



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **329643**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

A61K 31/427 (2006.01)

A61K 31/397 (2006.01)

A61K 9/12 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20032946	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2001.12.20 PCT/US2001/50062
(22)	Inng.dag	2003.06.26	(85)	Videreføringsdag	2003.06.26
(24)	Løpedag	2001.12.20	(30)	Prioritet	2000.12.27, US, 258423
(41)	Alm.tilgj	2003.08.26			
(45)	Meddelt	2010.11.22			
(73)	Innehaver	Gilead Sciences Inc, 333 Lakeside Drive, US-CA94404 FOSTER CITY, USA			
(72)	Oppfinner	Alan Bruce Montgomery, 3455 Evergreen Point Road, US-WA98039 MEDINA, USA			
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Aztreonamblanding og anvendelse derav
(56)	Anførte publikasjoner	Dapena J. F. et al. Inhaled aztreonam therapy with cystic fibrosis colonized with Pseudomonas aeruginosa, Anales Espanoles De Pediatria 1994, vol.40, no.3, side 185-188, ISSN 0302-4342, US 6054431 A
(57)	Sammendrag	

Det beskrives en fremgangsmåte og en blanding for behandling av pulmonale bakterieinfeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier, og som er egnet for behandling av infeksjoner forårsaket av *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*-arter, *Serratia marcescens*, så vel som de som forårsakes av *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikamentresistent *Pseudomonas aeruginosa*, ved å benytte en konsentrert formulering av aztreonam, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, avlevert som en aerosol- eller tørrpulverformulering.

Foreliggende oppfinnelse vedrører aztreonamblanding og anvendelse derav.

Oppfinnellesområde

Foreliggende oppfinnelse vedrører en ny, trygg, ikke irriterende og

5 fysiologisk forlikelig inhalerbar aztreonamblanding egnet for behandling av pulmonale bakterieinfeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier, som f.eks. *Escherichia coli*, *Enterobacteria* -arter, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes*

10 *xylosoxidans*. Særlig vedrører oppfinnelsen den inhalerbare blanding som omfatter aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, egnet for behandling og forebyggelse av akutte og kroniske pulmonale bakterielle infeksjoner, særlig de som forårsakes av gramnegative bakterier som *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og

15 multimedikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa* som er resistente overfor behandling med andre antibiotika. Den inhalerbare blanding avleveres som en aerosol eller som et inhalerbart tørt pulver. For aerosoldannelse løses ca. 1 til ca. 250 mg aztreonam i ca. 1 til ca. 5 mL saltvann eller annen vandig løsning som har en pH mellom 4,5 og 7,5, avleveres til lungenes endobronkiale rom i en

20 aerosol som har partikler med en median aerodynamic diameter hovedsakelig mellom 1 og 5 μ , ved å benytte en nebulisator som kan forstøve aztreonamløsningen til partikler av de størrelser som fordres. Aerosolformuleringen har et lite volum, men avleverer en terapeutisk effektiv dose av aztreonam til infeksjonssetet i tilstrekkelige mengder til å behandle bakterielle

25 pulmonale infeksjoner. En kombinasjon av den nye blanding med atomiseringsnebulisatoren muliggjør ca. 50% avlevering av den administrerte dose aztreonam til luftveiene. For avlevering av tørt inhalerbart pulver males eller forstøvningstørkes aztreonam til partikkelstørrelser på mellom ca. 1 og 5 μ . Tørrpulverformuleringen eller et rekonstituert aztreonam-faststoff for

30 aerosoldannelse har lang holdbarhet og lagringsstabilitet.

Bakgrunn og beslektede beskrivelser

Et stort utvalg gramnegative bakterier forårsaker alvorlige pulmonale infeksjoner. Mange av disse bakteriene er eller blir resistente overfor vanlig benyttede eller spesielle antibiotika og fordrer behandling med nye typer antibiotika. De pulmonale infeksjonene som forårsakes av gramnegative bakterier er særlig farlige for pasienter som har nedsatte immunbeskyttende responser, som for eksempel cystisk fibrose- og HIV-pasienter, pasienter med bronkiektasi eller de på kunstig ventilasjon.

De bakterielle respiratoriske infeksjonene som forårsakes av organismer som er resistente overfor antibiotika, fortsetter derfor å være et betydelig problem, særlig hos immunkompromitterte eller sykehusinnlagte pasienter, så vel som hos pasienter på kunstig ventilasjon, som beskrevet i **Principles and Practice of Infectious Diseases**, Red. Mandel, G.L., Bennett, J.E. & Dolin, R., Churchill Livingstone Inc., New York, NY (1995).

Dagens aksepterte terapi for alvorlige bakterielle luftveisinfeksjoner, særlig for behandling av lungebetennelse hos pasienter med underliggende sykdommer, innbefatter behandling med forskjellige intravenøse antibakterielle midler, ofte benyttet i to- eller treveis kombinasjon. De fleste av disse midlene er uegnede, ikke tilgjengelige eller ikke godkjent av FDA for peroral eller aerosoldosering. I enkelte tilfeller fordrer den effektive systemiske intravenøse eller perorale dose, dersom peroral avlevering er mulig, doser som er i grenseområdet eller direkte toksiske, og som derfor ofte forhindrer bruk av helt gode antibiotika for behandling av de pulmonale infeksjonene.

Det vil således være ønskelig å ha andre avleveringsmåter for disse antibiotika tilgjengelig som kunne muliggjøre en målrettet avlevering av mindre mengder av antibiotikumet til endobronkiale luftveisrom for behandling av disse bakterielle infeksjonene i stedet for å administrere antibiotikumet systemisk i større mengder.

Kronisk syke pasienter påføres dessuten ofte infeksjoner forårsaket av bakterier som i stor grad er resistente overfor vanlig anvendte antibiotika, eller utvikler ofte etter lengre bruk av visse antibiotika sterk resistens overfor slike. For eksempel er kronisk pulmonal kolonisering med *Pseudomonas aeruginosa* hos pasienter med cystisk fibrose en hovedårsak til deres høye mortalitet. Etter at den er etablert er den kroniske pulmonale infeksjon meget vanskelig, om ikke umulig, å bekjempe. Mer enn 60% av pasienter med cystisk fibrose er kolonisert med

Pseudomonas aeruginosa bakteriestammer som i stor grad er resistente overfor vanlige og spesielle antibiotika, som f.eks. piperacillin, ticarcillin, meropenem, netilmicin, og bare svakt følsomme overfor azlocillin, ciprofloksacin, timentin og ceftazidim. Mange stammer har også vist seg å utvikle resistens overfor
 5 tobramycin og for colistin dersom de benyttes kontinuerlig.

Etter lengre behandling med antibiotika utvikles ofte en superinfeksjon med organismer som av natur er resistente overfor orale, intravenøse eller inhalerte antibiotika hos pasienter med cystisk fibrose og andre kroniske pulmonale infeksjoner. De fire mest vanlige medikamentresistente organismer er
 10 *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa*.

Pasienter med cystisk fibrose infisert med *Burkholderia cepacia* har en øket mortalitetsrate sammenlignet med pasienter med *Pseudomonas aeruginosa* infeksjoner. Hos enkelte pasienter med cystisk fibrose kan *Burkholderia cepacia* forårsake hurtig dødelighet, som beskrevet for eksempel i **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, 160:5, 1572-7 (1999).

Den høye grad av antibiotikaresistens som er påvist av de fleste stammer av *Burkholderia cepacia* begrenser alvorlig de terapeutiske behandlingsmulighetene (**Clinics Chest Med.**, 19:473-86 (Sept. 1998)). Til
 20 forskjell fra *Pseudomonas aeruginosa* kan *Burkholderia cepacia* dessuten forårsake epidemisk spredning blant pasienter med cystisk fibrose, og enhver pasient som er infisert med *Burkholderia cepacia* isoleres derfor vanligvis fra andre pasienter. Dette forårsaker både ytterligere omkostninger forbundet med pleie av disse pasientene og kan også være psykologisk ødeleggende for
 25 pasienten. Dessuten vil de fleste lungetransplantasjonssentre ikke foreta en lungetransplantasjon på pasienter infisert med *Burkholderia cepacia* (**Clinics Chest Med.**, 19:473-86 (Sept. 1998)). *Burkholderia cepacia* infeksjon vurderes derfor ofte som en dødsdom hos pasienter med cystisk fibrose.

Burkholderia cepacia er vanligvis resistent overfor den parenterale
 30 administrering av forskjellige antibiotika, inklusivt aztreonam, hvor bare 5% av isolatene viser seg følsomme overfor slik behandling (**Antimicrob. Agents Chemother.**, 34:3, 487-8 (Mar. 1990)). Det ville derfor være fordelaktig å ha tilgjengelig en behandling for *Burkholderia cepacia* infeksjoner.

Andre gramnegative bakterier som naturlig er resistente overfor tobramycin, kan også komplisere behandlingen av pasienter med cystisk fibrose. Disse bakteriene innbefatter *Stenotrophomonas maltophilia* og *Alcaligenes xylosoxidans*. Antibiotikabehandling av disse infeksjonene er vanligvis også
5 ineffektiv eller fører til hurtig utvikling av medikamentresistens. Vellykket behandling av alle disse infeksjoner fordrer derfor at det sendes prøver av disse isolatene til et laboratorium for kompleks antibiotisk synergisme-bestemmelse av riktig terapi for hver enkelt pasient (**Ped. Pulmon.**, S17:118-119 (1998)). Det ville derfor også være fordelaktig å komme frem til en behandling for disse sjeldne
10 bakterieinfeksjoner som er så vanskelige å behandle.

Tilsvarende predikerer utviklingen av *P. aeruginosa* infeksjon med stammer som er resistente overfor, dvs. som har en høy MIC (minimal inhibitory concentration) overfor en vesentlig del av antibiotika, inklusivt tobramycin, avtagende lungefunksjon, og kan også diskvalifisere pasienten fra vurdering for
15 lungetransplantering (**Clinics Chest Med.**, 19:535-554 (Sept. 1998)).

Eksisterende antibiotikabehandlinger for *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikament-resistente *Pseudomonas aeruginosa* lungeinfeksjoner er enten ineffektive eller fører til hurtig utvikling av medikamentresistens.

20 Det er fra den korte beskrivelse ovenfor klart at det er et stadig behov for en effektiv terapi for behandling av akutte og kroniske pulmonale bakterielle infeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier, særlig de forårsaket av *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikament-
25 resistente *Pseudomonas aeruginosa* lungeinfeksjoner. Slik terapi burde fortrinnsvis omfatte en inhalasjon av den forstøvede medikamentformulering som avleverer en terapeutisk effektiv mengde av medikamentet direkte til luftveienes endobronkiale rom for å unngå systemisk behandling.

Problemene forbundet med infeksjoner forårsaket av disse antibiotika-
30 resistente bakteriene er meget alvorlige, og det ville være fordelaktig å ha mer effektive behandlingsmåter med ulike antibiotikatyper tilgjengelige.

Aztreonam er et syntetisk antibiotikum som har en god biologisk virkning mot gramnegative bakterier, og det har tidligere vært benyttet for intravenøs

behandling av bakterieinfeksjoner. Dets anvendelse er imidlertid sterkt begrenset som følge av dets lave effektivitet, som fordrer administrering av meget store intravenøse doser på mellom 1000 og 4000 mg per dag for å behandle infeksjonene forårsaket av gramnegative bakterier. Selv om det ville være et
5 førstevalgs antibiotikum for kompletterende behandling av pasienter behandlet med tobramycin eller andre antibiotika, særlig hos pasienter med cystisk fibrose, er slik behandling ikke praktisk på grunn av de høye dosene som fordres.

Dessuten er aztreonam for tiden bare tilgjengelig som et argininsalt. Arginin har vist seg å være toksisk overfor lungene og forårsaker lungevevsirritasjon, inflammasjon, bronkospasme og hoste, og er derfor ikke egnet for avlevering som aerosol. Aztreonam-argininsalt er følgelig ikke godkjent for inhalasjonsanvendelse i USA eller andre steder.

Som antibiotikum for behandling av bakterielle lungeinfeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier, kunne imidlertid aztreonam bli det foretrukne
15 medikament for slik behandling dersom det kunne avleveres ved inhalasjon i terapeutisk effektive konsentrasjoner direkte til lungene og dersom problemene forbundet med aztreonam-arginin kunne løses.

Den effektive administrering av aztreonam ved inhalasjon kompliseres imidlertid ytterligere ved en mangel på trygge, fysiologisk akseptable og stabile
20 formuleringer for bruk ved inhalasjon. En slik blanding må oppfylle flere kriterier, som f.eks. bestemte størrelsesområder av inhalerbare partikler, visse pH-områder og en viss grad av saltholdighet. Når aerosolet inneholder et stort antall partikler med en median aerodynamic diameter (MMAD) større enn 5 μ , avsettes disse i de øvre luftveier og nedsetter den mengde antibiotikum som avleveres til
25 infeksjonsstedet i luftveienes endobronkiale rom. Likeledes kan både sterkt sure og alkaliske eller hypotone eller hypertone betingelser føre til respiratoriske komplikasjoner som bronkospasme og hoste, som forhindrer inhalasjon av medikamentet.

Det ville således være fordelaktig og ønskelig å tilveiebringe en inhalerbar
30 blanding for avlevering av aztreonam som aerosol- eller tørrpulverformulering for behandling av pulmonale gramnegative bakterielle infeksjoner, særlig de forårsaket av medikamentresistente stammer av *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikament-

resistente *Pseudomonas aeruginosa*, hvor formuleringen omfatter en minst mulig, terapeutisk effektiv mengde medikament i en form som ikke forårsaker pulmonal inflammasjon, hvor pH justeres til fysiologisk akseptable nivåer, hvor den vandige løsningen er isoton, og hvor nevnte blanding har tilstrekkelig holdbarhet for

5 kommersiell distribusjon, oppbevaring og bruk.

Det er derfor et primært formål med denne oppfinnelse å tilveiebringe en fremgangsmåte for behandling av gramnegative infeksjoner, spesielt de forårsaket av *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes*

xylosoxidans og multimedikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa* ved å

10 tilveiebringe en trygg, fysiologisk akseptabel og effektiv blanding for inhalasjon under bruk av et rent, konsentrert aztreonam som fri base, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor formuleringen inneholder tilstrekkelig, men ikke for høy konsentrasjon av virkestoffet, hvor formuleringen effektivt kan forstøves ved nebulisering under bruk av en jet-, ultralyds- eller atomiserings-nebulisator, til en

15 aerosol som har partikkelstørrelser innen et område fra 1 til 5 μ , eller administreres som et tørt pulver, som begge er godt tolererbare for pasienter med cystisk fibrose og av pasienter med nedsatt lungefunksjon som følge av infeksjoner, inflammasjon eller annen underliggende sykdom.

20 **Sammenfatning**

Ett aspekt ved denne oppfinnelse er en blanding som omfatter fra 1 til 250 mg pr dose av aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor nevnte blanding er formulert for levering ved inhalering og nevnte blanding ikke inneholder argenin eller et argeninsalt av aztreonam.

25 I et annet aspekt ved denne oppfinnelse omfatter blandingen aztreonam i form av et akseptabelt salt valgt fra acetat, adipat, alginat, aspartat, benzoat, benzensulfonat, bisulfat, butyrat, kamferat, kamfersulfonat, citrat, diglukonat, cyklopentanpropionat, dodecylsulfat, etansulfonat, glukheptanoat, glyserofosfat, hemisulfat, heptanoat, heksanoat, fumarat, hydroklorid, hydrobromid, hydrojodid,

30 2-hydroksyetansulfonat, laktat, lysinat, maleat, metansulfonat, nikotinat, 2-naftalensulfonat, oksalat, pamoat, pektinat, persulfat, 3-fenylpropionat, pikrat, pivalat, fosfat, propionat, succinat, sulfat, tartrat, tiocyanat, p-toluensulfonat og undecanoat.

I ytterligere et annet aspekt ved denne oppfinnelse er blandingen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8 for anvendelse ved behandling av en lungeinfeksjon forårsaket av gram-negative bakterier i et menneske som trenger det.

5 I nok et annet aspekt ved denne oppfinnelse er blandingen ifølge et hvilket som helst av kravene 9-11 for anvendelse ved behandling av lungeinfeksjon forårsaket av gram-negativ bakterier valgt fra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*,
10 *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikamenter resistente *Pseudomonas aeruginosa*.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse av en blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8 for fremstilling av et medikament for behandling av en lungeinfeksjon forårsaket av gram-negativ bakterie i et
15 menneske som trenger det.

I et annet aspekt ved denne oppfinnelse er blandingen tilpasset for administrering en til tolv ganger pr dag, forutsatt at den totale dosen av aztreonam ikke er høyere enn 750 mg pr dag.

I ytterligere et annet aspekt ved denne oppfinnelse blir blandingen ifølge
20 krav 9 forstøvet ved anvendelse av en nebulisator valgt fra atomiserings-, jet-, ultralyds-, elektronisk- og vibrerende porøs plate nebulisator.

I nok et annet aspekt ved foreliggende oppfinnelse er blandingen ifølge et hvilket som helst av kravene 14-15 tilpasset for administrering en til tolv ganger pr dag, forutsatt at den totale dosen av aztreonam ikke er høyere enn 750 mg pr
25 dag.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre en aztreonamblanding oppnåelig ved en fremgangsmåte som omfatter oppløsning av fra 1 til 250 mg pr dose aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i fra 1 til 5 mL av en saltvannsløsning inneholdende 0,1 til 0,9% natriumklorid hvor nevnte blanding er
30 formulert for levering ved inhalering og ikke inneholder arginin eller et argininsalt av aztreonam.

Et rekonstitueringsystem kan omfatte to deler som omfatter et aztreonam i tørr eller lyofilisert pulverform og et fortynningsmiddel oppbevart hver for seg inntil bruk.

Definisjoner:

I denne sammenheng:

"MMAD" står for mass median aerodynamic diameter.

5 "Normalt saltvann" betyr vannløsning inneholdende 0,9% (vekt/vol) NaCl.

"Fortynnet saltvann" betyr normalt saltvann inneholdende 0,9% (vekt/vol) NaCl fortynnet til mindre styrke fra ca. 0,1% til ca. 0,8%.

"Halvnormalt saltvann" eller "1/2 NS" betyr normalt saltvann fortynnet til dets halve styrke inneholdende 0,45% (vekt/vol) NaCl.

10 "Kvart normalt saltvann" eller "1/4 NS" betyr normalt saltvann fortynnet til fjerdeparten av styrken, inneholdende 0,225% (vekt/vol) NaCl.

"En tiendedels normalt saltvann" eller "1/10 NS" betyr normalt saltvann fortynnet til tiendeparten av styrken inneholdende 0,09% (vekt/vol) NaCl.

"CF" betyr cystisk fibrose.

15 "Hovedsakelig" betyr inklusivt minst 70%, men fortrinnsvis 90% av partikkelstørrelser mellom 1 og 5 μ .

"Fysiologisk akseptabel løsning" betyr en saltoppløsning fortynnet til mellom 1/10 NS eller 1 NS eller annen vandig løsning omfattende fra ca. 31 til ca. 154 mM klorid eller en ekvivalent konsentrasjon av brom eller jod.

20 "Blanding" betyr en aztreonamholdig blanding som dessuten inneholder andre komponenter, som f.eks. hjelpestoffer, fortynningsmidler, isotone løsninger, buffere, etc.

"Blanding" betyr en bestemt blanding formulert for spesifikk bruk, så som for aerosoldannelse av aztreonamholdig løsning eller nebulisering av tørt pulver.

25 "Aztreonamblanding" eller "aztreonamformulering" betyr en blanding eller blanding som omfatter angitt mengde aztreonam som fri base eller den tilsvarende mengde i et aztreonamsalt. Dersom for eksempel dosen av aztreonam omfatter en molar mengde av aztreonam fri base, omfatter aztreonamsaltet en lik molar mengde salt.

30 "Konsentrert aztreonam" betyr aztreonam konsentrert til en form som muliggjør fortynning av mer enn 83,3 mg aztreonam som fri base i 1 mL fortynningsmiddel.

DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Foreliggende oppfinnelse vedrører en oppdagelse av at spesifikt formulert og avlevert inhalerbart aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, er effektivt til behandling av pulmonale infeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier.

5 Oppfinnelsen vedrører følgelig en inhalerbar blanding som kan anvendes for behandling av pulmonale bakterielle infeksjoner forårsaket av *Escherichia coli*, *Enterobacter*-arter, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae* inklusivt ampicillin-resistente og andre penicillinase-produserende stammer og *Nitrobacter*-arter, så vel som til behandling av mer sjeldne bakterier, som f.eks. *Burkholderia*
10 *cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multi-medikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa*. Aztreonamformuleringen eller en blanding som omfatter et farmasøytisk akseptabelt salt derav, avleveres til luftveienes endobronkiale rom hos en pasient, ved inhalasjon av et tørt pulver eller
15 en aerosolløsning.

Blandingen er spesielt egnet for behandling av pasienter med cystisk fibrose, bronkiektasi og pasienter med lungebetennelse assistert med ventilatorer, men den er også egnet for behandling av andre tilstander komplisert ved infeksjoner forårsaket av *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*,
20 *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa* eller andre gramnegative bakterier.

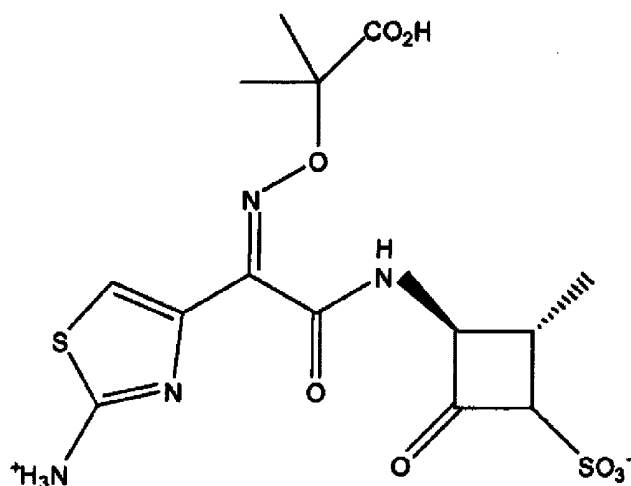
Foreliggende oppfinnelse vedrører således en ny, effektiv, trygg, ikke irriterende og fysiologisk forlikelig inhalerbar aztreonamblanding egnet for behandling av pulmonale bakterielle infeksjoner forårsaket av gramnegative
25 bakterier, særlig slike som er resistente overfor behandling med andre antibiotika. Den inhalerbare blanding av aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, er egnet både for behandling og forebyggelse av akutte og kroniske pulmonale infeksjoner. Den inhalerbare blanding avleveres som en aerosol eller som et inhalerbart tørt pulver. For forstøvning løses aztreonam i et minimalt volum
30 på ca. 1 til ca. 5 mL av et vandig løsningsmiddel som omfatter klorid-, bromid- eller jodioner, som har en pH på mellom 4,5 og 7,5, avlevert til det endobronkiale rom, i en aerosol som har MMAD-partikler hovedsakelig mellom 1 og 5 μ , ved å

benytte en nebulisator som kan forstøve aztreonamløsningen til partikler av nødvendige størrelser.

I. Aztreonam og farmasøytisk akseptable salter derav.

Aztreonam er et kjent syntetisk monocyklisk monobaktam-antibiotikum med antibakteriell aktivitet mot de fleste gramnegative bakterier. Aztreonam-argininsalt kjent under dets handelsnavn AZACTAM® er for tiden FDA-godkjent bare for intravenøs og intramuskulær anvendelse.

A. Aztreonam-forbindelse



Den kjemiske betegnelse for aztreonam er (Z) -2-[[[(2-amino-4-tiazolyl)[[(2S, 3S)-2-metyl- 4-okso-1-sulfo-3-azetidiny]]karbamoyl]metylen]amino]oksy]-2-metylpropionsyre.

Aztreonam er et monobaktam og har som sådant en unik monocyklisk beta-laktamkjerne, og er derfor strukturelt forskjellig fra andre β -laktamantibiotika, som for eksempel penicilliner, cefalosporiner eller cephamyciner.

Sulfonsyresubstituenten i ringens 1-stilling aktiverer beta-laktamdelen. En aminotiazolyl-oksim sidekjede i 3-stillingen og en metylgruppe i 4-stillingen gir det spesifikke antibakterielle spektrum og beta-laktamase stabilitet.

AZACTAM® (aztreonam for injeksjon, USP) kommersielt tilgjengelig fra DURA Pharmaceuticals, Inc., San Diego, California, inneholder aztreonam som virkestoff. AZACTAM® leveres som et sterilt, ikke-pyrogen, natriumfritt, hvitt til gulhvitt, lyofilisert pulver inneholdende arginin. AZACTAM® formuleres for
5 intramuskulær eller intravenøs anvendelse. (PDR, s. 1159 (2001)).

Den kommersielt tilgjengelige AZACTAM® intravenøse eller intramuskulære blanding er ikke egnet for inhalasjonsanvendelse på grunn av nærværet av arginin i formuleringen. Arginin har vist seg å forårsake pulmonal inflammasjon når det administreres i aerosolform til lungene hos rotter.

10 Arginin har uten hell vært benyttet som et potensielt aerosolformet mukolytisk middel til pasienter med cystisk fibrose. En studie beskrevet i **Pediatrics**, 55:96-100 (1975), anbefaler at arginin ikke benyttes til pasienter med cystisk fibrose. I en studie av 24 pasienter med cystisk fibrose måtte inhalasjonsterapi med en argininløsning stanses for 5 pasienter på grunn av
15 alvorlig forverring av deres generelle tilstand og begynnende hoste. Forekomsten av luftveisinflammasjon hos disse 5 pasientene ble bekreftet ved bronkoskopi. Siden dette er det oppdaget at arginin er et substrat for produksjonen av nitrogenoksydradikaler.

Nitrogenoksydradikaler reagerer med superoksydanionet under dannelse
20 av peroksynitrit, som selv er toksisk for vevet og som også kan reagere videre under dannelse av et høyt reaktivt og toksisk hydroksylradikal. Siden inflammasjon betyr en alvorlig forverring ved cystisk fibrose og alle andre sykdommer som denne oppfinnelse tilsikter behandling for, vil anvendelse av argininsalt motvirke dette formål, idet det ville forverre og ikke forbedre pasientens tilstand.

25 Arginin er også, som omtalt i **PNAS**, 14:6338-6342 (1991) et viktig substrat for immunkompleksskade i lungene. Siden forstøvningen konsentrerer høye nivåer av det aerosolformede medikament i lungene sammenlignet med slik fortynning som sees etter intravenøs administrering, vil forstøvningen av aztreonam-argininsaltet være skadelig snarere enn en fordelaktig behandling for
30 pasienter med cystisk fibrose eller for pasienter som lider av pulmonale infeksjoner. Dessuten ville det fortynne og/eller motvirke effekten av aztreonam.

Aztreonam er for tiden ikke godkjent eller benyttet for inhalasjonsbehandling og aerosoladministrering i USA. Det er følgelig ikke

tilgjengelig noen kjent aztreonamholdig blanding for aerosolavlevering av aztreonam til luftveienes endobronkiale rom. Det eneste forsøk på å avlevere aztreonam intermitterende til individer med cystisk fibrose er beskrevet i **Spanish Annals on Pediatrics**, 40:No. 3 (1994), hvor slik avlevering ble foretatt i et "open label" forsøk på pasienter med cystisk fibrose med intermitterende administrert 500 og 1000 mg AZACTAM® USP argininsalt, to ganger per dag i 21 dager, ved å benytte CR60 System 22 Unit nebulisator. Hensikten med denne studie var å behandle aztreonamfølsomme *Pseudomonas aeruginosa* organismer, men ikke multimedikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa*. Det ble ikke gjort forsøk eller vurdert å behandle *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, infeksjoner forårsaket av *Alcaligenes xylosoxidans* eller andre gramnegative bakterier.

I denne studien ble den nebuliserte løsning av aztreonam avlevert etter fysikalsk behandling. Før behandlingsperioden ble pasienten administrert 3 mL saltvann alene eller blandet med bronkodilatorene saltbutamol eller ipratropiumbromid og fenoterol-bromhydrat, for å forhindre bronkospasme. Den behandling som er beskrevet i denne studie fordret således både forbehandling med inhalert saltvann og/eller bronkodilaterende midler og forutgående fysikalsk behandling, så vel som administrering av store doser av medikamentet administrert to ganger per dag. Selv om lungefunksjonen til ca. 80% av pasientene hadde bedret seg noe, var denne forbedringen ikke statistisk signifikant. Minst én pasient tålte ikke behandlingen som følge av bronkospasmer. De fleste pasienter trengte administrering av bronkodilatorer og alle pasienter ble underkastet fysikalsk behandling før aztreonambehandling for å tåle administreringen av store doser nebulisert aztreonam. Aztreonambehandling ble avbrutt dersom det ble funnet *in vitro* resistens. Én pasient utviklet *Burkholderia cepacia*, hvilket ble ansett som superinfeksjon og et mulig uheldig resultat. Selv om referansen antyder effekt ved medikamentfølsom *Pseudomonas aeruginosa*, som forventes siden medikamentet er kjent for dets effekt på de gramnegative bakteriene, beskriver den ikke anvendelsen av lave doser aztreonam, eller dets kontinuerlige anvendelse eller anvendelsen av aztreonamsalter som ikke forårsaker bronkospasme eller anvendelsen av aztreonam for behandling av multimedikamentresistent *P. aeruginosa*, og fraråder anvendelse ved *Burkholderia*

cepacia, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multi-medikamentresistent *Pseudomonas aeruginosa*. Den høye insidens av bronko-spasmer utviklet ved anvendelsen av den beskrevne blanding som fordrer enten seponering, eller forbehandling med bronkodilatorer, indikerer dessuten behovet
5 for en forskjellig blanding som trygt kan benyttes for inhalasjon.

B. Biologisk og farmakologisk aktivitet av aztreonam

Aztreonam oppviser potent og spesifikk aktivitet *in vitro* mot et bredt spektrum av gramnegative aerobe patogener, inklusivt *Pseudomonas aeruginosa*.
10 Den baktericide virkning av aztreonam skriver seg fra inhiberingen av bakteriecellevegg-syntese som følge av aztreonams høye affinitet for penicillin-bindende protein 3 (PBP3).

Til forskjell fra storparten av β -laktamantibiotika induserer ikke aztreonam β -laktamaseaktivitet og dets molekylstruktur gir en høy grad av resistens mot
15 hydrolyse av β -laktamaser, så som penicillinaser og cefalosporinaser, produsert av de fleste gramnegative og grampositive patogener. Aztreonam er derfor spesielt aktivt mot gramnegative aerobe organismer som er resistente overfor antibiotika hydrolysert av β -laktamaser.

Aztreonam opprettholder dets antimikrobielle aktivitet ved en pH som
20 varierer fra 6 til 8 *in vitro* (AZACTAM® produktmerking, Dura Pharmaceuticals), så vel som i nærvær av humant serum og under anaerobe betingelser. Aztreonam er aktiv *in vitro* og er effektiv i forsøksdyremodeller og kliniske infeksjoner mot de fleste stammer av følgende organismer: *Escherichia coli*, *Enterobacter*-arter, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas*
25 *aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae* og *Nitrobacter*-arter, herunder mange som er multiresistente overfor andre antibiotika, som f.eks. visse cefalosporiner, penicilliner og aminoglykosider.

Aztreonam er således egnet for behandling av infeksjoner forårsaket av
30 *Escherichia coli*, *Enterobacter*-arter, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae* og *Nitrobacter*-arter.

De eneste infeksjoner som AZACTAM for tiden er FDA-godkjent for, er de som forårsakes av *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*-arter og *Serratia marcescens*.

Det er nå funnet at alle ovennevnte bakteriestammer, så vel som sjeldne og meget resistente stammer så som *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa*, kan utryddes ved daglig behandling med lave doser på mellom ca. 1 og ca. 250 mg aztreonam som fri base eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, fortrinnsvis administrert én eller to ganger per dag, med totale døgndoser som ikke overskrider 750 mg/dag.

II. Farmakologisk akseptable aztreonamsalter

Det for tiden eneste kommersielt tilgjengelige salt av aztreonam er argininsalt. Som allerede omtalt ovenfor er aztreonamsaltet ikke egnet for inhalasjonsadministrering, fordi arginin etter aerosoleksponering, er kjent for å bevirke pulmonal inflammasjon, bronkospasme og hoste. AZACTAM®, aztreonamholdig argininsalt, er ikke godkjent av noen myndighet for inhalasjonsanvendelse. Det trengs derfor andre aztreonamsalter for å oppnå en sikker blanding av aztreonam for inhalasjonsbehandling av pasienter med pulmonale infeksjoner eller de som har nedsatt pulmonal funksjon som følge av cystisk fibrose eller bronkiektasi.

Siden aztreonam inneholdende arginin ikke er egnet for inhalasjon, ble det i henhold til denne oppfinnelse fremstillet andre syreaddisjonssalter i henhold til Eksempel 3, som ble testet og funnet farmakologisk akseptable og uten skadelige sekundærvirkninger når de ble administrert som et tørt pulver eller en aerosol.

Aztreonam for anvendelse i henhold til foreliggende oppfinnelse fremstilles i form av salter avledet fra uorganiske eller organiske syrer. Disse saltene innbefatter, men er ikke begrenset til, følgende salter: acetat, adipat, alginat, citrat, aspartat, benzoat, benzensulfonat, bisulfat, butyrat, kamferat, kamfersulfonat, diglukonat, cyklopentanpropionat, dodecylsulfat, etansulfonat, glukohexanoat, glyserofosfat, hemisulfat, heptanoat, heksanoat, fumarat, hydroklorid, hydrobromid, hydrojodid, 2-hydroksyetansulfonat, laktat, maleat, metansulfonat, nikotinat, 2-naftalensulfonat, oksalat, pamoat, pektinat, persulfat, 3-fenylpropionat,

pikrat, pivalat, propionat, succinat, tartrat, tiocyanat, p-toluensulfonat og undecanoat.

Eksempler på syrer som kan benyttes for å danne farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter er slike uorganiske syrer som saltsyre, svovelsyre og fosforsyre, og slike organiske syrer som for eksempel oksalsyre, maleinsyre, eddiksyre, asparaginsyre, ravsyre og sitronsyre. Basiske addisjonssalter kan fremstilles *in situ* under den endelige isolering og rensing av forbindelsen formel I, eller separat, ved å omsette karboksyl- eller svovelsyrefunksjonen med en passende base, som f.eks. hydroksydet, karbonatet eller bikarbonatet av et farmasøytisk akseptabelt metallkation eller med ammoniakk eller med et organisk primært, sekundært eller tertiært amin.

Farmasøytisk akseptable salter inkluderer også, men er ikke begrenset til, kationer basert på alkali- og jordalkalimetaller, som f.eks. natrium-, litium-, kalium-, kalsium-, magnesium eller aluminiumsalter og lignende, så vel som ugiftige ammonium-, kvaternære ammonium- og amin-kationer, inklusivt, men ikke begrenset til, ammonium, tetrametylammonium, tetraetylammonium, metylamin, dimetylammin, trimetylammin, trietylammin, etylamin, aminosyrer inklusivt basiske aminosyrer (dvs. lysin, histidin, ornitin) og lignende. Andre representative organiske aminer som er egnet for dannelsen av baseaddisjonssalter, innbefatter dietylammin, etylendiamin, etanolamin, dietylammin og lignende.

Ethvert av ovennevnte salter kan avleveres som et enkelt salt eller som en blanding av ett eller flere salter så lenge den ekvivalente mengde aztreonam ligger innenfor 1 til 250 mg per dosering.

Det foretrukne farmasøytisk akseptable aztreonamsalt oppnås ved omsetning av aztreonam med saltsyre, hydrogenbromidsyre, svovelsyre, salpetersyre eller fosforsyre, idet disse saltene ikke er kjent å forårsake pulmonal inflammasjon og er tryggere enn argininsalter.

III. Inhalerbar aztreonamblanding

Foreliggende oppfinnelse vedrører primært en konsentrert inhalerbar aztreonamblanding egnet for effektiv avlevering av aztreonam eller det farmasøytisk akseptable aztreonamsalt til luftveienes endobronkiale rom ved forstøvning eller som et tørt pulver.

Mest foretrukket er oppfinnelsen egnet for blanding av konsentrert aztreonam for aerosoldannelse ved atomiserings-, jet-, ultralyds-, trykk-, vibrerende porøs plate eller likeverdige nebulisatorer eller ved tørrpulverinhalatorer som hovedsakelig produserer aztreonam aerosol- eller tørrpulver-partikler mellom 1 og 5 μ . Slike partikkelstørrelser er nødvendige for effektiv avlevering av aztreonam til det endobronkiale rom for behandling av bakterieinfeksjoner.

A. Aztreonam-aerosolblanding

Aztreonamblanding for aerosoldannelse formuleres for effektiv avlevering av forstøvet aztreonam til luftveienes endobronkiale rom.

Aerosolformuleringen avleveres i et totalvolum på mellom ca. 1 og ca. 5 mL vandig fysiologisk akseptabel løsning for én inhalasjonsdose. Formulert og avlevert i henhold til den beskrevne fremgangsmåten, avleverer den en terapeutisk effektiv dose aztreonam til infeksjonssetet i en aztreonammengde som er tilstrekkelig til å behandle bakterielle pulmonale infeksjoner.

En kombinasjon av den nye vandige blanding med atomiserings-, jet-, trykk-, vibrerende porøs plate eller ultralyds-nebulisatoren muliggjør, avhengig av nebulisatoren, minst ca. 20 til ca. 90%, typisk ca. 70% avlevering av den administrerte dose aztreonam til luftveier.

Formuleringen inneholder en minimal, men effektiv, mengde aztreonam fra 1 til ca. 250 mg formulert i det minst mulige volum fysiologisk akseptabelt fortynningsmiddel som har en viss grad av salinitet og en viss pH, justert for å muliggjøre utvikling av en aztreonamaerosol som er godt tolererbar for pasienter, men som minsker utviklingen av sekundære uønskede bivirkninger, så som bronkospasme og hoste.

Primære krav til en forstøvet aztreonamformulering er dens trygge anvendelse og effektivitet. Ytterligere fordeler er lavere pris, praktisk anvendelse, lange holdbarhet, oppbevaring og håndtering av aerosolanordningen. Disse krav til forstøvet aztreonam har nå vist seg oppfylt av formuleringen inneholdende en viss grad av salinitet og med et visst pH-område.

1. Dosering av aztreonam eller et salt derav

Aztreonam har relativt kort virkningstid. Den effektive behandling av bakterielle pulmonale infeksjoner fordrer et behandlingsregime som gir tilstrekkelig mengde medikament til å opprettholde det antibakterielle nivå av aztreonam i lungene. Slike regimer fordrer derfor administrering av et inhalerbart aztreonam én til flere, fortrinnsvis to til fire, ganger per dag. Det mest foretrukne hensiktsmessige doseringsregime for pasienten er én eller to ganger per dag, men på grunn av en spesifikk effekt som aztreonam har på bakteriene, og på grunn av dets relativt korte virkningstid på ca. 12 timer, fordres ofte dosering mer enn to ganger per dag for fullstendig utryddelse av bakteriene fra det endobronkiale rom.

Det foretrekkes derfor å avlevere forstøvet eller tørrpulver aztreonam, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i den minste, terapeutiske effektive, mengde minst to ganger per dag, i enkelte tilfeller tre til fire ganger, og unntaksvis mer enn fire ganger per dag. En dose av aztreonam eller et salt derav settes derfor til mellom 1 og 250 mg per dose. En terapeutisk effektiv dose inneholder typisk mellom 1 og 250 mg aztreonam som fri base eller som en ekvivalent mengde salt derav. Formuleringen og nebulisatoren velges slik at den gir minst ca. 50%-70% effektivitet av aztreonam-avlevering til det endobronkiale rom. Med en dose på ca. 250 mg avleveres således 125 mg aztreonam ved hver administrering. 100-250 mg aztreonam avlevert til lungene, har vist seg å være effektivt til utryddelse av bakterier. Ikke i noe tilfelle bør én dose overskride 250 mg. Ved mengder høyere enn dette er forstøvningen vanskelig, medikamentet har tendens til utfelling og det fordres større volumer for avlevering som aerosol, hvilket motvirker det formål ved oppfinnelsen å avlevere den terapeutiske mengde medikament med størst mulig effektivitet.

Bestemmelse av effektiv dose administrert aztreonam og det regime som benyttes for behandling av hver pasient, avhenger av den enkelte pasients responsivitet på behandlingen. Den endelige avgjørende faktor er det forventede aztreonamnivå i spyttet etter forstøvning. Det optimale aztreonamområdet i 1 mL spytt til ethvert tidspunkt bør være i området 500 til 2000 µg/mL. Administrasjons- hyppigheten er således korrelert med effektiviteten av administrert aztreonam.

Effektiviteten av forstøvet aztreonam er overraskende høy sammenlignet med effektiviteten av det intravenøst administrerte aztreonam, hvor maksimalnivået i serum etter den maksimalt tillatte dose på 2000 mg bare resulterte i 242 µg/mL spytt. Etter slik intravenøs administrering ble nivået etter 6

timer funnet å være i området 16 µg/mL, som er MIC-verdien for ikke-resistent *Pseudomonas aeruginosa*.

Den nye administrasjonsmåte som tillater en non-invasiv administrering av små, men effektive, mengder aztreonam direkte i lungene, er en stor forbedring sammenlignet med alle tidligere kjente fremgangsmåter benyttet for avlevering av aztreonam.

2. Effekt av pH på aztreonam-aerosolformulering

Løsningen eller fortynningsmidlet benyttet for fremstilling av aztreonam-aerosol har et begrenset pH-område fra 4,5 til 7,5, fortrinnsvis mellom 5,5 og 7,0.

Formuleringens pH er et viktig trekk for avlevering av aztreonam som aerosol. Når aerosolen enten er sur eller basisk kan den forårsake bronkospasme og hoste. Selv om det trygge området av pH er relativt og enkelte pasienter kan tolerere en svakt sur aerosol, vil andre, særlig de med cystisk fibrose eller andre underliggende sykdommer, oppleve bronkospasme. Enhver aerosol med en pH på mindre enn 4,5 vil i alminnelighet indusere bronkospasme. Aerosoler med en pH mellom 4,5 og 5,5 vil iblant forårsake bronkospasme. Testing med aztreonam-aerosol viste at en forstøvbar aztreonamformulering med en pH på mellom 5,5 og 7,0 er godt tolererbar og trygg. Enhver aerosol som har pH høyere enn 7,5 bør unngås siden kroppsvevet er ute av stand til å buffre alkaliske aerosoler. Aerosoler med pH kontrollert til under 4,5 og over 7,5 resulterer i lungeirritasjon ledsaget av alvorlig bronkospasme, hoste og inflammatoriske reaksjoner.

Av disse grunner, så vel som for å unngå bronkospasme, hoste eller inflammasjon hos pasienter, ble den optimale pH for aerosolformuleringen bestemt til mellom pH 5,5 og pH 7,0.

Aztreonam-aerosolformuleringen justeres derfor til pH mellom 4,5 og 7,5, med foretrukket pH-område fra ca. 5,5 til 7,0. Det mest foretrukne pH-området er fra 5,5 til 6,5.

3. Effekt av salinitet på aztreonamformuleringen.

Pasienter som lider av akutte eller kroniske endobronkiale infeksjoner, og særlig de med cystisk fibrose eller bronkiektasi, har øket følsomhet overfor forskjellige kjemiske agens og har en høy insidens av bronkospasme, astma eller

hoste. Deres luftveier er særlig følsomme overfor hypotone eller hypertone og sure eller alkaliske tilstander og til nærværet av ethvert permanent ion, så som klorid. Enhver ubalanse i disse tilstander, eller et nærvær av klorid over en viss verdi, fører til bronkospastiske eller inflammatoriske begivenheter og/eller hoste som sterkt svekker behandling med inhalerbare formuleringer. Begge disse tilstander forhindrer effektiv avlevering av forstøvet aztreonam til det endobronkiale rom. De kliniske manifestasjonene av de irriterte luftveiene er ekstremt uønskede.

For aztreonam er det klart ikke mulig å benytte utelukkende et vandig løsningsmiddel uten å sørge for en viss grad av osmolalitet for å oppfylle og etterligne fysiologiske betingelser som finnes i friske lunger. En viss mengde av kloridet eller et annet anion trengs følgelig for vellykket og effektiv avlevering av forstøvet aztreonam, men en slik mengde er meget lavere enn mengder som tilveiebringes og som typisk benyttes for aerosoler av andre forbindelser.

Bronkospasme eller hostereflekser responderer ikke på den samme osmolalitet av fortynningsmidlet for forstøvning, men de kan kontrolleres tilstrekkelig og/eller undertrykkes når osmolaliteten av fortynningsmidlet er innen et visst område. En foretrukket løsning for nebulisering av aztreonam som er trygg og har luftveistoleranse, har en total osmolalitet på mellom 50 og 550 mOsm/kg med et kloridkonsentrasjonsområde på mellom 31 mM og 300 mM. Den angitte osmolalitet kontrollerer bronkospasme, kloridkonsentrasjonen, som et permanent anion, kontrollerer hoste. I denne sammenheng kan kloridanionet erstattes med brom- eller jodanioner, siden begge er permanente anioner. Dessuten kan bikarbonat helt eller delvis erstatte kloridion. Normalt saltvann (NS) inneholder 154 mM klorid, mens 31 mM klorid tilsvarer ca. 0,2 normalt saltvann.

Formuleringen av aztreonamaerosol ifølge oppfinnelsen omfatter følgelig fra ca. 1 til ca. 50 mg, fortrinnsvis ca. 10 mg, aztreonam løst i 1 mL av en normal, eller fortrinnsvis fortynnet saltvann for å danne fra ca. 1/10 normalt saltvann (NS) til ca. og maksimalt 1 NS løsning, fortrinnsvis fra ca. 1/10 til ca. 1/4 NS, dvs. en tiendedel til en fjerdedel fortynnet normalt saltvann. Det er nå fastslått av aztreonam effektivt avleveres til lungene når det er løst i mindre enn 1 normalt saltvann, dvs. saltvann inneholdende 0,9% natriumklorid, og at konsentrasjonen av kloridion som er lik eller mindre enn 1/4N saltvann muliggjør og sikrer en avlevering av aztreonam til det endobronkiale rom.

Aztreonamformuleringen som inneholder ca. 50 mg aztreonam per 1 mL av 0,2 NS har en osmolalitet på ca. 290 mOsm/L. Denne osmolalitet ligger innenfor et trygt område for aerosoler egnet for administrering til pasienter som lider av pulmonale bakterieinfeksjoner og også for pasienter med en cystisk fibrose eller bronkiektasi.

Et ytterligere trekk og en fordel ved å benytte 1/10 til 1/4 NS løsning omfattende 50 mg/mL aztreonam er at den resulterende aerosolformulering meget effektivt nebuliseres med en atomiserings-, jet- eller ultralyds-nebulisator sammenlignet med aztreonam løst i 1 normalt saltvann. Siden avleveringen av aztreonam formulert slik som her beskrevet, er meget mer effektiv, trengs betydelig mindre aztreonam for å oppnå fullstendig utryddelse av gramnegative bakterier i lungene. I stedet for 1000 til 4000 mg aztreonam, som ble vist å være noe effektiv i det eneste tidligere forsøk på forstøvning av aztreonam, tillater formuleringen av aztreonam i henhold til denne oppfinnelse behandling med så lite som 1 mg/mL og med maksimalt opptil 50 mg/mL aztreonam i et maksimalt volum på 5 mL, avlevert fortrinnsvis med en atomiserings-, jet-, elektronisk eller ultralyds-nebulisator.

4. Foretrukket forstøvbar aztreonamformulering

Den forstøvbare aztreonamformulering omfatter aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i en mengde på fra ca. 1 til ca. 50 mg/mL av ca. 1 til ca. 5 mL vandig løsning inneholdende en lav konsentrasjon kloridion, med en pH justert til mellom 4,5 og 7,5, hvor nevnte blanding avleveres ved forstøvning under bruk av en atomiserings-, jet-, elektronisk, ultralyds-nebulisator.

Den foretrukne blanding ifølge foreliggende oppfinnelse er en blanding som omfatter fra ca. 10 til ca. 50 mg aztreonam løst i ca. 1-5 mL saltvann fortynnet fortrinnsvis til en fjerdedel eller en tiendedels styrke av normalt saltvann, med pH justert til mellom 5,5 og 7,0, avlevert ved nebulisering i aerosolpartikler som har mass median aerodynamic diameter hovedsakelig mellom 1 og 5 μ , hvor nevnte blanding nebuliseres under bruk av en atomiserings-, jet-, elektronisk eller ultralyds-nebulisator.

Blandingen i henhold til oppfinnelsen inneholder aztreonam formulert som et tørt pulver, aerosolløsning eller aerosolsuspensjon av liposomer eller andre mikroskopiske partikler, i et vandig løsningsmiddel. Formuleringen er utviklet for å

være godt tolererbar og for pålitelig og fullstendig å kunne nebuliseres til aerosolpartikler, med det respirerbare størrelsesområdet fra 1 til 5 μ .

Dosen er innrettet på å inneholde opptil, men ikke mer enn, den nødvendige mengde av en mest aktiv form av aztreonam for å forhindre kolonisering og/eller for å behandle alvorlige pulmonale infeksjoner forårsaket av en rekke følsomme gramnegative organismer.

Pasienter kan være følsomme overfor pH, osmolalitet og ionisk innhold i en nebulisert løsning. Disse parametrene justeres derfor for å være forlikelige med aztreonamets kjemi og fremdeles tolererbare for pasienter.

Blandingen ifølge oppfinnelsen nebuliseres hovedsakelig til partikkelstørrelser som muliggjør avlevering av medikamentet til de terminale og respiratoriske bronkioler, hvor bakteriene oppholder seg under infeksjon, og i større luftveier under kolonisering.

For virkningsfull avlevering av aztreonam til luftveienes endobronkiale rom i en aerosolpartikkel, er det nødvendig med dannelse av en aerosol som har en mass median aerodynamic diameter hovedsakelig mellom 1 og 5 μ . Den formulerte og avleverte mengde aztreonam for behandling og forebygging av endobronkiale bakterieinfeksjoner må effektivt nå frem til lungeflaten. Formuleringen må ha et minst mulig forstøvbart volum som er i stand til å avlevere en effektiv dose aztreonam til infeksjonssetet. Formuleringen må dessuten gi betingelser som ikke ugunstig påvirker luftveienens funksjonalitet. Formuleringen må følgelig inneholde tilstrekkelig av medikamentet formulert under de betingelser som muliggjør dets effektive avlevering samtidig som uønskede reaksjoner unngås. Den nye blandingen i henhold til oppfinnelsen oppfyller alle disse krav.

25

B. Tørrpulver-aztreonamblanding

En alternativ måte for avlevering av det inhalerbare aztreonam er ved hjelp av et tørt inhalerbart pulver.

Aztreonamblandingene kan administreres endobronkialt i en tørrpulverformulering for virkningsfull avlevering av det finmalte antibiotikum inn i det endobronkiale rom ved å benytte tørrpulverinhalatorer eller doseringsinhalatorer, som et alternativ til aerosolavlevering.

En tørrpulverformulering har en styrke, på massebasis, som muliggjør slik alternativ avlevering av aztreonam som et tørt pulver ved å benytte en tørrpulverinhalator. En tilstrekkelig sterk blanding av aztreonam, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, utgjøres av et tørt pulver som med fordel kan avleveres med en tørrpulverinhalator eller ved en doseringsinhalator. For avlevering av tørt inhalerbart pulver males aztreonam, hvorpå det utfelles, forstøvningstørkes eller bearbeides på annen måte til partikkelstørrelser på mellom ca. 1 og 5 μ .

Tørrpulverformuleringer omfatter fra ca. 20 til 200 mg, fortrinnsvis 10 til 100 mg aztreonam, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

For tørrpulverblandinger ifølge oppfinnelsen males aztreonam, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til et pulver som har mass median aerodynamic diamtetere i området 1-5 mikron med medie-mølle, strålemølle, ved forstøvningstørking eller partikkelutfellingsteknikker.

Partikkelstørrelsesbestemmelse foretas ved å benytte en flertrinns Anderson Cascade Impactor eller annen egnet metode. The Thermo Anderson Eight Stage Non-Viable Cascade Impactor er spesifikt sitert i US Pharmacopoeia Chapter 601, som en karakteriseringsanordning for aerosoler i doserings- og tørrpulverinhalatorer. Denne Eight Stage Cascade Impactor utnytter åtte stråletrinn som muliggjør klassifikasjon av aerosoler fra 9,0 mikrometer til 0,4 mikrometer (ved 28,3 L/min) og lar luftbårne partikler støte an mot støtflater av rustfritt stål eller mot en rekke substrater av filtreringsmiddel. Et avsluttende filter samler opp alle partikler mindre enn 0,4.

Medie-møller virker ved å anbringe en medikamentsubstans i en mølle som for eksempel inneholder rustfrie stål- eller keramiske kuler og rotere eller tromle materialet inntil de ønskede størrelsesområder av medikamentpartikler er oppnådd. Fordeler ved medie-møller er god størrelseskontroll, snevre produktstørrelsesområder, høy gjenvinningseffektivitet og lett skalerbare prosesser. Ulemper er lange prosesstider som strekker seg fra flere timer til flere dager, kravet om at oppmalingsmediet skilles fra produktet ved fullført prosess og muligheten for forurensning av produktet med mediet.

Stråle-møller benytter luftstrømmer under meget høye trykk for å få partikler til å kolliderer med hverandre, hvor fine partikler av den ønskede størrelse gjenvinnes fra møllen. Fordeler er hurtighet ved fremstillingsprosessen og mindre energioverføring under oppmaling, som resulterer i mindre temperaturstigning

under medikamentproduksjonen. Stråle-mølleprosessen er fullført i løpet av noen sekunder til minutter. Ulemper ved stråle-møller er dårligere utbytte og oppsamlingseffektivitet, hvor kun 50 til 80% gjenvinning er et typisk utbytte.

Forstøvningstørking er en annen teknikk som er egnet for fremstilling av inhalerbart tørt pulver. Forstøvningstørking innebærer spredning av en fin tåke av aztreonamløsning på en bærer og tørking av partiklene. Deretter oppsamles partiklene. Forstøvningstørking har fordelen av å være minst utsatt for nedbrytning av kjemiske entiteter. Tilsetning av et medløsningsmiddel som minsker løseligheten av et medikament til en enhetlig medikamentløsning resulterer i utfelling. Når tilstrekkelig medløsningsmiddel er tilsatt, faller løseligheten av medikamentet til det punkt hvor det dannes faste medikamentpartikler som kan oppsamles ved filtrering eller ved sentrifugering. Utfelling har fordelen av å være meget reproducerbar, har et høyt gjenvinningsutbytte og kan foretas under lave temperaturbetingelser, noe som reduserer nedbrytning.

Tørrpulverinhalasjon og doseringsinhalasjoner er mer praktisk når administrerte doser resulterer i avlevering av minst ca. 10 mg, og mer foretrukket ca. 25 mg til ca. 100 mg aztreonam-antibiotikum til lungene til pasienten som får behandling. Avhengig av effektiviteten av tørrpulver-avleveringsanordningen, som typisk er ca. 70%, faller typiske effektive tørrpulverdoseringsnivåer i området fra ca. 20 til ca. 60 mg aztreonam. Derfor fordres i alminnelighet mer medikament enn én innånding.

Den tilstrekkelig potente blandingen av rent aztreonam-antibiotikum eller et farmasøytisk akseptabelt salt i tørrpulver- eller doseringsform av medikamentpartikler oppmalt eller på annen måte bearbeidet til partikkelstørrelser er hovedsakelig innen området 1 til 5 mikron. Slik blanding er praktisk og lettvinnt fordi den ikke fordrer noen ytterligere håndtering, som f.eks. fortynning av tørrpulveret eller påfylling av en aerosolbeholder. Den benytter dessuten anordninger som er tilstrekkelig små, fullstendig portable og fordrer for eksempel ikke en luftkompressor, hvilket trengs for en jetnebulisator. Dessuten har tørrpulverformuleringen en lenger holdbarhet enn de flytende aztreonamformuleringer for aerosoldannelse. Aztreonam har når det rekonstitueres til en forstøvbar løsning, bare en begrenset holdbarhet ved romtemperatur som følge av hydrolyse av monobaktamringen. Aztreonam tørrpulver har ikke dette problem.

Tørrpulverformuleringen er således praktisk og hensiktsmessig for ambulatorisk anvendelse siden den ikke fordrer fortynning eller annen håndtering, siden den har en lenger holdbarhet og lagringsstabilitet og avleveringsanordningene for tørrpulverinhalasjon er portable og fordrer ikke en luftkompressor som trengs for forstøvnings-nebulisatorer.

Alle teknikker som er egnet for fremstilling av tørre inhalerbare pulvere og enhver forbedring av slike, så vel som enhver tørrpulverinhalator er ment å ligge innenfor rammen av oppfinnelsen.

C. Holdbarhet og lagring

Stabiliteten av formuleringen er en annen meget viktig side ved effektiv blanding. Dersom medikamentet nedbrytes før aerosoldannelse, avleveres en mindre mengde av medikamentet til lungene og nedsetter således behandlings-effektiviteten. Dessuten kan nedbrytning av lagret aztreonam utvikle materialer som tolereres dårlig av pasientene.

Tørrformen av aztreonam har minst 2 års holdbarhet. De flytende formene av arginin/aztreonam fri base har en 24 timers stabilitet ved romtemperatur, 48 timer i kjøleskap og nedfrosset til -4°C kan stabiliteten utvides til ca. 3 måneder. Stabiliteten av aztreonam-argininsalt er en egenskap som kan tilskrives arginin. Stabiliteten av andre salter etter væske-rekonstituering kan være forskjellig.

En langtidsstabilitet av aztreonam som fri base eller aztreonamsalt i vandige løsninger, kan kanskje ikke gi en tilstrekkelig lang holdbarhet som ville være kommersielt akseptabel. En flytende blanding kan derfor fordre en separasjon av aztreonam eller aztreonamsalt fra det passende fortynningsmiddel. Av denne grunn leveres formuleringen fortrinnsvis i en tørr form som kan rekonstitueres før administrering.

En blanding for aerosoldannelse tilberedes derfor fortrinnsvis som to separate komponenter, én som inneholder et tørt aztreonam eller et salt derav, og en andre som inneholder et passende fortynningsmiddel, som f.eks. 0,1 til 0,9N saltvann, bikarbonat eller en hvilken som helst likeverdig vandig løsning som beskrevet ovenfor. Formuleringen rekonstitueres umiddelbart før administrering. Dette arrangement forhindrer problemer forbundet med langtidsstabiliteten av aztreonam i vandige løsningsmidler.

I henhold til oppfinnelsen, formuleres aztreonam for aerosoldannelse fortrinnsvis i en lyofilisert doseringsform beregnet for bruk som et tørt pulver for rekonstituering før inhalasjonsterapi. Formuleringen av aztreonam kan fremstilles aseptisk som et lyofilisert pulver, enten for tørrpulveravlevering eller for
5 rekonstituering og avlevering, eller som en frossen løsning, en liposomsuspensjon eller som mikroskopiske partikler. Lagringsmuligheten av formuleringen muliggjør pålitelig rekonstituering av det formulerte aztreonam passende for aerosoldannelse.

10 IV. Administrering av aztreonam ved inhalasjon

Aztreonam er for tiden bare tilgjengelig for parenteral bruk i form av arginin-saltet. Arginin er som omtalt ovenfor, kjent for å forårsake pulmonal inflammasjon og irritasjon, og er derfor uegnet for inhalasjonsanvendelse.

15 A. To måter for inhalerbar administrering

Administrering av inhalerbart aztreonam oppnås enten med aztreonam-aerosol eller med inhalerbart tørt aztreonampulver.

En argininfri blanding i henhold til oppfinnelsen, avlevert ved inhalasjon, har imidlertid vist seg egnet som trygg behandling av respiratoriske infeksjoner
20 forårsaket av alle følsomme gramnegative bakterier, inklusivt *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*-arter og *Serratia marcescens*, så vel som og viktigere, de antibiotikaresistente stammene *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikamentresistente
25 *Pseudomonas aeruginosa*.

B. Doseringshyppighet

Doseringshyppigheten er et annet aspekt ved denne oppfinnelse. Behandling av pulmonale infeksjoner forårsaket av ovennevnte bakterier oppnås
30 gjennom et behandlingsregime som én til flere, fortrinnsvis fire ganger per dag i et inhalerbart aztreonam. Det mest foretrukne doseringsregime for pasienten er én eller to ganger per dag, men på grunn av en spesifikk effekt som aztreonam utøver på bakteriene, og på grunn av dets relativt korte levetid på ca. 12 timer,

fordres ofte hyppigere dosering for fullstendig utryddelse av bakterien fra det endobronkiale rom.

Hos pasienter med alvorlig nedsatt lungefunksjon kan doseringshyppigheten økes opptil ca. tolv ganger per dag, hvorunder det hver gang bare gis en aztreonammengde som er nødvendig for å opprettholde terapeutisk nivå i lungene.

Aztreonam dreper bakterier ved å lysere cellevegger så lenge den lokale konsentrasjon av antibiotika overskrider bakterienes minste inhiberende konsentrasjon (**Med. Clinics N. Am.**, 79:4, 733-743 (1995)). På grunn av den relativt hurtige utsondring av antibiotika fra respirasjonstrakten som følge av den mukociliære virkning, oppnås større effektivitet ved en lavere dose administrert aztreonam ved å behandle en pasient tre, fire eller flere ganger per dag fremfor å administrere medikamentet bare én eller to ganger. Av den grunn er dosen som avleveres ved inhalasjon minst fire ganger, og kan være tusen ganger, lavere enn den dose som leveres intravenøst eller benyttes i det ene forsøk som er beskrevet ovenfor til å avlevere aztreonam ved forstøvning, hvor 500-1000 mg ble gitt to ganger per dag i en total mengde på 1000 mg for barn under 5 år, og 2000 mg for eldre individer enn 5 år.

Foreliggende døgndose kan være så liten som 2 mg. Den typisk øvre grense er 500 mg aztreonam per dag gitt som to til fire administreringer. I ekstreme tilfeller kan dosen nå opp til 750 mg per dag, avlevert i tre, fire eller flere aerosoladministreringer. Et typisk og foretrukket område for én aerosoldosering er mellom 20 og 200 mg administrert to ganger per dag, eller mellom 10 og 100 mg administrert tre eller fire ganger per dag. For tørrpulverinhalering er dosen for én administrering lavere, typisk mellom ca. 10 og 100 mg per dose og kan maksimalt nå opp i 200 mg per dose.

For forstøvning av aztreonam benyttes avlevering av forstøvet aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en blanding av salter, ved å benytte atomiserings-, jet-, ultralyds-, elektronisk eller annen likeverdig nebulisator. De som er portable, som f.eks. atomiserings-, ultralyds- og elektroniske nebulisatorer foretrekkes for ambulatorisk behandling. Jetnebulisatorene med en kompressor nebuliserer aztreonamformuleringen meget effektivt, men er bedre egnet for bruk i sykehuset og legekontoret.

En tørrpulverinhalasjon, som den andre administrasjonsmåte av det inhalerbare aztreonam, benytter også aztreonamet eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en blanding derav, men aztreonam formuleres som en aztreonam-tørrpulverformulering. En slik blanding innebærer en avlevering av det finmalte aztreonam direkte til det endobronkiale rom. I dette tilfelle avleveres aztreonam til det endobronkiale rom ved å benytte tørrpulverinhalatorer eller doseringsinhalatorer. Styrken av aztreonamet bestemt på massebasis, muliggjør inhaleringen av aztreonampulver som en alternativ måte for administrering for aerosolet. Tørrpulverinhalasjon er mest effektiv, praktisk og økonomisk når de administrerte dosene inneholder mindre enn 100 mg. Doseringshyppigheten er således i alminnelighet tre eller fire ganger per dag, men innbefatter også regimer med én eller to eller flere enn fire doseringer avhengig av pasientens behov og tilstand.

Oppfinnelsen tilveiebringer en tilstrekkelig potent blanding av aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i en tørrpulverform avlevert som doseringsinhalasjon av aztreonampartikler oppmalt eller forstøvningstørket til partikkelstørrelser hovedsakelig innen området 1 til 5 μ . Slik tørrpulveravlevering er mulig og foretrukket særlig for ambulatorisk inhalasjon ved at det forenkler avleveringsprosessen. Slik avlevering er lettvinnt fordi den ikke fordrer noen ytterligere håndtering, som f.eks. fortynning av tørrpulveret eller blanding av pulveret med et løsningsmiddel, etc. Tørrpulverinhalasjonen benytter dessuten anordninger som er tilstrekkelig små, fullstendig portable og ikke for eksempel fordrer en luftkompressor, noe som trengs for en jetnebulisator. Tørrpulverformuleringen har dessuten enda lenger holdbarhet enn den flytende aztreonamformulering for aerosoldannelse.

Doseringsregimet både for aerosol og tørt aztreonampulver omfatter i alminnelighet fra en til fire, eller i ikke typiske tilfeller, administrering mer enn fire ganger per dag av aerosolet eller tørrpulveret.

Alvorlig svekkede cystisk fibrose-pasienter kan for eksempel være i stand til bare å tåle én inhalasjon om gangen, men kan gjenta denne inhalasjon av små mengder aztreonam annen hver, tredje hver eller fjerde hver time for å oppnå tilstrekkelig aztreonamnivå i lungene.

V. Anordninger for avlevering av forstøvet aztreonam

Et primært krav til denne oppfinnelse er effektiv avlevering av aztreonam til luftveienes endobronkiale rom på en økonomisk måte. Oppfinnelsen fordrer således at minst 30-50%, fortrinnsvis 70-90% av virkestoffet, hvilket vil si aztreonam eller et salt derav, som er gjenstand for nebulisering, faktisk avleveres
5 til et sted hvor det utøver dets terapeutiske virkning.

a) Nebulisatorer

Utarbeidelsen av den ovenfor beskrevne oppfinnelse har ført til medikamentet formulert i en løsning som muliggjør avlevering av en terapeutisk
10 effektiv mengde av medikamentet, forutsatt at den aerosol som utvikles ved nebuliseringen oppfyller de krav som fordres for slik effektiv avlevering. Apparatet (nebulisatoren) som forstøver formuleringen av aztreonam, blir således en meget viktig del av oppfinnelsen.

Det er kommersielt tilgjengelig en rekke nebulisatortyper. Ikke alle egner
15 seg for foreliggende oppfinnelse.

En nebulisator velges primært på det grunnlag å danne en aztreonamaerosol som har en mass median aerodynamic diameter hovedsakelig på mellom 1 og 5 μ . Den avleverte mengde av aztreonam må være effektiv for
20 behandling og forebyggelse av endobronkiale infeksjoner, særlig de som forårsakes av følsomme bakterier. Den valgte nebulisator må derfor være i stand til effektivt å forstøve formuleringen som har salinitet, osmotisk styrke og pH justert for å muliggjøre utvikling av en aztreonamaerosol som er terapeutisk effektiv og som tolereres godt av pasienter. Nebulisatoren må kunne håndtere formuleringen som har et minst mulig forstøvbart volum og enda være i stand til å
25 avlevere en effektiv dose aztreonam til infeksjonsstedet. Den forstøvede formuleringen må dessuten ikke svekke luftveienes funksjon og må minske uønskede bivirkninger.

Enkelte nebulisatorers manglende evne til å nebulisere terapeutiske mengder medikamenter til aerosoler av liten og jevn partikkelstørrelse, er velkjent.
30 For effektiv avlevering av aztreonam er et område av forstøvede partikler med MMAD som trengs for å avlevere medikamentet til det endobronkiale rom, infeksjonsstedet, i området 1-5 μ . Mange kommersielt tilgjengelige nebulisatorer kan forstøve store volumer av løsningen med sikte på å avlevere minst 10% av

volumet til det endobronkiale rom ved å produsere ca. 90% av store aerosolpartikler på mer enn 5 μ , hvor et meget stort antall partikler er i området 50-100 μ . Disse nebulisatorene er ineffektive og ikke egnet for avlevering av aztreonam i henhold til denne oppfinnelse.

5 For å være terapeutisk effektiv bør størstedelen av de forstøvede aztreonampartiklene ikke ha større mass median aerodynamic diameter (MMAD) enn mellom 1 og 5 μ . Når aerosolet inneholder et større antall partikler med større MMAD enn 5 μ , avleires disse i de øvre luftveier og nedsetter den antibiotikamengde som avleveres til infeksjonssetet i den nedre respirasjonstrakt.

10 Tidligere har det vært vist at to typer nebulisatorer, jet- og ultralyds-nebulisatorer kan produsere og avlevere aerosolpartikler som har størrelse mellom 1 og 5 μ . Disse partikkelstørrelsene er optimale for behandling av pulmonale bakterieinfeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier, som f.eks. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*-arter, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa*. Med mindre det benyttes en spesielt formulert løsning trenger imidlertid disse nebulisatorene i alminnelighet større volumer for å
20 administrere en tilstrekkelig medikamentmengde for å oppnå en terapeutisk effekt. Uten et spesielt formulert aztreonam oppnås derfor ikke effektiv avlevering av aztreonam.

Nebulisatorer som er egnet for denne oppfinnelse må kunne nebulisere et lite volum av formuleringen effektivt, hvilket vil si i aerosolpartikkelstørrelsen
25 hovedsakelig innen området 1-5 μ . Hovedsakelig betyr i denne sammenheng at minst 70%, men fortrinnsvis mer enn 90%, av alle utviklede aerosolpartikler er innen 1-5 μ området.

Jet- og ultralyds-nebulisatorer kan produsere og avlevere partikler mellom 1 og 5 μ partikkelstørrelsen. En jetnebulisator benytter lufttrykk-bryting av en vandig aztreonamløsning til aerosoldråper. En ultralydsnebulisator benytter skjærkrefter
30 fra en piezoelektrisk krystall på den vandige aztreonamløsning.

Jetnebulisatorer er imidlertid typisk bare ca. 10% effektive under kliniske betingelser, mens ultralyds-nebulisatoren bare er ca. 5% effektiv. Den avsatte og

absorberte mengde i lungene er således en brøkdel av de 10% på tross av de store mengder medikament som anbringes i nebulisatoren.

En type nebulisator som er egnet og foretrukket for aztreonamavlevering er en atomiserende nebulisator som består av en væske-oppbevaringsbeholder i flytende kontakt med diafragmaet og inhalasjons- og ekshalasjonsventiler. For administrering av aztreonamformuleringen anbringes 1 til 5 mL av formuleringen i lagringsbeholderen, hvorpå aerosolgeneratoren utløses og produserer atomisert aerosol av partikkelstørrelser selektivt mellom 1 og 5 μ .

Typiske nebuliseringsanordninger egnet for foreliggende oppfinnelse innbefatter atomiserings-nebulisatorer eller modifiserte jetnebulisatorer, ultralyds-nebulisatorer, elektroniske nebulisatorer, vibrerende porøse platenebulisatorer og energiserte tørrpulverinhalatorer modifisert for håndtering av et lite volum høykonsentrert medikament i en bestemt blanding som har en bestemt pH, osmolalitet og salinitet. Mest foretrukket er PARI inhalasjonsnebulisatoren beskrevet i PCT/US00/29541 modifisert for å oppfylle kravene ifølge denne oppfinnelse.

b) Tørrpulverinhalatorer

Tørt pulver administreres som sådant ved å benytte anordninger som avgir det tørre pulveret direkte til lungene.

Det finnes to hovedutførelser av tørrpulverinhalatorer. Den ene utførelsen er avmålingsanordningen, hvor et reservoar for medikamentet anbringes i anordningen og pasienten tilsetter en dose av medikamentet i inhalasjonskammeret. Den andre er en fabrikktilpasset anordning, hvor hver individuell dose er fremstillet i en egen beholder. Begge systemer avhenger av formuleringen av medikament til små partikler av en MMAD fra 1 til 5 mikron, og som vanligvis involverer ko-blanding med større hjelpestoffpartikler (typisk laktosepartikler med 100 mikron diameter). Medikamentpulver anbringes i inhalasjonskammeret (enten ved avmåling i anordningen eller ved brytning av en fabrikkavmålt dose) hvorpå pasientens innåndingsluft aksellererer pulveret ut av anordningen og inn i munnhulen. Ikke laminære strømningssegenskaper ved pulverbanen får hjelpestoff-medikamentaggregatene til å dekomponeres, og

massen av de store hjelpestoffpartiklene forårsaker deres støt mot baksiden av halsen, mens de mindre medikamentpartiklene avleires dypt i lungene.

Dagens teknologi for tørrpulverinhalatorer er slik at grensene for nyttelast er ca. 100 mg pulver. Den manglende langtidsstabilitet av aztreonam i en vandig
5 løsnings som følge av hydrolyse gjør tørrpulverinhalator-teknologi til en foretrukket
avleveringsanordning for aztreonam-tørrpulver.

C. Aerosol- eller tørrpulverpartikkelstørrelse

Partikkelstørrelsen av aztreonam-aerosolformuleringen er ett av de viktigste
10 aspekter ved oppfinnelsen. Dersom partikkelstørrelsen er mer enn 5 μ , avleires
partiklene i de øvre luftveier. Dersom partikkelstørrelsen av aerosolen er mindre
enn 1 μ , blir den ikke avleiret i det endobronkiale rom, men fortsette for å bli
avlevert i alveolene og kan bli overført til det systemiske blodkretsløp.

En jetnebulisator benytter lufttrykk for å bryte opp en væskeløsning i
15 aerosoldråper. En ultralyds-nebulisator virker ved hjelp av en piezoelektrisk
krystall som skjærer en væske til små aerosoldråper. Et trykk-nebuliseringssystem
tvinger løsningen under trykk gjennom små porer for å frembringe aerosoldråper. En
vibrerende porøs plateanordning benytter hurtig vibrering for å skjære en
væskestrøm til passende dråpestørrelser. Bare noen formuleringer av aztreonam
20 kan imidlertid nebuliseres effektivt siden anordningene er følsomme for pH og
salinitet.

I tørrpulverinhalatorer benyttes det tørre aztreonampulver fremstillet som
beskrevet ovenfor, i doser fra 1 til 100 mg, fortrinnsvis fra 10-50 mg tørt pulver,
direkte som partikler som har størrelser mellom 1 og 5 μ .

25

D. Effektivitet av aztreonam-nebulisering

Utvalg og valg av nebulisatoren påvirker i høy grad effektiviteten av den
inhalerbare aztreonamavlevering.

En kombinasjon av en aerosolformulering av aztreonam og en
30 nebuliseringsanordning øker betydelig effektiviteten og hastigheten av
medikamentadministrering. For tiden er for eksempel den gjennomsnittlige tid for
administrering av andre aerosolformede medikamenter, som for eksempel
tobramycin, 15-20 minutter per dose. Den nødvendige tid for denne behandling

representerer en betydelig belastning for pasienten og bidrar til nedsatt etterlevelse av BID-regimet.

Nebulisatorsystemet benyttet for tobramycin-administrering er dessuten mindre effektivt enn nye forstøvningsanordninger. Den totalt avleirede dose av tobramycin i lungene er i 12 til 15% området. Ca. 30% av det tilførte medikament
5 forblir i nebulisatoren ved avsluttet behandling, og av den del som forstøves emitteres ca. 30% som får store eller små partikler til å nå de nedre luftveier.

Den nye atomiserings-nebulisatoren som sender ut 8 til 10 mikroliter/sekund, eller 0,48 til 0,60 mL/minutt kan avlevere
10 medikamentmateriale 2 til 4 ganger hurtigere enn tidligere nebulisatorer, som for eksempel PARI LC plus nebulisatoren. Den nye nebulisatoren kan forstøve ca. 90% av den tilførte dose, hvorav 85% eller mer av aerosolpartiklene er innen det størrelsesområdet som fordres for avleiring i nedre luftveier. Resultatet er at administrering av en spesifikt utviklet blanding av aztreonam ved å benytte
15 atomiserings-nebulisatoren fører til betydelig forbedring i lokal avlevering til luftveiene, til kortere tid for avleveringen og, avhengig av sluttkonsentrasjonen av aztreonamløsningen, reduserer behandlingstiden helt ned til 4 minutter.

VI. Behandling av pulmonale bakterieinfeksjoner

20 En effektiv behandling og forhindring av akutte og kroniske pulmonale bakterieinfeksjoner forårsaket av *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*-arter og *Serratia marcescens* så vel som infeksjon forårsaket av de antibiotikaresistente stammene *Burkholderia cepacia*,
25 *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikament-resistent *Pseudomonas aeruginosa* er således mulig.

A. To måter for inhalerbar behandling

Behandling av pulmonale infeksjoner omfatter administrering av aztreonam
30 i inhalerbar form enten som aerosol eller som et tørt pulver, flere ganger per dag. Aztreonam-døgndosen er mellom 1 og 500 mg/dag, unntaksvis med doser opp til 750 mg/dag administrert i fra 1-50 mg/mL for aerosol og fra 2 til 200 mg døgndoser av tørt pulver administrert i en dose på 1-100 mg per behandling.

Aztreonam-doseringen og doseringshyppigheten avhenger av typen av bakterie-infeksjon, alvoret av denne, pasientens alder, pasientens tilstand, etc. Når det gjelder pasienter med cystisk fibrose hvor lungens luftkapasitet er nedsatt, er doseringen hyppigere med lavere doser.

5 Den tørre pulverformuleringen som egner seg for behandling av pulmonale infeksjoner omfatter 1 til 200 mg, fortrinnsvis ca. 10 til 100 mg, pulver i en amorf eller krystallinsk tilstand, i partikkelstørrelser mellom 1 og 5 mikron i mass median aerodynamic diameter, nødvendig for effektiv avlevering av aztreonam til det endobronkiale rom. Tørrpulverformuleringen avleveres én til fire ganger per dag
10 eller oftere, fortrinnsvis to ganger per dag. Den tørre pulverformuleringen er temperaturstabil og har en fysiologisk akseptabel pH på 4,5-7,5, fortrinnsvis 5,5 til 7,0, og en mer enn fem år lang holdbarhet.

B. Behandling av infeksjoner hos pasienter med suppurative pulmonale sykdommer

Aerosolbehandling er særlig egnet for behandling av pasienter som lider av suppurative pulmonalsykdommer og er spesielt egnet til behandling av pasienter med cystisk fibrose, bronkiektasi og pasienter på kunstig ventilasjon.

20 Tidligere har aerosolbehandling med inhalert antibiotika for cystisk fibrose (ATCF) vist en betydelig fordel av slik behandling til pasienter med cystisk fibrose (CF) som lider av kroniske pulmonale infeksjoner.

I USA har det mest utstrakt anvendte og vellykkede middel i så henseende vært tobramycin, som har vist seg å gi betydelige forbedringer i lungefunksjon og andre kliniske parametere.

25 Det er nå oppdaget at inhalerbart aztreonam gir vellykket behandling ved cystisk fibrose, bronkiektasi eller annen suppurativ pulmonalsykdom ved pulmonale infeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier, og særlig de forårsaket av antibiotikaresistent *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og multimedikamentresistent *Pseudomonas*
30 *aeruginosa*.

Behandling av disse multiresistente bakterielle infeksjonene med forstøvet aztreonam har vært vellykket ved bekjempelse av bakteriene slik som beskrevet i Eksempel 2.

Slik behandling benyttes alene eller kan komplettere behandling med andre antibiotika, som f.eks. tobramycin, som etter lengre anvendelse resulterer i utvikling av anti-tobramycinresistens. Når behandling med tobramycin skjer avbrutt med periodevis behandling med aztreonam utvikles enten ikke slik resistens eller
 5 avtar den.

C. Begrensninger ved dagens aerosolformede antibiotika ved behandling av cystisk fibrose

Hittil er et aminoglykosid, tobramycin, det eneste antibiotikum med FDA-
 10 godkjenning for administrering som aerosol. På tross av de fordeler som oppnås hos pasienter med cystisk fibrose ved administrering av forstøvet tobramycin er dets nytte noe begrenset.

For det første fører hyppig anvendelse av aminoglykosider til å kontrollere pulmonale eksaserbasjoner, til selektiv utvikling av resistente *Pseudomonas*
 15 *aeruginosa*-stammer. Den utstrakte opptreden av slike organismer ansees som en tiltagende krise innenfor CF-området. For eksempel viste en screening fra 69 forskjellige CF-sentere med henblikk på fase III kliniske tobramycinforsøk at 21% hadde isolater som var resistente overfor tobramycin (MIC > 16 µg/mL). Mange klinikere er derfor tilbakeholdne med foreskrivning av dette forstøvede
 20 aminoglykosid som kronisk suppressiv terapi i frykt for at det ytterligere kunne fremme resistens og derved minske effektiviteten av IV-terapi. For å redusere risikoen for slik behandlings-forårsaket resistens er tobramycinbehandling begrenset til sykluser på 28 dager med og 28 dager uten medikamentet.

En annen begrensning ved forstøvet tobramycin er dets manglende virkning
 25 mot flere naturlig tobramycinresistente bakterier, inklusivt *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* og *Burkholderia cepacia*, hvorav sistnevnte er alminnelig ansett som en betydelig trussel for pasienter med cystisk fibrose. Pasienter med cystisk fibrose infisert med *Burkholderia cepacia* har en øket mortalitetsrate og mange erfarer et hurtig dødelig forløp, som beskrevet i **Am. J.**
 30 **Respir. Crit. Care. Med.** 160:1572-1577, (1999). Dessuten er *Burkholderia cepacia* en overførbart infeksjon som kan forårsake epidemisk spredning blant pasienter med cystisk fibrose. En pasient infisert med *Burkholderia cepacia* må derfor isoleres fra andre pasienter.

Forstøvet aztreonam induserer ikke resistens overfor aminoglykosider og har virkning mot resistente patogener observert hos pasienter med cystisk fibrose.

Et forstøvet aztreonam kan enten erstatte tobramycin eller benyttes som en alternativ eller intermitterende behandling for tobramycin under de 28 dagers
5 tobramycinfrie perioder, som fordres for å forhindre utvikling av permanent resistens overfor tobramycin.

Aztreonam er et antibiotikum med utmerket aktivitet mot mange aerobe gramnegative bakterier, inklusivt multiresistent *Pseudomonas aeruginosa*. Virkningsspekteret av aztreonam ligner det for aminoglykosid-antibiotikaene
10 tobramycin og gentamycin, og dets antipseudomonas-aktivitet er sammenlignbar med ceftazidimets.

Aztreonam motstår destruksjon av de fleste bakterielle β -laktamaser, som er kilden til mye behandlingsforårsaket resistens mot β -laktamantibiotika som ofte opptrer blant sykehusinnlagte pasienter.

15 Aztreonamets aktivitet mot gramnegative bakterier, spesielt *Pseudomonas aeruginosa* kombinert med dets utmerkede trygghetsprofil, gjør det til et godt alternativ for aminoglykosider ved behandlingen av kroniske pulmonale infeksjoner blant pasienter med cystisk fibrose. Så langt har klinisk anvendelse av aztreonam til CF-pasienter inkludert IV-administrering av aztreonam som et enkelt
20 middel eller i kombinasjon med andre antibiotika for behandling av pulmonale eksaserbasjoner.

D. Fordeler ved aztreonam som et forstøvet antibiotikum

Aztreonam har flere trekk som gjør det meget attraktivt for administrering
25 som aerosol til CF-pasienter.

Det første av disse trekk skriver seg fra dets virkningsmekanisme som til forskjell fra aminoglykosid-antibiotika, som involverer preferensiell binding til penicillinbindende protein 3 (PBP3) og påfølgende interferens med bakteriell
celleveggsyntese. Siden aztreonamets virkningsmekanisme adskiller seg fra
30 tobramycinets, bidrar ikke dets anvendelse til utvikling av aminoglykosidresistente stammer av *Pseudomonas aeruginosa*.

Den andre fordel ved en forstøvet blanding av aztreonam er dets aktivitet mot tobramycinresistente og multimedikamentresistente *Pseudomonas*

aeruginosa. Når isolater fra pasienter som inngikk i fase II tobramycinforsøkene ble undersøkt, var nesten 75% av isolater med en tobramycin MIC >16 µg/mL følsomme for aztreonam.

Det tredje trekk er forstøvet aztreonams evne til å kontrollere naturlig
 5 tobramycinresistente organismer, spesielt *Burkholderia cepacia*, som ansees
 resistent for de aztreonamnivåer som oppnås ved parenteral administrering.

VII. *In vitro* testing

For å teste antibakteriell aktivitet av forstøvet aztreonam mot multiresistente
 10 stammer av *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* og *Alcaligenes xylosoxidans*, ble *in vitro* virkningene av aztreonam i konsentrasjoner som tilsvarende de som kan oppnås med inhalerbart aztreonam, testet mot kliniske isolater fra pasienter med cystisk fibrose.

Avleveringen av aztreonamaerosol i henhold til oppfinnelsen når
 15 aztreonam-konsentrasjoner i nivåer fra 500 helt opp til 8000 µg/mL, med et
 gjennomsnittlig nivå på ca. 2000 µg/mL aztreonam i spyttet. Disse nivåene
 avhenger av formuleringen så vel som av den nebulisator som benyttes for
 aerosoldannelse. Med enkelte nebulisatorer kan konsentrasjonen av aztreonam
 nå et gjennomsnittlig nivå på 5000 µg/mL.

20 Følsomheter bestemt *in vitro* av de testede bakterier er prediktive for klinisk
 effektivitet av inhalert aztreonamaerosol eller tørt pulver.

Aztreonam dreper ved å lysere cellevegger så lenge den lokale
 konsentrasjon av antibiotika overskrider bakterienes minste inhiberende
 konsentrasjon (**Med. Clinics N. Am.**, 79:4, 733-743, (1995)).

25 Aktiviteten *in vitro* av høye aztreonamkonsentrasjoner mot kliniske isolater
 av *B. cepacia*, *S. maltophilia* og *A. xylosoxidans* ble testet ved Children's Hospital
 og Regional Medical Center i Seattle, WA. Testingen ble foretatt på buljong-
 mikroforytningsskåler med 2 gangers økninger av aztreonamkonsentrasjoner fra
 2 til 2048 µg/mL. *Staphylococcus aureus*, en grampositiv organisme, ble benyttet
 30 som negativ kontroll. Detaljert fremgangsmåte benyttet for testing er beskrevet i
 Eksempel 1. Resultater fremgår av Tabell 1.

Tabell 1

Organismer (antall isolater)	MIC-område	MIC50	MIC90
<i>P. aeruginosa</i> (54)	2-1024	16	512
<i>B. cepacia</i> (38)	2-2048	32	512
5 <i>S. mallophilia</i> (20)	8 >2048	256	>2048
<i>A. xylosoxidans</i> (20)	2 >2048	256	2048
<i>S. aureus</i> (20)	512-2048	1024	2048

For testingen inneholdt hver mikrobrønnplate en 2-ganger fortynning, 2, 4,
 10 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 og 2048 aztreonam. Hver plate som inneholdt mikrobrønnene ble benyttet til å teste ett isolat av én organisme.

Tabellen viser de forskjellige bakteriearter testet med henblikk på følsomhet, dvs. antibiotikumets evne til å inhibere dets vekst overfor aztreonam, med antall isolater for hver art angitt i parentes. Kolonnen betegnet "MIC-området" viser området av de nedre og øvre følsomhetsgrenser som sees i de testede
 15 isolatene. Kolonnen betegnet MIC50 viser det mediane følsomhetsnivå for de mest følsomme 50% isolatene. Den siste kolonnen, betegnet MIC90, viser medianverdien for følsomhetsnivået for de mest følsomme 90% av isolatene.

Tabell 1 viser resultater av sammenlignende *in vitro* aktivitet av aztreonam
 20 overfor kliniske isolater oppnådd fra pasienter med cystisk fibrose.

For tolkning av disse data er disse verdier som representerer hvilken aztreonamkonsentrasjon som fordres for å inhibere vekst av bakterier, sammenlignet med de aztreonamkonsentrasjoner som kan oppnås ved hjelp av de ulike administrasjonsmåter. For intravenøs administrering av aztreonam er
 25 således serumnivået etter administrering av 2 g aztreonam, den maksimalt tillatte intravenøse dose, på maksimum på 256 µg/mL og avtar deretter hurtig. 6 timer etter administreringen er aztreonamnivået i serumet i området 16 µg/mL. Av sikkerhetsgrunner kan aztreonam administreres intravenøst bare hver sjette time. Med det eventuelle unntak av *Pseudomonas aeruginosa* som har en MIC50 på
 30 16 µg/mL, ville alle andre organismer hovedsakelig være resistente overfor intravenøst aztreonam, idet deres resistensnivå overskrider selv den maksimale konsentrasjon (256 µg/mL) av serumkonsentrasjon av aztreonam i spytt etter intravenøs administrering. Siden bakterieresistens imidlertid er relativ i forhold til

medikamentkonsentrasjon, bør maksimalkonsentrasjonen ved aerosoladministrering være minst i 500 til 2000 µg/mL området. Dette området oppnås med dosene av aztreonam og formuleringen ifølge oppfinnelsen kombinert med den effektive nebulisator. Ved konsentrasjonen på 500-
5 2000 µg/mL i spyttet, er aerosolbehandlingen i henhold til denne oppfinnelse i stand til å behandle de fleste endobronkiale infeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier, nærmere bestemt bakteriene angitt i Tabell 1, selvsagt med unntak av *Staphylococcus aureus*.

MIC50 og MIC90 har vist at behandling av *P. aeruginosa* med inhalerbar
10 aztreonam bekjemper de fleste *P. aeruginosa*-isolater med de høye konsentrasjonene av aztreonam som kan oppnås i spytt fra pasienter med cystisk fibrose etter aerosolavlevering. Dataene oppnådd for *Burkholderia cepacia* isolat tyder på at minst halvparten av pasientene ville kunne forventes å respondere på slik behandling med bekjempelse av bakterien. Dersom tilstrekkelig høye
15 konsentrasjoner av aztreonam avleveres til lungene, forventes andelen å være høyere. Siden *Burkholderia cepacia* infeksjon nå ansees som en stort sett uhelbredelig tilstand er behandling med inhalerbar aztreonam som aerosol den første dokumenterte effektive terapi.

Resultatene oppnådd i disse studiene er overraskende og uventede, siden
20 det i litteraturen ikke er noen indikasjon på at *Burkholderia cepacia* er følsom for behandling med aztreonam. Dataene viser også at enkelte isolater av *S. maltophilia* og *A. xylosoxidans* responderer på høye konsentrasjoner av aztreonam.

Inhalasjon av aztreonam i henhold til oppfinnelsen gjør det mulig å oppnå
25 så høye aztreonamkonsentrasjoner i spyttet som 2000-5000 µg/mL. Aztreonamnivåene i spytt oppnådd via aerosoladministrering er større enn de som fordres for å inhibere organismer som er ansvarlige for infeksjoner som ellers ikke lar seg behandle hos CF-pasienter.

Aztreonam avlevert ved inhalasjon til alle pasienter med *Burkholderia*
30 *cepacia* og/eller *S. maltophilia* og/eller *A. xylosoxidans* sammen med andre antibiotika, enten de administreres systemisk, parenteralt eller ved inhalasjon, bidrar dessuten til synergisme av behandlingen. En kombinasjon av inhalerbart

aztreonam med andre antibiotika utgjør en annen terapeutisk tilnærming til behandling av multiresistente bakteriestammer.

De studier som her er beskrevet har vist at konsentrasjonene av aztreonam oppnådd etter aerosoladministrering, har virkning mot *Burkholderia cepacia* isolert fra spytt fra CF-pasienter, såvel som mot andre bakterier som i stor grad er resistente overfor behandling med andre antibiotika.

MIC50- og MIC90-verdiene observert for en grampositiv bakterie, *Staphylococcus aureus*, viser at høye konsentrasjoner av aztreonam hadde en viss virkning mot denne grampositive bakterien. Disse funn har imidlertid ingen stor betydning, siden det finnes mange andre medikamenter med rimelig effektivitet mot *Staphylococcus aureus*.

VIII. *In vivo* testing

De infeksjoner som fordrer særlig oppmerksomhet er infeksjoner forårsaket av, og inkluderer *B. cepacia*, *S. maltophilia* og *A. xylosoxidans*, så vel som multiresistente stammer av *Pseudomonas aeruginosa*, hvorav den klinisk mest betydningsfulle infeksjon er førstnevnte.

For å bestemme om et riktig formulert aztreonam for aerosoldannelse kunne være effektiv for behandling av disse sjeldne, men meget resistente bakteriestammene, ble behandling med forstøvet aztreonam satt i gang og testet på en pasient med cystisk fibrose som hadde en alvorlig *Burkholderia cepacia* infeksjon som ikke responderte på noen annen behandling. Den kliniske behandling og resultatene oppnådd med et forstøvet aztreonam er beskrevet i Eksempel 2.

25

ANVENDELSE

Behandling og de inhalerbare aztreonamblandingene egner seg for behandling av respirasjonstraktinfeksjoner forårsaket av *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, og multimedikamentresistente *Pseudomonas aeruginosa*, så vel som for behandling av andre pulmonale infeksjoner forårsaket av gramnegative bakterier.

30

EKSEMPEL 1***In vitro* testing av isolater fra pasienter med cystisk fibrose**

Dette eksempel beskriver en fremgangsmåte benyttet for *in vitro* studier av bakterieisolater oppnådd fra pasienter med cystisk fibrose.

5 Bakterielle respirasjonstraktisolater (144) fra pasienter med CF, som var lagret ved -70°C, ble dyrket ved to påfølgende passasjer over natten ved 37°C på 5% blodagar (Remel, Lenexa, KS).

Minste inhiberende konsentrasjoner (MIC-verdier) ble bestemt gjennom følgende trinn:

10

MIC antimikrobiell testing av aerobe organismer

1. MIC-skåler ble brakt til romtemperatur.
2. 3,0 mL fysiologisk saltvann ble inokulert med en 18-20 timers kultur av organismen som skulle testes, til en turbiditet som tilsvarte en
15 0,5 McFarland Standard ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Dette tilsvarer en OD600 på 80-88% transmisjon.
3. I løpet av 15 minutter etter tilberedning ble den justerte inokulum-suspensjon fortynnet ved overføring av 100 mL i et 2,9 mL fortynningsmiddel av sterilt vann.
- 20 4. Suspensjonen ble forsiktig blandet ved invertering, og 10 mL ble helt over i hver MIC-brønn som opprinnelig hadde et volum på 100 μ L. Slutt-konsentrasjonen i hver brønn var 5×10^5 CFU/mL eller 5×10^4 CFU/brønn.
5. Skåler ble inkubert aerobt ved 37°C i 16-20 timer. Den samme
25 inkubasjonstemperatur ble opprettholdt i alle kulturer. Mikrofortynningsskåler ble ikke stablet mer enn fire i høyden.
6. Antimikrobielt slutt punkt ble avlest og registrert som den første brønn som ikke viste noen lett synlig vekst eller uklarhet påvist med det blotte øye.
- 30 7. Mikrofortynningsskåler ble kontaktet med tofoldige konsentrasjoner av aztreonam fra 2 til 2048 mg/mL. Hver mikrobrønnplate ble behandlet med en tofoldig fortynning av aztreonam i følgende mengder: 2, 4, 8, 16,

32, 64, 128, 256, 512, 1024 og 2048 µg/mL. Hver plate inneholdende mikrobrønnene ble benyttet for å teste ett isolat av én organisme.

8. Resultater ble avlest og registrert.

5

EKSEMPEL 2

Klinisk behandling av pasient med *Burkholderia cepacia*

Dette eksempel beskriver et første gangs funn av effektivitet av behandling med forstøvet aztreonam av en cystisk fibrose pasient som led av resistent *Burkholderia cepacia*.

10 Pasienten var en 20 år gammel kvinne med cystisk fibrose og lungesykdom i sluttstadiet. Hun hadde diagnosen pulmonale infeksjoner med *Burkholderia cepacia* som var blitt resistente overfor alle kjente intravenøse, perorale og inhalerte antibiotika. Hun hadde to dokumenterte genetisk forskjellige stammer av *Burkholderia cepacia*. Av denne grunn var pasienten utelukket som kandidat for
15 lungetransplantasjon.

Pasienten ble gitt en blanding ifølge oppfinnelsen omfattende 200 mg/mL aztreonam og bedt om å benytte denne blanding i 3 til 5 mL fortynningsmiddel og benytte den i en luftkompressordrevet pusteforsterkende jetnebulisator og ta denne behandling to ganger per dag. Denne type nebulisator avleverer bare ca.
20 10 til 20% av dosen anbragt i nebulisatoren til lungene, men dette var den eneste nebulisatoren som pasienten hadde til rådighet hjemme.

Etter tre måneders kontinuerlig behandling to ganger per dag var lungeinfeksjonen vellykket behandlet og ingen tegn på *Burkholderia cepacia* kunne påvises. Pasienten ble ansett behandlet for infeksjonen og ble tilslutt underkastet
25 en vellykket lungetransplantasjon.

Det forekom ingen postoperativ rekurrens eller tilbakefall av *Burkholderia cepacia* infeksjonen på tross av intens immunsuppresjonsterapi etter transplantasjonen.

Dette var overraskende funn siden tidligere anvendelse av kommersielt
30 tilgjengelig aztreonam i en eldre generasjon avlevert i enda mindre effektive nebulisatorer ikke førte til utryddelse av *P. aeruginosa*, som beskrevet i **Clinics Chest Med.**, 19:473-86, (Sept. 1998). I dette forsøk stanset forfatterne behandlingen ved utviklingen av enhver aztreonamresistens fremfor å fortsette

behandling av disse pasientene. Tidligere arbeid prøvde ikke eller vurderte ikke, hvorvidt denne terapi kunne vært effektiv til behandling av andre gramnegative bakterier, herunder *Burkholderia cepacia*, *S. maltophilia*, *X. xylosoxidans* eller andre multimedikamentresistente pseudomonas-infeksjoner.

5 Resultatene oppnådd ved behandling av ovennevnte pasient er enda mer overraskende ved at utryddelsen av *Burkholderia cepacia* er en usedvanlig sjelden forekomst, særlig når infeksjonen er veletablert slik som tilfellet var for denne pasient.

10

EKSEMPEL 3

Fremstilling av aztreonam-tørrpulver

Dette eksempel gir fremgangsmåter benyttet for fremstilling av aztreonam-holdig inhalerbart tørt pulver.

For tørrpulverformulering ifølge oppfinnelsen oppmales et rensed
15 aztreonamantibiotikum, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til et pulver som har mass median aerodynamic diameter varierende fra 1 til 5 μ i mediamølle, strålemølle, ved forstøvningstørking eller partikkelutfellingsteknikker.

Bestemmelser av partikkelstørrelse foretas ved å benytte en flertrinns
Andersons kaskadeinpaktor.

20 Mediaoppmaling kan oppnås ved å anbringe medikamentsubstansen i en mølle som inneholder for eksempel rustfrie stål- eller keramiske kuler og rotering eller tromling av materialet inntil de ønskede størrelsesområder av medikamentpartikler er oppnådd.

Strålemøller benytter luftstrømmer av meget høyt trykk til å kollidere
25 partikler med hverandre, hvor finpartikler av den ønskede størrelse uttas fra møllen.

Forstøvningstørking oppnås ved spraying av en fin tåke av medikament-løsning på en bærer og tørking av partiklene. Partiklene blir deretter oppsamlet.

Partikkelutfelling oppnås ved å tilsette et medløsningsmiddel til
30 forstøvningstørkede partikler. Løseligheten av medikamentet avtar til det punkt hvor det dannes faste medikamentpartikler. Partiklene oppsamles ved filtrering eller sentrifugering. Utfelling har den fordel at den er meget reproducerbar og kan foretas under lave temperaturbetingelser, hvilket reduserer nedbrytning.

EKSEMPEL 4

Tørrpulverinhalatorer

De tørre pulverformuleringene ifølge oppfinnelsen kan benyttes direkte i doserings- eller tørrpulverinhalatorer.

En doseringsinhalator består av tre komponenter: en beholder som inneholder drivmiddelmedikamentsuspensjon, en avmålingsventil beregnet på å avgi nøyaktig avmålte volumer av drivmiddelsuspensjonen, og et munnstykke som inneholder en sprederåpning som den avmålte dose avleveres fra. I hvileposisjon er ventilens målekammer forbundet med medikamentsuspensjonreservoaret via en påfyllingsfure eller åpning. Ved aktivering av ventilen stenges avfyllingsfuren og avmålingskammeret eksponeres for atmosfæretrykk via sprederåpningen i munnstykket og ventilspindelåpningen. Denne hurtige trykkreduksjon fører til øyeblikkelig koking av drivmidlet og utstøting av den hurtig ekspanderende blanding fra målekammeret. Væske/tåkeblandingen entrer deretter ekspansjonskammeret som utgjøres av det innvendige volum av ventilspindel og munnstykket. Blandingen ekspanderes videre før den, av dens eget trykk, utstøtes fra spraydysen. Ved utløpet av sprayåpningen drives de flytende ligamentene som er innleiret i drivmiddeldamp, fra hverandre av aerodynamiske krefter. På dette trinn er dråpene typisk 20 til 30 μ i diameter, og to-fase damp-væskeblandingen beveger seg med lydens hastighet (ca. 30 meter per sekund). Ettersom dråpeskyen beveger seg bort fra spraydysen river den med luft fra omgivelsene og deselereres, mens drivmidlet forsvinner gjennom fordampning og de medrevne dråpene tilslutt når deres residuale diameter.

På dette tidspunkt består partikkel/dråpene av en pulverisert medikamentkjerne dekket med overflateaktivt middel. Avhengig av konsentrasjonen og størrelsen av det suspenderte materialet består den pulveriserte medikamentkjerne av enten individuelle medikamentpartikler eller aggregater. For tiden er doseringsinhalator-teknologien optimalisert til avlevering av masser på 80 til 100 mikrogram medikament, med en øvre begrensning avleverbart medikament på 1 mg.

En alternativ måte for tørrpulveravlevering er ved hjelp av tørrpulverinhalatorer. Det finnes to hovedutførelser av tørrpulverinhalatorer, utstyrs-

avmålende utførelser, hvor et medikamentreservoar oppbevares i utstyret og pasienten "lader" en dose inn i inhalasjonskammeret, og fabrikkfremstilte anordninger, hvor hver enkelt dose er fremstilt i en separat beholder. Begge systemer avhenger av blanding av medikament i små partikler med MMAD fra 1 til 5 mikron, og innebærer vanligvis ko-blanding med store hjelpestoffpartikler (typisk laktosepartikler med 100 mikron diameter). Medikamentpulver føres inn i inhalasjonskammeret (enten ved utstyrs-avmåling eller ved å bryte en fabrikkavmålt dose) hvor pasientens innånding akselererer pulveret ut av anordningen og inn i munnhulen. Ikke-laminære strømningskarakteristika for pulverbanen får hjelpestoff-medikamentaggregatet til å dekomponere, og massen av de store hjelpestoffpartiklene bevirker deres anslag mot baksiden av halsen, mens inhalatormedikamentpartiklene avsettes dypt i lungene. Dagens teknologi for tørrpulverinhalatorer er slik at grensene for nyttelasten er ca. 50 mg pulver (hvorav medikamentet vanligvis er en partiell massekomponent). Hjelpestoffer som vanligvis benyttes er laktose, men når det gjelder aztreonam som fri base vil tilsetningen av aminosyren lysin eller leucin føre til bedre pulverdannelse.

Effektive doseringsnivåer av aztreonamantibiotika for tørrpulverinhalasjon og doseringsinhalasjon resulterer i avlevering av minst ca. 25 mg, og mer foretrukket ca. 50 til ca. 100 mg aztreonamantibiotikum til lungene til pasienten som behandles. Avhengig av effektiviteten av avleveringsanordningen for det tørre pulver, utgjør tørrpulverformuleringer egnet for bruk i henhold til oppfinnelsen, fra ca. 1,0 til ca. 250 mg, fortrinnsvis fra ca. 10 til ca. 100 mg pulver i en amorf eller krystallinsk tilstand, i partikkelstørrelser på mellom 1 og 5 mikron mass median aerodynamic diameter som er nødvendig for effektiv avlevering av antibiotikumet til det endobronkiale rom. Tørrpulverformuleringen kan gis fra 1 til 4 ganger per dag, fortrinnsvis 2 ganger per dag i et tidsrom på minst én dag, mer foretrukket minst fem dager og mest foretrukket minst fjorten dager eller lenger. Tørrpulverformuleringene er temperaturstabile og har en fysiologisk akseptabel pH på 4,0 til 7,5, fortrinnsvis 5,5 til 7,0, og lang holdbarhet.

30

EKSEMPEL 5

Fremstilling av aztreonam-natriumsalt

Dette eksempel beskriver fremgangsmåten benyttet for fremstilling av aztreonam-natriumsalt.

Til en løsning av 10 g (23 mmol) aztreonam i 100 mL MeOH avkjølt i et isbad, ble det dråpevis tilsatt 23 mL (23 mmol, 1,0 ekv.) 1N natriumhydroksydløsning. Den resulterende løsning ble oppvarmet til romtemperatur i løpet av 30 min, hvorpå løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk. Dietyleter (50 mL) ble tilsatt og oppslemmingen konsentrert. Dette trinn ble
5 gjentatt fire ganger for å gi et utbytte på 10,1 g (96%) aztreonam-natriumsalt som et hvitt pulver.

EKSEMPEL 6

10 Fremstilling av løsninger av aztreonam-natriumsalt

Dette eksempel beskriver fremgangsmåten benyttet for fremstilling av en løsning av aztreonam-natriumsalt.

Aztreonam (10 g, 23 mM) fri base ble tilsatt i en tarert 100 mL Erlenmeyer-kolbe. Metanol (25 mL) ble tilsatt til kolben under omrøring med magnetrører.
15 Deretter ble 1N natriumhydroksyd (23 mL, 1 ekvivalent) tilsatt gradvis under omrøring. Etter at løsningen var klar, ble den fjernet fra røreplaten og løsningsmiddeloverskuddet fjernet under redusert trykk for å gi et tørt faststoff. Deionisert vann (166 mL) ble tilsatt dråpevis til det tørre faststoffet, og pH av den resulterende løsning ble justert til den ønskede verdi på 6,5 ved dråpevis tilsetning
20 av 1N svovelsyre under overvåkning med et pH-meter. Ovennevnte fremgangsmåte ble benyttet for å fremstille løsninger av aztreonamsalt som 60 mg/mL ved å justere vekten av aztreonam og volumet av 1N natriumhydroksyd.

EKSEMPEL 7

25 Aztreonamformulering

Dette eksempel illustrerer fremstilling av den aztreonamholdige blanding ifølge oppfinnelsen.

1. Varmt vann for injeksjon (WFI) ble grundig spylt gjennom 20 L Millipore produktbeholder.
- 30 2. Aztreonamstyrken ble målt (g/L) og effektiviteten bestemt.
3. Aztreonam ble tilsatt til en vidhalset prøveflaske og produktbeholderen merket med den nøyaktige vekt.
4. 11,25 kg WFI ble helt over i en ren 20mL Millipore produktbeholder.

5. Under moderat omrøring ble det langsomt tilsatt 33,75 g natriumklorid, USP, og blandingen fortsatt inntil oppløsning.
6. WFI ble tilsatt til produktbeholderen til 12 kg og blandet i 5 minutter.
7. Under stadig blanding ble 100 mL 5N svovelsyre (H_2SO_4) forsiktig tilsatt
5 for hver liter WFI i den endelige blanding.
8. Produktbeholderen ble spylt med nitrogen (N_2).
9. Etter ca. 15 minutters spyling ble oppløst oksygen (O_2) målt ved
kontinuerlig overvåkning av oppløst oksygen i tanken, ved å benytte en
føler.
10. Måling av oppløst O_2 ble fortsatt inntil fem (5) påfølgende målinger viste
10 mindre enn ≤ 3 ppm oppløst O_2 .
11. Ved stadig spyling med N_2 og moderat blanding, ble det tilsatt 562,5 g
(50 g/L) aztreonam og blandingen fortsatt inntil oppløsning.
12. 20 mL prøve av produktformulering ble tatt ut og pH målt. Produkt-
15 formuleringen ble justert til en endelig pH-verdi på 6,0.
13. En alikvot produktformulering ble tatt ut og analysert med henblikk på
aztreonamkonsentrasjon.
14. En alikvot produktformulering ble analysert med henblikk på pH.
15. En alikvot produktformulering ble analysert med henblikk på oppløst O_2
20 (i tre paralleller).
16. Når satsen oppfylte kvalitetskontrollens testkriterier ble produktet frigitt
for anvendelse.
17. Produktet ble nedfrosset til $-20^\circ C$ og holdt ved denne temperatur eller
lavere inntil aktuell anvendelse.

25

EKSEMPEL 8

Testing av nebulisatorer

Det foretas en klinisk undersøkelse for å bestemme den aztreonam-konsentrasjon i aerosolformuleringen som fordres for å oppnå en
30 spyttkonsentrasjon på mellom 500 $\mu g/g$ og 2000 $\mu g/g$ spytt 10 minutter etter
avsluttet aerosoladministrering ved å benytte en atomiserings-, ultralyds- eller
jetnebulisator.

Ved denne undersøkelsen får pasienter med cystisk fibrose en rekke doser på 250 mg aztreonam (5 mL av en 50 mg/mL løsning i 1/4 NS) fra hver av nebulisatorene. Dosene skilles fra hverandre med minst 2 dager, men ikke mer enn 5 dager. Maksimale serum- og spyttkonsentrasjoner bestemmes.

5

EKSEMPEL 9

Klinisk forsøksprotokoll

Dette eksempel beskriver protokollen som benyttes for kliniske forsøk og for å sammenligne farmakokinetiske forhold ved økende dosering av en
10 aztreonamformulering administrert med den elektroniske PARI-nebulisatoren til pasienter med cystisk fibrose.

Primærformålet med denne undersøkelse er å bestemme hvilket av de undersøkte dosenivåer avlevert som aerosol, som kan avlevere tilstrekkelig mengde aztreonam, eller et salt derav, til å oppnå en midlere maksimal
15 konsentrasjon aztreonam i spyttet på 2000 µg/g eller mer, målt 10 minutter etter avsluttet nebulisering til pasienter med CF.

Det andre mål er å bestemme hvorvidt den aztreonamkonsentrasjon som fordres for å oppgi en midlere maksimal konsentrasjon på 2000 µg/g eller mer i spytt, er trygg og godt tolererbar av pasienten.

20

Studieopplegg

Dette er en «open label», multisenter, randomisert, doseopptrappende studie.

Hver arm er en forskjellig dose. To armer avleverer den samme
25 aztreonamblanding.

1. 0,5 mL aztreonamløsning på 50 mg/mL.
2. 1,0 mL aztreonamløsning på 50 mg/mL.
3. 2,0 mL aztreonamløsning på 50 mg/mL.
4. 3,0 mL aztreonamløsning på 50 mg/mL.
- 30 5. 4,0 mL aztreonamløsning på 50 mg/mL.
6. 5,0 mL aztreonamløsning på 50 mg/mL.

Effektivitets- og sikkerhetsvurdering

I denne undersøkelsen bestemmes følgende effektivitets- og sikkerhetsparametere:

Effektiviteten bestemmes for hver nebulisator ved å måle aztreonamkonsentrasjon i spytt 10 minutter etter fullført nebulisering. En gjennomsnittskonsentrasjon på 2000 µg/g spytt ansees adekvat.

Målte sikkerhetsparametere:

1. Insidens av behandlingsrelaterte uheldige reaksjoner som inntreffer under administreringen av det forstøvede aztreonam ved de forskjellige doseringsnivåer.
2. Akutt bronkospasme på tidspunktet for medikamentadministrering.
3. Absorpsjon av aztreonam i det systemiske kretsløp.

Hver pasient gis randomisert minst én administrering. Hver aerosoladministrering adskilles med minst 48 timer. Spyttprøver tas ved basislinje, 1, 2, 4 og 6 timer etter avsluttet aerosolmedikamentadministrering for å måle aztreonamkonsentrasjon. Serumprøver tas ved basislinje, 1, 2, 4 og 6 timer etter avsluttet aerosoladministrering for å måle aztreonamnivåer.

Luftveisirritasjon og akutt bronkospasme bestemmes ved spirometrisk måling umiddelbart før, og 30 minutter etter, fullført aerosoladministrering. En nedgang i FEV1 (forced expired volume in one second) >15% i 30 min spirometritesten ansees som bevis på bronkospasme.

Primærformålet med denne undersøkelse er å bestemme hvorvidt og i hvilken dose denne undersøkte elektroniske PARI-nebulisator kan forstøve tilstrekkelig aztreonamsulfat til å oppnå en midlere maksimal konsentrasjon av aztreonam i spytt på 2000 µg/g eller mer hos minst 85% av pasienter med CF, målt 10 minutter etter fullført nebulisering.

Det andre formål er å bestemme om aztreonamkonsentrasjonen som fordres for å oppnå midlere maksimal konsentrasjon på 2000 µg/g eller mer i spytt, er trygg og godt tolererbar av pasienten. Trygghet er definert som manglende akutt bronkospasme og minimal systemisk absorpsjon.

Pasientbehandling

Alle pasienter med underliggende cystisk fibrose (CF) bekreftet gjennom de inklusjons/eksklusjonskriterier som er angitt i denne protokoll, kan være med i denne studie. De ansvarlige ved de deltagende CF-sentra velger pasienter som
5 oppfyller alle inklusjonskriterier og ett av eksklusjonskriteriene.

Godtagbare pasienter gis adgang til senteret på undersøkelsesdagen og får aerosolbehandling dersom de fyller opptakskriteriene.

Legeundersøkelsen administreres av en lege eller RC-sykepleier bare før initial aerosolbehandling.

10 Det benyttes vitale tegn, høyde, vekt, oksymetri, bestemmelse av løpende respirasjonsstatus og en kort medisinsk forhistorie. Spytt- og serumprøver uttas for å måle basislinjekonsentrasjoner av aztreonam.

Pasientene anbringes i oppreist sittestilling og benytter neseclammer under aerosoladministrering.

15 Den totale varighet og det nødvendige antall inhalasjoner for å fullføre aerosolbehandlingen registreres.

Enhver indikasjon på astmatisk pusting eller åndenød registreres, så vel som det antall hvileperioder vedkommende trengte på grunn av åndenød eller sterk hosting under administreringsperioden.

20 Umiddelbart etter fullført aerosolbehandling foretok pasientene rensing med 30 mL normalt saltvann gjennom munnen, gurgling i 5-10 sekunder og utspyting av rensevæsken. Dette gjentas med i alt 3 rensinger.

Spyttprøver uttas 10 minutter etter rensing av munnhulen og 2 timer etter fullført aerosoladministrering av medikament.

25 Serum oppsamles 1 og 2 timer etter fullført aerosoladministrering av medikamentet for bestemmelse av aztreonamnivåene.

Spirometri foretas 30 minutter etter fullført aerosoladministrering av medikament.

30 Etter den siste aerosolbehandling i denne undersøkelse, gis pasienten en kort legeundersøkelse etter den post-spirometriske måling.

PATENTKRAV

- 5 1. Blanding, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter fra 1 til 250 mg pr dose av aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor nevnte blanding er formulert for levering ved inhalering av nevnte blanding ikke inneholder argenin eller et argeninsalt av aztreonam.
- 10 2. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter aztreonam.
3. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter aztreonam i form av et farmasøytisk akseptabelt aminosyresalt.
- 15 4. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter aztreonam i form av et akseptabelt salt valgt fra acetat, adipat, alginat, aspartat, benzoat, benzensulfonat, bisulfat, butyrat, kamferat, kamfersulfonat, citrat, diglukonat, cyklopentanpropionat, dodecylsulfat, etansulfonat, glukohexanoat, glyserofosfat, hemisulfat, heptanoat, heksanoat, fumarat, hydroklorid, 20 glyserofosfat, hemisulfat, heptanoat, heksanoat, fumarat, hydroklorid, hydrobromid, hydrojodid, 2-hydroksyetansulfonat, laktat, lysinat, maleat, metansulfonat, nikotinat, 2-naftalensulfonat, oksalat, pamoat, pektinat, persulfat, 3-fenylpropionat, pikrat, pivalat, fosfat, propionat, succinat, sulfat, tartrat, tiocyanat, p-toluensulfonat og undecanoat.
- 25 5. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte aztreonam eller farmasøytisk akseptabelt salt derav er oppløst i fra 1 til 5 mL av en saltvannsløsning inneholdende 0,1 til 0,9 % natriumklorid.
- 30 6. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte fra 1 til 250 mg pr dose aztreonam eller farmasøytisk akseptabelt salt derav oppløst i fra 1 til 5 mL saltvann inneholdende fra 0,1 til 0,45% natriumklorid.

7. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6, k a r a k t e r i s e r t
v e d a t den har en pH fra 4,5 til 7,5.

8. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-7, k a r a k t e r i s e r t
v e d a t den har en osmolalitet mellom 50 og 550 mOsm/kg.

9. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8 for anvendelse ved
behandling av en lungeinfeksjon forårsaket av gram-negative bakterier i et
menneske som trenger det.

10. Blanding ifølge krav 9, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte blanding blir
forstøvet ved anvendelse av en nebulisator valgt fra atomiserings-, jet-, ultralyds-,
elektronisk- og vibrerende porøs plate nebulisator.

11. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 9-10, k a r a k t e r i s e r t
v e d a t den er tilpasset for administrering en til tolv ganger pr dag, forutsatt at
den totale dosen av aztreonam ikke er høyere enn 750 mg pr dag.

12. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 9-11, for anvendelse ved
behandling ved behandling av lungeinfeksjon forårsaket av gram-negativ bakterier
valgt fra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*,
Pseudomonas aeruginosa, *haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia*
marcescens, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes*
xylosoxidans og multimedikamenter resistente *Pseudomonas aeruginosa*.

13. Anvendelse av en blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8 for
fremstilling av et medikament for behandling av en lungeinfeksjon forårsaket av
gram-negativ bakterie i et menneske som trenger det.

14. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8 for anvendelse for
behandling av et menneske med cystisk fibrose eller bronkieektasi.

15. Blanding ifølge krav 14, k a r a k t e r i s e r t v e d a t blandingen er forstøvet ved anvendelse av en nebulisator valgt fra atomiserings-, jet-, ultralyds-, elektronisk- og vibrerende porøs plate nebulisator.

5 16. Blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 14-15 tilpasset for administrering en til tolv ganger pr dag, forutsatt at den totale dosen av aztreonam ikke er høyere enn 750 mg pr dag.

10 17. Anvendelse av en blanding ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8 for fremstilling av et medikament for behandling av et menneske med cystisk fibrose eller bronkieektasi.

18. Aztreonamblanding oppnåelig ved en fremgangsmåte som omfatter oppløsning av fra 1 til 250 mg pr dose aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i fra 1 til 5 mL av en saltvannsløsning inneholdende 0,1 til 0,9% natriumklorid hvor nevnte blanding er formulert for levering ved inhalering og ikke inneholder arginin eller et argininsalt av aztreonam.

20 19. Aztreonamblanding ifølge krav 18, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter aztreonam.

19. Aztreonamblanding ifølge krav 18, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter aztreonam i form av et farmasøytisk akseptabelt aminosyresalt.

25 21. Aztreonamblanding ifølge krav 18, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter aztreonam i form av et farmasøytisk akseptabelt salt valgt fra acetat, adipat, alginat, asparat, benzoat, benzensulfonat, bisulfat, buryrat, kamferat, kamfersulfonat, citrat, diglukonat, cyklopentanpropionat, dodecylsulfat, etansulfonat, glukohheptanoat, glycerofosfat, hemisulfat, heptanoat, heksanoat, fumarat, hydroklorid, hydrobromid, hydrojodid, 2-hydroksyetansulfonat, laktat, lysinat, maleat, metansulfonat, nikotinat, 2-naftalensulfonat, oksalat, pamoat, pektinat, persulfat, 3-fenylpropionat, pikrat, pivalat, fosfat, propionat, succinat, tartrat, tiocynat, p-tolulensulfonat og undecanoat.

22. Aztreonamblanding ifølge et hvilket som helst av kravene 18-21 oppnåbar ifølge fremgangsmåten som omfatter oppløsning av fra 1 til 250 mg pr dose aztreonam eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i fra 1 til 5 mL saltvann
5 inneholdende fra 0,1 til 0,45% natriumklorid, hvor nevnte blanding er formulert for levering ved inhalering, har en pH fra 4,5 til 7,5, har en osmolalitet på mellom 50 og 559 mOsm/kg, og inneholder ikke arginin eller et argininsalt av aztreonam.