção de 1:3, ou uma proporção de 1:4, ou uma proporção de 1:5, ou uma proporção de 1:7, ou uma proporção de 1:10, ou uma proporção de 1:15, ou uma proporção de 1:20 de formulações de liberação imediata e de liberação estendida. Em uma modalidade adicional, a

formulação fornece a liberação imediata de um primeiro agente auricular e a liberação estendida de um segundo agente auricular ou outro agente terapêutico. Ainda em outras modalidades, a formulação fornece uma formulação de liberação imediata e de liberação estendida de pelo menos um agente auricular, e pelo menos um agente terapêutico. Em algumas modalidades, a formulação fornece uma proporção de 0,25:1, ou uma proporção de 0,5:1, ou uma proporção de 1:1, ou uma proporção de 1:2, ou uma proporção de 1:3, ou uma proporção de 1:4, ou uma proporção de 1:5, ou uma proporção de 1:7, ou uma proporção de 1:10, ou uma proporção de 1:15, ou uma proporção de 1:20 de formulações de liberação imediata e de liberação estendida de um primeiro agente auricular e de um segundo agente terapêutico, respectivamente.

Em uma modalidade específica, a formulação fornece uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um agente auricular no local da doença praticamente sem exposição sistêmica. Em uma modalidade adicional, a formulação fornece uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um agente auricular no local da doença praticamente sem exposição sistêmica detectável. Em outras modalidades, a formulação fornece uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um agente terapêutico auricular no local da doença com pouca ou nenhuma exposição sistêmica detectável.

Em alguns casos, mediante administração (por exemplo, injeção intratimpânica) de uma formulação auricular convencional (por exemplo, DSP em um tampão), a concentração de um fármaco na perilinfa de um indivíduo irá se elevar acentuadamente (C_{max} em torno de 1-2 horas) e

depois cairá (Figura 1) até abaixo da C_{min}. Em alguns casos, a administração de uma formulação auricular aqui descrita reduz a proporção de C_{max} para C_{min} e fornece uma Área Sob a Curva (AUC) maior com um perfil PK prolongado com base na C_{min} (Figura 1). Em certos casos, as formulações de liberação controlada aqui descritas retardam o tempo até C_{max}. Em certos casos, a liberação controlada estável de um fármaco prolonga o temo em que a concentração do fármaco permanecerá acima da concentração terapêutica mínima (ou seja, C_{min}). Em alguns casos, a liberação controlada de um agente auricular fornecida pelas formulações aqui descritas permite a liberação de um agente auricular em concentrações acima da C_{min} por um período de pelo menos 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias, 7 dias, 10 dias, 14 dias, 3 semanas ou 1 mês. Em algumas modalidades, as composições auriculares aqui descritas prolongam o tempo de residência de um fármaco no ouvido interno. Em certos casos, após exposição ao fármaco (por exemplo, concentração na perilinfa) de um fármaco alcançar um estado estável, a concentração do fármaco na perilinfa permanece na dose terapêutica, ou perto dela, por um período de tempo estendido (por exemplo, um dia, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias ou 1 semana). Em algumas modalidades, as formulações auriculares aqui descritas aumentam a biodisponibilidade e/ou os níveis estáveis de um fármaco em estruturas auriculares (por exemplo, no ouvido interno e/ou na endolinfa e/ou na perilinfa).

Em alguns casos, mediante administração de uma formulação auricular de liberação controlada aqui descrita (por exemplo, uma formulação que compreende um agente antiinflamatório (por exemplo, um agente anti-TNF)), as

concentrações do fármaco em relação às constantes de ligação de um ou mais receptores (por exemplo, receptores de corticóide, receptores de NMDA, receptores de glutamato ou semelhantes, ou qualquer combinação destes) são relevantes na determinação de um perfil PK biologicamente significativo ou da concentração mínima de um agente ativo necessária para obter um efeito terapêutico. Em alguns casos, mediante administração de uma formulação auricular de liberação controlada aqui descrita, as concentrações de fármaco em relação às constantes de ligação de dois receptores como, apenas como exemplo, receptor de mineralocorticóide (MR) e receptor de glicocorticóide (OR), são relevantes na determinação da C_{min} ou do perfil PK biologicamente mais significativo. Em alguns casos, por exemplo, um fármaco satura um primeiro receptor (por exemplo, GR) primeiro, e depois satura um segundo receptor (por exemplo, MR), e há um benefício terapêutico até mesmo quando o primeiro receptor está saturado e o segundo receptor ainda não está saturado. Em alguns casos, a concentração de fármaco para saturação do segundo receptor é aproximadamente igual à C_{min}. Em alguns desses casos, por exemplo, uma dose seguinte é administrada quando a concentração de fármaco cai abaixo dos níveis de saturação do segundo receptor e/ou da C_{min} (Figura 1).

A combinação de composições ou formulações auriculares de imediata liberação, liberação retardada e/ou liberação estendida é feita com outros agentes farmacêuticos, bem como com excipientes, diluentes, estabilizantes, agentes de tonicidade e outros componentes aqui revelados. Dessa forma, dependendo do agente auricular usado, da espessura

ou viscosidade desejada, ou do modo de liberação escolhido, aspectos alternativos das modalidades aqui reveladas são combinados conseqüentemente com as modalidades de imediata liberação, liberação retardada e/ou liberação estendida.

Em certas modalidades, a farmacocinética das formulações auriculares aqui descritas é determinada por injeção da formulação na membrana da janela redonda, ou perto dela, em um animal de teste (que incluem, apenas como exemplo, um porquinho-da-índia ou uma chinchila). Em um período de tempo determinado (por exemplo, 6 horas, 12 horas, 1 dia, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias e 7 dias para teste da farmacocinética de uma formulação ao longo de um período de 1 semana), o animal de teste é sacrificado e o ouvido interno removido e testado quanto à presença do agente auricular. Se necessário, o nível de agente auricular é medido em outros órgãos. Além disso, o nível sistêmico do agente auricular é medido por retirada de uma amostra de sangue do animal de teste a fim de determinar se a formulação impede a audição, e a audição do animal de teste é opcionalmente testada.

Alternativamente, um ouvido interno é fornecido (removido de um animal de teste) e a migração do agente auricular é medida. Ainda em outra alternativa, é fornecido um modelo *in vitro* de uma membrana da janela redonda, e a migração do agente auricular é medida.

Modos de administração auriculares

São aqui fornecidos modos de tratamento para composições auriculares que melhoram ou atenuam distúrbios auriculares aqui descritos. Fármacos liberados ao ouvido interno foram administrados sistemicamente por via oral,

intravenosa ou intramuscular. No entanto, a administração sistêmica para patologias locais ao ouvido interno aumenta a probabilidade de toxicidades e efeitos colaterais adversos sistêmicos, e cria uma distribuição não produtiva do fármaco em que níveis elevados de fármaco são encontrados no soro e níveis baixos correspondentes são encontrados no ouvido interno.

São aqui fornecidos métodos que compreendem a administração das referidas composições auriculares na membrana da janela redonda, ou perto dela, por meio de injeção intratimpânica. Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é administrada na janela redonda, ou perto dela, ou nas fenestras da crista coclear por meio de uma entrada por uma incisão pós-auricular e manipulação cirúrgica na área da janela redonda ou das fenestras da crista coclear, ou perto delas. Alternativamente, uma composição aqui revelada é aplicada por meio de uma seringa e agulha, em que a agulha é inserida através da membrana timpânica e guiada até a área da janela redonda ou das fenestras da crista coclear. Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é então depositada na janela redonda ou nas fenestras da crista coclear, ou perto delas, para tratamento localizado. Em outras modalidades, uma composição aqui revelada é aplicada por meio de um microcateter implantado no paciente e, em modalidades adicionais, uma composição aqui revelada é administrada por meio de um dispositivo de bombeamento na membrana da janela redonda, ou perto dela. Ainda em modalidades, uma composição aqui revelada é aplicada na membrana da janela redonda ou perto dela via um dispositivo de microinjeção.

Ainda em outras modalidades, uma composição aqui revelada é aplicada na cavidade timpânica. Em algumas modalidades adicionais, uma composição aqui revelada é aplicada na membrana timpânica. Ainda em outras modalidades, uma composição aqui revelada é aplicada no canal auditivo ou perto dele. As formulações aqui descritas, e os modos de administração destas, também são aplicáveis aos métodos de instilação ou perfusão direta dos compartimentos do ouvido interno. Dessa forma, as formulações aqui descritas são úteis em procedimentos cirúrgicos que incluem, como exemplos não limitantes, cocleostomia, labirintotomia, mastoidectomia, estapedectomia, saculotomia endolinfática ou semelhantes.

Injeções intratimpânicas

Em algumas modalidades, um microscópio cirúrgico é usado para visualizar a membrana timpânica. Em algumas modalidades, a membrana timpânica é anestesiada por qualquer método adequado (por exemplo, uso de fenol, lidocaína, xilocaína). Em algumas modalidades, os quadrantes anterior-superior e posterior-inferior da membrana timpânica são anestesiados.

Em algumas modalidades, é feita uma punção na membrana timpânica para retirar quaisquer gases atrás da membrana timpânica. Em algumas modalidades, é feita uma punção no quadrante anterior-superior da membrana timpânica para retirar quaisquer gases atrás da membrana timpânica. Em algumas modalidades, a punção é feita com uma agulha (por exemplo, uma agulha de calibre 25). Em algumas modalidades, a punção é feita com um laser (por exemplo, a laser de CO_2). Em uma modalidade, o sistema de liberação é um

aparelho de seringa e agulha que é capaz de perfurar a membrana timpânica e acessar diretamente a membrana da janela redonda ou as fenestras da crista coclear do ouvido interno.

Em uma modalidade, a agulha é uma agulha hipodérmica usada para liberação instantânea da formulação em gel. A agulha hipodérmica é uma agulha de uso único ou uma agulha descartável. Em algumas modalidades, uma seringa é usada para liberação das composições em gel farmaceuticamente aceitáveis contendo agente auricular aqui reveladas, em que a seringa possui uma adaptação *press-fit* (Luer) ou *twist-on* (*Luer-lock*). Em uma modalidade, a seringa é uma seringa hipodérmica. Em outra modalidade, a seringa é feita de plástico ou vidro. Ainda em outra modalidade, a seringa hipodérmica é uma seringa de uso único. Em uma modalidade adicional, a seringa de vidro é capaz de ser esterilizada. Ainda em outra modalidade, a esterilização ocorre por meio de uma autoclave. Em outra modalidade, a seringa compreende um corpo de seringa cilíndrico, em que a formulação em gel é armazenada antes do uso. Em outras modalidades, a seringa compreende um corpo de seringa cilíndrico, em que as composições auriculares em gel farmaceuticamente aceitáveis aqui reveladas são armazenadas antes do uso, o que permite convenientemente a mistura com um tampão farmaceuticamente aceitável adequado. Em outras modalidades, a seringa pode conter outros excipientes, estabilizantes, agentes de suspensão, diluentes, ou uma combinação destes, para estabilizar ou de algum outro modo armazenar estavelmente o agente auricular ou outros compostos farmacêuticos nela contidos.

Em algumas modalidades, a seringa compreende um corpo de seringa cilíndrico, em que o corpo é compartimentalizado, em que cada compartimento é capaz de armazenar pelo menos um componente da formulação auricular em gel oticamente aceitável. Em uma modalidade adicional, a seringa que possui um corpo compartimentalizado permite a mistura dos componentes antes da injeção no ouvido médio ou no ouvido interno. Em outras modalidades, o sistema de liberação compreende múltiplas seringas, cada seringa das múltiplas seringas contém pelo menos um componente da formulação em gel, de tal forma que cada componente seja pré-misturado antes da injeção, seja misturado após a injeção. Em uma modalidade, as seringas aqui reveladas compreendem pelo menos um reservatório, em que pelo menos um reservatório compreende um agente, ou um tampão farmaceuticamente aceitável, ou um agente intensificador da viscosidade como, por exemplo, um agente de gelificação ou uma combinação destes. Opcionalmente são empregados dispositivos de injeção disponíveis comercialmente em sua forma mais simples como seringas plásticas prontas para uso com um tambor de seringa, uma montagem de agulha com uma agulha, êmbolo com um bastão do êmbolo e uma aba de manuseio, para realizar uma injeção intratimpânica.

Em algumas modalidades, uma agulha punciona o quadrante posterior-inferior da membrana timpânica. Em algumas modalidades, a agulha é maior do que uma agulha de calibre 18. Em outra modalidade, o calibre da agulha é de 18 a 30. Em uma modalidade adicional, a agulha é uma agulha de calibre 25. Dependendo da espessura ou viscosidade de uma composição aqui revelada, o nível do calibre da seringa

ou da agulha hipodérmica são variados de acordo. Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas são líquidas e podem ser administradas por meio de agulhas ou cânulas de calibre fino (por exemplo, agulha de calibre 22, agulha de calibre 25, ou cânula), minimizando os danos à membrana timpânica com a administração Em algumas modalidades, as formulações aqui descritas se gelificam com o contato com superfícies otológicas e/ou na temperatura corporal; não há necessidade de que os pacientes se deitem de lado enquanto o agente auricular faz efeito. As formulações aqui descritas são administradas com um desconforto mínimo ao paciente.

Em algumas modalidades, um otoendoscópio (por exemplo, com cerca de 1,7 mm de diâmetro) é usado para visualizar a membrana da janela redonda. Em algumas modalidades, quaisquer obstruções à membrana da janela redonda (por exemplo, uma falsa membrana da janela redonda, um plugue grande, tecido fibroso) são removidas.

Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é injetada na membrana da janela redonda. Em algumas modalidades, 0,4 a 0,5 cc de uma composição aqui revelada é injetado na membrana da janela redonda.

Em algumas modalidades, a punção de membrana timpânica é deixada para cicatrizar espontaneamente. Em algumas modalidades, é feita uma miringoplastia com emplastro de papel por um médico habilitado. Em algumas modalidades, é feita uma timpanoplastia por um médico habilitado. Em algumas modalidades, um indivíduo é advertido para evitar água. Em algumas modalidades, uma bola de algodão ensopada com geléia de vaselina é utilizada como uma barreira para

água e outros agentes ambientais.

Outras vias de liberação

Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é administrada ao ouvido interno. Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é administrada ao ouvido interno através de uma incisão na platina do estribo. Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é administrada à cóclea por meio de uma cocleostomia. Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é administrada ao aparelho vestibular (por exemplo, canais semicirculares ou vestíbulo).

Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é aplicada por meio de seringa e agulha. Em outras modalidades, uma composição aqui revelada é aplicada pode meio de microcateteres implantados no paciente. Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é administrada por meio de um dispositivo de bombeamento. Ainda em modalidades adicionais, uma composição aqui revelada é aplicada por meio de um dispositivo de microinjeção. Em algumas modalidades, uma composição aqui revelada é administrada por meio de uma prótese, um implante coclear, uma bomba de infusão constante, ou de um pavio.

Em algumas modalidades, o dispositivo de liberação é um aparelho projetado para administração de agentes terapêuticos ao ouvido médio e/ou interno. Apenas como exemplo: GYRUS Medical GmbH oferece microotoscópios para visualização e liberação de fármaco ao nicho da janela redonda; Arenberg descreveu um dispositivo de tratamento médico para liberar fluidos às estruturas do ouvido interno nas Patentes U.S. Nos. 5.421.818, 5.474.529 e 5.476.446,

cada uma aqui incorporada por referência quanto às suas revelações. O Pedido de Patente U.S. No. 08/874.208, que é aqui incorporado por referência quanto à sua revelação, descreve um método cirúrgico para a implantação de um conduto de transferência de fluido para liberar agentes terapêuticos ao ouvido interno. A Publicação do Pedido de Patente U.S. 2007/0167918, que é aqui incorporada por referência quanto à sua revelação, ainda descreve um aspirador otológico e dispensador de medicação combinados para coleta de amostra de fluido intratimpânico e aplicação de medicamentos.

Dosagem

As composições que contêm os compostos aqui descritos são administradas para tratamentos profiláticos e/ou terapêuticos. Em aplicações terapêuticas, as composições são administradas a um paciente que já sofre de uma doença, condição ou distúrbio, em uma quantidade suficiente para curar ou pelo menos parcialmente interromper os sintomas da doença, distúrbio ou condição. Quantidades eficazes para esse uso dependerão da severidade e da evolução da doença, distúrbio ou condição, de terapia prévia, do estado de saúde do paciente e da resposta aos fármacos, e da avaliação do médico assistente.

A quantidade de certo agente corresponderá a uma quantidade desse tipo irá variar, dependendo de fatores como, por exemplo, o composto em particular, da condição da doença e sua severidade, mas, no entanto, pode ser rotineiramente determinada de uma forma conhecida na técnica de acordo com as circunstâncias específicas do caso, que incluem, por exemplo, o agente específico

administrado, a via de administração, a condição tratada e o indivíduo ou hospedeiro tratado. Em geral, no entanto, as doses empregadas para o tratamento de um humano adulto tipicamente estarão na faixa de 0,02-50 mg por administração, preferivelmente 1-15 mg por administração. A dose desejada por convenientemente ser apresentada em uma dose única ou como doses divididas administradas simultaneamente (ou ao longo de um período de tempo curto) ou em intervalos apropriados.

Freqüência de administração

Quando a condição do paciente não melhora, mediante avaliação do médico, a administração dos compostos é feita cronicamente, ou seja, por um período de tempo prolongado, que inclui por toda a vida do paciente, a fim de melhorar ou de algum outro modo controlar ou limitar os sintomas da doença ou condição do paciente.

Quando o estado do paciente melhora, mediante avaliação do médico, a administração dos compostos é feita continuamente; alternativamente, a dose de fármaco administrada é temporariamente reduzida ou temporariamente suspensa por certo período de tempo (ou seja, "férias" do fármaco). A duração das "férias" do fármaco pode variar entre 2 dias e 1 ano, incluindo, apenas como exemplo, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias, 7 dias, 10 dias, 12 dias, 15 dias, 20 dias, 28 dias, 35 dias, 50 dias, 70 dias, 100 dias, 120 dias, 150 dias, 180 dias, 200 dias, 250 dias, 280 dias, 300 dias, 320 dias, 350 dias e 365 dias. A redução da dose durante as "férias" do fármaco é de 10%-100%, incluindo, apenas como exemplo, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%,

90%, 95% e 100%.

Após ter ocorrido a melhora das condições do paciente, uma dose de manutenção é administrada, se necessário. Subseqüentemente, a dosagem ou a freqüência de administração, ou ambos, podem ser reduzidas, em função dos sintomas, a um nível em que seja mantida a melhora da doença, distúrbio ou condição. Os pacientes podem, no entanto, necessitar de tratamento intermitente on de longo prazo caso surja qualquer recorrência dos sintomas.

Em algumas modalidades, a administração inicial é de uma formulação específica, e a administração subseqüente é de uma formulação ou ingrediente farmacêutico ativo diferente.

Kits e outros artigos manufaturados

A revelação também fornece kits para prevenção, tratamento ou melhora dos sintomas de uma doença ou distúrbio em um mamífero. Esses kits geralmente compreenderão um ou mais das composições em gel farmaceuticamente aceitáveis aqui reveladas, e instruções para utilização do kit. A revelação também contempla o uso de uma ou mais das formulações, na fabricação de medicamentos para o tratamento, diminuição, redução ou melhora dos sintomas de uma doença, disfunção ou distúrbio em um mamífero como, por exemplo, um ser humano, que possui, é suspeito de ter, ou em risco para o desenvolvimento de um distúrbio do ouvido interno.

Em algumas modalidades, um kit aqui revelado compreende uma agulha que pode penetrar a membrana timpânica e/ou a janela redonda. Em algumas modalidades, um kit aqui revelado ainda compreende um hidrogel com um

intensificador de penetração (por exemplo, um alquil-glicosídeo e/ou um éster alquílico sacarídeo).

Em algumas modalidades, os kits incluem um veículo, embalagem, ou recipiente que é compartimentado para receber um ou mais recipientes como frascos, tubos, e outros, cada um dos recipientes incluem um dos elementos separados para serem usados em um método aqui descrito. Os recipientes adequados incluem, por exemplo, garrafas, frascos, seringas, e tubos de teste. Em outras modalidades, os recipientes são formados de vários materiais como vidro ou plástico.

Os artigos manufaturados aqui fornecidos contêm materiais de embalagem. Os materiais de embalagem são usados na embalagem de produtos farmacêuticos aqui apresentados. Veja, por exemplo, Patente U.S. No 5.323.907, 5.052.558 e 5.033.252. Exemplos de um material de embalagem farmacêutica incluem, mas não são limitados a, *blister* pacotes, garrafas, tubos, inalantes, bombas, bolsas, frascos, recipientes, seringas, garrafas e qualquer, e material de embalagem adequado para uma formulação selecionada e modo de administração e tratamento desejados. Uma ampla escala de formulações dos compostos e composições aqui fornecidos é contemplada assim como vários tratamentos para qualquer doença, distúrbio, ou condição que se beneficiaria de administração de liberação estendida de um agente terapêutico ao ouvido interno.

Em algumas modalidades, um kit incluirá tipicamente um ou mais recipientes adicionais, cada com um ou mais dos vários materiais (por exemplo, reagentes, opcionalmente em forma concentrada, e/ou dispositivos) desejáveis de um

ponto de vista comercial e do usuário para uso de uma formulação aqui descrita. Exemplos não limitantes de tais materiais incluem, mas não se limitam a, tampões, diluentes, filtros, agulhas, seringas; veículo, embalagem, recipiente, frasco e/ou rótulos de tubo que listam os conteúdos e/ou instruções para uso, e bulas com instruções para uso. Um conjunto de instruções também será tipicamente incluído.

Em uma modalidade adicional, um rótulo está associado ao recipiente. Ainda em outra modalidade, um rótulo está recipiente quando letras, números ou outros caracteres que formam o rótulo são anexados, moldados ou gravados no recipiente em si. Um rótulo é associado a um recipiente quando ele está presente em um receptáculo ou veículo que também contém o recipiente, por exemplo, como uma bula. Em outras modalidades um rótulo é usado para indicar que os conteúdos devem ser usados para uma aplicação terapêutica específica. Ainda em outra modalidade, um rótulo também indica direções para uso do conteúdo, como nos métodos aqui descritos.

Em certas modalidades, as composições farmacêuticas são apresentadas em uma embalagem ou dispositivo de dispensa que contém um ou mais formas de dosagem unitária que contém um composto aqui fornecido. Em outra modalidade, a embalagem, por exemplo, contém folha metálica ou plástica, como uma embalagem em blister. Em uma modalidade adicional, a embalagem ou o dispositivo de dispensa é acompanhado por instruções para administração. Em outra modalidade adicional, a embalagem ou o dispensador também é acompanhado por uma observação associada ao recipiente em

uma forma prescrita por um órgão governamental que regula a fabricação, uso ou venda de substâncias farmacêuticas, a qual reflete a aprovação pelo órgão da forma do fármaco para administração humana ou veterinária. Em outra modalidade, essa observação, por exemplo, é o rótulo aprovado pelo FDA dos Estados Unidos ("U.S. Food and Drug Administration" - agência governamental americana que regula e fiscaliza a fabricação de comestíveis, drogas e cosméticos) para prescrição de fármacos, ou a bula aprovada do produto. Ainda em outra modalidade, composições que contêm um composto aqui fornecido formulado em um veículo farmacêutico compatível também são preparadas, colocadas em um recipiente apropriado, e rotuladas para tratamento de uma condição indicada.

EXEMPLOS

Exemplo 1 - Preparação de uma formulação de gel termorreversível anti-TNF

Ingrediente	**Quantidade (mg/g de formulação)**
Adalimumab	10,0
Metilparabeno	1,0
HPMC	10,0
Poloxâmero 407	180,0
Tampão de TRIS HCl (0,1 M)	789,0

Adalimumab é fornecido em 40 mg/0,8 ml de seringas de vidro pré-enchidas contendo aproximadamente 4,93 mg de cloreto de sódio, 0,69 mg de diidrato de fosfato de sódio monobásico, 1,22 mg de diidrato de fosfato de sódio dibásico, 0,24 mg de citrato de sódio, 1,04 mg de monoidrato de ácido cítrico, 0,6 mg de manitol, 0,8 mg de

polissorbato 80 e água. Todos os vasos de mistura são siliconizados ou de algum outro modo tratados para evitar a aderência de adalimumab às paredes do vaso.

Uma batelada de 10 g da formulação em gel contendo 1,0% de adalimumab é preparada por suspensão de 1,80 g de Poloxâmero 407 (BASF Corp.) em 5,00 g de tampão de TRIS HCl (0,1 M) e os componentes são misturados sob agitação de um dia para o outro a 4°C para assegurar a dissolução completa. A hidroxipropilmetilcelulose (100,0 mg), metilparabeno (10 mg) e tampão de TRIS HCl adicional (0,1 M) (2,89 g) são adicionados e a agitação prossegue até que seja observada a dissolução completa. Adalimumab (100 mg) é adicionado e misturado para manter a atividade. A mistura é mantida abaixo da temperatura ambiente até o uso.

Exemplos 2 - 10

Formulações termorreversíveis em gel que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina, são preparadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 1. Em exemplos adicionais, formulações termorreversíveis em gel que compreendem antagonista de VP2 micronizado lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina, são preparadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 1.

Exemplo 11 - Preparação de uma formulação em gel mucoadesiva termorreversível de inibidor de calcineurina

Ingrediente	**Quantidade (mg/g de formulação)**

Tacrolimus	10,0
Metilparabeno	1,0
HPMC	10,0
Carbopol 934P	2,0
Poloxâmero 407	180,0
Tampão de TRIS HCl (0,1 M)	787,0

Uma batelada de 10 g de formulação em gel mucoadesiva contendo 1,0% de agente anti-TNF é preparada por suspensão de 20,0 mg de Carbopol 934P e 1,80 g de Poloxâmero 407 (BASF Corp.) em 5,00 g de tampão TRIS HCl (0,1 M) e os componentes são misturados sob agitação de um dia para o outro a 4°C para assegurar a dissolução completa. A hidroxipropilmetilcelulose (100,0 mg), metilparabeno (10 mg) e tampão de TRIS HCl adicional (0,1 M) (2,87 g) são adicionados e a agitação continuou até que fosse observada a dissolução completa. Tacrolimus (100 g) é adicionado e misturado, mantendo a atividade. A mistura é mantida abaixo da temperatura ambiente até o uso.

Exemplos 12 - 18

Formulações em gel mucoadesivas termorreversíveis que compreendem diazepam, AMN082, D-metionina, Ganciclovir, SRT-501, neomicina, o modulador de KCNQ XE-991, são preparadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 11. Em exemplos adicionais, formulações em gel mucoadesivas termorreversíveis que compreendem diazepam micronizado, AMN082, D-metionina, Ganciclovir, SRT-501, neomicina, o modulador de KCNQ XE-991, são preparadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 11.

Exemplo 19 - Preparação de formulação mucoadesiva à base de

inibidor de TACE

Ingrediente	Quantidade (mg/g de formulação)
BMS-561392	10,0
Óleo de parafina	200
Trihidroxiestearato	10
Cetil dimeticon copoliol	30
Água	qs ad 1.000
Tampão fosfato pH 7,4	qs pH 7,4

A formulação do tipo creme primeiro é preparada por mistura suave de BMS-561392 com um solvente orgânico. Um segundo sistema é preparado por mistura de óleo de parafina, trihidroxiestearato e cetil dimeticon copoliol com aquecimento até 60°C. Mediante resfriamento até a temperatura ambiente, o sistema lipídico é misturado com a fase aquosa por 30 minutos.

Exemplos 20 - 25

Formulações mucoadesivas à base de lidocaína HCl, metotrexato, penicilina G benzatina, piceatanol, ciclofosfamida e CNQX são preparadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 19.

Exemplo 26 - Preparação de uma formulação em gel mucoadesiva de inibidor de IKK

Ingrediente	Quantidade (mg/g de formulação)
BMS-345541	10,0
Metilparabeno	1,0
Poloxâmero 407	180,0
Carbopol 934P	2,0
Tampão de TRIS HCl	317,00

O Carbopol 934P e o Poloxâmero 407 (BASF Corp.) são primeiro suspensos no tampão de TRIS HCl (0,1 M) e os componentes são misturados sob agitação de um dia para o outro a 4°C para assegurar a dissolução completa. O metilparabeno é adicionado e a agitação continua até que seja observada a dissolução completa. O BMS-345541 é misturado mantendo a atividade. A mistura é mantida abaixo da temperatura ambiente até o uso.

Exemplos 27 - 28

Formulação em gel mucoadesiva termorreversível que compreende metotrexato, ácido alfa lipóico, é preparada usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 26.

Determinações da viscosidade das composições farmacêuticas aqui descritas são realizadas em temperatura ambiente e 37°C e são feitas usando um viscômetro Brookfield (fuso e copo) a 20 rpm.

Exemplo 29 - Preparação de uma formulação anti-TNF de liberação controlada, mucoadesiva, com viscosidade aumentada

Microesferas de poli (ácido lático-glicólico) (PLGA), contendo proteína de ligação anti-TNF, são preparadas por um método de evaporação de solvente modificado usando uma emulsão dupla (veja a Patente U.S. No. 6.083.354, aqui incorporada por referência quanto à sua revelação; Cohen e *cols*. *Pharm*. *Res*. (1991) 8: 713-720). Resumidamente, solução de proteína de ligação anti-TNF (TBPI) ou pó de TBPI e albumina sérica bovina (solução de TBPI adicionada ao pó de BSA em água destilada dupla) liofilizada em pó e peneirada para gerar partículas com tamanho variando de 75

nm a 250-425 nm é dissolvida em água destilada dupla. PLGA é dissolvido separadamente em cloreto de metileno. Uma mistura do PLGA e TBPI é sonificada por sonda (modelo VC-250, Sonic & Materials Inc.) por 30 segundos para formar a primeira emulsão interna (W 1/0). A emulsão é então derramada sob mistura vigorosa usando uma barra magnética, em 2 ml de álcool polivinílico aquoso (PVA) saturado com cloreto de metileno para formar a segunda emulsão ((W 1/0)W 2). A emulsão dupla resultante é subseqüentemente derramada em 200 ml de PVA 0,1% e agitada continuamente por 3 horas em temperatura ambiente até que a maior parte do cloreto de metileno evapore, deixando microesferas sólidas. As microesferas são coletadas por centrifugação (1.000 g por 10 min), dimensionadas usando peneiras com aberturas de 100 µm e liofilizadas (16 horas, Freeze Dryer, Lab Conco) em um pó. As microesferas são misturadas na formulação mucoadesiva com viscosidade aumentada do Exemplo 19.

Exemplo 30 - Preparação de formulação lipossômica de antagonista de VP2

Ingrediente	**Quantidade (mg/g de formulação)**
Lixivaptan	5,0
Lecitina de soja	200,0
Colesterol	20,0
Tetraglicol	100,0
Dimetil isossorbida	50,0
Metilparabeno	2,0
Propilparabeno	0,2
BHT	0,1
Cloreto de sódio	1,0

HPMC	15,0
Hidróxido de sódio	0,6
Ácido cítrico	1,0
Água purificada, USP	603,6

Aquecer a lecitina de soja, tetraglicol e dimetil isossorbida a cerca de 70-75°C. Dissolver o lixivaptan, colesterol e hidroxitolueno butilado na mistura aquecida. Agitar até que seja obtida a dissolução completa. Aquecer cerca de um terço da água até 80-95°C em um vaso separado e dissolver os conservantes metilparabeno e propilparabeno na água aquecida durante agitação. Permitir que a solução resfrie até cerca de 25°C e depois adicionar o edetato dissódico, cloreto de sódio, hidróxido de sódio e ácido cítrico. Adicionar o restante da água e agitar para obter uma solução completa. Transferir a mistura orgânica na mistura aquosa por meio de um vácuo, homogeneizando a combinação com um misturador de alto cisalhamento até que seja obtido um produto homogêneo. Adicionar a hidroxipropil metilcelulose na mistura bifásica por meio de um vácuo, homogeneizando com um misturador. O homogeneizador é um misturador de alto cisalhamento Silverson operando a aproximadamente 3.000 rpm. São formados lipossomos únicos de bicamadas. O creme de lipogel branco está pronto para uso.

Exemplo 31 - Preparação de uma formulação de antagonista de VP2 de nanopartículas

Setecentos e cinqüenta mg (15 mg/ml, teórico) de um copolímero dibloco que consiste na combinação de um poli(ácido d,1-lático) de massa de 30 kD e de um polietileno glicol de massa de 2 kD (PLA-PEG) e 250 mg (5

mg/ml, teórico) de tolvaptan são dissolvidos em 20 ml de acetato de etila (solução A). Cento e setenta e cinco mg de lecitina E80 e 90 mg de oleato de sódio são dispersos em 50 ml de solução de glicose 5% p/v (solução B). A Solução A é emulsificada em solução B com um agitador Ultra-turrax e a pré-emulsão é então introduzida em um homogeneizador do tipo Microfluidificador 110 SRTM por 10 minutos a 10°C. O volume de emulsão recuperado é cerca de 70 ml (70 g). O acetato de etila é removido usando um evaporador rotatório em pressão reduzida (100 mm de mercúrio) até um volume de suspensão de cerca de 45 ml (45 g).

A formulação de nanopartículas de um modulador de KCNQ flupirtina é preparada usando um procedimento similar ao procedimento do Exemplo 31.

Exemplo 32 - Preparação de uma formulação de antagonista de VP2 ciclodextrina 5%

A um vaso de vidro de 150 ml adequado, são adicionados tolvaptan (5,0 g), solução estéril de dodecahidrato de fosfato de sódio dibásico 2% (9,0 g) e hidroxipropil-ciclodextrina (50 g). A mistura resultante é agitada até que seja formada uma solução transparente. A essa solução, são adicionados solução estéril de polissorbato 80 2% (5 g), solução de estoque estéril de HPMC 2910 2% (E4M) (2,5 g) e solução estéril de cloreto de sódio 5% (11 g), e a agitação continua até estar homogênea. Água estéril para injeção é adicionada para obter 95% do tamanho da batelada. A solução é agitada em temperatura ambiente por 30 min, e o pH é ajustado até 7,2. Finalmente, água para injeção é adicionada para obter um tamanho da batelada final de 100 g.

Exemplo 33 - Preparação de uma formulação em gel mucoadesiva termorreversível do modulador de KCNQ ciclodextrina 5%

Uma solução 5% de flupirtina CD é preparada de acordo com o procedimento no Exemplo 32 e adicionada à formulação em gel mucoadesiva termorreversível do Exemplo 11.

Exemplo 34 - Preparação de uma formulação de microesferas de antagonista de VP2 d,1-PLGA 50% 95:5

Vinte e cinco gramas (25 g) de d,1-PLGA 95:5 e 25 g de OPC-31260 são dissolvidos em 196 g de acetato de etila em um frasco de Erlemeyer a 52°C. A solução de fármaco/polímero é adicionada a um reator com cobertura de vidro de 1.000 ml contendo 550 g de álcool polivinílico aquoso 5% contendo 9,7 g de acetato de etila. O conteúdo do reator é agitado com um motor de agitação aéreo e a temperatura é mantida a 52°C por um banho circulante. O tamanho da emulsão é monitorado por microscopia óptica e a agitação é interrompida quando o tamanho da partícula está na faixa desejada (menos que 300 mícrons), normalmente após cerca de 2 minutos. A velocidade da agitação é reduzida para evitar uma redução adicional do tamanho da emulsão esterilizada. Após agitação por um total de 4 minutos, o conteúdo do reator é transferido sob pressão em 40 litros de água a 12°C. Após agitação por 20 minutos, as microesferas endurecidas são isoladas e o produto é então transferido em 20 litros de água a 12°C. Após aproximadamente 3 horas, a segunda lavagem é transferida para uma pilha de peneiras composta por aberturas de 25, 45, 90, 150 e 212 mícrons. O produto nas peneiras é lavado com quantidades copiosas de água gelada para separar os

diferentes tamanhos de microesferas. Após secagem das peneiras de um dia para o outro, as diferentes frações são coletadas e a secagem continuou sob vácuo em temperatura ambiente. Formulações com outros níveis de fármaco são preparadas simplesmente ajustando-se a proporção de polímero para fármaco.

Exemplo 35

Microesfera que compreendem o modulador de KCNQ XE-991 são preparadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 34.

Exemplo 36 - Preparação de uma formulação de microesferas de antagonista de VP2 d,1-PLGA 50%65:35

As microesferas são produzidas pelo método do Exemplo 34, exceto que uma matriz de polímero biodegradável diferente foi utilizada. Um polímero de d,1-PLGA 65:35 foi usado no lugar do polímero 95:5 indicado no Exemplo 34.

Exemplo 37 - Preparação de uma formulação mucoadesiva de antagonista de VP2 à base de ciclodextrina

Ingrediente	**Quantidade (mg/g de formulação)**
Lixivaptan	20,0
HP®CD	500
Propileno glicol	50
Óleo de parafina	200
Trihidroxiestearato	10
Cetil dimeticon copoliol	30
Água	qs ad 1.000
Tampão fosfato pH 7,4	qs pH 7,4

A formulação do tipo creme é preparada por solubilização de lixivaptan com propileno glicol, e essa

solução é adicionada a uma suspensão de HP®CD em água. Um segundo sistema é preparado por mistura de óleo de parafina, trihidroxiestearato e cetil dimeticon copoliol com aquecimento até 60°C. Mediante resfriamento até a temperatura ambiente, o sistema lipídico é misturado com a fase aquosa em um homogeneizador por 30 minutos.

Exemplo 38 - Preparação de uma formulação em gel termorreversível de antagonista de VP2 contendo ciclodextrina 2,5%

Ingrediente	Quantidade (mg de formulação)
Solução de CD 5%	500,0
Metilparabeno	1,0
Poloxâmero 407	180,0
Tampão de TRIS HCl (0,1 M)	317,0

O Poloxâmero 407 (BASF Corp.) é suspenso no tampão de TRIS HCl (0,1 M) e os componentes são misturados sob agitação de um dia para o outro a 4°C para assegurar a dissolução completa. A solução de ciclodextrina do Exemplo 4 e o metilparabeno são adicionados, e a agitação prossegue até que seja observada a dissolução completa. A mistura é mantida abaixo da temperatura ambiente até o uso.

Exemplo 39 - Preparação de uma formulação em gel mucoadesiva termorreversível de antagonista de VP2 contendo ciclodextrina

Ingrediente	Quantidade (mg de formulação)
Solução de CD 5%	500,0
Metilparabeno	1,0
Poloxâmero 407	180,0

Carbopol 934P	2,0
Tampão de TRIS HCl (0,1 M)	317,0

O Carbopol 934P e o Poloxâmero 407 (BASF Corp.) são suspensos no tampão de TRIS HCl (0,1 M), e os componentes são misturados sob agitação de um dia para o outro a 4°C para assegurar a dissolução completa. A solução de ciclodextrina do Exemplo 32 e o metilparabeno são adicionados, e a agitação continua até que seja observada a dissolução completa. A mistura é mantida abaixo da temperatura ambiente até o uso.

Exemplo 40

A formulação em gel termorreversível contendo ciclodextrina que compreende modulador de KCNQ 2,5% flupirtina é preparada usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 38.

Exemplo 41 - Preparação de uma formulação em gel de antagonista de VP2

Ingrediente	**Quantidade (mg de formulação)**
SR-121463	20,0
Quitosana	20,0
Glicerofosfato dissódico	80,0
Água	880

Uma solução de 5 ml de ácido acético é titulada até um pH de cerca de 4,0. A quitosana é adicionada para obter um pH de cerca de 5,5. O SR-121463 é então dissolvido na solução de quitosana. Essa solução é esterilizada por filtração. Uma solução aquosa de 5 ml de glicerofosfato dissódico também é preparada e esterilizada. As duas soluções são misturadas e, dentro de 2 horas a 37°C, o gel

desejado é formado.

Exemplos 42 - 49

Formulações em gel que compreendem vestipitant, gabapentina, talidomida, carbamazepina, gentamicina, SRT-2183 e modulador de P2X A-317491 são preparadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 41.

Exemplo 50 - Preparação de uma formulação em gel/lipossomo de antagonista de VP2

Ingrediente	Quantidade
SR-121463	20,0 mg/g
Lipossomos	15 µmol/ml
Quitosana-glicerofosfato	100,0 mg/g

Os lipossomos são preparados na presença do antagonista de VP2 SR-121463 pelo método de evaporação de fase reversa, em que lipídeos em clorofórmio ou clorofórmio-metanol (2:1, v/v) são depositados nas laterais de um tubo por evaporação do solvente orgânico. A película lipídica é redissolvida em éter dietílico e a fase aquosa (pH 7,4, 300 mOsm/kg), contendo 20 mM de Hepes e 144 mM de NaCl, é adicionada. A mistura é sonificada para obter uma emulsão homogênea, e então o solvente orgânico é removido sob vácuo. A preparação é extruída para obter o tamanho de lipossomo necessário, e os componentes livres são removidos por cromatografia por exclusão de tamanho usando uma coluna Sephadex G50 (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia).

Para preparar a formulação de quitosana-glicerofosfato, uma solução de 5 ml de ácido acético é titulada até um pH de cerca de 4,0. A quitosana é adicionada para obter um pH de cerca de 5,5. Essa solução é esterilizada por filtração. Uma solução aquosa de 5 ml de

glicerofosfato dissódico também é preparada e esterilizada. As duas soluções são misturadas e, dentro de 2 horas a 37°C, o gel desejado é formado. A solução de quitosana-glicerofosfato é gentilmente misturada com os lipossomos em temperatura ambiente.

Exemplo 51 - Preparação de uma formulação de nanopartículas de modulador de KCNQ

Setecentos e cinqüenta mg (15 mg/ml, teórico) de um copolímero dibloco que consiste na combinação de um poli(ácido d,1-lático) de massa de 30 kD e de um polietileno glicol de massa de 2 kD (PLA-PEG) e 250 mg (5 mg/ml, teórico) de flupirtina são dissolvidos em 20 ml de acetato de etila (solução A). Cento e setenta e cinco mg de lecitina E80 e 90 mg de oleato de sódio são dispersos em 50 ml de solução de glicose 5% p/v (solução B). A Solução A é emulsificada em solução B com um agitador Ultra-turrax e a pré-emulsão é então introduzida em um homogeneizador do tipo Microfluidificador 110 SRTM por 10 minutos a 10°C. O volume de emulsão recuperado é cerca de 70 ml (70 g). O acetato de etila é removido usando um evaporador rotatório em pressão reduzida (100 mm de mercúrio) a um volume de suspensão de cerca de 45 ml (45 g).

Exemplo 52 - Preparação de uma formulação em gel mucoadesiva termorreversível de AL-15469A/AL-38905

Ingrediente	**Quantidade (mg de formulação)**
AL-15469A	25,5
AL-38905	25,5
Metilparabeno	2,55
Hipromelose	25,5

Carbopol 934P	5,1
Poloxâmero 407	459
Tampão de TRIS HCl (0,1 M)	2.006,85

Tanto AL-15469A quanto AL-38905 são fornecidos como sólidos. Eles são reidratados em água até uma molaridade final de 10 mM.

Uma batelada de 10 g de formulação em gel mucoadesiva contendo 1,0% de AL-15469A e 1% de AL-38905 é preparada suspendendo-se primeiro Poloxâmero 407 (BASF Corp.) e Carbopol 934P em tampão de TRIS HCl (0,1 M). O Poloxâmero 407, Carbopol 934P e TRIS são misturados sob agitação de um dia para o outro a 4°C para assegurar a dissolução completa do Poloxâmero 407 e Carbopol 934P no TRIS. A hipromelose, o metilparabeno e tampão de TRIS HCl adicional (0,1 M) são adicionados. A composição é agitada até que seja observada a dissolução. As soluções de AL-15469A e AL-38905 são adicionadas, e a composição é misturada até que seja produzido um gel homogêneo. A mistura é mantida abaixo da temperatura ambiente até o uso.

Exemplo 53 - Preparação de uma formulação de Vestipitant/Paroxiteno à base de hidrogel

Ingrediente	**Quantidade (mg de formulação)**
Vestipitant	10,0
Paroxetina	10,0
Óleo de parafina	200,0
Trihidroxiestearato	10,0
Cetil dimeticon copoliol	30,0
Água	qs ad 1000
Tampão fosfato pH 7,4	qs pH 7,4

Vestipitant e Paroxiteno são fornecidos como sólidos. Uma solução de Vestipitant é preparada misturando-se gentilmente Vestipitant com água até que seja dissolvido. Uma solução de Paroxiteno é preparada misturando-se gentilmente Paroxiteno com água até que seja dissolvido.

A seguir, a base oleosa é preparada por mistura de óleo de parafina, trihidroxiestearato e cetil dimeticon copoliol em temperaturas de até 60°C. A base oleosa é resfriada até a temperatura ambiente e as soluções de Vestipitant e Paroxiteno são adicionadas. As duas fases são misturadas até que seja formado um hidrogel homogêneo, monofásico.

Exemplo 54 - Preparação de uma formulação lipossômica de modulador JB004/A

Ingrediente	**Quantidade (mg de formulação)**
JB004/A	2,5
Lecitina de soja	100,0
Colesterol	10,0
Tetraglicol	50,0
Dimetil isossorbida	25,0
Metilparabeno	1,0
Propilparabeno	0,1
BHT	0,05
Cloreto de sódio	0,5
HPMC	7,5
Hidróxido de sódio	0,3
Ácido cítrico	0,5
Água purificada, USP	302,55

Aquecer a lecitina de soja, o tetraglicol e a dimetil

isossorbida a cerca de 70-75°C. Dissolver o JB004/A, colesterol e hidroxitolueno butilado na mistura aquecida. Agitar até que seja obtida a dissolução completa. Aquecer cerca de um terço da água até 80-95°C em um vaso separado e dissolver os conservantes metilparabeno e propilparabeno na água aquecida durante agitação. Permitir que a solução resfrie a cerca de 25°C e depois adicionar o edetato dissódico, cloreto de sódio, hidróxido de sódio e ácido cítrico. Adicionar o restante da água e agitar para obter uma solução completa. Transferir a mistura orgânica na mistura aquosa por meio de um vácuo, homogeneizando a combinação com um misturador de alto cisalhamento até que seja obtido um produto homogêneo. Adicionar a hidroxipropil metilcelulose na mistura bifásica por meio de um vácuo, homogeneizando com um misturador. O homogeneizador é um misturador de alto cisalhamento Silverson operando a aproximadamente 3.000 rpm. São formados lipossomos únicos de bicamadas. O creme de lipogel branco está pronto para uso.

Exemplos 55 - 56

Preparações lipossômicas de AMN082, modulador de KCNQ retigabina, são preparadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 54.

Exemplo 57 - Formulação antimicrobiana de liberação controlada/imediata

Ingrediente	**Quantidade (mg de formulação)**
PLA Microesferas que compreendem aproximadamente 30% de penicilina G benzatina	15

Propileno glicol	30
Glicerina	20
Metilcelulose (METHOCEL® A4M)	20
Penicilina benzatina	10
Água	qs ad 1.000

Microesferas de PLA (poli(L-lactida)) que compreendem penicilina G benzatina são preparadas por adição de PLA suficiente a 100 ml de diclorometano para produzir uma solução a 3% p/v. 1,29 g de penicilina G benzatina é adicionado à solução com agitação. A solução é então adicionada gota a gota a 2 litros de água destilada contendo poli(álcool vinílico) 0,5% p/v com agitação para produzir uma emulsão óleo/água. A agitação é continuada por um período suficiente para permitir a evaporação do diclorometano e a formação de microesferas sólidas. As microesferas são filtradas, lavadas com água destilada e secas até que não fosse observada nenhuma perda de peso.

A porção de liberação imediata da formulação é preparada por geração de uma solução de metilcelulose 2% em um sistema solvente de água/propileno glicol/glicerina sob agitação. Penicilina G benzatina é adicionada à solução e a agitação continua para gerar um gel de baixa viscosidade de penicilina G benzatina 1%. A quantidade apropriada de microesferas que compreendem penicilina benzatina é então misturada com o gel de baixa viscosidade para gerar uma formulação auricular com combinação de liberação controlada/imediata de penicilina G benzatina.

Exemplo 58 - Preparação de uma formulação em gel termorreversível de ciclosporina que compreende um intensificador de penetração

Ingrediente	Quantidade (mg de formulação)
Ciclosporina	10,0
Citrato de sódio	1,25
Ascorbato de sódio	0,8
Hialuronidase PH20	10
Poloxâmero 407	15
Água	qs ad 1.000
Tampão fosfato pH 7,4	qs pH 7,4

A formulação líquida é preparada por mistura de ciclosporina micronizada e hialuronidase PH20 com um tampão para formar uma primeira solução. Um segundo sistema é preparado por mistura de poloxâmero 407, citrato de sódio e ascorbato de sódio em água com aquecimento até 60°C. A primeira solução é adicionada ao segundo sistema e bem misturada.

Exemplo 59 - Preparação de uma formulação em gel termorreversível de SB656933 que compreende um intensificador de penetração

Ingrediente	Quantidade (mg de formulação)
SB656933	10,0
Citrato de sódio	1,25
Ascorbato de sódio	0,8
Dodecil maltosida	10
Poloxâmero 407	15
Carboximetil celulose	5
Água	qs ad 1.000
Tampão fosfato pH 7,4	qs pH 7,4

A formulação líquida é preparada por mistura de

SB656933 e dodecil maltosida com um tampão para formar uma primeira solução. Um segundo sistema é preparado por mistura de poloxâmero 407, carboximetil celulose, citrato de sódio e ascorbato de sódio em água com aquecimento até 60°C. A primeira solução é adicionada ao segundo sistema e bem misturada. A solução é autoclavada a 120°C por 2 horas.

Exemplo 60 - Preparação de uma formulação em gel termorreversível de JB004/A para visualização

Ingrediente	**Quantidade (mg de formulação)**
JB004/A	10,0
Citrato de sódio	1,25
Ascorbato de sódio	0,8
Azul de Evans	2
Poloxâmero 407	15
Carboximetil celulose	5
Água	qs ad 1.000
Tampão fosfato pH 7,4	qs pH 7,4

A formulação líquida é preparada por mistura de JB004/A e azul de Evans com um tampão para formar uma primeira solução. Um segundo sistema é preparado por mistura de poloxâmero 407, carboximetil celulose, citrato de sódio e ascorbato de sódio em água com aquecimento até 60°C. A primeira solução é adicionada ao segundo sistema e bem misturada. A solução é autoclavada a 120°C por 2 horas.

Exemplo 61 - Efeito de pH sobre produtos da degradação para poloxâmero 407NF 17% autoclavado/agente auricular 2% em tampão de PBS

Uma solução de estoque de um poloxâmero 407 17%/agente auricular 2% é preparada por dissolução de 351,4 mg de

cloreto de sódio (Fisher Scientific), 302,1 mg de fosfato de sódio dibásico anidro (Fisher Scientific), 122,1 mg de fosfato de sódio monobásico anidro (Fisher Scientific) e uma quantidade apropriada de um agente auricular com 79,3 g de água DI filtrada estéril. A solução é resfriada em um banho-maria resfriado em gelo e depois 17,05 g de poloxâmero 407NF (SPECTRUM CHEMICALS) são borrifados na solução gelada durante agitação. A mistura é adicionalmente misturada até que o poloxâmero esteja completamente dissolvido. É medido o pH para essa solução.

Poloxâmero 407 17%/agente auricular 2% em PBS pH de 5,3. Tomar uma alíquota (aproximadamente 30 ml) da solução acima e ajustar o pH até 5,3 pela adição de 1 M de HCl.

Poloxâmero 407 17%/ agente auricular 2% em PBS pH de 8,0. Tomar uma alíquota (aproximadamente 30 ml) da solução de estoque acima e ajustar o pH até 8,0 pela adição de 1 M NaOH.

Um tampão de PBS (pH 7,3) é preparado por dissolução de 805,5 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific), 606 mg de fosfato de sódio dibásico anidro (Fisher Scientific), 247 mg de fosfato de sódio monobásico anidro (Fisher Scientific), e depois QS até 200 g com água DI filtrada estéril.

Uma solução 2% de um agente auricular em PBS pH 7,3 é preparada por dissolução de uma quantidade apropriada do agente auricular no tampão de PBS e QS até 10 g com tampão de PBS.

Amostras de 1 ml são colocadas individualmente em frascos de vidro com tampa rosqueada de 3 ml (com revestimento de borracha) e fechadas firmemente. Os frascos

são colocados em uma autoclave Market Forge-Sterilmatic (ajustes, líquidos lentos) e esterilizadas a 121,11°C por 15 minutos. Após a autoclave, as amostras são deixadas para resfriar até a temperatura ambiente e são colocadas no refrigerador. As amostras são homogeneizadas por mistura dos frascos ainda gelados.

A aparência (por exemplo, descoloração e/ou precipitação) é observada e registrada. A análise por HPLC é realizada usando um Agilent 1200 equipado com uma coluna Luna C18(2) de 3 µm, 100 Å, 250 x 4,6 mm, usando um gradiente de acetonitrila de 30-80 (1-10 min) de (mistura de água-acetonitrila contendo TFA 0,05%), para uma execução total de 15 minutos. As amostras são diluídas tomando-se 30 µl de amostra e dissolvidas com 1,5 ml de uma mistura 1:1 de acetonitrila-água. A pureza do agente auricular nas amostras autoclavadas é registrada.

Em geral, a formulação não deve ter nenhuma impureza individual (por exemplo, produto de degradação do agente auricular) de mais de 2% e, mais preferivelmente, não mais de um por cento. Além disso, a formulação não deve precipitar durante armazenamento ou ter alteração da cor após fabricação e armazenamento.

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus, preparadas de acordo com o procedimento no Exemplo 61, são testadas usando o procedimento acima para determinar o efeito do pH sobre a degradação durante a etapa de autoclavagem.

Exemplo 62 - Efeito da autoclavagem sobre o perfil de

liberação e viscosidade de um poloxâmero 407NF 17%/agente auricular 2% em PBS.

Uma alíquota da amostra do Exemplo 61 (autoclavada e não autoclavada) é avaliada quanto ao perfil de liberação e medida da viscosidade para avaliar o impacto da esterilização por calor sobre as propriedades do gel.

A dissolução é realizada a 37°C em *snapwells* (membrana de policarbonato com 6,5 mm de diâmetro com um tamanho de poro de 0,4 µm). 0,2 ml de gel é colocado no *snapwell* e deixado endurecer, e depois 0,5 ml é colocado em um reservatório e agitado usando uma agitadora orbitária Labline a 70 rpm. São retiradas amostras a cada hora (retirar 0,1 ml e substituir com tampão morno). As amostras são analisadas quanto à concentração de poloxâmero por UV a 624 nm usando o método de tiocianato de cobalto, contra uma curva de calibração externa padronizada. Resumidamente, 20 µl da amostra são misturados com 1.980 µl de uma solução de tiocianato de cobalto 15 mM e a absorbância medida a 625 nm, usando um espectrofotômetro UV/Vis Evolution 160 (Thermo Scientific).

O agente auricular liberado é ajustado à equação de Korsmeyer-Peppas,

$$\frac{Q}{Q_\infty} = kt^n + b$$

em que Q é a quantidade de agente auricular liberada no tempo t, Q_∞ é a quantidade liberada global de agente auricular, k é uma constante de liberação da nª ordem, n é um número sem dimensão relacionado ao mecanismo de dissolução e b é a interceptação do eixo, que caracteriza a

dissolução de liberação da carga inicial, em que n = 1 caracteriza um mecanismo de erosão controlada. O tempo de dissolução médio (MDT) é a soma de períodos de tempo diferentes em que as moléculas de fármaco permanecem na matriz antes da liberação, dividido pelo número total de moléculas, e é calculado por:

$$MDT = \frac{nk^{-1}}{n+1}$$

As medidas da viscosidade são realizadas usando um viscômetro de Brookfield RVDV-II+P com um eixo CPE-51 girando a 0,08 rpm (taxa de cisalhamento de 0,31 s^{-1}), equipado com uma unidade de controle de temperatura envolta em água (a temperatura varia de 15-34°C a 1,6 °C/min). Tgel é definida como o ponto de inflexão da curva onde o aumento da viscosidade ocorre em função da transição sol-gel.

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus, preparadas de acordo com o procedimento no Exemplo 61, são testadas usando o procedimento acima para determinar o efeito da autoclavagem sobre o perfil de liberação, Tgel e viscosidade das formulações.

Exemplo 63 - Efeito da adição de um polímero secundário sobre os produtos da degradação e viscosidade de uma formulação contendo agente auricular 2% e poloxâmero 407NF 17% após esterilização por calor (autoclavagem)

Solução A. Uma solução de pH 7,0 que compreende carboximetilcelulose sódica (CMC) em tampão de PBS é preparada por dissolução de 178,35 mg de cloreto de sódio

(Fisher Scientific), 300,5 mg de fosfato de sódio dibásico anidro (Fisher Scientific), 126,6 mg de fosfato de sódio monobásico anidro (Fisher Scientific) dissolvidos com 78,4 de água DI filtrada estéril, e depois 1 g de Blanose 7M65 CMC (Hercules, viscosidade de 5450 cP @ 2%) é borrifado na solução de tampão e aquecido para ajudar na dissolução, e a solução é então resfriada.

Uma solução de pH 7,0 que compreende poloxâmero 407NF 17%/CMC 1%/agente auricular 2% em tampão de PBS é feita por resfriamento de 8,1 g de solução A em um banho-maria resfriado em gelo e depois adição de uma quantidade apropriada de um agente auricular, seguida por mistura. 1,74 g de poloxâmero 407NF (Spectrum Chemicals) é borrifado na solução gelada durante agitação. A mistura é adicionalmente misturada até que todo o poloxâmero esteja completamente dissolvido.

Dois ml da amostra acima são colocados em um frasco de vidro com tampa rosqueada de 3 ml (com revestimento de borracha) e fechados firmemente. O frasco é colocado em uma autoclave Market Forge-Sterilmatic (ajustes, líquidos lentos) e esterilizado a 121,11°C por 25 minutos. Após autoclavagem, a amostra é deixada para resfriar até a temperatura ambiente e depois colocada no refrigerador. A amostra é homogeneizada por mistura enquanto os frascos estão gelados.

Precipitação ou descoloração é observada após autoclavagem. A análise por HPLC é realizada usando um Agilent 1200 equipado com uma coluna Luna C18(2) de 3 µm, 100 Å, de 250 x 4,6 mm, usando um gradiente de acetonitrila 30-80 (1-10 min) de (mistura de água-acetonitrila contendo

TFA 0,05%), para uma execução total de 15 minutos. As amostras são diluídas tomando-se 30 µl de amostra e dissolvendo com 1,5 ml de uma mistura 1:1 de acetonitrila-água. A pureza do agente auricular nas amostras autoclavadas é registrada.

Medidas da viscosidade são realizadas usando um viscômetro de Brookfield RVDV-II+P com um eixo CPE-51 girando a 0,08 rpm (taxa de cisalhamento de 0,31 s^{-1}), equipado com uma unidade de controle de temperatura envolta em água (a temperatura varia de 15-34°C a 1,6°C/min). Tgel é definida como o ponto de inflexão da curva onde o aumento da viscosidade ocorre em função da transição sol-gel.

A dissolução é realizada a 37°C para a amostra não autoclavada em *snapwells* (membrana de policarbonato com 6,5 mm de diâmetro com um tamanho de poro de 0,41 µm), 0,2 ml de gel é colocado no *snapwell* e deixado endurecer, e depois 0,5 ml é colocado em reservatório e agitado usando uma agitadora orbitária Labline a 70 rpm. São retiradas amostras a cada hora (0,1 ml retirado e substituído com tampão morno). As amostras são analisadas quanto à concentração de agente auricular por UV a 245 nm, contra uma curva de calibração externa padronizada.

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus, preparadas de acordo com o procedimento no Exemplo 63, são testadas usando o procedimento acima para determinar o efeito da adição de um polímero secundário sobre os produtos da degradação e viscosidade de uma formulação contendo agente auricular 2% e poloxâmero 407NF

17% após esterilização por calor (autoclavagem).

Exemplo 64 - Efeito do tipo de tampão sobre os produtos de degradação para formulações contendo poloxâmero 407NF após esterilização por calor (autoclavagem)

Um tampão TRIS é feito por dissolução de 377,8 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific) e 602,9 mg de Trometamina (Signa Chemical Co.), e depois QS até 100 g com água DI filtrada estéril, o pH é ajustado até 7,4 com 1 M de HCl.

Solução de estoque contendo solução de Poloxâmero 407 25% em tampão TRIS:

Pesar 45 g de tampão TRIS, resfriar em um banho resfriado com gelo e depois borrifar no tampão, durante agitação, 15 g de poloxâmero 407 NT (Spectrum Chemicals). A mistura é adicionalmente misturada até que todo o poloxâmero esteja completamente dissolvido.

Uma série de formulações é preparada com a solução de estoque acima. Uma quantidade apropriada de agente auricular (ou sal ou pró-fármaco deste) e/ou agente auricular como partículas micronizadas/revestidas/ lipossômicas (ou sal ou pró-fármaco destas) é usada para todos os experimentos.

Solução de estoque (pH 7,3) contendo solução de Poloxâmero 407 25% em tampão de PBS:

É usado o tampão de PBS do Exemplo 61. Dissolver 704 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific), 601,2 mg de fosfato de sódio dibásico anidro (Fisher Scientific), 242,7 mg de fosfato de sódio monobásico anidro (Fisher Scientific) com 140,4 g de água DI filtrada estéril. A solução é resfriada em um banho-maria resfriado com gelo e

depois 50 g de poloxâmero 407NF (SPECTRUM CHEMICALS) são borrifados na solução gelada durante agitação. A mistura é adicionalmente misturada até que o poloxâmero esteja completamente dissolvido.

Uma série de formulações é preparada com a solução de estoque acima. Uma quantidade apropriada de agente auricular (ou sal ou pró-fármaco deste) e/ou agente auricular como partículas micronizadas/revestidas/ lipossômicas (ou sal ou pró-fármaco deste) é usada para todos os experimentos.

As Tabelas 1 e 2 listam amostras preparadas usando os procedimentos descritos no Exemplo 64. Uma quantidade apropriada de agente auricular é adicionada a cada amostra para fornecer uma concentração final de agente auricular de 2 na amostra.

Tabela 1. Preparação de amostras contendo tampão TRIS

Amostra	pH	Solução de estoque 35% (g)	Tampão TRIS (g)
P407 20%/agente auricular 2%/TRIS	7,45	8,01	1,82
P407 18%/agente auricular 2%/TRIS	7,45	7,22	2,61
P407 16%/agente auricular 2%/TRIS	7,45	6,47	3,42
P407 18%/agente auricular 2%/TRIS	7,4	7,18	2,64
Agente auricular 4%/TRIS	7,5	-	9,7
Agente auricular 2%/TRIS	7,43	-	5
Agente auricular 1%/TRIS	7,35	-	5

Agente auricular 2%/TRIS (suspensão)	7,4	-	4,9

Tabela 2. Preparação de amostras contendo tampão de PBS (pH de 7,3)

Amostra	Solução de estoque 35% (g)	Tampão TRIS (g)
P407 20%/agente auricular 2%/PBS	8,03	1,82
P407 18%/agente auricular 2%/PBS	7,1	2,63
P407 16%/agente auricular 2%/PBS	6,45	3,44
P407 18%/agente auricular 2%/PBS	-	2,63
Agente auricular 2%/PBS	-	4,9

Amostras de 1 ml são colocadas individualmente em frascos de vidro com tampa rosqueada de 3 ml (com revestimento de borracha) e fechadas firmemente. Os frascos são colocados em uma autoclave Market Forge-Sterilmatic (ajuste, líquidos lentos) e esterilizados a 121,11°C por 25 minutos. Após a autoclavagem, as amostras são deixadas para resfriar até a temperatura ambiente. Os frascos são colocados no refrigerador e misturados ainda gelados para homogeneizar as amostras.

A análise por HPLC é realizada usando um Agilent 1200 equipado com uma coluna Luna C18(2) de 3 µm, 100 Å, de 250 x 4,6 mm, usando um gradiente de acetonitrila de 30-80 (1-10 min) de (água -acetonitrila mistura contendo TFA 0,05%), para uma execução total de 15 minutos. As amostras são diluídas tomando-se 30 µl de amostra e dissolvendo com 1,5

ml de uma mistura 1:1 de acetonitrila-água. A pureza do agente auricular nas amostras autoclavadas é registrada. A estabilidade das formulações em tampões TRIS e de PBS é comparada.

As medidas de viscosidade são realizadas usando um viscômetro de Brookfield RVDV-II+P com um eixo CPE-51 girando a 0,08 rpm (taxa de cisalhamento de 0,31 s^{-1}), equipado com uma unidade de controle de temperatura envolta em água (a temperatura varia de 15-34°C, a 1,6°C/min). Tgel é definida como o ponto de inflexão da curva onde o aumento da viscosidade ocorre em função da transição sol-gel. Só são analisadas as formulações que não exibem alterações após autoclavagem.

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus, preparadas de acordo com o procedimento no Exemplo 64, são testadas usando o procedimento acima para determinar o efeito da adição de um polímero secundário sobre os produtos da degradação e viscosidade de uma formulação contendo agente auricular 2% e poloxâmero 407NF 17% após esterilização por calor (autoclavagem).

Formulações que compreendem antagonista de VP2 micronizado lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina, e tacrolimus, preparadas de acordo com o procedimento no Exemplo 64, são submetidas a autoclavagem. A estabilidade de formulações contendo agente auricular micronizado é comparada com contrapartes da solução.

Exemplo 65: Formulações auriculares de liberação pulsada

Uma combinação de neramexano e cloridrato de neramexano (proporção de 1:1) é usada para preparar uma formulação de agente auricular de liberação pulsada usando os procedimentos aqui descritos. Vinte por cento da dose liberada de neramexano são solubilizados em uma solução de poloxâmero de 17% do Exemplo 61 com o auxílio de beta-ciclodextrinas. Os 80% restantes do agente auricular são então adicionados à mistura e a formulação final é preparada com o uso de qualquer procedimento aqui descrito.

Formulações de liberação pulsada que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, AMN082, SRT-501, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus, preparadas de acordo com os procedimentos e exemplos aqui descritos, são testadas usando procedimentos aqui descritos para determinar perfis de liberação de pulso.

Exemplo 66 - Preparação de uma formulação de poloxâmero 407 17%/agente auricular 2%/78 ppm de azul de Evans em PBS

Uma Solução de estoque de azul de Evans (5,9 mg/ml) em tampão de PBS é preparada por dissolução de 5,9 mg de azul de Evans (Sigma Chemical Co) com 1 ml de tampão de PBS (do Exemplo 61).

Uma solução de estoque contendo solução de Poloxâmero 407 25% em tampão de PBS do Exemplo 64 é usada nesse estudo. Uma quantidade apropriada de um agente auricular é adicionada à solução de estoque do Exemplo 64 para preparar formulações que compreendem 2% de um agente auricular (Tabela 3).

Tabela 3. Preparação de amostras de poloxâmero 407 contendo azul de Evans

ID da amostra	P407 25% em PBS (g)	Tampão PBS (g)	Solução de azul de Evans (µl)
P407 17%/agente auricular 2%/EB	13,6	6	265
P407 20%/agente auricular 2%/EB	16,019	3,62	265
P407 25%/agente auricular 2%/EB	19,63	-	265

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus são preparadas de acordo com o procedimento no Exemplo 66 e são filtradas de forma estéril através de filtros de seringa de PVDF de 0,22 µm (Millipore Corporation), e autoclavadas.

As formulações acima são dosadas em porquinhos-da-índia no ouvido médio por procedimentos aqui descritos e a habilidade das formulações para gelificar mediante contato e a localização do gel são identificadas após dosagem e em 24 horas após dosagem.

Exemplo 67 - Esterilização terminal de formulações de poloxâmero 407 com e sem um corante de visualização.

Poloxâmero 407 17%/agente auricular 2%/em tampão de fosfato, pH 7,3: Dissolver 709 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific), 742 mg de fosfato de sódio dibásico desidratado USP (Fisher Scientific), 251,1 mg de monoidrato de fosfato de sódio monobásico LISP (Fisher Scientific) e uma quantidade apropriada de um agente auricular com 158,1 g de água DI filtrada estéril. A solução é resfriada em um

banho-maria resfriado com gelo e depois 34,13 g de poloxâmero 407NF (Spectrum Chemicals) são borrifados na solução gelada durante agitação. A mistura é adicionalmente misturada até que o poloxâmero esteja completamente dissolvido.

Poloxâmero 407 17%/agente auricular 2%/59 ppm de azul de Evans em tampão de fosfato: Tomar dois ml da solução de poloxâmero 407 17%/agente auricular 2%/em tampão de fosfato e adicionar 2 ml de uma solução de 5,9 mg/ml de azul de Evans (Sigma-Aldrich Chemical Co) em tampão de PBS.

Poloxâmero 407 25%/agente auricular 2%/em tampão de fosfato: Dissolver 330,5 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific), 334,5 mg de fosfato de sódio dibásico desidratado USP (Fisher Scientific), 125,9 mg de monoidrato de fosfato de sódio monobásico USP (Fisher Scientific) e uma quantidade apropriada de um agente auricular com 70,5 g de água DI filtrada estéril.

A solução é resfriada em um banho-maria resfriado com gelo e depois 25,1 g de poloxâmero 407NF (Spectrum Chemicals) são borrifados na solução gelada durante agitação. A mistura é adicionalmente misturada até que o poloxâmero esteja completamente dissolvido.

Poloxâmero 407 25%/agente auricular 2%/59 ppm de azul de Evans em tampão de fosfato: Tomar dois ml da solução de poloxâmero 407 25%/agente auricular 2%/em tampão de fosfato e adicionar 2 ml de uma solução de 5,9 mg/ml de azul de Evans (Sigma-Aldrich Chemical Co) em tampão de PBS.

Colocar 2 ml da formulação em um frasco de vidro de 2 ml (frasco de vidro de soro Wheaton) e lacrar com uma tampa de butila de 13 mm (tampas Kimble) e lacrar com um selo de

alumínio de 13 mm. Os frascos são colocados em uma autoclave Market Forge-Sterilmatic (ajustes, líquidos lentos) e esterilizados a 121,11°C por 25 minutos. Após a autoclavagem, as amostras são deixadas para resfriar até a temperatura ambiente e depois colocadas em refrigeração. Os frascos são colocados no refrigerador e misturados ainda gelados para homogeneizar as amostras. A descoloração ou precipitação da amostra após autoclavagem é registrada.

A análise por HPLC é realizada usando um Agilent 1200 equipado com uma coluna Luna C18(2) de 3 µm, 100 Å, de 250 x 4,6 mm) usando um gradiente de tampão de metanol:acetato 30-95 pH 4 (1-6 min), e depois isocrático por 11 minutos, para uma execução total de 22 minutos. As amostras são diluídas tomando-se 30 µl de amostra e dissolvendo com 0,97 ml de água. Os picos principais são registrados na tabela abaixo. A pureza antes da autoclavagem é sempre maior do que 99% com utilização desse método.

Medidas da viscosidade são realizadas usando um viscômetro de Brookfield RVDV-II+P com um eixo CPE-51 girando a 0,08 rpm (taxa de cisalhamento de 0,31 s^{-1}), equipado com uma unidade de controle de temperatura envolta em água (a temperatura varia de 15-34°C a 1,6°C/min). Tgel é definida como o ponto de inflexão da curva onde o aumento da viscosidade ocorre em função da transição sol-gel.

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina. AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina, e tacrolimus, preparadas de acordo com o procedimento no Exemplo 67, são testadas usando os procedimentos acima para determinar a estabilidade das formulações.

Exemplo 68 - Comparação *in vitro* do perfil de liberação

A dissolução é realizada a 37°C em *snapwells* (membrana de policarbonato com 6,5 mm de diâmetro com um tamanho de poro de 0,4 µm), 0,2 ml de uma formulação em gel aqui descrita é colocado em um *snapwell* e deixado endurecer, e depois 0,5 ml tampão é colocado em reservatório e agitado usando uma agitadora orbitária Labline a 70 rpm. São retiradas amostras a cada hora (0,1 ml, retirado e substituído com tampão morno). As amostras são analisadas quanto à concentração de agente auricular por UV a 245 nm contra uma curva de calibração externa padronizada. A concentração de plurônico é analisada a 624 nm usando o método de tiocianato de cobalto. A ordem de classificação relativa do tempo de dissolução médio (MDT) em função do % de P407 é determinada. Um relacionamento linear entre os tempos de dissolução médios (MDT) das formulações e a concentração de P407 indica que o agente auricular é liberado em função da erosão do gel de polímero (poloxâmero), e não por meio de difusão. Um relacionamento não linear indica liberação de agente auricular por meio de uma combinação de difusão e/ou degradação do gel de polímero.

Alternativamente, as amostras são analisadas usando o método descrito pelo trabalho de Li Xin-Yu [*Acta Pharmaceutica Sinica* 2008, 43(2); 208-2113] e a ordem de classificação do tempo de dissolução médio (MDT) em função do % de P407 é determinada.

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina

e tacrolimus, preparadas de acordo com os procedimentos aqui descritos, são testadas usando o procedimento acima para determinar o perfil de liberação dos agentes auriculares.

Exemplo 69 - Comparação *in vitro* da temperatura de gelificação

O efeito de Poloxâmero 188 e um agente auricular sobre a temperatura de gelificação e viscosidade de formulações de Poloxâmero 407 é avaliado com a finalidade de manipular a temperatura de gelificação.

Uma solução de estoque de Poloxâmero 407 25% em tampão de PBS e a solução de PBS do Exemplo 64 são usadas. Poloxâmero 188NF de BASE é usado. Uma quantidade apropriada de agente auricular é adicionada às soluções descritas na Tabela 4 para fornecer uma formulação 2% do agente auricular.

Tabela 4. Preparação de amostras contendo poloxâmero 40/poloxâmero 188

Amostra	Solução de estoque de P407 25% (g)	Poloxâmero 188 (mg)	Tampão de PBS (g)
P407 16%/P188 10%	3,207	501	1,3036
P407 17%/P188 10%	3,4089	500	1,1056
P407 18%/P188 10%	3,6156	502	0,9072
P407 19%/P188 10%	3,8183	500	0,7050
P407 20%/P188 10%	4,008	501	0,5032
P407 20%/P188 5%	4,01	256	0,770

Tempo de dissolução médio, viscosidade e temperatura do gel medidos usando procedimentos aqui descritos.

Uma equação é ajustada aos dados obtidos e pode ser utilizada para estimar a temperatura de gelificação de misturas de F127/F68 (para F127 17-20% e F680-10%).

$$\mathbf{T_{gel} = -1,8\ (\%\ de\ F127) + 1,3\ (\%\ de\ F68) + 53}$$

Uma equação é ajustada aos dados obtidos e pode ser utilizada para estimar o tempo de dissolução médio (h) com base na temperatura de gelificação de misturas de F127/P68 (para 17-25% de F127 e 0-10% de F68), usando os resultados obtidos nos Exemplos 67 e 69.

$$\mathbf{MDT = -0,2\ (T_{gel}) + 8}$$

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus são preparadas por adição de uma quantidade apropriada de agentes auriculares às soluções descritas na Tabela 4. A temperatura do gel das formulações é determinada usando o procedimento descrito acima.

Exemplo 70 - Determinação da faixa de temperaturas para filtração estéril

A viscosidade em temperaturas baixas é medida para ajudar a guiar a faixa de temperaturas na qual a filtração estéril precisa ocorrer para reduzir a possibilidade de entupimento.

As medidas da viscosidade são realizadas usando um viscômetro de Brookfield RVDV-II+P com um eixo CPE-40 girando a 1, 5 e 10 rpm (taxa de cisalhamento de 7,5, 37,5 e 75 s^{-1}), equipado com uma unidade de controle de temperatura envolta em água (a temperatura varia de 10-25°C a 1,6°C/min).

A Tgel de um Plurônico P407 17% é determinada em

função da concentração crescente de agente auricular. O aumento na Tgel para uma formulação de plurônico 17% é estimado por:

$$\Delta T_{gel} = 0,3 \text{ [\% de agente auricular]}$$

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus, preparadas de acordo com procedimentos aqui descritos, são testadas usando o procedimento acima para determinar a faixa de temperaturas para filtração estéril. O efeito da adição de quantidades aumentadas de agente auricular sobre a T_{gel}, e sobre a viscosidade aparente das formulações, é registrado.

Exemplo 71 - Determinação de condições de fabricação

Tabela 5. Viscosidade de formulações potenciais em condições de fabricação/filtração.

Amostra	Viscosidade aparente* (cP)		Temperatura
	5°C abaixo da T_{gel}	20°C	@ 100 cP
Placebo	52 cP @ 17°C	120 cP	19°C
P407 17%/agente auricular 2%	90 cP @ 18°C	147 cP	18,5°C
P407 17%/agente auricular 6%	52 cP @ 17°C	105 cP	19,7°C

* Viscosidade medida em uma taxa de cisalhamento de 37,5 s^{-1}.

Uma batelada de 8 litros de um placebo de P407 17% é fabricada para avaliar as condições de fabricação/filtração. O placebo é fabricado colocando-se 6,4 litros de água DI em um vaso de pressão SS de 11,35 litros, e deixando-se que resfrie no refrigerador de um dia

para o outro. Na manhã seguinte, o tanque era aberto (temperatura da água de 5°C, temperatura ambiente de 18°C) e 48 g de cloreto de sódio, 29,6 g de fosfato de sódio dibásico desidratado e 10 g de monoidrato de fosfato de sódio monobásico são adicionados e dissolvidos com um misturador aéreo (IKA RW20 @ 1.720 rpm). Meia hora mais tarde, após o tampão ser dissolvido (temperatura da solução de 8°C, temperatura ambiente de 18°C), 1,36 kg de poloxâmero 407 NF (Spectrum Chemicals) é lentamente borrifado na solução de tampão em um intervalo de 15 minutos (temperatura da solução de 12°C, temperatura ambiente de 18°C), e depois a velocidade é aumentada até 2.430 rpm. Após uma mistura adicional de uma hora, a velocidade da mistura é reduzida para 1.062 rpm (dissolução completa).

A temperatura da sala é mantida abaixo de 25°C para reter a temperatura da solução abaixo de 19°C. A temperatura da solução é mantida abaixo de 19°C por até 3 horas do início da fabricação, sem a necessidade de resfriar/gelar o recipiente.

Três filtros "Sartoscale" (Sartorius Stedim) diferentes com uma área de superfície de 17,3 cm^2 são avaliados a 137,89 kPa e 14°C de solução:

1) Sartopore 2, 0,2 µm 5445307HS-FF (PES), taxa de fluxo de 16 ml/min.

2) Sartobran P, 0,2 µm 5235307HS-FF (éster de celulose), taxa de fluxo de 12 ml/min.

3) Sartopore 2 XLT, 0,2 µm 5445307IS-FF (PES), taxa de fluxo de 15 ml/min.

O filtro Sartopore 2 5441307H4-SS é usado, a filtração

é realizada na temperatura da solução usando uma cápsula estéril Sartopore 2 150 de 0,45, 0,2 µm (Sartorius Rectal-1) com uma área de superfície de 0,015 m^2 em uma pressão de 110,31 kPa. A taxa de fluxo é medida em aproximadamente 100 ml/min a 110,31 kPa, sem alteração na taxa de fluxo, enquanto a temperatura é mantida na faixa de 6,5-14°C. A diminuição da pressão e o aumento da temperatura da solução causam uma diminuição da taxa de fluxo em função de um aumento da viscosidade da solução. A descoloração da solução é monitorada durante o processo.

Tabela 6. Tempo de filtração previsto para um placebo de poloxâmero 407 17% em uma faixa de temperaturas da solução de 6,5-14°C usando filtros de 0,2 µm Sartopore 2 em uma pressão de 110,31 kPa de pressão.

Filtro	Tamanho (m^2)	Taxa de fluxo estimada (ml/min)	Tempo para filtrar 8 litros (estimado)
Sartopore 2, tamanho 4	0,015	100 ml/min	80 mm
Sartopore 2, tamanho 7	0,05	330 ml/min	24 min
Sartopore 2, tamanho 8	0,1	670 ml/min	12 Min

Viscosidade, Tgel e absorção UV/Vis são verificadas antes da avaliação da filtração. Os espectros UVA/Vis de Plurônico são obtidos por um Evolution 160 UV/Vis (Thermo Scientific). Um pico na faixa de 250-300 nm é atribuído ao estabilizante BHT presente na matéria-prima (poloxâmero). A Tabela 7 lista propriedades físico-químicas das soluções acima antes e depois da filtração.

Tabela 7. Propriedades físico-químicas de solução de placebo de poloxâmero 407 17% antes e depois da filtração

Amostra	Tgel (°C)	Viscosidade* @ 19 °C (cP)	Absorbância @ 274 nm
Antes da filtração	22	100	0,3181
Depois da filtração	22	100	0,3081

* Viscosidade medida em uma taxa de cisalhamento de 37,5 s^{-1}.

O processo acima é aplicável para a fabricação de formulações de P407 17%, e inclui análise da temperatura das condições ambientes. Preferivelmente, uma temperatura máxima de 19 °C reduz o custo do resfriamento do recipiente durante a fabricação. Em alguns casos, um recipiente revestido é para controlar ainda mais a temperatura da solução para facilitar os cuidados de fabricação.

Exemplo 72 - Liberação *in vitro* de agente auricular por uma amostra micronizada autoclavada.

Poloxâmero 407 17%/agente auricular 1,5% em tampão TRIS: 250,8 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific) e 302,4 mg de Trometamina (Sigma Chemical Co.) são dissolvidos em 39,3 g de água DI filtrada estéril, o pH é ajustado até 7,4 com 1 M de HCl. 4,9 g da solução acima são usados, e uma quantidade apropriada de agente auricular micronizado é suspensa e bem dispersa. Dois ml da formulação são transferidos em um frasco de vidro de 2 ml (frasco de vidro de soro Wheaton) e fechados com uma tampa de estireno de butila de 13 mm (tampas Kimble) e lacrados com um selo de alumínio de 13 mm. O frasco é colocado em

uma autoclave Market Forge-sterilmatic (ajustes, líquidos lentos) e esterilizado a 121,11 °C por 25 minutos. Após a autoclavagem, a amostra é deixada para resfriar até a temperatura ambiente. O frasco é colocado no refrigerador e misturado ainda frio para homogeneizar a amostra. A descoloração ou precipitação da amostra após autoclavagem é registrada.

A dissolução é realizada a 37 °C em *snapwells* (membrana de policarbonato de 6,5 mm de diâmetro com um tamanho de poro de 0,4 µm), 0,2 ml de gel é colocado no *snapwell* e deixado endurecer, e depois 0,5 ml de tampão de PBS é colocado em reservatório e agitado usando uma agitadora orbitária Labline a 70 rpm. São retiradas amostras a cada hora [0,1 ml retirado e substituído com tampão de PBS morno contendo PEG-40 2% - óleo de rícino hidrogenado (BASF) para aumentar a solubilidade do agente auricular]. As amostras são analisadas quanto à concentração de agente auricular por UV a 245 nm contra uma curva de calibração externa padronizada. A taxa de liberação é comparada com outras formulações aqui reveladas. O tempo MDT é calculado para cada amostra.

A solubilização do agente auricular no sistema de poloxâmero 17% é avaliada por medida da concentração do agente auricular no sobrenadante após centrifugação das amostras a 15.000 rpm por 10 minutos usando uma centrífuga de Eppendorf 5424. A concentração de agente auricular no sobrenadante é medida por UV a 245 nm contra uma curva de calibração externa padronizada.

Formulações que compreendem agentes auriculares micronizados, antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam,

metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus, preparadas de acordo com os procedimentos aqui descritos, são testadas usando os procedimentos acima para determinar a taxa de liberação do agente auricular de cada formulação.

Exemplo 73 - Taxa de liberação ou MDT e viscosidade de formulação contendo carboximetil celulose sódica.

Poloxâmero 407 17%/agente auricular 2%/CMC 1% (Hercules Blatose 7M): Uma solução de carboximetilcelulose sódica (CMC) (pH 7,0) em tampão de PBS é preparada por dissolução de 205,6 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific), 372,1 mg de diidrato de fosfato de sódio dibásico (Fisher Scientific), 106,2 mg de monoidrato de fosfato de sódio monobásico (Fisher Scientific) em 78,1 g de água DI filtrada estéril. Um g de CMC Blanose 7M (Hercules, viscosidade de 533 cP @ 2%) é borrifado na solução de tampão e aquecido para facilitar a solução; a solução é então resfriada e 17,08 g de poloxâmero 407NF (Spectrum Chemicals) são borrifados na solução gelada durante agitação. Uma formulação que compreende poloxâmero 407NF 17%/CMC 1%/agente auricular 2% em tampão de PBS é feita por adição/dissolução de uma quantidade apropriada de agente auricular a 9,8 g da solução acima, e misturando-se até que todo o agente auricular esteja completamente dissolvido.

Poloxâmero 407 17%/agente auricular 2%/CMC 0,5%/Blanose 7M65): Uma solução de carboximetilcelulose sódica (CMC) (pH 7,2) em tampão de PBS é preparada por dissolução de 257 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific), 375 mg de diidrato de fosfato de sódio

dibásico (Fisher Scientific), 108 mg de monoidrato de fosfato de sódio monobásico (Fisher Scientific) em 78,7 g de água DI filtrada estéril. 0,502 g de CMC Blanose 7M65 (Hercules, viscosidade de 5.450 cP @ 2%) é borrifado na solução de tampão e aquecido para facilitar a solução; a solução é então resfriada, e 17,06 g poloxâmero 407NF (Spectrum Chemicals) são borrifados na solução gelada durante agitação. Uma solução de poloxâmero 407NF 17%/CMC 1%/agente auricular 2% em tampão de PBS é feita por adição/dissolução de uma quantidade apropriada de agente auricular a 9,8 g da solução acima, e misturando-se até que o agente auricular esteja completamente dissolvido.

Poloxâmero 407 17%/agente auricular 2%/CMC 0,5% (Blanose 7H9): Uma solução de carboximetilcelulose sódica (CMC) (pH 7,3) em tampão de PBS é preparada por dissolução de 256,5 mg de cloreto de sódio (Fisher Scientific.), 374 mg de diidrato de fosfato de sódio dibásico (Fisher Scientific), 107 mg de monoidrato de fosfato de sódio monobásico (Fisher Scientific) em 78,6 g de água DI filtrada estéril, e depois 0,502 g de CMC Blanose 7H9 (Hercules, viscosidade de 5.600 cP @ 1%) é borrifado na solução de tampão e aquecido para facilitar a solução; a solução é então resfriada, e 17,03 g de poloxâmero 407NF (Spectrum Chemicals) são borrifados na solução gelada durante agitação. Uma solução de poloxâmero 407NF 17%/CMC 1%/agente auricular 2% em tampão de PBS é feita por adição/dissolução de uma quantidade apropriada de agente auricular a 9,8 da solução acima, e misturando-se até que o agente auricular esteja completamente dissolvido.

As medidas da viscosidade são realizadas usando um

viscômetro de Brookfield RVDV-II+P com um eixo CPE-40 girando a 0,08 rpm (taxa de cisalhamento de 0,6 s^{-1}), equipado com uma unidade de controle de temperatura envolta em água (a temperatura varia de 10-34 °C a 1,6° C/min). Tgel é definida como o ponto de inflexão da curva onde o aumento da viscosidade ocorre em função da transição sol-gel.

A dissolução é realizada a 37 °C em *snapwells* (membrana de policarbonato com 6,5 mm de diâmetro com um tamanho de poro de 0,4 µm). 0,2 ml de gel é colocado no snapwell e deixado endurecer, e depois 0,5 ml de tampão de PBS é colocado em reservatório e agitado usando uma agitadora orbitária Labline a 70 rpm. São retiradas amostras a cada hora [0,1 ml, retirado e substituído com tampão de PBS morno contendo PEG-40 2% - óleo de rícino hidrogenado (BASF) para aumentar a solubilidade do agente auricular]. As amostras são analisadas quanto à concentração de agente auricular por UV a 245 nm contra uma curva de calibração externa padronizada. A taxa de liberação é comparada com a formulação revelada no Exemplo 63; o tempo MDT é calculado para cada uma das formulações acima.

Formulações que compreendem antagonista de VP2 lixivaptan, diazepam, metotrexato, amoxicilina, AMN082, SRT-501, Neramexano, JB004/A, modulador de KCNQ Retigabina e tacrolimus, preparadas de acordo com procedimentos descritos acima, são testadas usando os procedimentos acima para determinar o relacionamento entre a taxa de liberação e/ou o tempo de dissolução médio e a viscosidade da formulação contendo carboximetilcelulose sódica. Qualquer

correlação entre o tempo de dissolução médio (MDT) e a viscosidade aparente (medida a 2 °C abaixo da temperatura de gelificação) é registrada.

Exemplo 74 - Aplicação de uma formulação de inibidor de calcineurina com viscosidade aumentada sobre a membrana da janela redonda.

Uma formulação de acordo com Exemplo 11 é preparada e carregada em seringas de vidro siliconadas de 5 ml anexadas a uma agulha descartável *luer lock* de calibre 15. Lidocaína é aplicada topicamente à membrana timpânica, e é feita uma pequena incisão para permitir a visualização na cavidade do ouvido médio. A ponta da agulha é guiada no lugar sobre a membrana da janela redonda, e a formulação imunomoduladora aplicada diretamente sobre a membrana da janela redonda.

Exemplos 75 - 89

A formulação de viscosidade aumentada AL-15469A/AL-38905 do Exemplo 52, a formulação de agente citotóxico metotrexato do Exemplo 4, a formulação AMN082 do Exemplo 13, a formulação antimicrobiana de gentamicina do Exemplo 46 e a formulação de SRT-501 do Exemplo 16 são testadas usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 61.

Exemplo 90 - Avaliação de uma formulação de inibidor de calcineurina em um modelo animal de AIED

Materiais e métodos

Indução de resposta imune

Fêmeas albinas de camundongos Swiss do "National Institutes of Health" (Harlan Sprague-Dawley, Inc., Indianapolis, Inc.) pesando 20 a 24 g são usadas. Hemocianina *keyhole limpet* (KLH; Pacific Biomarine Supply

Co., Venice, CA) é suspensa em solução salina tamponada com fosfato (PBS) (pH 6,4), dialisada assepticamente contra PBS e centrifugada duas vezes. O precipitado (associado à KLH) é dissolvido em PBS e injetado por via subcutânea nas costas do animal (0,2 mg emulsificado em adjuvante completo de Freund). Os animais recebem um reforço (0,2 mg de KLH em adjuvante incompleto de Freund, e depois injetado dez semanas mais tarde com 0,1 mg de KLH em 5 µl de PBS (pH 6,4) através de um micro-orifício perfurado através da cápsula coclear. A cóclea é abordada usando um microscópio cirúrgico e técnica estéril. É feita uma incisão pós-auricular, e um orifício é perfurado nas bulas para permitir uma boa visualização do promontório da espira basal coclear, artéria estapédica e nicho da janela redonda. A artéria estapédica é cauterizada e removida, e um orifício de 25 µm é perfurado através da cápsula coclear dentro da escala timpânica da espira basal lateral. KLH ou controle de PBS é injetado lentamente usando uma seringa de Hamilton acoplada a um tubo plástico até uma micropipeta de vidro preenchida com o antígeno ou controle. O orifício é lacrado com cera óssea após injeção, e o excesso de fluido é removido. Somente uma cóclea por animal é tratada com KLH.

Tratamento

Camundongos com KLH e de controle são distribuídos em dois grupos (n = 10 em cada grupo). A formulação de inibidor de calcineurina do Exemplo 11 contendo tacrolimus é aplicada à membrana da janela redonda de um grupo de animais. Formulação de controle sem tacrolimus é aplicada ao segundo grupo. As formulações de inibidor de

calcineurina e de controle são reaplicadas três dias após a aplicação inicial. Os animais são sacrificados após o sétimo dia de tratamento.

Análise dos resultados

Testes eletrofisiológicos

O limiar de audição para o limiar de resposta auditiva do tronco cerebral (ABR) aos estímulos de clique para cada ouvido de cada animal é inicialmente medido, e 1 semana após o procedimento experimental. Os animais são colocados em uma câmara acústica de parede única (Industrial Acoustics Co, Bronx, NY, EUA.) em uma almofada de aquecimento. Eletrodos subdérmicos (Astro-Med, Inc. Grass Instrument Division, West Warwick, RI, EUA) foram inseridos no vértice (eletrodo ativo), na mastóide (referência) e na pata traseira (terra). Estímulos de clique (0,1 milissegundo) são gerados por computador e liberados a um alto-falante de 200 Ohm Beyer DT 48 adaptado com um espéculo auricular para colocação no meato auditivo externo. A ABR registrada é amplificada e digitalizada por um pré-amplificador operado por bateria e inserida em um sistema de registro de ABR Tucker-Davis Technologies que fornece controle computacional do estímulo, registro e média de funções (Tucker Davis Technology, Gainesville, FL, EUA). Diminuindo-se sucessivamente a amplitude, os estímulos são apresentados em etapas de 5-dB ao animal, e é calculada e exibida a média do estímulo-atividade bloqueada registrado (n = 512). O limiar é definido como o nível de estímulo entre o registro sem resposta visivelmente detectável e uma resposta nitidamente identificável.

Análise histoquímica

Os animais são anestesiados e sacrificados por meio de perfusão intracardíaca de solução salina heparinizada morna, seguida por aproximadamente 40 ml de periodato-lisina-paraformaldeído (concentração final de paraformaldeído 4%) fixativo. Os ossos temporais do lado direito são imediatamente removidos e descalcificados com tetra-acetato de etilenodiamina 5% tamponada (pH 7,2) por 14 dias (4 °C). Após descalcificação, os ossos temporais são imersos seqüencialmente em concentrações crescentes (50%, 75%, 100%) de composto de temperatura de corte ótima (OCT) (Tissue-Tek, Miles Inc., Elkhart, IN), congelados (-70°C), e cortados com *cryostat* (4 µm) paralelo à columela. Os cortes são coletados para coloração com hematoxilina e eosina (H&E) e análise imunoistoquímica.

A severidade da inflamação é avaliada de acordo com a quantidade de infiltração celular da escala timpânica, e uma pontuação imparcial é dada a cada cóclea. Uma pontuação de 0 indica ausência de inflamação, e uma pontuação de 5 indica que todas as espiras cocleares possuíam infiltração severa de células inflamatórias.

Exemplos 91 - 92

A formulação em gel termorreversível mucoadesiva que compreende Etanercept preparada de acordo com o Exemplo 26 e a formulação em gel mucoadesiva termorreversível que compreende antimicrobiano ganciclovir do Exemplo 15 são avaliadas em um modelo animal de AIED usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 67.

Exemplo 93 - Avaliação de uma formulação de inibidor de calcineurina em um modelo animal de otite média

Indução de otite média.

Chinchilas adultas saudáveis pesando 400 a 600 g com ouvidos médios normais, verificados por otoscopia e timpanometria, são usadas para esses estudos. A obstrução da trompa de Eustáquio é realizada 24 horas antes da inoculação para evitar que o inóculo saia da trompa de Eustáquio. Um mililitro de cepa do tipo 3 de *S. pneunoniae* em fase 4-h-log (contendo aproximadamente 40 unidades formadoras de colônia (CFU)) é colocado diretamente nas bulas hipotimpânicas do ouvido médio das chinchilas. Camundongos de controle são inoculados com um mililitro de PBS estéril.

Tratamento

Camundongos inoculados com *S. pneumoniae* e de controle são divididos em dois grupos (n = 10 em cada grupo). Uma formulação de inibidor de calcineurina do Exemplo 2 contendo tacrolimus é aplicada às paredes da cavidade timpânica de um grupo de animais. A formulação de controle sem tacrolimus é aplicada ao segundo grupo. As formulações anti-TNF e de controle são reaplicadas três dias depois da aplicação inicial. Os animais são sacrificados após o sétimo dia de tratamento.

Análise dos resultados

Fluido do ouvido médio (MEF) é coletado 1, 2, 6, 12, 24, 48 e 72 horas após a inoculação pneumocócica. São feitas culturas quantitativas de MEF em ágar de sangue de carneiro, com o limiar de quantificação ajustado para 50 CFU/ml. As células inflamatórias são quantificadas com um hemocitômetro, e a enumeração diferencial das células realizada com a coloração de Wright.

Exemplos 94 - 95

A formulação em gel termorreversível mucoadesiva que compreende metotrexato do Exemplo 27 e a formulação em gel termorreversível que compreende amoxicilina do Exemplo 5 são avaliadas em um modelo animal de otite média usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 68.

Exemplo 96 - Experimentos clínicos de AIED usando formulações de inibidor de TACE

Dez pacientes adultos são selecionados em função da resposta inicial aos esteróides, seguida por recorrência de perda de audição quando os esteróides são interrompidos ou após o término do tratamento com esteróides. A formulação de inibidor de TACE do Exemplo 3 contendo 0,3 mg de BMS-561392 é administrada à membrana da janela redonda de cada paciente através de uma perfuração da membrana timpânica. A reaplicação das formulações de inibidor de TACE é realizada 7 dias após a aplicação inicial, e novamente em 2 e 3 semanas de tratamento.

Avaliações da audição que consistem em audiometria tonal limiar (250-8.000 Hz) e testes de fala usando listas de palavras dissilábicas em francês são administradas a cada paciente. Os testes são realizados antes da aplicação da formulação de inibidor de TACE e em 1, 2, 3 e 4 semanas pós-tratamento inicial.

Exemplo 97 - Avaliação de formulações de antagonista de VP2 em um modelo animal de hidropisia endolinfática

O procedimento seguinte é usado para determinar a eficácia da formulação em gel termorreversível de lixivaptan, como preparada no Exemplo 2.

Materiais e métodos

São usados trinta e cinco porquinhos-da-índia Hartley

com um reflexo de Preyer positivo e pesando cerca de 300 g. Cinco animais, que servem como controles (grupo com ouvido normal), são alimentados por 5 semanas sem operação ou tratamento, e os 30 restantes servem como animais experimentais. Todos os animais experimentais receberam eletro-cauterização do saco endolinfático (Lee *e cols.*, *Acta Otolaryngol.*, (1992) 112: 658-666; Takeda *e cols. Equilib. Res.*, (1993) 9: 139-143). Quatro semanas após a cirurgia, esses animais são divididos em três grupos de ouvidos hidrópicos não infundidos, ouvidos hidrópicos tratados com veículo e ouvidos hidrópicos tratados com lixivaptan, consistindo em 10 animais cada. O grupo de ouvidos hidrópicos não infusão não recebeu nenhum tratamento, exceto quanto à eletro-cauterização do saco endolinfático. Nos grupos de ouvidos hidrópicos tratados com veículo e de ouvidos hidrópicos tratados com lixivaptan, a formulação em gel termorreversível é aplicada à membrana da janela redonda. Uma semana após a administração da composição, todos os animais são sacrificados para avaliação das alterações do espaço endolinfático. Todos os animais deixados em repouso se movimentam livremente em gaiolas individuais em uma sala tranqüila por todo o período, exceto durante os procedimentos experimentais.

Para avaliar as alterações do espaço endolinfático, todos os animais são perfundidos por via transcardíaca com solução salina fisiológica sob anestesia profunda por uma injeção peritoneal de pentobarbital, e a fixação é realizada com formalina 10%. Os ossos temporais esquerdos são removidos e pós-fixados em solução de formalina 10% por

10 dias ou mais. A seguir, eles são descalcificados com ácido tricloroacético 5% por 12 dias e desidratados em uma série graduada de etanol. Eles são embebidos em parafina e celoidina. Os blocos preparados são cortados horizontalmente em cortes de 6 µm. Os cortes são corados com hematoxilina e eosina e observados sob um microscópio óptico. A avaliação quantitativa das alterações do espaço endolinfático é realizada de acordo com o método de Takeda (Takeda *e cols.*, *Hearing Res.* (2003) 182: 9-18).

Exemplo 98

A formulação em gel termorreversível de KCNQ de retigabina, como preparada no Exemplo 10, é testada em um modelo animal de hidropisia endolinfática usando um procedimento similar ao procedimento do Exemplo 72.

Exemplo 99 - Avaliação da administração de lixivaptan em pacientes de Meniere

Objetivo do estudo

O objetivo primário desse estudo será avaliar a segurança e a eficácia de Lixivaptan (100 mg) na melhora da doença de Meniere em indivíduos humanos.

Métodos

Design do estudo

Esse será um estudo de grupo paralelo de fase 3, multicêntrico, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, que compara administração de lixivaptan (100 mg) com placebo no tratamento de hidropisia endolinfática. Aproximadamente 100 indivíduos serão incluídos nesse estudo e randomizados (1:1) em 1 de 2 grupos de tratamento com base em uma seqüência de randomização preparada pelo patrocinador. Cada grupo receberá 100 mg de lixivaptan +

meclizina ou tratamento com meclizina isoladamente.

Indivíduos que não completam o estudo não serão substituídos. Todos os pacientes receberão tratamento diário com meclizina por 8 semanas. Os pacientes que recebem o fármaco do estudo (Lixivaptan 100 mg ou placebo compatível) receberão a administração de uma formulação em gel diretamente na membrana da janela redonda dos indivíduos por 8 semanas. Cada paciente receberá uma avaliação vestibular e auditiva antes de cada tratamento com meclizina e com o estudo fármaco.

Exemplo 100 - Experimentos clínicos de Vestipitant/Paroxiteno em pacientes com zumbido

Objetivo do estudo

O objetivo primário desse estudo será avaliar a segurança e a eficácia de Vestipitant/Paroxiteno comparadas com aquelas de placebo na melhora de sintomas de zumbido em pacientes afetados.

Design do estudo

Esse será um estudo de três braços de fase 3, multicêntrico, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, que compara Vestipitant/Paroxiteno com placebo no tratamento de zumbido. Aproximadamente 100 indivíduos serão incluídos nesse estudo e randomizados (1:1) para 1 de 3 grupos de tratamento com base em uma seqüência de randomização preparada pelo patrocinador. Cada grupo receberá 280 mg de Paroxiteno/350 mg de Vestipitant liberados em um gel termorreversível, ou em uma formulação de liberação controlada de placebo. A liberação de Vestipitant/Paroxiteno é uma liberação controlada e ocorre ao longo de 14 dias. A via de administração será injeção

intratimpânica.

Medida do resultado primário

Escalas visuais análogas (VAS) para medir a alteração na intensidade do zumbido como percebida no momento da medida em 2 horas após a dosagem (ou em qualquer outro ponto do tempo vs. valor basal pré-dose).

Medidas do resultado secundário

VAS para medir o tom do zumbido, sofrimento e ansiedade. Audiometria tonal limiar & avaliação psicoacústica. Questionários de sono & zumbido. Segurança, tolerabilidade e farmacocinética do fármaco [Intervalo de tempo: percebido no momento da medida em 2 horas após dosagem (ou em qualquer outro ponto do tempo vs. valor basal pré-dose)].

Critérios de inclusão

Os pacientes são incluídos caso obedeçam a qualquer um dos seguintes critérios:

- Indivíduos do sexo masculino ou feminino com um zumbido diagnosticado.
- Indivíduo com grau de severidade de THE de 3 ou 4.
- Indivíduos dispostos a restringir a ingestão de álcool.
- Mulheres em idade fértil que estão dispostas a não manterem relações sexuais ou que concordem em usar um método contraconceptivo. Mulheres fora da idade fértil.

Critérios de exclusão

Os pacientes serão excluídos caso apresentem qualquer um dos seguintes critérios:

- Indivíduo com grau de severidade de THI = 5 ou menos ou igual a 2.

- Indivíduo com nível patológico de ansiedade ou depressão.

- Indivíduo sem déficit no audiograma e com audição normal.

- Indivíduos que não respondem ao teste de infusão de lidocaína ou que exibem uma grande variabilidade nos valores pré-infusão.

- Indivíduos com qualquer distúrbio ou condição médica séria que impedisse a administração de Vestipitant ou Paroxetina.

- Existência de qualquer condição cirúrgica ou médica que possa interferir com a PK do fármaco.

- Indivíduos com deficiência hepática ou uma história de disfunção hepática.

- Indivíduos com deficiência renal.

- Indivíduos positivos para HIV, hepatite C ou hepatite B.

- Indivíduos com achados laboratoriais anormais e alterações do ECG ou do exame físico.

- Indivíduos que não são eutireóidicos.

- Indivíduos com uma história de doença hepática, cardíaca, renal, neurológica, cerebrovascular, metabólica ou pulmonar.

- Indivíduos que sofreram um infarto do miocárdio.

- Indivíduos com uma história de distúrbios convulsivos.

- Indivíduos com história de câncer.

- Indivíduos com uma história de alergia farmacológica ou outra alergia.

- Indivíduos positivos para uso de fármacos e/ou uma

história de uso abusivo ou dependência de substâncias.

- Indivíduos que utilizaram fármacos psicotrópicos ou antidepressivos em intervalos de tempo especificados.

- Medicações ou gêneros alimentícios (por exemplo, toronja ou suco de toronja) que sabidamente interferem com enzimas hepáticas.

- O indivíduo que utilizou uma medicação não psicotrópica com um mecanismo de ação serotonérgica.

- Indivíduos que recentemente usaram um fármaco em investigação ou que recentemente participaram em um experimento.

- Indivíduos que exibiram intolerância aos antagonistas de NK1 ou SSRIs.

- Mulheres com um teste de gravidez positivo.

- Indivíduos do sexo feminino que desejam engravidar ou indivíduos do sexo masculino que desejam ser pais de uma criança nas 4 semanas seguintes após a última administração do fármaco do estudo no estudo.

- Indivíduos que doaram uma unidade de sangue ou mais no mês anterior ou que têm a intenção de doar sangue em até um mês do término do estudo.

Exemplo 101 - Experimentos clínicos de neramexano em pacientes com zumbido

Objetivo do estudo

O objetivo primário desse estudo será avaliar a segurança e a eficácia de Neramexano comparadas com aquelas de placebo na melhora de sintomas de zumbido em pacientes afetados.

Design do estudo

Esse será um estudo de três braços de fase 3,

multicêntrico, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, que compara neramexano com placebo no tratamento de zumbido. Aproximadamente 250 indivíduos serão incluídos nesse estudo e randomizados (1:1) para 1 de 3 grupos de tratamento com base em uma seqüência de randomização preparada pelo patrocinador. Cada grupo receberá 300 mg de neramexano liberados em um gel termorreversível, ou em uma formulação de liberação controlada de placebo. A liberação de Neramexano é liberação controlada e ocorre ao longo de 14 dias. A via de administração será injeção intratimpânica.

Medida do resultado primário

Escalas visuais análogas (VAS) para medir a alteração na intensidade do zumbido como percebida no momento da medida em 2 horas após dosagem (ou em qualquer outro ponto do tempo vs. valor basal pré-dose).

Medidas do resultado secundário

VAS para medir o tom do zumbido, sofrimento e ansiedade. Audiometria tonal limiar & avaliação psicoacústica. Questionários de sono & zumbido. Segurança, tolerabilidade e farmacocinética do fármaco [Intervalo de tempo: percebido no momento da medida em 2 horas após dosagem (ou em qualquer outro ponto do tempo vs. valor basal pré-dose)].

Critérios de inclusão

Os pacientes são incluídos caso obedeçam a qualquer um dos seguintes critérios:

- Indivíduos do sexo masculino ou feminino com um zumbido persistente, subjetivo, uni- ou bilateral.
- Indivíduos dispostos a restringir a ingestão de

álcool.

- Mulheres em idade fértil que estão dispostas a não manterem relações sexuais ou que concordem em usar um método contraconceptivo.

- Mulheres fora da idade fértil.

Critérios de exclusão

Os pacientes são excluídos caso apresentem qualquer um dos seguintes critérios:

- Zumbido intermitente ou pulsátil.

- Indivíduo com nível patológico de ansiedade ou depressão.

- Indivíduo sem déficit no audiograma e com audição normal.

- Indivíduos que não respondem ao teste de infusão de lidocaína ou que exibem uma grande variabilidade nos valores pré-infusão.

- Existência de qualquer condição cirúrgica ou médica que possa interferir com a PK do fármaco.

- Indivíduos com deficiência hepática ou uma história de disfunção hepática.

- Indivíduos com deficiência renal.

- Indivíduos positivos para HIV, hepatite C ou hepatite B.

- Indivíduos com achados laboratoriais anormais e alterações do ECG ou do exame físico.

- Indivíduos que não são eutireóidicos.

- Indivíduos com uma história de doença hepática, cardíaca, renal, neurológica, cerebrovascular, metabólica ou pulmonar.

- Indivíduos que sofreram um infarto do miocárdio.

- Indivíduos com uma história de distúrbios convulsivos.

- Indivíduos com história de câncer.

- Indivíduos com uma história de alergia farmacológica ou outra alergia.

- Indivíduos positivos para uso de fármacos e/ou uma história de uso abusivo ou dependência de substâncias.

- Indivíduos que utilizaram fármacos psicotrópicos ou antidepressivos dentro de intervalos de tempo especificados.

- Medicações ou gêneros alimentícios (por exemplo, toronja ou suco de toronja) que sabidamente interferem com enzimas hepáticas.

- Indivíduos que recentemente usaram um fármaco em investigação ou que recentemente participaram em um experimento.

- Mulheres com um teste de gravidez positivo.

- Indivíduos do sexo feminino que desejam engravidar ou indivíduos do sexo masculino que desejam ser pais de uma criança nas 4 semanas seguintes após a última administração do fármaco do estudo no estudo.

- Indivíduos que doaram uma unidade de sangue ou mais no mês anterior ou que têm a intenção de doar sangue em até um mês do término do estudo.

Exemplo 102 - Experimentos clínicos de AL-15469A/AL-38905 em pacientes com otite externa aguda

Objetivo do estudo

O objetivo primário desse estudo será avaliar a segurança e a eficácia de AL-15469A/AL-38905 comparadas com aquelas de placebo na melhora dos sintomas de otite externa

aguda em pacientes afetados.

Design do estudo

Esse será um estudo de três braços, de fase 3, multicêntrico, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, que compara AL-15469A/AL-38905 (100 mg e 200 mg) com placebo no tratamento de zumbido. Aproximadamente 1.500 indivíduos serão incluídos nesse estudo e randomizados (1:1) para 1 de 3 grupos de tratamento com base em uma seqüência de randomização preparada pelo patrocinador. Cada grupo receberá 100 mg de uma formulação de liberação controlada de AL-15469A/AL-38905, 200 mg de uma formulação de liberação controlada de AL-15469A/AL-38905 ou de uma formulação de liberação controlada de placebo.

Medidas do resultado primário:

Cura clínica [Intervalo de tempo: Dia 3 e Dia 12]

Medidas do resultado secundário:

Sucesso microbiológico [Intervalo de tempo: Dia 12]

Critérios de inclusão:

Os pacientes devem ter pelo menos 6 meses de idade ou mais. Além disso, pacientes devem ter um diagnóstico clínico de AOE com base na observação clínica e de origem bacteriana presumida. Adicionalmente, os pacientes devem demonstrar uma pontuação combinada mínima ≥ 4 em pelo menos 1 ouvido afetado no exame do Dia 1 para sensibilidade, eritema e edema.

Critérios de exclusão:

Os pacientes serão excluídos caso apresentem qualquer um dos seguintes critérios:

- Duração de sinais ou sintomas de AOE pré-terapia acima de quatro (4) semanas.

- Presença de um tubo de timpanostomia ou membrana timpânica perfurada no(s) ouvido(s) tratado(s).

- Pacientes com uma história de perfuração da membrana timpânica não devem ser incluídos, a menos que a ausência de uma perfuração atual seja confirmada na 1ª Visita antes da inclusão.

- Otite média crônica supurativa clinicamente diagnosticada, otite média aguda, otorréia aguda em pacientes com tubos de timpanostomia, ou otite externa maligna.

- Infecção auricular comprovada ou suspeita de origem fúngica ou micobacteriana

- Cirurgia otológica prévia em até 6 meses da entrada no estudo. Dermatite seborréica ou outras condições cutâneas do canal auditivo externo.

- História atual ou prévia de um distúrbio imunossupressor (por exemplo, HIV-positivo) ou terapia imunossupressora atual (por exemplo, quimioterapia do câncer) ou distúrbios renais agudos ou crônicos conhecidos ou hepatite ativa.

- Pacientes diabéticos (controlados ou não controlados) com base na avaliação pelo Investigador.

- Qualquer doença ou distúrbio sistêmico, fator complicador ou anormalidade estrutural que afetasse negativamente a realização ou o resultado do estudo [por exemplo, fenda palatina (incluindo reparos), síndrome de Down e reconstrução craniofacial].

- Qualquer infecção atual comprovada ou suspeita (além de AOE) que necessite de terapia antimicrobiana sistêmica.

- Uso de medicações proibidas ou período de suspensão

inadequado de qualquer medicação listada no protocolo.

- Uso concomitante de analgésicos tópicos ou orais (ou seja, NSAIDs e produtos com aspirina) que possam ter efeitos antiinflamatórios. Pacientes em terapia com aspirina em baixa dose (81 mg por dia) no momento da inclusão são incluídos e continuam a aspirina em baixa dose durante o estudo. O uso de acetaminofeno (Tylenol) é permitido durante o experimento.

Exemplo 103 - Experimentos clínicos de JB004/A em pacientes com doença de Meniere

Objetivo do estudo

O objetivo primário desse estudo será avaliar a segurança e a eficácia de JB004/A comparadas com aquelas de placebo na melhora de sintomas de zumbido em pacientes com doença de Meniere.

Design do estudo

Esse será um estudo de três braços, de fase 3, multicêntrico, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, que compara JB004/A com placebo no tratamento de zumbido. Aproximadamente 250 indivíduos serão incluídos nesse estudo e randomizados (1:1) para 1 de 3 grupos de tratamento com base em uma seqüência de randomização preparada pelo patrocinador. Cada grupo receberá 300 mg de JB004/A liberados em um gel termorreversível, ou em uma formulação de liberação controlada de placebo. A liberação de JB004/A é liberação controlada e ocorre ao longo de 30 dias. A via de administração será injeção intratimpânica.

Medida do resultado primário

Escalas visuais análogas (VAS) para medir a alteração na intensidade do zumbido como percebida no momento da

medida em 2 horas após dosagem (ou em qualquer outro ponto do tempo vs. valor basal pré-dose). Alternativamente, a audiometria é usada no ouvido saudável para combinar o tom do zumbido no ouvido afetado.

Medidas do resultado secundário

VAS para medir o tom do zumbido, sofrimento e ansiedade. Audiometria tonal limiar & avaliação psicoacústica. Questionários de sono & zumbido. Segurança, tolerabilidade e farmacocinética do fármaco. Intervalo de tempo: percebido no momento da medida em 2 horas após dosagem (ou em qualquer outro ponto do tempo vs. valores basais pré-dose).

Critérios de inclusão

Os pacientes são incluídos caso obedeçam a qualquer um dos seguintes critérios:

- Indivíduos do sexo masculino ou feminino diagnosticados com um zumbido.

- Indivíduos dispostos a restringir a ingestão de álcool.

- Mulheres em idade fértil que estão dispostas a não manterem relações sexuais ou que concordem em usar um método contraconceptivo. Mulheres fora da idade fértil.

Critérios de exclusão

Os pacientes são excluídos caso apresentem qualquer um dos seguintes critérios:

- Zumbido intermitente ou pulsátil.

- Indivíduo com nível patológico de ansiedade ou depressão.

- Indivíduo sem déficit no audiograma e com audição normal.

- Indivíduos que não respondem ao teste de infusão de lidocaína ou que exibem uma grande variabilidade nos valores pré-infusão.

- Existência de qualquer condição cirúrgica ou médica que possa interferir com a PK do fármaco.

- Indivíduos com deficiência hepática ou uma história de disfunção hepática.

- Indivíduos com deficiência renal.

- Indivíduos positivos para HIV, hepatite C ou hepatite B.

- Indivíduos com achados laboratoriais anormais e alterações do ECG ou do exame físico.

- Indivíduos que não são eutireóidicos.

* Indivíduos com uma história de doença hepática, cardíaca, renal, neurológica, cerebrovascular, metabólica ou pulmonar.

- Indivíduos que sofreram um infarto do miocárdio.

- Indivíduos com uma história de distúrbios convulsivos.

- Indivíduos com história de câncer.

- Indivíduos com uma história de alergia farmacológica ou outra alergia.

- Indivíduos positivos para uso de fármacos e/ou uma história de uso abusivo ou dependência de substâncias.

- Indivíduos que utilizaram fármacos psicotrópicos ou antidepressivos em intervalos de tempo especificados.

- Medicações ou gêneros alimentícios (por exemplo, toronja ou suco de toronja) que sabidamente interferem com enzimas hepáticas.

- Indivíduos que recentemente usaram um fármaco em

investigação ou que recentemente participaram em um experimento.

- Mulheres com um teste de gravidez positivo.

- Indivíduos do sexo feminino que desejam engravidar ou indivíduos do sexo masculino que desejam ser pais de uma criança nas 4 semanas seguintes após a última administração do fármaco do estudo no estudo.

- Indivíduos que doaram uma unidade de sangue ou mais no mês anterior ou que têm a intenção de doar sangue em até um mês após o término do estudo.

Exemplo 104 - Avaliação do ácido alfa-lipóico em um modelo em camundongo-DBA de deficiência auditiva relacionada ao surgimento em baixa idade

Camundongos DBA recebem a administração de uma formulação de ácido alfa-lipóico do Exemplo 3 diretamente na membrana da janela redonda, começando 2, 4 ou 8 semanas após o nascimento. O limiar de audição para o limiar de resposta auditiva do tronco cerebral (ABR) aos estímulos de clique para cada ouvido de cada animal é inicialmente medido e semanalmente durante e depois do procedimento experimental. Os animais são colocados em uma câmara acústica de parede única (Industrial Acoustics Co, Bronx, NY, EUA) em uma almofada de aquecimento. Eletrodos subdérmicos (Astro-Med, Inc. Grass Instrument Division, West Warwick, RI, EUA) foram inseridos no vértice (eletrodo ativo), na mastóide (referência) e na pata traseira (terra). Estímulos de clique (0,1 milissegundo) são gerados por computador e liberados a um alto-falante de 200 Ohm Beyer DT 48 adaptado com um espéculo auricular para colocação no meato auditivo externo. A ABR registrada é

amplificada e digitalizada por um pré-amplificador operado por bateria e inserida em um sistema de registro de ABR Tucker-Davis Technologies que fornece controle computacional do estímulo, registro e média de funções (Tucker Davis Technology, Gainesville, FL, EUA). Diminuindo-se sucessivamente a amplitude, os estímulos são apresentados em etapas de 5-dB ao animal, e é calculada e exibida a média do estímulo-atividade bloqueada registrado (n = 512). O limiar é definido como o nível de estímulo entre o registro sem resposta visivelmente detectável e uma resposta nitidamente identificável.

Exemplo 105 - Avaliação de diazepam em um modelo animal de hidropisia endolinfática

Materiais e métodos

Indução de hidropisia endolinfática

Fêmeas albinas de camundongos Swiss do "National Institutes of Health" (Harlan Sprague-Dawley, Inc., Indianapolis, Inc.) pesando 20 a 24 g são usadas. Endolinfa artificial é injetada no ducto coclear.

Tratamento

Os camundongos endolinfáticos e camundongos de controle são distribuídos em dois grupos (n = 10 em cada grupo). A formulação de modulação do SNC do Exemplo 5 contendo diazepam é aplicada à membrana da janela redonda de um grupo de animais. A formulação de controle sem diazepam é aplicada ao segundo grupo. As formulações de modulação do SNC e de controle são reaplicadas três dias após a aplicação inicial. Os animais são sacrificados após o sétimo dia de tratamento.

Análise dos resultados

Testes eletrofisiológicos

O limiar de audição para o limiar de resposta auditiva do tronco cerebral (ABR) aos estímulos de clique para cada ouvido de cada animal é inicialmente medido e 1 semana após o procedimento experimental. Os animais são colocados em uma câmara acústica de parede única (Industrial Acoustics Co, Bronx, NY, EUA) em uma almofada de aquecimento. Eletrodos subdérmicos (Astro-Med, Inc. Grass Instrument Division, West Warwick, RI, EUA) foram inseridos no vértice (eletrodo ativo), na mastóide (referência) e na pata traseira (terra). Estímulos de clique (0,1 milissegundo) são gerados por computador e liberados a um alto-falante de 200 Ohm Beyer DT 48 adaptado com um espéculo auricular para colocação no meato auditivo externo. A ABR registrada é amplificada e digitalizada por um pré-amplificador operado por bateria e inserida em um sistema de registro de ABR Tucker Davis Technologies que fornece controle computacional do estímulo, registro e média de funções (Tucker Davis Technology, Gainesville, FL, EUA). Diminuindo-se sucessivamente a amplitude, os estímulos são apresentados em etapas de 5-dB ao animal, e é calculada e exibida a média do estímulo-atividade bloqueada registrado (n = 512). O limiar é definido como o nível de estímulo entre o registro sem resposta visivelmente detectável e uma resposta nitidamente identificável.

Exemplo 106 - Experimento clínico de Diazepam como um tratamento para zumbido

Ingrediente ativo: Diazepam

Dosagem: 10 ng liberados em 10 µl de um gel termorreversível. A liberação de diazepam é liberação

controlada e ocorre ao longo de trinta (30) dias.

Via de administração: Injeção intratimpânica

Duração do tratamento: 12 semanas

Metodologia

- Monocêntrico
- Prospectivo.
- Randomizado
- Duplo-cego
- Controlado por placebo
- Grupo paralelo
- Adaptivo

Critérios de inclusão

- Indivíduos do sexo masculino e feminino entre 18 e 64 anos de idade.
- Indivíduos que apresentam zumbido subjetivo.
- Duração do zumbido maior do que 3 meses.
- Sem tratamento de zumbido nas últimas 4 semanas.

Critérios de avaliação

- Eficácia (Primária): pontuação total do Questionário de Zumbido
- Eficácia (Secundária): Medidas audiométricas (modo, freqüência, intensidade do zumbido, audiograma tonal limiar, audiograma da fala); Questionário de Qualidade de Vida.

Segurança

Os grupos de tratamento foram comparados com relação às taxas de incidência de término prematuro, eventos adversos decorrentes do tratamento, anormalidades laboratoriais e anormalidades do ECG.

Design do estudo

Os indivíduos são divididos em três grupos de tratamento. O primeiro grupo é a amostra de segurança. O segundo grupo é a amostra *intent-to-treat* (ITT). O terceiro grupo é o grupo válido para eficácia (VfE).

Para cada grupo, metade dos indivíduos receberá diazepam e os restantes receberão placebo.

Métodos estatísticos

A análise da eficácia primária se baseia na pontuação total do Questionário de Zumbido na amostra ITT. A análise estatística se baseia em uma análise de covariância (ANCOVA) com a linha de base como covariante e o valor da última observação realizada como variável dependente. O fator é o "tratamento". A homogeneidade das inclinações de regressão é testada. A análise é repetida para a amostra VfE.

Medidas audiométricas (modo, freqüência, intensidade do zumbido, audiograma tonal limiar, audiograma da fala), bem como qualidade de vida, também são analisadas por meio do modelo mencionado anteriormente. A adequação do modelo não é testada. Os valores P são exploratórios e não são ajustados para multiplicidade.

Exemplo 107 - Avaliação de formulações de agente citotóxico em um modelo animal de câncer do ouvido

Formulações de agente citotóxico são testadas em um modelo animal de câncer do ouvido, descrito em Arbeit, J. M., *e cols. Cancer Res.* (1999), 59: 3.610-3.620. Uma coorte de camundongos transgênicos K14-HPV16 é dividida em grupos de camundongos de controle/não tratados e de teste/tratados para comparação do efeito da administração da formulação de agente citotóxico sobre o desenvolvimento de câncer do

ouvido. A formulação do agente citotóxico metotrexato do Exemplo 4 é administrada ao ouvido do grupo de camundongos de teste começando em 4 semanas de idade. O efeito quimio-preventivo da formulação de agente citotóxico é avaliado sacrificando-se camundongos tratados com 8, 16 e 32 semanas de idade, e comparando-se o número de lesões e marcadores histopatológicos e fenotípicos (papilomatose, infiltração dérmica de células inflamatórias, paraceratose cônica, etc.) nos vários estágios de progressão neoplásica com camundongos de controle da mesma idade. O efeito de formulações de agente citotóxico sobre a progressão de neoplasia estabelecida em estágio tardio é avaliado por administração da formulação de agente citotóxico do Exemplo 4 aos camundongos transgênicos K14-HPV16 começando com 28 semanas de idade. Os camundongos são sacrificados com 32 semanas de idade, e o efeito da formulação de agente citotóxico é avaliado comparando-se o número de lesões e marcadores histopatológicos e fenotípicos com camundongos de controle da mesma idade.

Exemplo 108 - Experimentos clínicos de AIED com o uso de formulações de agente citotóxico

Dez pacientes adultos são selecionados em função da resposta inicial aos esteróides, seguida por recorrência da perda de audição quando os esteróides são interrompidos ou após o término do tratamento com esteróides. A formulação de agente citotóxico do Exemplo 4 contendo metotrexato é administrada na membrana da janela redonda de cada paciente através de uma perfuração da membrana timpânica. A reaplicação das formulações de agente citotóxico é realizada 7 dias após a aplicação inicial, e novamente em 2

e 3 semanas de tratamento.

Avaliações auditivas que consistem em audiometria tonal limiar (250-8.000 Hz) e testes de fala usando listas de palavras dissilábicas em francês são administrados a cada paciente. Os testes são realizados tanto antes da aplicação da formulação de agente citotóxico quanto em 1, 2, 3 e 4 semanas pós-tratamento inicial.

Exemplo 109 - Avaliação de N-acetilcisteína (NAC) em um modelo em camundongo de ototoxicidade induzida por cisplatina

Materiais e métodos

Indução de ototoxicidade

Doze camundongos Harlan Sprague-Dawley pesando 20 a 24 g são usados. A resposta auditiva do tronco cerebral (ABR) a 4-20 mHz de base é medida. Os camundongos são tratados com cisplatina (6 mg/kg de peso corporal). A cisplatina é liberada à aorta por infusão IV.

Tratamento

O grupo de controle (n = 10) recebe a administração de solução salina após a administração da cisplatina. O grupo experimental (n = 10) recebe a administração de NAC (400 mg/kg de peso corporal) após a administração da cisplatina.

Análise dos resultados

Testes eletrofisiológicos

O limiar de audição para o limiar de resposta auditiva do tronco cerebral (ABR) aos estímulos de clique para cada ouvido de cada animal é inicialmente medido e 1 semana após o procedimento experimental. Os animais são colocados em uma câmara acústica de parede única (Industrial Acoustics Co, Bronx, NY, EUA) em uma almofada de aquecimento.

Eletrodos subdérmicos (Astro-Med, Inc. Grass Instrument Division, West Warwick, RI USA) são inseridos no vértice (eletrodo ativo), na mastóide (referência) e na pata traseira (terra). Estímulos de clique (0,1 milissegundo) são gerados por computador e liberados a um alto-falante de 200 Ohm Beyer DT 48 adaptado com um espéculo auricular para colocação no meato auditivo externo. A ABR registrada é amplificada e digitalizada por um pré-amplificador operado por bateria e inserida em sistema de registro de ABR Tucker-Davis Technologies que fornece controle computacional do estímulo, registro e média de funções (Tucker Davis Technology, Gainesville, FL, EUA). Diminuindo-se sucessivamente a amplitude, os estímulos são apresentados em etapas de 5-dB ao animal, e é calculada e exibida a média do estímulo-atividade bloqueada registrado (n = 512). O limiar é definido como o nível de estímulo entre o registro sem resposta visivelmente detectável e uma resposta nitidamente identificável.

Exemplo 110

L(+)-Ergotioneína foi testada em um modelo em camundongo de ototoxicidade induzida por cisplatina usando um procedimento similar ao procedimento no Exemplo 84.

Exemplo 111 - Avaliação de AMN082 na ototoxicidade induzida por cisplatina

Objetivo do estudo

O objetivo primário desse estudo será avaliar a segurança e a eficácia de AMN082 (100 mg) comparadas com aquelas de placebo na prevenção de ototoxicidade induzida por cisplatina.

Métodos

Design do estudo

Esse será um estudo de grupo paralelo de fase 3, multicêntrico, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, que compara AMN082 (100 mg) com placebo no tratamento de ototoxicidade induzida por cisplatina. Aproximadamente 140 indivíduos serão incluídos nesse estudo e randomizados (1:1) para 1 de 2 grupos de tratamento com base em uma seqüência de randomização preparada pelo patrocinador. Cada grupo receberá 100 mg de AMN082 ou placebo.

Os indivíduos que não completam o estudo não serão substituídos. Os pacientes receberão quimioterapia semanalmente (cisplatina em uma dose de 70 mg/m^2 por 7 semanas e radiação diariamente). Após a quimioterapia, os pacientes receberão o fármaco do estudo (500 mg de AMN082 ou placebo compatível) administrado como uma formulação em gel diretamente na membrana da janela redonda dos indivíduos por 8 semanas.

Cada paciente será submetido a uma avaliação auditiva antes de cada tratamento com cisplatina. Duas a quatro semanas após a dose final de cisplatina, cada paciente será submetido a uma avaliação auditiva. O audiograma pré-tratamento será comparado com o audiograma pós-tratamento para determinar o grau de ototoxicidade induzida por cisplatina. A seguir, os pacientes serão submetidos a uma avaliação auditiva em intervalos de 4 semanas concomitante com o tratamento com AMN082.

Critérios principais para inclusão

Pacientes ambulatoriais do sexo masculino ou feminino com idades entre 18 e 75 anos que recebem quimioterapia com

cisplatina. Espera-se que os pacientes recebam um mínimo de 3 rodadas de quimioterapia. Se uma mulher fica grávida durante o estudo, ela será imediatamente retirada e nenhuma medicação de estudo será administrada.

Critérios de exclusão

Pacientes que foram submetidos a cirurgia do ouvido médio. Pacientes que possuem doença ativa do ouvido externo ou do ouvido médio. Pacientes que tinham um audiograma tonal limiar com média > 40 dB HL.

Exemplo 112 - Avaliação de formulações de agente antimicrobiano em um modelo animal de otite externa

A otite externa é induzida em 20 ratos Sprague-Dawley usando uma pipeta plástica para agredir o tecido do canal auditivo. Todos os ratos desenvolvem OE em até um dia. A formulação antimicrobiana do Exemplo 17 contendo neomicina é administrada aos ouvidos de metade dos ratos usando uma agulha e seringa, enquanto os ratos restantes recebem a mesma formulação sem a neomicina. O tecido do canal auditivo é observado quanto à vermelhidão e edema que caracterizam a condição. Microscopia óptica é usada para analisar amostras de biópsias dos ratos.

Exemplo 113 - Experimento clínico de formulações de agente antimicrobiano para o tratamento de otossífilis

Os pacientes selecionados para o estudo apresentam sintomas de disfunção cocleovestibular e sorologia para sífilis positiva. Os pacientes são divididos em dois grupos, um grupo de teste que recebe administração intratimpânica da formulação do Exemplo 57 em conjunto com uma injeção intramuscular (IM) de 2,4 milhões de unidades de penicilina G benzatina (o tratamento recomendado para

sífilis), e um grupo de controle que recebe apenas o veículo e microesferas da formulação auricular do Exemplo 57 em conjunto com uma injeção IM de 2,4 milhões de unidades de penicilina G benzatina. Os pacientes são monitorados quanto à melhora da audição, zumbido, vertigem, e nistagmo após a administração dos agentes ativos. O resultado primário do experimento é a melhora da função cocleovestibular na visita do 6° mês pós-tratamento. O resultado para pacientes que recebem a formulação do Exemplo 6 e a terapia recomendada é comparado com o resultado para pacientes que recebem apenas o veículo para a formulação auricular e a terapia recomendada a fim de determinar a eficácia da liberação localizada de uma formulação de agente antimicrobiano para o tratamento de sintomas otológicos de sífilis.

Exemplo 114 - Experimentos clínicos do modulador de KCNQ em pacientes com vertigem

Objetivo do estudo

O objetivo primário desse estudo será avaliar a segurança e a eficácia de retigabina comparadas com aquelas de placebo na melhora de sintomas de vertigem em pacientes afetados.

Métodos

Design do estudo

Esse será um estudo de três braços de fase 3, multicêntrico, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, que compara retigabina (100 mg e 200 mg) com placebo no tratamento de sintomas de vertigem. Aproximadamente 150 indivíduos serão incluídos nesse estudo e randomizados (1:1) para 1 de 3 grupos de tratamento com

base em uma seqüência de randomização preparada pelo patrocinador. Cada grupo receberá 200 mg de retigabina de liberação controlada, 400 mg de retigabina de liberação controlada ou formulação de liberação controlada de placebo.

Após uma fase de base de 1 semana, os pacientes de cada grupo serão randomizados para período de tratamento duplo de 16 semanas (tratamento de 8 semanas seguido por um período de manutenção de 8 semanas). A eficácia primária será medida como uma alteração percentual na freqüência e intensidade dos sintomas de vertigem, incluindo vertigem, perda do equilíbrio e incidência de nistagmo após tratamento, quando comparadas com as medidas basais.

Embora tenham sido aqui mostradas e descritas modalidades da presente invenção, essas modalidades são fornecidas apenas como exemplos. Várias alternativas às modalidades aqui descritas são opcionalmente empregadas na prática da invenção. Deseja-se que as reivindicações seguintes definam o escopo da invenção e que os métodos e as estruturas dentro do escopo dessas reivindicações e seus equivalentes sejam por elas englobados.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica para uso no tratamento de uma doença ou condição auricular, por administração intratimpânica na membrana da janela redonda do ouvido ou próximo a ela, composição caracterizada pelo fato de que compreende:

um copolímero de polioxietileno and polioxipropileno;

um agente ativo; e

em que a composição fornece liberação sustentada do agente ativo no ouvido interno por um período de pelo menos 7 dias.

2. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente ativo é um imunomodulador, um antagonista de vasopressina, um modulador de canal de íon, um antagonista de receptor de neuroquinina, inibidor de recaptação de serotonina, um modulator de receptor de NMDA, um análogo de prostaglandina, um agente do sistema nervoso central, um modulator de receptor de GABA, um agente citotóxico, um antioxidante, um modulator de receptor de glutamato, ou um inibidor de calcineurina.

3. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente ativo é um agente do sistema nervoso central.

4. Composição, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o agente do sistema nervoso central é diazepam.

5. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente ativo é um modulador de canal de íon.

6. Composição, de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o modulador de canal de íon é retigabina.

7. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente ativo é um modulador de receptor de glutamato.

8. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição farmacêutica é um gel auricular aceitável termo-reversível.

9. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o copolímero de polioxietileno e polioxipropileno é Poloxamer 407.

10. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição é um líquido que é adequado para administração por uma agulha ou cânula de calibre estreito.

11. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10, caracterizada por também compreender um intensificador de penetração.

12. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10, caracterizada pelo fato de que o agente ativo está na forma de uma base livre, um sal, um pró-fármaco, ou uma combinação desses.

13. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10, caracterizada pelo fato de que o agente ativo compreende multiparticulados.

14. Composição, de acordo com a reivindicação 13,

caracterizada pelo fato de que o agente ativo está essencialmente na forma de partículas micronizadas.

15. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a doença ou condição auricular é doença de Menière, perda auditiva sensorineural repentina, perda auditiva induzida por barulho, perda auditiva relacionada à idade, doença autoimune do ouvido, vertigem ou zumbido.

FIGURA 1

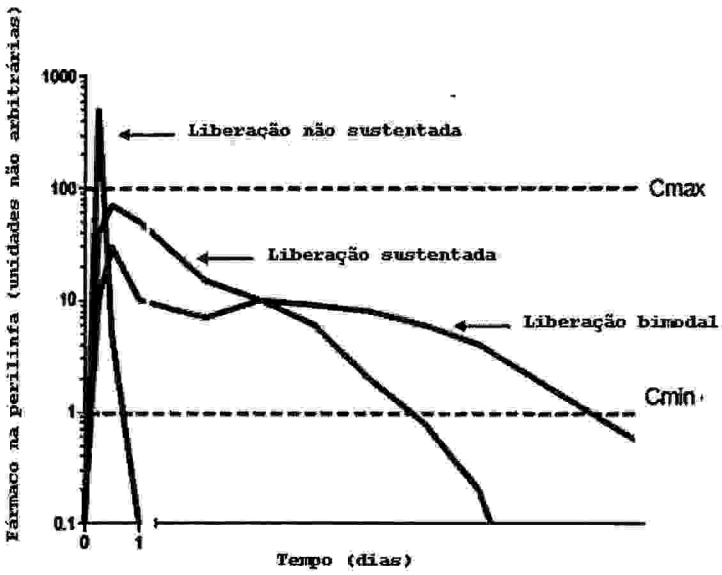

Fármaco na perilinfa (unidades não arbitrárias)
1000
100
10
1
0.1
0
1
Liberação não sustentada
Cmax
Liberação sustentada
Liberação bimodal
Cmin
Tempo (dias)

FIGURA 2

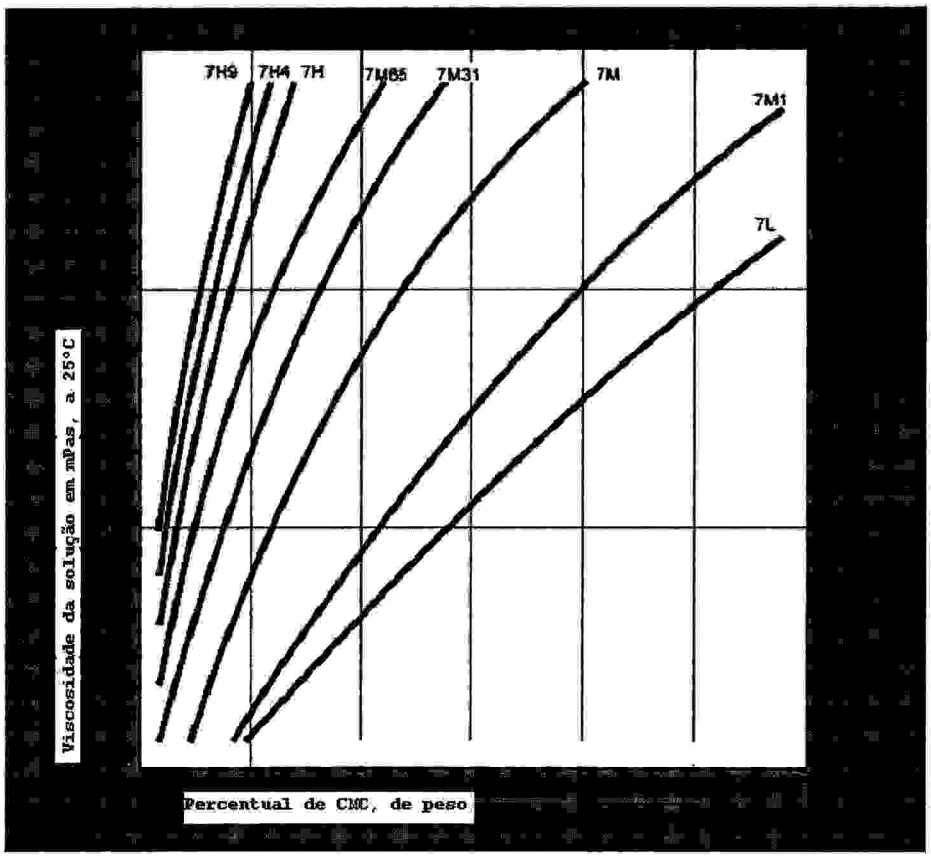
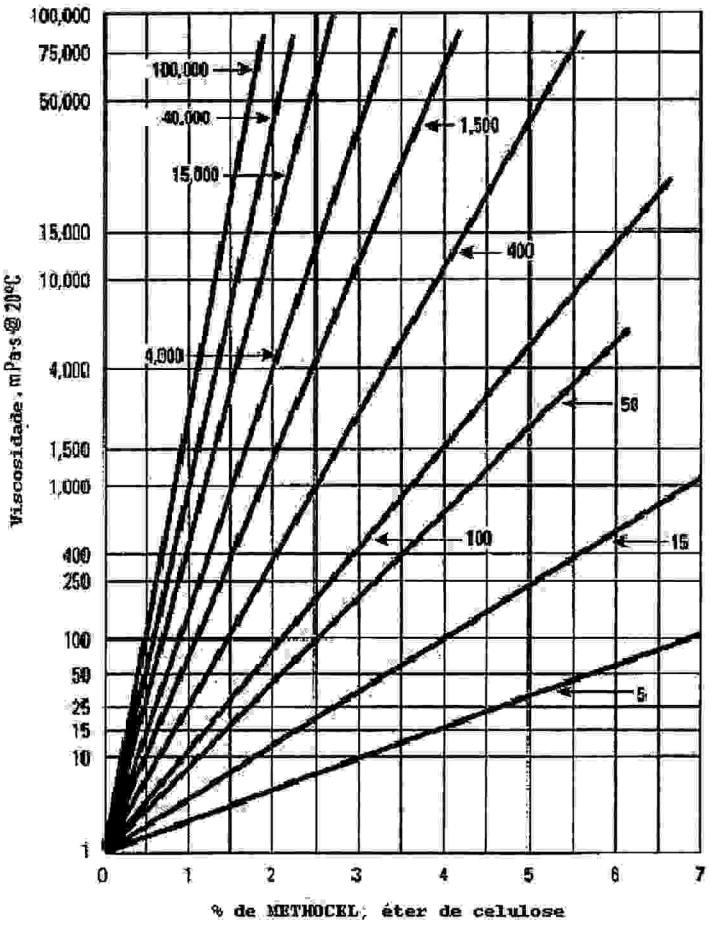

7H9
7H4
7H
7M65
7M31
7M
7M1
7L
Viscosidade da solução em mPas, a 25°C
Percentual de CMC, de peso

FIGURA 3


100,000
75,000
50,000
15,000
10,000
4,000
1,500
1,000
400
250
100
50
25
15
10
1
Viscosidade, mPa·s @ 20°C
100,000
40,000
15,000
4,000
1,500
400
100
15
5
0
1
2
3
4
5
6
7
% de METHOCEL, éter de celulose

RESUMO

FORMULAÇÕES AURICULARES PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS E CONDIÇÕES DO OUVIDO

São aqui reveladas composições e métodos para o tratamento de distúrbios auriculares com agente imunomoduladores e moduladores da pressão auricular. Nesses métodos, as composições e formulações auriculares são administradas de forma local a um indivíduo que sofre de um distúrbio auricular, através da aplicação direta das composições e formulações imunomoduladoras e/ou moduladoras da pressão auricular no ouvido médio e/ou áreas do ouvido interno, ou por meio de perfusão no ouvido médio e/ou estruturas do ouvido interno.