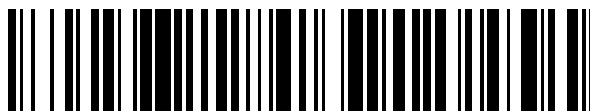


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 781 761**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7036 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 47/44 (2007.01)
A61P 11/12 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 31/375 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.10.2009** **PCT/US2009/060468**
87 Fecha y número de publicación internacional: **22.04.2010** **WO10045209**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2009** **E 09821103 (0)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020** **EP 2349282**

54 Título: **Métodos de tratamiento de trastornos pulmonares con formulaciones de amikacina liposomal**

30 Prioridad:

13.10.2008 US 250412

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.09.2020

73 Titular/es:

INSMED INCORPORATED (100.0%)
700 US Highway 202/206
Bridgewater, NJ 08807-1704, US

72 Inventor/es:

GUPTA, RENU

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 781 761 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos de tratamiento de trastornos pulmonares con formulaciones de amikacina liposomal

5 Antecedentes de la Invención

10 La fibrosis quística (CF), también llamada mucoviscidosis, es una enfermedad autosómica, recesiva y hereditaria de las glándulas exocrinas. Afecta los pulmones, las glándulas sudoríparas y el sistema digestivo, lo que causa problemas respiratorios y digestivos crónicos. Es causada por mutaciones en la proteína reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). Es la enfermedad autosómica recesiva fatal más común entre los caucásicos.

15 La primera manifestación de la CF es a veces íleo meconial, que ocurre en el 16 % de los infantes que desarrollan CF. Otros síntomas de la CF se manifiestan durante la infancia temprana. Tanto los pulmones como el páncreas producen moco anormalmente viscoso. Este moco comienza a acumularse y comienza a obstruir la apertura del páncreas y los pulmones. Los problemas pulmonares comienzan con la presencia constante de moco espeso y pegajoso y son una de las complicaciones más graves de la CF. El moco en los pulmones puede convertirse en un medio de crecimiento para las bacterias, lo que resulta en infecciones respiratorias crónicas y daño permanente eventual al tejido pulmonar. Durante la etapa final de la CF, el paciente experimenta un aumento de la congestión torácica, intolerancia a la actividad, aumento de estertores y aumento de la tos, que a menudo contiene esputo mezclado con sangre (hemoptisis) debido al sangrado bronquiolo de las arterias pulmonares. Una tos crónica y flemosa es común en personas con CF. Estas secreciones espesas también obstruyen el páncreas, evitando que las enzimas digestivas lleguen a los intestinos para ayudar a degradar y absorber los alimentos. Las heces frecuentes y malolientes a menudo son un signo temprano de CF junto con el aceite graso que es visible en las heces. Esto puede comprometer el crecimiento y la nutrición en general si el tratamiento adecuado para ayudar a la digestión no se utiliza temprano en la vida. A medida que la función pulmonar se deteriora, los pacientes con CF pueden desarrollar hipertensión pulmonar, bronquitis crónica y dilatación crónica de los bronquiolos (bronquiectasia). El absceso pulmonar es muy común. La muerte generalmente ocurre por infección grave, neumonía o insuficiencia cardíaca.

30 La fibrosis quística es exclusivamente hereditaria ya que ambos padres deben portar los genes recesivos para que un niño adquiera la enfermedad. A nivel genético, la fibrosis quística suele ser el resultado de una eliminación en marco de tres pares de bases en el ADN. La fibrosis quística resulta de la producción de una forma anómala de una proteína llamada regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). El CFTR funciona en el transporte de iones cloruro a través de las células epiteliales que se encuentran en el pulmón y el tracto intestinal. En pacientes con CF, el CFTR no funciona correctamente, lo que causa la acumulación de iones dentro de las células epiteliales. Dado que el agua sigue a los iones por ósmosis, esto produce el agotamiento del agua y el moco viscoso en la superficie de los alvéolos. La anomalía más común de la proteína CFTR es una mutación denominada $\Delta F508$, que se caracteriza por la eliminación de 3 pb de la secuencia de pares de bases de ADN en la ubicación cromosómica 7q31.1-31.2 que codifica el aminoácido fenilalanina.

40 Además de las infecciones pulmonares, la mayoría de las personas con CF también tienen problemas de digestión, particularmente la digestión de las grasas. Esto conduce a la malabsorción y dificultad para ganar y mantener el peso, lo que a su vez afecta la salud general. Esto se debe al moco anormalmente pegajoso que bloquea la liberación de enzimas digestivas del páncreas. La insuficiencia pancreática se trata con enzimas suplementarias. Usualmente, se requieren formas miscibles en agua de las vitaminas liposolubles A, D, E y K, ya que la disminución de la absorción de grasas puede conducir a deficiencias de estas vitaminas.

50 Los pacientes con CF también tienen una mayor incidencia de diabetes mellitus debido al bloqueo pancreático. El bloqueo crónico hace que los Islotes de Langerhans se degraden con el tiempo y disminuyan la producción de insulina, lo que causa hiperglicemia. También hay evidencia de que los pacientes con CF se vuelven más resistentes a la insulina que se produce, esto puede desencadenarse por infecciones o tratamiento con corticosteroides. La diabetes en pacientes con CF se conoce comúnmente como CFRD, diabetes relacionada con la fibrosis quística. Una dieta diabética típica no es factible y, por lo tanto, las dosis de insulina se ajustan para ajustarse a la típica dieta de CF alta en calorías/alta en grasa.

55 Muchos pacientes con CF, hasta cierto punto, experimentan el ensanchamiento de las puntas de sus dedos, conocido como "acropaquia". La afección afecta a los dedos de manos y pies, y resulta en que la punta del dedo sea redonda y agrandada. Esto también se puede ver en personas con COPD o enfermedad cardíaca grave. Dado que las personas con CF son propensas a la absorción deficiente de nutrientes, la osteoporosis puede ocurrir en la edad adulta temprana debido a la baja densidad ósea. Es importante que las personas con CF se realicen barridos regulares de absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA) para medir la densidad ósea y comenzar el tratamiento si es necesario. Cuando se diagnostica de manera temprana, el tratamiento puede ayudar a prevenir complicaciones más graves.

65 Algunos pacientes con CF tienen pérdida auditiva como un efecto secundario del uso a largo plazo del grupo de fármacos -micina / micina, tal como Tobramicina, que se usa para combatir las infecciones pulmonares. Aunque este efecto secundario es bien conocido y entendido, estos antibióticos particulares son de gran valor en el tratamiento de pacientes con CF, y a menudo la pérdida auditiva debe considerarse una compensación necesaria para preservar la vida y la salud.

La CF ocurre principalmente en individuos de origen de Europa central y occidental. En los Estados Unidos, la edad media de muerte aumentó de 8,4 años de edad en 1969 a 14,3 años de edad en 1998. La edad media de muerte aumentó de 14 años de edad en 1969 a 32,4 años de edad en 2003 (Fundación de Fibrosis Quística). Un contribuyente importante al aumento significativo de la esperanza de vida es el tratamiento antibiótico mejorado de las infecciones crónicas del tracto respiratorio en sujetos con CF (Goss y Rosenfeld 2004), así como también una nutrición mejorada y un diagnóstico más temprano.

Un factor importante en la salud respiratoria de los sujetos con CF es la adquisición de infecciones crónicas con *Pseudomonas aeruginosa*. La velocidad de infección con *P. aeruginosa* aumenta con la edad y a los 18 años, el 80 % de los sujetos con CF en los EE.UU. están infectados. Las dificultades para tratar esta infección son multifactoriales, incluida la penetración deficiente de antibióticos en los sitios de infección, incluidos los tapones de moco, la inactivación de antibióticos por el esputo de la CF, el crecimiento de bacterias en una biopelícula, los cambios en el fenotipo, incluidos la conversión a una forma mucosa de *P. aeruginosa*, y la aparición de resistencia a múltiples fármacos (Chmiel y Davis 2003; Gibson, Burns y otros 2003). La piedra angular de la terapia pulmonar es optimizar el tratamiento de *P. aeruginosa* ya que la infección con este patógeno se asocia con un deficiente resultado clínico (Doring, Conway y otros 2000; Chmiel y Davis 2003; Gibson, Burns y otros 2003; Gibson, Emerson y otros 2003).

Uno de los enfoques actuales para el manejo de la infección crónica con *P. aeruginosa* en humanos con CF incluye el uso de terapia supresora con tobramicina inhalada (TOBI®). Se ha demostrado que la tobramicina inhalada, 300 mg, administrada dos veces al día durante ciclos de 28 días, seguidos de 28 días sin fármaco, reduce el recuento de colonias de *P. aeruginosa*, aumenta FEV₁ % previsto, reduce las hospitalizaciones y disminuye el uso de antibióticos (Ramsey, Pepe y otros 1999). Sin embargo, los pacientes deben ser dosificados dos veces al día durante períodos de inhalación de aproximadamente 15-20 minutos por dosis.

Los tratamientos diarios de fisioterapia torácica y de respiración en aerosol se prescriben muy comúnmente para pacientes con CF. La fisioterapia típica implica percusión torácica manual (golpes), técnicas y/o dispositivos de presión positiva o posiblemente el uso de un dispositivo tal como el Chaleco ThAIRapy o el Ventilador de Percusión Intrapulmonar (IPV) para lograr el mismo efecto: aflojar el moco espeso. Los medicamentos en aerosol que se administran comúnmente incluyen albuterol, bromuro de ipratropio y Pulmozyme para aflojar las secreciones y disminuir la inflamación. Se descubrió que los CFers que surfean eran más saludables; en consecuencia, algunos hospitales usan una solución salina nebulizada al 6 %-10 % en aquellos CFers que no tienen asma para aflojar las secreciones. Los antibióticos aminoglucósidos inhalados a veces se administran para combatir las infecciones. Se están usando varios agentes farmacológicos que ayudan al aclaramiento de la mucosa. Sin embargo, la N-acetilcisteína que solubiliza la glicoproteína mucosa no ha demostrado ser significativamente efectiva. La ADNasa humana recombinante disminuye la viscosidad del esputo al degradar la cantidad concentrada de ADN en el esputo de los pacientes con CF. El tratamiento con ADNasa ha sido beneficioso para aumentar el flujo de aire durante el uso a corto plazo, y también ha prolongado el intervalo entre episodios de exacerbaciones pulmonares.

Los pacientes con CF suelen ser hospitalizados con cierta regularidad, a menudo cada 6 meses, en dependencia de la gravedad del caso. Los pacientes a menudo tienen antibióticos por vía intravenosa a través de una línea PICC, Línea Central o Portacath.

La fibrosis quística también puede conducir a bronquiectasia. La bronquiectasia es un estiramiento y agrandamiento anormal de los conductos respiratorios causado por el bloqueo por moco. Cuando el cuerpo no puede eliminar el moco, el moco se atasca y se acumula en las vías respiratorias. El bloqueo y la infección acompañante causan inflamación, lo que conduce al debilitamiento y ensanchamiento de los conductos. Los conductos debilitados pueden cicatrizarse y deformarse, permitiendo que se acumule más moco y bacterias, lo que resulta en un ciclo de infección y vías respiratorias bloqueadas. La bronquiectasia es una enfermedad que causa una dilatación localizada e irreversible de parte del árbol bronquial. Los bronquios involucrados se dilatan, inflaman y se pliegan fácilmente, lo que resulta en la obstrucción del flujo de aire y el aclaramiento deteriorado de las secreciones. La bronquiectasia se asocia con un amplio intervalo de trastornos, pero generalmente resulta de infecciones bacterianas necrotizantes, tal como infecciones causadas por las especies de *Staphylococcus* o *Klebsiella* o *Bordetella pertussis*.

La bronquiectasia es una de las enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (COPD) y puede complicarse por enfisema y bronquitis. La enfermedad comúnmente se diagnostica erróneamente como asma o neumonía. La bronquiectasia puede desarrollarse a cualquier edad, comienza con mayor frecuencia en la infancia, pero los síntomas pueden no ser aparentes hasta mucho más tarde. La bronquiectasia puede ocurrir como parte de un defecto de nacimiento, tal como la discinesia ciliar primaria o la fibrosis quística. Alrededor del 50 % de todos los casos de bronquiectasia en los EE.UU. resultan a partir de la fibrosis quística. También puede desarrollarse después del nacimiento como un resultado de una lesión u otras enfermedades, tal como tuberculosis, neumonía e influenza.

La dilatación de las paredes bronquiales resulta en la obstrucción del flujo de aire y el aclaramiento deteriorado de las secreciones debido a que las áreas dilatadas interrumpen la presión de aire normal de los tubos bronquiales, lo que causa que el esputo se acumule dentro de las áreas dilatadas en lugar de ser empujado hacia arriba. El esputo acumulado proporciona un ambiente propicio para el crecimiento de patógenos infecciosos, y estas áreas de los pulmones son, por lo tanto, muy vulnerables a la infección. Cuantas más infecciones experimentan los pulmones, más dañados se vuelven

el tejido pulmonar y los alvéolos. Cuando esto sucede, los tubos bronquiales se vuelven más inelásticos y dilatados, lo que crea un ciclo perpetuo y destructivo dentro de esta enfermedad.

Hay tres tipos de bronquiectasia, que varían según el nivel de gravedad. La bronquiectasia fusiforme (cilíndrica) (el tipo más común) se refiere a bronquios levemente inflamados que fallan en reducirse distalmente. En la bronquiectasia varicosa, las paredes bronquiales aparecen nucleadas, porque las áreas de dilatación se mezclan con las áreas de constricción. La bronquiectasia sacular (quística) se caracteriza por una hinchazón grave e irreversible de los bronquios periféricamente, con o sin niveles hidroaéreos. La tos productiva crónica es prominente, que ocurre en hasta el 90 % de los pacientes con bronquiectasia. El esputo se produce diariamente en el 76 % de los pacientes.

Además de la CF, otras causas genéticas o factores que contribuyen a la bronquiectasia incluyen el síndrome de Kartagener, el síndrome de Young, la deficiencia de alfa 1-antitripsina y las inmunodeficiencias primarias. La bronquiectasia adquirida ocurre con mayor frecuencia, con una de las mayores causas siendo la tuberculosis. Una causa especialmente común de la enfermedad en los niños es el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, derivado del virus de inmunodeficiencia humana. Otras causas de bronquiectasia incluyen infecciones respiratorias, obstrucciones, inhalación y aspiración de amoníaco y otros gases tóxicos, aspiración pulmonar, alcoholismo, consumo de heroína y alergias. Fumar cigarrillos también puede contribuir a la bronquiectasia.

El diagnóstico de bronquiectasia se basa en la revisión de la historia clínica y los patrones característicos en los hallazgos de la CT de alta resolución. Tales patrones incluyen anomalías de "árbol en brotes" y quistes con bordes definibles. La bronquiectasia también puede diagnosticarse sin la confirmación de la CT si la historia clínica demuestra claramente infecciones respiratorias frecuentes, así como la confirmación de un problema subyacente a través de análisis de muestras de sangre y cultivo de esputo.

Los síntomas incluyen tos (que empeora al acostarse), falta de aire, ruidos anormales en el pecho, debilidad, pérdida de peso y fatiga. Con las infecciones, el moco puede decolorarse, oler mal y puede contener sangre. La gravedad de los síntomas varía ampliamente de un paciente a otro y, ocasionalmente, un paciente es asintomático.

El tratamiento de la bronquiectasia tiene como objetivo controlar las infecciones y las secreciones bronquiales, aliviar la obstrucción de las vías respiratorias y prevenir complicaciones. Esto incluye el uso prolongado de antibióticos para prevenir infecciones perjudiciales, así como también la eliminación del fluido acumulado con drenaje postural y fisioterapia torácica. La cirugía también se puede usar para tratar la bronquiectasia localizada, lo que elimina las obstrucciones que podrían causar la progresión de la enfermedad.

La terapia con esteroides inhalados que se cumple consistentemente puede reducir la producción de esputo y disminuir la constricción de las vías respiratorias durante un período de tiempo que evitará la progresión de la bronquiectasia. Una terapia comúnmente usada es el dipropionato de beclometasona, también usado en el tratamiento del asma. El uso de inhaladores tal como el Albuterol (Salbutamol), Fluticasona (Flovent/Flixotide) e Ipratropio (Atrovent) puede ayudar a reducir la posibilidad de infección al limpiar las vías respiratorias y disminuir la inflamación.

El polvo de inhalación seco de manitol, bajo el nombre de Bronchitol, ha sido aprobado por la FDA para su uso en pacientes con Fibrosis Quística con Bronquiectasia. La indicación original de fármacos huérfanos aprobada en febrero de 2005 permitió su uso para el tratamiento de la bronquiectasia. La aprobación original se basó en los resultados de los estudios clínicos de fase 2 que demuestran que el producto es seguro, bien tolerado y efectivo para estimular la hidratación/aclaramiento del moco, mejorando de esta manera la calidad de vida en pacientes con enfermedades pulmonares obstructivas crónicas como la Bronquiectasia. Se están realizando estudios a largo plazo a partir del 2007 para garantizar la seguridad y la efectividad del tratamiento.

Los pacientes con bronquiectasia a menudo reciben antibióticos para la infección y medicamentos broncodilatadores para abrir los conductos. A veces, los antibióticos se recetan por un período prolongado para prevenir infecciones recurrentes, especialmente en personas que tienen fibrosis quística. También hay técnicas de fisioterapia para ayudar a eliminar el moco. Los trasplantes de pulmón también son una opción para casos graves. Las muertes son poco frecuentes, pero pueden ser el resultado de una hemorragia masiva. Si las infecciones pulmonares se tratan inmediatamente, es menos probable que se desarrolle bronquiectasia.

La neumonía es una enfermedad de los pulmones y el sistema respiratorio en la que los alvéolos (sacos microscópicos llenos de aire del pulmón responsables de absorber oxígeno de la atmósfera) se inflaman e inundan de fluido. La neumonía puede ser el resultado de una variedad de causas, incluida la infección con bacterias, virus, hongos o parásitos y lesiones químicas o físicas en los pulmones. Los síntomas típicos asociados con la neumonía incluyen tos, dolor en el pecho, fiebre y dificultad para respirar. Las herramientas de diagnóstico incluyen radiografías y examen del esputo.

Por lo tanto, existe la necesidad de terapias para tratar los trastornos pulmonares, incluido la CF, las infecciones pulmonares, las COPD, la bronquiectasia y otros. Además, existe la necesidad de mejorar la función pulmonar en pacientes que tienen tales trastornos.

Meers y otros "Biofilm penetration, triggered release and in vivo activity of inhaled liposomal amikacin in chronic Pseudomonas aeruginosa lung infections", Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2008), 61, 859-868 describen formulaciones de amikacina liposomal que comprenden DPPC y colesterol como lípidos que se administran por inhalación para tratar infecciones crónicas de Pseudomonas aeruginosa en los pulmones de pacientes con fibrosis quística.

Resumen de la invención

La invención es como se define en las reivindicaciones. La presente invención descrita en la presente descripción se refiere a una formulación de amikacina liposomal para usar en el tratamiento de una infección por Pseudomonas aeruginosa en un paciente con fibrosis quística, el método que comprende administrar al paciente una dosis efectiva de una formulación de amikacina liposomal nebulizada durante al menos dos ciclos de tratamiento, en donde:

el ciclo de tratamiento comprende un período de administración de 20 a 35 días, seguido por un período de reposo de 15 a 75 días; y la dosis efectiva comprende 100 a 2500 mg de amikacina diariamente durante el período de administración.

El ciclo de tratamiento se administra al paciente al menos dos veces. En algunas modalidades, el período de administración es de 28 días. En algunas modalidades, el período de reposo es de 15 a 35 días, o de 20 a 35 días. En otras modalidades, el período de reposo es de 28 días. En otras modalidades más, el período de reposo es de 25 a 75 días, de 35 a 75 días o de 45 a 75 días. En otras modalidades, el período de reposo es de 56 días.

En algunas modalidades, el período de administración es de 28 días y el período de reposo es de 28 días, mientras que en otras modalidades, el período de administración es de 28 días y el período de reposo es de 56 días.

En algunas modalidades, la dosis efectiva comprende 250 a 1500 mg de amikacina, 250 a 1000 mg de amikacina, o 280 a 560 mg de amikacina. En otras modalidades, la dosis efectiva es 280 o 560 mg de amikacina.

La afección pulmonar es una infección de P. aeruginosa.

En algunas modalidades, el paciente tiene una $C_{\text{máx}}$ en suero de amikacina de menos de aproximadamente 10 mcg/ml durante el período de administración. En otras modalidades, el paciente tiene una $C_{\text{máx}}$ en el esputo de amikacina de al menos 1000 mcg por gramo de esputo, ya sea durante la administración, durante al menos 15 días después de la administración.

En algunas modalidades, el paciente tiene una reducción en $\log_{10}$ CFU de la infección bacteriana en los pulmones de al menos 0,5 durante al menos 15 días después de que finaliza el período de administración. En otras modalidades, la reducción en el $\log_{10}$ CFU es al menos 1,0.

En algunas modalidades, el paciente experimenta una mejora en la función pulmonar durante al menos 15 días después de que finaliza el período de administración. Por ejemplo, el paciente puede experimentar un aumento en FEV_1 , un aumento en la saturación de oxígeno en la sangre, o ambos. En algunas modalidades, el paciente tiene un FEV_1 que aumenta en al menos un 5 % sobre el FEV_1 antes del ciclo de tratamiento. En otras modalidades, FEV_1 aumenta en 5 a 50 %. En otras modalidades, FEV_1 aumenta en 25 a 500 ml sobre el FEV_1 antes del ciclo de tratamiento. En algunas modalidades, la saturación de oxígeno en sangre aumenta al menos un 1 % sobre la saturación de oxígeno antes del ciclo de tratamiento.

En algunas modalidades, el período de tiempo hasta una exacerbación pulmonar es de al menos 20 días desde el último día de la administración. En otras modalidades, el período de tiempo hasta un tratamiento de rescate es de al menos 25 días desde el último día de la administración.

La formulación de amikacina liposomal comprende DPPC y colesterol en una relación de 0,6-0,7: 1 (peso/peso).

Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1** representa la distribución de masa del nebulizado de Amikacina Liposomal recogida en las etapas del impactador en función del diámetro de corte. Los tres lotes de Amikacina Liposomal de la leyenda de la Tabla 15 (designados como 1, 2 y 3) se usaron con el nebulizador eFlow y el sistema ACI (símbolos sólidos) o el nebulizador LC Star y el sistema NGI (símbolos abiertos).

La **Figura 2** representa la reducción en el $\log_{10}$ CFU/Pulmones de Ratitas después de la Inhalación de Amikacina Liposomal 75 mg/ml o Tobramicina. Los símbolos representan el $\log_{10}$ CFU/pulmones de cada rata 18 días después de la instilación de PA3064 en perlas de agar y 3 días después de la última sesión de inhalación de solución salina o uno de los antibióticos anteriores. Los valores en 2,0 $\log_{10}$ CFU representa el límite inferior de detección de bacterias en el pulmón en el método. La barra representa la media de cada grupo. Las medias y las desviaciones estándar y los resultados de la prueba t de dos colas se calcularon mediante el uso del software Excel de Microsoft.

La **Figura 3** representa la reducción en el $\text{Log}_{10}\text{CFU/pulmones}$ de ratas después de la Inhalación de Amikacina Liposomal y Tobramicina durante 28 días. Se administraron dosis equivalentes de los antibióticos anteriores mediante terapia de inhalación, pero en diferentes esquemas. La Tobramicina se administró BID diariamente durante un total de 104 min por día durante 28 días. La Amikacina Liposomal se administró una vez al día durante 80 minutos durante 28 días (Q1Dx28) al igual que la solución salina. La amikacina liposomal también se administró una vez al día durante 160 minutos cada dos días durante 28 días (Q2Dx14) o una vez al día durante 160 minutos durante 14 días consecutivos (Q1DX14) y luego solo se observó hasta que las ratas se sacrificaron. Los símbolos representan el $\text{Log}_{10}\text{CFU/pulmones}$ de cada rata 35 días después de la instilación de *P. aeruginosa* 3064 en perlas de agar. Las medias y las desviaciones estándar y la prueba t de dos colas se calcularon mediante el uso del software Excel de Microsoft.

La **Figura 4** representa los diseños de estudio para el Estudio 4, en donde los pacientes recibieron amikacina liposomal diariamente durante 28 días, seguido por un monitoreo durante un período de 28 días después del último día de la administración.

La **Figura 5** representa un gráfico que muestra el aumento porcentual en la saturación de oxígeno sobre el valor inicial en pacientes pediátricos que reciben una dosis de 280 mg de amikacina en comparación con un placebo.

La **Figura 6** representa un gráfico que muestra la saturación de oxígeno en pacientes pediátricos que reciben una dosis de 560 mg de amikacina en comparación con un placebo.

La **Figura 7a** representa un gráfico del cambio de la función pulmonar por edad medido mediante FEV1 en el grupo placebo. Los datos para el placebo para los grupos de amikacina de 280 y 560 mg del estudio se agruparon y dividieron por edad. Además, los datos para Arikace™ para los grupos de amikacina de 280 y 560 mg se agruparon y dividieron por edad.

La **Figura 7b** representa el cambio de la función pulmonar por edad en los pacientes que reciben amikacina liposomal inhalada.

La **Figura 8** representa un gráfico que compara el cambio en FEV1 (medido en ml) en los grupos de amikacina de 560 mg y 280 mg y el grupo placebo.

La **Figura 9** representa un gráfico del cambio en FEV1 como un por ciento con relación al valor inicial en los grupos de amikacina de 560 mg, de amikacina de 280 mg y placebo.

La **Figura 10** representa un gráfico del cambio de Log CFU en todos los pacientes.

La **Figura 11** representa un gráfico del cambio de Log CFU para las cepas mucoides.

Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

Por conveniencia, antes de una descripción adicional de la presente invención, se recogen aquí ciertos términos empleados en las especificaciones, los ejemplos y las reivindicaciones adjuntas. Estas definiciones deben leerse a la luz del resto de la descripción y según se entienden por una persona experta en la técnica. Salvo que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos que se usan en la presente descripción tienen el mismo significado que el que se entiende comúnmente por un experto en la técnica.

El término "trastorno pulmonar" se refiere a cualquier enfermedad, dolencia u otra afección no saludable relacionada con el tracto respiratorio de un sujeto, particularmente con los pulmones de un sujeto. En general, la insuficiencia pulmonar resulta en dificultad para respirar.

El término "tratamiento" es reconocido en la técnica y se refiere a la curación, así como también a mejorar al menos un síntoma de cualquier afección o enfermedad.

El término tratamiento "profiláctico" o "terapéutico" es reconocido en la técnica y se refiere a la administración al huésped de una o más de las composiciones objeto. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped), entonces el tratamiento es profiláctico, es decir, protege al huésped contra el desarrollo de la afección no deseada, mientras que si se administra después de la manifestación de la afección no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, está destinado a disminuir, mejorar o mantener la afección no deseada existente o los efectos secundarios de la misma).

Los términos "dosis terapéuticamente efectiva" y "cantidad terapéuticamente efectiva" se refieren a esa cantidad de un compuesto que resulta en la prevención o mejora de los síntomas en un paciente o un resultado biológico deseado, por ejemplo, signos clínicos mejorados, inicio tardío de la enfermedad, niveles reducidos de bacterias, etc.

5 El término "FEV₁" es bien conocido en la técnica como una medida de la función pulmonar y se refiere al volumen espiratorio forzado en un segundo. Los valores de FEV₁ usados en la presente descripción se miden en ml y también en términos de cambio porcentual con respecto al valor inicial, por ejemplo, un cambio con respecto a los valores previos al tratamiento.

10 Un "paciente", "sujeto" o "huésped" a tratar por el método objeto puede significar un animal humano o no humano.

El término "mamífero" es conocido en la técnica, y los mamíferos ilustrativos incluyen humanos, primates, bovinos, porcinos, caninos, felinos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas).

15 El término "biodisponible" es reconocido en la técnica y se refiere a una forma de la invención objeto que permite que, o una porción de la cantidad administrada, sea absorbida por, incorporada a o de otra manera fisiológicamente disponible para un sujeto o paciente a quien se le administra.

20 El término "sales farmacéuticamente aceptables" es reconocido en la técnica y se refiere a las sales de adición de ácido relativamente no tóxicas, inorgánicas y orgánicas de compuestos, incluidos, por ejemplo, aquellos contenidos en las composiciones de la presente invención.

25 El término "portador farmacéuticamente aceptable" es reconocido en la técnica y se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación, involucrado en portar o transportar cualquier composición o componente objeto del mismo desde un órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o porción del cuerpo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con la composición objeto y sus componentes y no ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorio; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como etil oleato y etil laurato; (13) agar; (14) agentes tampones, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógeno; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) etil alcohol; (20) soluciones tampón de fosfato; y (21) otras sustancias no tóxicas compatibles empleadas en las formulaciones farmacéuticas.

40 II. Amikacina Liposomal

Las formulaciones de amikacina liposomal útiles en los métodos descritos en la presente se pueden preparar como se describe, por ejemplo, en la publicación de los Estados Unidos Núm. 20060073198 o 20080089927, las cuales se incorporan aquí como referencia. Generalmente, la amikacina se usa en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, la sal sulfato de amikacina.

45 Los lípidos usados en las composiciones de la presente invención pueden ser lípidos sintéticos, semisintéticos o de origen natural, que incluyen fosfolípidos, tocoferoles, esteroides, ácidos grasos, glicoproteínas tales como albúmina, lípidos aniónicos y lípidos catiónicos. Los lípidos pueden ser aniónicos, catiónicos o neutros. En una modalidad, la formulación lipídica está sustancialmente libre de lípidos aniónicos, sustancialmente libre de lípidos catiónicos, o ambos. En una modalidad, la formulación lipídica comprende sólo lípidos neutros. En otra modalidad, la formulación lipídica está libre de lípidos aniónicos o lípidos catiónicos o ambos. En otra modalidad, el lípido es un fosfolípido. Los fosfolípidos incluyen fosfatidilcolina de huevo (EPC), fosfatidilglicerol de huevo (EPG), fosfatidilinositol de huevo (EPI), fosfatidilserina de huevo (EPS), fosfatidiletanolamina (EPE) y ácido fosfatídico de huevo (EPA); los equivalentes de soja, fosfatidilcolina de soja (SPC); SPG, SPS, SPI, SPE y SPA; los equivalentes de huevo y soja hidrogenados (por ejemplo, HEPC, HSPC), otros fosfolípidos formados por enlaces éster de ácidos grasos en las posiciones 2 y 3 de glicerol que contienen cadenas de 12 a 26 átomos de carbono y diferentes grupos cabeza en la posición 1 de glicerol que incluyen colina, glicerol, inositol, serina, etanolamina, así como también los ácidos fosfatídicos correspondientes. Las cadenas en estos ácidos grasos pueden ser saturadas o insaturadas, y el fosfolípido puede estar compuesto de ácidos grasos de diferentes longitudes de cadena y diferentes grados de insaturación. En particular, las composiciones de las formulaciones pueden incluir dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), un componente principal del tensioactivo pulmonar natural, así como también dioleoilfosfatidilcolina (DOPC). Otro ejemplo incluye dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG).

65 Los lípidos usados pueden incluir sales de amonio de ácidos grasos, fosfolípidos y glicéridos, fosfatidilgliceroles (PG), ácidos fosfatídicos (PA), fosfatidilcolinas (PC), fosfatidilinositoles (PI) y fosfatidilserinas (PS). Los ácidos grasos incluyen ácidos grasos de longitud de cadena de carbono de 12 a 26 átomos de carbono que son saturadas o insaturadas. Algunos ejemplos específicos incluyen, miristilamina, palmitilamina, laurilamina y estearilamina, dilauoil etilfosfolcolina (DLEP),

dimiristoil etilfosfocolina (DMEP), dipalmitoil etilfosfocolina (DPEP) y diestearoil etilfosfocolina (DSEP), cloruro de N-(2,3-di-(9 (Z)-octadecenilo)-prop-1-il-N,N,N-trimetilamonio (DOTMA) y 1,2-bis(oleoiloxi)-3-(trimetilamonio)propano (DOTAP). Los ejemplos de PG, PA, PI, PC y PS incluyen DMPG, DPPG, DSPG, DMPA, DPPA, DSPA, DMPI, DPPI, DSPI, DMPS, DPPS y DSPS, DSPC, DPPG, DMPC, DOPC, PC de huevo.

En otra modalidad, el liposoma comprende un lípido seleccionado del grupo que consiste en fosfatidilcolinas (PC), fosfatidilglicerol (PG), ácidos fosfatídicos (PA), fosfatidilinositoles (PI) y fosfatidil serinas (PS).

En otra modalidad, el lípido se selecciona del grupo que consiste en: fosfatidilcolina de huevo (EPC), fosfatidilglicerol de huevo (EPG), fosfatidilinositol de huevo (EPI), fosfatidilserina de huevo (EPS), fosfatidiletanolamina (EPE), ácido fosfatídico (EPA), fosfatidilcolina de soya (SPC), fosfatidilglicerol de soya (SPG), fosfatidilserina de soya (SPS), fosfatidilinositol de soya (SPI), fosfatidiletanolamina de soya (SPE), ácido fosfatídico de soya (SPA), fosfatidilcolina de huevo hidrogenada (HEPC), fosfatidilglicerol de huevo hidrogenado (HEPG), fosfatidilinositol de huevo hidrogenado (HEPI), fosfatidilserina de huevo hidrogenada (HEPS), fosfatidiletanolamina hidrogenada (HEPE), ácido fosfatídico hidrogenado (HEPA), fosfatidilcolina de soya hidrogenada (HSPC), fosfatidilglicerol de soya hidrogenado (HSPG), fosfatidilserina de soya hidrogenada (HSPS), fosfatidilinositol de soya hidrogenado (HSPI), fosfatidiletanolamina de soya hidrogenada (HSPE), ácido fosfatídico de soya hidrogenado (HSPA), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), dimiristoilfosfatidilglicerol (DMPG), dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG), diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), diestearoilfosfatidilglicerol (DSPG), dioleilfosfatidiletanolamina (DOPE), palmitolestearoilfosfatidilcolina (PSPC), palmitolestearoilfosfatidilglicerol (PSPG), mono-oleoil-fosfatidiletanolamina (MOPE), tocoferol, sales de amonio de ácidos grasos, sales de amonio de fosfolípidos, sales de amonio de glicéridos, miristilamina, palmitilamina, laurilamina, estearilamina, dilauril etilfosfocolina (DLEP), dimiristoil etilfosfocolina (DMEP), dipalmitoil etilfosfocolina (DPEP) y diestearoil etilfosfocolina (DSEP), cloruro de N-(2,3-di-(9-(Z)-octadecenilo)-prop-1-il-N,N,N-trimetilamonio (DOTMA), 1,2-bis(oleoiloxi)-3-(tri-metilamonio)propano (DOTAP), diestearoilfosfatidilglicerol (DSPG), dimiristoilfosfatidil ácido (DMPA), di-palmitoilfosfatidil ácido (DPPA), diestearoilfosfatidil ácido (DSPA), dimiristoilfosfatidilinositol (DMPI), dipalmitoilfosfatidilinositol (DPPI), diestearoilfosfatidilinositol (DSPI), dimiristoilfosfatidilserina (DMPS), dipalmitoilfosfatidilserina (DPPS), diestearoilfosfatidilserina (DSPS), y sus mezclas.

En otra modalidad, el liposoma comprende una fosfatidilcolina. La fosfatidilcolina puede ser insaturada, tal como DOPC o POPC, o saturada, tal como DPPC. En otra modalidad, el liposoma no incluye un esteroil. En una modalidad, el liposoma consiste esencialmente en una fosfatidilcolina y un esteroil. En otra modalidad, el liposoma consiste esencialmente en DPPC y un colesterol.

Los liposomas o formulaciones antiinfecciosas lipídicas compuestas de fosfatidilcolinas, tal como DPPC, ayudan en la captación por las células en el pulmón, tal como los macrófagos alveolares y ayudan a mantener la liberación del agente antiinfeccioso en el pulmón (Gonzales-Rothi y otros (1991)). Los lípidos cargados negativamente, tal como los PG, PA, PS y PI, además de reducir la agregación de partículas, pueden desempeñar un papel en las características de liberación sostenida de la formulación de inhalación, así como también en el transporte de la formulación a través del pulmón (transcitos) para la captación sistémica.

Aunque no está sujeto a ninguna teoría en particular, se cree que cuando el lípido comprende un lípido neutro y no comprende un fosfolípido cargado negativamente o cargado positivamente, la formulación liposómica ha mejorado la captación por los pulmones. Por ejemplo, el liposoma puede mejorar la penetración en una biopelícula o capa de moco cuando el lípido comprende solo lípidos neutros. Los ejemplos de lípidos neutros incluyen las fosfatidilcolinas mencionadas anteriormente, tales como DPPC y esteroides, tales como colesterol.

IV. Tratamiento

La presente invención descrita en la presente descripción se dirige a una formulación de amikacina liposomal para usar en métodos de tratamiento de una afección pulmonar en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto la cantidad efectiva de cualquiera de las formulaciones de antibióticos liposomales mencionadas anteriormente. La afección pulmonar es una infección por *Pseudomonas aeruginosa* en un paciente con fibrosis quística. El método comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad efectiva de una formulación de amikacina liposomal (también denominada en la presente descripción "amikacina liposomal") mediante inhalación diaria. La administración mediante inhalación comprende nebulizar la formulación liposomal.

La formulación de amikacina liposomal se administra diariamente durante un período de tiempo, seguido por un segundo período de tiempo (un período de "reposo") en donde no se administra ninguna formulación liposomal. Por ejemplo, en algunas modalidades, el método para tratar un trastorno pulmonar comprende administrar al paciente una dosis efectiva de una formulación de amikacina liposomal nebulizada durante al menos un ciclo de tratamiento, en donde:

el ciclo de tratamiento comprende un período de administración de 20 a 35 días, seguido por un período de reposo de 15 a 75 días; y la dosis efectiva comprende 100 a 2500 mg de amikacina diariamente durante el período de administración como se define adicionalmente en las reivindicaciones.

El ciclo de tratamiento mencionado anteriormente se administra al paciente al menos dos veces. En otras modalidades, el ciclo de tratamiento puede administrarse 3, 4, 5, 6 o más veces.

Durante el período de administración, la amikacina liposomal se administra diariamente.

El período de administración es de 20 a 35 días. En otras modalidades, el período de administración es de 20 a 30 días, de 25 a 35 días o de 25 a 30 días. En otras modalidades, el período de administración es de 25, 26, 27, 28, 29 o 30 días. En otra modalidad, el período de administración es de 28 días.

Durante el período de reposo, la formulación de amikacina liposomal no se administra al paciente. El período de reposo es de 15 días o más, por ejemplo, de 15 a 75 días, de 15 a 35 días o de 20 a 35 días. En otras modalidades, el período de reposo es de 20 a 30 días, de 25 a 35 días o de 25 a 30 días. En otras modalidades, el período de reposo es de 25, 26, 27, 28, 29 o 30 días. En otras modalidades, el período de reposo es de 28 días, mientras que en otras modalidades más, el período de reposo es de al menos 29 días.

En algunas modalidades, el período de reposo es de 25 a 75 días, de 35 a 75 días o de 45 a 75 días. En otras modalidades, el período de reposo es de 50 a 75 días, de 50 a 70 días, de 50 a 65 días o de 50 a 60 días. En otras modalidades, el período de reposo es de 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 o 60 días, mientras que en otras modalidades, el período de reposo es de 56 días.

En algunas modalidades, el período de administración es de 28 días y el período de reposo es de 28 días, mientras que en otras modalidades, el período de administración es de 28 días y el período de reposo es de 56 días.

En algunas modalidades, la dosis efectiva comprende 250 a 1500 mg de amikacina, 250 a 1000 mg de amikacina, 250 a 750 mg de amikacina, o 250 a 700 mg de amikacina cada día del período de administración. En otras modalidades, la dosis efectiva es de 280 a 560 mg de amikacina. En otras modalidades, la dosis efectiva es de 230 mg a 330 mg, o de 510 mg a 610 mg. En otras modalidades, la dosis efectiva de amikacina es 100, 150, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700 o 750 mg de amikacina diariamente. En otras modalidades, la dosis efectiva es 280 o 560 mg de amikacina.

En algunas modalidades, el período de administración es de 28 días, y la dosis es de 280 a 560 mg de amikacina. En otras modalidades, el período de administración es de 28 días, el período de reposo es de 28 días y la dosis es de 280 a 560 mg. En otras modalidades, el período de administración es de 28 días, el período de reposo es de 56 días y la dosis es de 280 a 560 mg.

La afección pulmonar es una infección por *P. aeruginosa* asociada con la fibrosis quística.

El presente método proporciona niveles ventajosos de amikacina en el sitio del trastorno pulmonar, al tiempo que limita la exposición sistémica al fármaco, y también proporciona un beneficio sostenido para el sujeto durante períodos de tiempo sorprendentemente prolongados. Aunque no está sujeto a ninguna teoría en particular, se cree que la administración de amikacina liposomal de acuerdo con los métodos descritos en la presente descripción resulta en un efecto de "depósito" en los pulmones del sujeto. Específicamente, se cree que las partículas de liposoma son lo suficientemente pequeñas y contienen una formulación lipídica adecuada para penetrar y difundir a través del esputo CF y dentro de la biopelícula bacteriana. Los liposomas protegen la amikacina catiónica atrapada en los liposomas neutros para minimizar la interacción electrostática con el esputo/biopelícula cargados negativamente, lo que de otra manera reduciría su biodisponibilidad. Además, existen factores de virulencia derivados de *P. aeruginosa* (ramnolípidos) (Davey y otros 2003), que liberan amikacina en los liposomas. Por lo tanto, se hipotetiza que se pueden suministrar concentraciones relativamente altas de fármaco localmente en el entorno de macrocolonia bacteriano.

Adicionalmente, se cree que la inhalación de amikacina liposomal conduce a un reclutamiento de macrófagos dependiente de la dosis como una respuesta adaptativa a la inhalación de la formulación de fármaco/lípido. La presencia de macrófagos alveolares (que se ha demostrado que son funcionalmente normales en ratas tratadas con amikacina liposomal) puede ser particularmente beneficiosa en pacientes con CF. Se sabe que los pacientes con CF tienen un número reducido de macrófagos en sus pulmones y posiblemente con una funcionalidad deficiente, lo que puede contribuir a la cronicidad de la infección pulmonar por *P. aeruginosa* y a una mayor prevalencia de infección por micobacterias no tuberculosas en esta población. El reclutamiento de macrófagos dependiente de la dosis también puede contribuir a los efectos sostenidos observados mediante el uso de los métodos de la presente descripción. Específicamente, los macrófagos en el pulmón pueden tomar amikacina liposomal y luego permanecer en el pulmón durante un período de tiempo, seguido de la liberación de la amikacina liposomal por los macrófagos. Un estudio clínico (descrito en el ejemplo a continuación) de amikacina liposomal en pacientes con CF con infección crónica por *P. aeruginosa* ha demostrado seguridad, tolerabilidad y mejoría dependiente de la dosis en la función pulmonar y los síntomas respiratorios; y reducción de la densidad bacteriana del esputo al final de los 28 días de tratamiento. Esta mejora en la función pulmonar se mantuvo durante al menos 28 días después de la finalización del tratamiento (Día 56) con una dosis de 560 mg de amikacina liposomal, lo que indica un efecto de tratamiento sostenido.

El presente método proporciona así, en algunas modalidades, niveles ventajosos de amikacina en la sangre y en el esputo. Por ejemplo, los métodos proporcionan una exposición sistémica relativamente baja a la amikacina, al tiempo que proporcionan niveles altos y sostenidos de amikacina en el sitio de la afección pulmonar. Por ejemplo, en algunas modalidades, el paciente tiene una $C_{\text{máx}}$ en suero de amikacina de menos de aproximadamente 25 mcg/ml durante el período de administración. En otras modalidades, la $C_{\text{máx}}$ en suero es menos de 20, 15, 10, 5 o 2 mcg/ml durante el período de administración.

En algunas modalidades, el paciente tiene una $C_{\text{máx}}$ en el esputo de amikacina de al menos aproximadamente 500 mcg por gramo de esputo, ya sea durante la administración o durante un período de tiempo sostenido, como al menos 15 días, después de la administración. En otras modalidades, la $C_{\text{máx}}$ en el esputo de amikacina es al menos 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 o 3500 mcg por gramo de esputo.

La presente invención también proporciona una reducción en las unidades formadoras de colonias de las bacterias en el pulmón durante un período de tiempo sostenido. Por ejemplo, las CFU se reducen en comparación con un valor inicial. En algunas modalidades, el paciente tiene una reducción en el $\log_{10}$ CFU de la infección bacteriana en los pulmones de al menos aproximadamente 0,5 durante al menos 15 días después de que finaliza el período de administración. En otras modalidades, la reducción en el $\log_{10}$ CFU es al menos de 1,0, 1,5, 2,0 o 2,5. Las infecciones por *Pseudomonas*, en particular, pueden formar grandes colonias, conocidas como *Pseudomonas* "mucoides" particularmente en pacientes con fibrosis quística. En algunas modalidades, las CFU se reducen como se describe anteriormente en una cepa mucóide de una infección por *Pseudomonas*.

En algunas modalidades, el paciente experimenta una mejora en la función pulmonar durante al menos 15 días después de que finaliza el período de administración. Por ejemplo, el paciente puede experimentar un aumento en el volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV_1), un aumento en la saturación de oxígeno en la sangre, o ambos. En algunas modalidades, el paciente tiene un FEV_1 que aumenta en al menos 5 % o al menos 10 % sobre el FEV_1 antes del ciclo de tratamiento. En otras modalidades, FEV_1 aumenta en 5 a 50 %, 5 a 25 % o 5 a 20 %. En otras modalidades, FEV_1 aumenta en 5 a 15 % o 5 a 10 %. En otras modalidades, FEV_1 aumenta en 10 a 50 %, 10 a 40 %, 10 a 30 % o 10 a 20 %. FEV_1 se mide con frecuencia en ml. En consecuencia, en algunas modalidades, FEV_1 aumenta en al menos 25 ml en comparación con el FEV_1 antes del tratamiento. En algunas modalidades, FEV_1 aumenta en 25 a 500 ml, 25 a 400, 25 a 300 o 25 a ml. En otras modalidades, FEV_1 aumenta en 50 a 500 ml, 50 a 400 ml, 50 a 300 ml, 50 a 200 ml o 50 a 100 ml.

En algunas modalidades, la saturación de oxígeno en sangre aumenta en el sujeto en comparación con los niveles de saturación de oxígeno en sangre antes de la administración. En algunas modalidades, la saturación de oxígeno en sangre aumenta en al menos 1 % o en al menos 2 % durante al menos 15 días después del período de administración. En otras modalidades, los niveles de saturación de oxígeno en sangre aumentan en aproximadamente 1 a 50 %, 1 a 25 %, 1 a 20 %, 1 a 15 %, 1 a 10 % o 1 a 5 %. En otras modalidades, los niveles de saturación de oxígeno en sangre aumentan en aproximadamente 2 a 10 % o 2 a 5 %.

Los períodos de tiempo sostenidos mencionados anteriormente pueden ser al menos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 o 75 días después del período de administración. En otras modalidades, el período de tiempo sostenido es al menos 28, 35, 42, 48 o 56 días después del período de administración. En otras modalidades, el período sostenido es de 15 a 75 días, 15 a 35 días o 20 a 35 días. En otras modalidades, el período de tiempo sostenido es de 20 a 30 días, de 25 a 35 días o de 25 a 30 días. En otras modalidades, el período de tiempo sostenido es 25, 26, 27, 28, 29 o 30 días, o 28 días, o al menos 29 días. En otras modalidades, el período de tiempo sostenido durante es de 25 a 75 días, de 35 a 75 días o de 45 a 75 días. En otras modalidades, el período sostenido es de 50 a 75 días, de 50 a 70 días, de 50 a 65 días o de 50 a 60 días. En otras modalidades, el período de sostenimiento es 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 o 60 días, mientras que en otras modalidades, el período sostenido es 56 días.

En algunas modalidades, los métodos antes mencionados proporcionan ventajosamente una incidencia reducida de exacerbaciones pulmonares en el paciente. El método también aumenta ventajosamente el período de tiempo hasta la exacerbación pulmonar. Por ejemplo, en algunas modalidades, el período de tiempo hasta la exacerbación pulmonar es de al menos 20 días. En otras modalidades, el período de tiempo es de 20 a 100 días. En otras modalidades, el período de tiempo es de 25 a 100 días, de 30 a 100 días, de 35 a 100 días o de 40 a 100 días. En otras modalidades, el período de tiempo es de 25 a 75 días, de 30 a 75 días, de 35 a 75 días o de 40 a 75 días. En otras modalidades, el período de tiempo es de 30 a 60 días.

En algunas modalidades, la incidencia del tratamiento de rescate se reduce. En otras modalidades, se reduce el período de tiempo de tratamiento de rescate, por ejemplo, cuando el paciente tiene una infección pulmonar, se reduce el tiempo de tratamiento de rescate antiinfeccioso. En algunas modalidades, el período de tiempo es de 20 a 100 días. En otras modalidades, el período de tiempo es de 25 a 100 días, de 30 a 100 días, de 35 a 100 días o de 40 a 100 días. En otras modalidades, el período de tiempo es de 25 a 75 días, de 30 a 75 días, de 35 a 75 días o de 40 a 75 días. En otras modalidades, el período de tiempo es de 30 a 60 días.

La formulación de amikacina liposomal comprende DPPC y colesterol. En otras modalidades, la formulación de amikacina liposomal comprende DPPC y colesterol en una relación de aproximadamente 2 a 1 en peso. La formulación de amikacina liposomal tiene una relación de lípido con respecto a fármaco de 0,6-0,7:1 (peso/peso). Los liposomas en la formulación

pueden tener un diámetro rectificado de 100 a 1000 nm, 100 a 500 nm, 200 a 500 nm, o aproximadamente 300 nm. En algunas modalidades, la concentración total de amikacina en la formulación de amikacina liposomal es de aproximadamente 20 a 100 mg/ml, de 20 a 90 mg/ml, de 30 a 90 mg/ml, de 30 a 80 mg/ml, o de 40 a 80 mg/ml. En otras modalidades, la concentración es de aproximadamente 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90 mg/ml.

Ejemplos

Introducción a los Materiales y Métodos

Las formulaciones para inhalación basadas en lípidos o aminoglucósidos liposomales, tal como la amikacina, son formulaciones de liberación sostenida de aminoglucósidos encapsulados dentro de portadores liposomales a nanoescala diseñados para la administración mediante inhalación. Dirigir la liberación sostenida de altas concentraciones de amikacina en los pulmones y las propiedades de penetración de biopelículas de estas formulaciones tienen varias ventajas sobre la inhalación del antibiótico "libre", por ejemplo, tobramicina inhalada. La amikacina puede encapsularse en liposomas compuestos de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y colesterol, en una relación objetivo de lípido con respecto a fármaco de aproximadamente 0,6-0,7:1 (p/p). A continuación, se presenta un ejemplo de una formulación de amikacina liposomal de 70 mg/ml útil en los métodos antes mencionados:

Componente	Concentración
Amikacina ¹	~ 70 mg/ml
Dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC)	~ 30 mg/ml
Colesterol	~ 15 mg/ml
NaCl al 1,5 %	QS
¹ Añadida a la formulación como Sulfato de amikacina, USP.	

Estas formulaciones se pueden preparar de acuerdo con los métodos descritos en la Publicación de los Estados Unidos Núm. 20060073198 o 20080089927.

Estas formulaciones tienen varias ventajas en el tratamiento de afecciones pulmonares, por ejemplo, sujetos con CF con infección crónica causada por *P. aeruginosa*, que incluyen:

1. La capacidad de lograr un efecto antibiótico prolongado de la amikacina en el pulmón logrando altas concentraciones y una vida media prolongada debido a la liberación sostenida.
2. La capacidad de dirigir y aumentar la concentración efectiva de amikacina en el pulmón con bajos niveles sistémicos del aminoglucósido.
3. El potencial para dirigirse mejor a las bacterias que crecen en una biopelícula como un resultado de las propiedades únicas de los aminoglucósidos liposomales o basados en lípidos.
4. Liberación adicional del fármaco en el sitio de infección en los pulmones de pacientes con CF, debido a la acción dirigida de la fosfolipasa C secretada y los ramnolípidos de bacterias y/o fosfolipasa A2 o defensinas de los leucocitos polimorfonucleares activados.
5. La amikacina es un aminoglucósido semisintético con una resistencia única a las enzimas inactivadoras de aminoglucósidos. En consecuencia, algunas cepas de *P. aeruginosa* que son resistentes a la tobramicina probablemente seguirán siendo susceptibles a la amikacina.
6. La amikacina tiene menos afinidad de unión que otros aminoglucósidos por la megalina, el transportador responsable de la acumulación de aminoglucósidos corticales renales, y por lo tanto tiene un menor potencial de nefrotoxicidad.
7. El aumento tanto en la vida media como en el área bajo la curva de concentración (AUC) de amikacina a base de lípidos o liposomal, junto con la penetración de biopelículas, debería permitir una administración menos frecuente, una mayor actividad bactericida y un potencial reducido para la selección de organismos resistentes.

La farmacocinética preclínica ha demostrado que el AUC (0-48 h) de la amikacina en los pulmones de ratas que recibieron una dosis de 60 mg/kg en aerosol de Amikacina Liposomal fue cinco veces mayor que el AUC de la tobramicina en los pulmones de ratas que recibieron una dosis igual de tobramicina por inhalación. Generalmente, el 10 % del antibiótico administrado se deposita en los pulmones para las ratas. Por el contrario, el AUC del fármaco en los riñones de las ratas que recibieron una dosis igual de tobramicina fue significativamente mayor que el AUC renal de las ratas que recibieron aerosoles de Amikacina Liposomal. Adicionalmente, los datos de estudios de toxicología por inhalación de 30 días en ratas y perros sugieren que no habrá problemas de farmacología por seguridad con la Amikacina Liposomal inhalada.

En 14 días de estudios con modelos de ratas de infección por *pseudomonas*, se observó que 60 mg/kg de Amikacina Liposomal (75 mg/ml) administrados cada dos días durante 14 días (Q2D x 7), lo que efectivamente suministró la mitad

de la dosis acumulada de aminoglucósido que los otros grupos fueron tan efectivos como 60 mg/kg de Amikacina Liposomal administrada una vez al día, y Tobramicina administrada dos veces al día diariamente durante 14 días. Con la dosificación de 28 días en este modelo, hubo reducciones equivalentes en las CFU en animales que recibieron Amikacina Liposomal dosificada diariamente a ~60 mg/kg o dosificada cada dos días a ~120 mg/kg. La Amikacina Liposomal administrada a 120 mg/kg una vez al día durante 14 días fue tan efectiva como la Tobramicina 60 mg/kg/día (administrada dos veces al día) durante 28 días, lo que sugiere una AUC más alta y posiblemente un efecto posterior al antibiótico prolongado con la Amikacina Liposomal a 120 mg/kg dosificada una vez al día (ver Ejemplo 3).

La administración de Amikacina Liposomal mediante inhalación en el modelo animal resultó en un aumento en el pulmón (AUC) por encima del MIC de la bacteria, y demostró un efecto terapéutico sostenido, con una frecuencia reducida y una duración de la dosificación en comparación con la Tobramicina. Es importante destacar que los datos preclínicos para la Amikacina Liposomal parecen respaldar la hipótesis de que esta formulación específica puede ser ventajosa sobre otros productos de inhalación que se ven obstaculizados por un aclaramiento rápido desde el tejido pulmonar, lo que necesita una dosificación frecuente (Geller, Pitlick y otros 2002), que plantea una carga para los pacientes y podría limitar el cumplimiento del paciente.

Adicionalmente, la experiencia clínica demostró que la Amikacina Liposomal nebulizada 50 mg/ml administrada como 500 mg una vez al día durante 14 días es bien tolerada y provoca un efecto clínicamente relevante sobre la función pulmonar y la disminución en la densidad de *P. aeruginosa* en pacientes con CF. Además, la evaluación de los datos de PK indica que la exposición sistémica a la Amikacina Liposomal, incluso a la dosis de 500 mg, es muy baja. Por $C_{\max}$ o AUC o mg de aminoglucósido que se recupera en la orina, la exposición sistémica observada a la amikacina, asociada con la Amikacina Liposomal, administrada por inhalación es aproximadamente 1/5 a 1/4 de la exposición observada con 600 mg/d de TOBI y es menos de 1/200 en comparación con las dosis parenterales normales de Amikacina. Los datos indican además que se logran altos niveles de Amikacina en el esputo. Los valores medios de AUC para el esputo fueron 290 y 980 veces mayores que los valores medios de AUC para el suero el día 1 y el día 14, respectivamente.

La amikacina liposomal inhalada mantiene exposiciones dirigidas prolongadas de los pulmones y aumenta la captación del fármaco en el sitio de la infección. Mediante el uso de datos de un estudio clínico en Fase 1b/2a en humanos en el cual pacientes con CF con infección crónica por *P. aeruginosa* recibieron múltiples dosis de Amikacina Liposomal 50 mg/ml, los objetivos de los análisis descritos en la presente descripción fueron tres: (1) usar el modelo de farmacocinética poblacional (PK) para caracterizar la exposición sistémica a la amikacina, que incluye la biodisponibilidad sistémica aproximada; (2) caracterizar la disposición de amikacina liposomal en el esputo; y (3) caracterizar la relación farmacocinética-farmacodinámica (PK-PD) entre el cambio en el volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV_1), el cambio en el por ciento previsto de volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV_1 % previsto), flujo espirado forzado entre 25-75 % de la capacidad vital forzada (FEF_{25-75} %), y la capacidad vital forzada (FVC), en unidades formadoras de colonias (CFU) de *P. aeruginosa* con relación al valor inicial en los días 7 y 14, y la exposición a la amikacina.

Estudios preclínicos con Amikacina Liposomal

Se realizaron varios estudios preclínicos con las formulaciones de 20 y 50 mg/ml. Se demostró actividad anti-pseudomonas de la Amikacina Liposomal en modelos in vitro e in vivo. Adicionalmente, los estudios confirmaron que los factores de virulencia secretados por las *Pseudomonas* facilitaron la liberación adicional de amikacina desde los liposomas, y caracterizó la deposición y la liberación sostenida de amikacina en los pulmones de ratas y perros. También se estableció la seguridad de una administración de 30 días de Amikacina Liposomal en dos especies.

La farmacocinética no clínica ha demostrado que el AUC (0-48 h) de la amikacina en los pulmones de ratas que recibieron una dosis de 60 mg/kg de Amikacina Liposomal mediante nebulización fue cinco veces mayor que el AUC de la tobramicina en los pulmones de ratas que recibieron una dosis igual de tobramicina por inhalación. Se mantuvieron altos niveles de amikacina en el pulmón ($> 250 \mu\text{g/ml}$ durante 150 h), lo que sugiere un efecto de depósito. Por el contrario, los niveles de tobramicina en los pulmones no fueron detectables dentro de las 6 horas posteriores al cese de la administración. Por el contrario, el AUC del fármaco en los riñones de las ratas que recibieron una dosis igual de tobramicina fue significativamente mayor que el AUC de las ratas que recibieron aerosoles de Amikacina Liposomal. No hubo diferencias significativas en el AUC de los aminoglucósidos en el suero y la orina de los animales; los niveles en suero fueron indetectables después de 24 h. Este perfil respalda la liberación sostenida prevista y el efecto de depósito de la amikacina en el pulmón después de la administración de Amikacina Liposomal nebulizada, lo que representa potencialmente un perfil de eficacia mejorado. Estos datos para la Amikacina Liposomal parecen respaldar la hipótesis de que esta formulación específica puede ser ventajosa sobre otros productos de inhalación que se ven obstaculizados por un aclaramiento rápido desde el tejido pulmonar, lo que necesita una dosificación frecuente (Geller, Pitlick y otros 2002), y coloca un límite en los pacientes. Adicionalmente, los datos toxicocinéticos de los estudios de toxicología de GLP por inhalación de 30 días en ratas y perros mostraron que hay un aumento de 15 veces en la deposición pulmonar de perros con amikacina en comparación con el grupo tratado con amikacina libre, con niveles comparables en plasma y orina, lo que indica altas concentraciones pulmonares con baja exposición sistémica.

Se evaluó el efecto farmacodinámico de la Amikacina Liposomal in vivo en un modelo de rata de infección pulmonar crónica con *Pseudomonas* (Cash, Woods y otros, 1979). En un modelo de infección por *Pseudomonas* de 14 días, se administraron 60 mg/kg de Amikacina Liposomal (75 mg/ml) cada dos días durante 14 días (Q2D x 7). Este régimen fue

tan efectivo como 60 mg/kg de Amikacina Liposomal (administrada una vez al día durante 14 días) y tobramicina (administrada dos veces al día durante 14 días). Cuando la dosis se extendió a 28 días, hubo reducciones equivalentes en las CFU para los animales que recibieron Amikacina Liposomal dosificada diariamente a ~ 60 mg/kg o dosificada cada dos días a ~ 120 mg/kg. Además, en este experimento, la Amikacina Liposomal administrada a 120 mg/kg una vez al día durante 14 días fue tan efectiva como la tobramicina 60 mg/kg/día (administrada dos veces al día) durante 28 días. Esto indicó un AUC más alto y un efecto posterior al antibiótico prolongado con la Amikacina Liposomal a 120 mg/kg dosificados una vez al día. Los datos farmacodinámicos preclínicos fueron, por lo tanto, consistentes con un beneficio antimicrobiano sostenido mejorado por suministro específico de sitio del fármaco a los pulmones mediante inhalación.

Por lo tanto, la administración de Amikacina Liposomal mediante inhalación resultó en un aumento de las concentraciones pulmonares (AUC) varias veces por encima de la MIC de la bacteria, con el potencial de proporcionar un efecto terapéutico sostenido con una frecuencia y duración reducidas de la dosificación, particularmente en comparación con la tobramicina.

Ejemplo de referencia 1

Estudio en Fase 1b/2a

Los datos usados para este análisis de PK poblacional se obtuvieron de dos estudios clínicos en Fase 1b/2a en humanos en los que pacientes con CF, infectados crónicamente con *P. aeruginosa*, se les administró un total de 500 mg de Amikacina Liposomal diariamente (en dos sesiones de 20 minutos con un período de descanso de 5 minutos en el medio) durante 14 días.

Las muestras de suero de amikacina se obtuvieron previo a la dosis y 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas después de la dosis los Días 1 y 14, mientras que las muestras de orina se recogieron durante intervalos de 6 horas el Día 1 y el Día 14 durante periodo de 24 horas. Las muestras de esputo también se recogieron el Día 1 y el Día 14, poco después de que se administró la dosis, entre 4 y 6 horas después de la dosificación y previo a la administración de la dosis al día siguiente, así como también en los Días 14, 21 y 28. Las muestras de suero, esputo y orina se analizaron para la amikacina mediante el uso de Cromatografía Líquida-Espectrometría de Masas/Espectrometría de Masas (LC-MS/MS).

Las pruebas de función pulmonar (PFT) se realizaron durante el tamizaje del Día -14 a 0) y al inicio del estudio (es decir, previo a la administración de la dosis el Día 1) y el Día 1, 7, 14, 21, 28, 35 y 42. También se recogieron muestras de esputo para microbiología al inicio del estudio y en cada uno de estos días. Se realizaron PFT adicionales 1,5 horas y 3 horas posteriores a la dosis el Día 1 y el Día 14.

Análisis Farmacocinético

Los datos se ajustaron por modelos PK candidatos, mediante el uso de la maximización de expectativas paramétricas de Monte Carlo (MC-PEM), como se implementa en S-ADAPT 1.53, inicialmente ajustando las concentraciones plasmáticas, luego comodelando los datos de suero y orina. La discriminación del modelo se basó en el ajuste de los datos y el cambio en la función objetivo. El área de 24 horas bajo la curva (AUC) en estado estacionario para los valores de amikacina en suero se calculó mediante el uso de las estimaciones de parámetros post-hoc del modelo PK poblacional final. Las relaciones covariables entre la demografía del paciente y los parámetros individuales post-hoc se evaluaron primero gráficamente, luego por medio de modelos estadísticos creados mediante el uso de SYSTAT® 11 (SYSTAT Software, Inc., Richmond, CA). Los valores de AUC del esputo de 0 a 24 horas en el Día 1 y el Día 14 se obtuvieron mediante el uso de la regla trapezoidal lineal.

Las variables dependientes para el análisis PK-PD incluyeron el cambio en los valores de PFT para FEV₁, FEV₁ % previsto, FEF₂₅₋₇₅ % y FVC, en los Días 7 y 14 con relación al valor inicial (previo a la administración de la dosis en el Día 1) y el cambio en el log₁₀ CFU en cada uno de estos días con relación a la línea basal. Las variables independientes evaluadas incluyeron la relación del AUC promedio de 24 horas para el suero y el esputo a la concentración mínima inhibitoria (MIC) del valor inicial, relación AUC: MIC para *P. aeruginosa*. El AUC promedio del suero y el esputo de 24 horas se calculó tomando el promedio de los valores de AUC del Día 1 y del Día 14.

Mediante el uso de una prueba t de una muestra, se evaluó la significación estadística de los cambios medios desde el valor inicial para cada una de las variables dependientes descritas anteriormente. Mediante el uso de la correlación por rangos de Spearman (r_s), se evaluó la dirección y la fuerza de la relación entre cada una de las variables dependientes y la relación de AUC:MIC para el suero y el esputo. También se evaluaron la dirección y la fuerza de la relación entre el cambio en cada uno de los valores de PFT a partir del valor inicial y el cambio en el log₁₀ CFU a partir del valor inicial.

Resultados

Un total de 24 pacientes completaron los dos estudios con 13 pacientes del Estudio 1 y 11 pacientes del Estudio 2. La mediana de edad (mín, máx) de todos los pacientes fue de 23,7 (14, 38) años con una mediana (intervalo) de aclaramiento de creatinina (CrCL) basal de 126 (76,8, 173) mL/min/1,73m².

El ajuste más robusto de los datos de concentración en suero se obtuvo mediante el uso de un modelo de dos compartimentos (un sitio de absorción, el pulmón y el compartimento central) con entrada del fármaco de orden cero en los pulmones, un proceso de primer orden desde los pulmones hasta el compartimento central y eliminación lineal. Permitir una variación inter-ocasional en el aclaramiento total aparente (CLt/F) y el volumen central aparente de distribución (Vc/F) entre el Día 1 y el Día 14 mejoró la función objetivo estadísticamente. Los datos de orina se modelaron mediante el ajuste de las cantidades de amikacina recuperadas en los intervalos de recolección, como una función de las concentraciones en suero y el aclaramiento renal (CLr). La Tabla 1 es un resumen de los valores de los parámetros de PK ajustados.

Tabla 1. Modelo farmacocinético poblacional estructural para la amikacina liposomal para inhalación con variabilidad inter-ocasional - Estimaciones de parámetros y errores estándar.

Parámetro	Media poblacional		Variabilidad interindividual (% de CV)	
	Estimación final	% de SE	Estimación final	% de SE
CLt/F Día 1 (L/h)	68.4	10.3	48.7	29.9
Vc/F Día 1 (L)	286	12.3	59.0	29.7
ka (h ⁻¹)	3.34	32.5	99.8	50.5
CLr (L/h)	3.40	15.4	63.9	36.7
CLt/F Día 14 (L/h)	45.2	8.01	37.1	30.7
Vc/F Día 14 (L)	250	8.51	27.0	30.8
SDint ^{Suero}	0.05	6.02		
SDslp ^{Orina}	0.70	9.16		
SDint ^{Orina}	0.03			
Valor mínimo de la función objetivo = -258,6				

La bondad de ajuste para los datos de concentración en suero individual post-hoc observada versus Bayesiana fue excelente, con una r^2 general de 0,98.

Los valores de AUC para los datos de suero y esputo se muestran en las Tablas 2 y 3, respectivamente. Los valores medios de AUC para el esputo fueron 286 y 978 veces mayores que los valores medios de AUC para el suero el Día 1 y el Día 14, respectivamente. Como se evidencia por los valores más altos de CV%, fue evidente una mayor variabilidad en el esputo (117 % en el Día 1 y 91,2 % en el Día 14) en comparación con los valores de AUC en suero (51,9 % en el Día 1 y 42,4 % en el Día 14).

Tabla 2. Resumen de los valores de AUC en suero¹ - Todos los pacientes

Día del estudio	N	Media	SD	Mín	Mediana	Máx
Día 1	24	8.27	4.29	3.67	6.88	20.1
Día 14	24	12.0	5.08	5.65	10.8	30.1
¹ Valores de AUC en mcg/mL·h						

Tabla 3. Resumen de los valores de AUC en esputo¹ - Todos los pacientes

Día del estudio	Media	SD	Mín	Mediana	Máx
Día 1	3830	4500	78.70	1970	17200
Día 14	12500	11400	1740	10578	50000
Los valores de AUC están en mcg/mL·h					

Las concentraciones en suero ($r^2 = 0,98$) y orina ($r^2 = 0,38$) se ajustaron bien y modestamente por el modelo, respectivamente. En los Días 7, 14 y 21, el cambio observado para FEF₂₅₋₇₅ % fue 0,49 ($p < 0,001$), 0,42 ($p = 0,02$) y 0,34 L/seg ($p = 0,04$), respectivamente. En los Días 7 y 14, el cambio observado para FEV₁ fue 0,24 ($p = 0,002$) y 0,13 L ($p = 0,10$), respectivamente, y fue 7,49 ($p < 0,001$) y 4,38 L/seg ($p = 0,03$) para FEV₁ % previsto. Se identificaron las relaciones significativas ($p \leq 0,05$) entre log₁₀ CFU y la relación de AUC: MIC en suero, y entre los cambios en el log₁₀ CFU y FEV₁, FEV₁% previsto y FVC.

Los datos de PFT basales y del Día 14 estuvieron disponibles para los 24 pacientes y para las PFT realizadas los Días 7 y 21, tales datos estuvieron disponibles para 23 pacientes. Los datos de microbiología estuvieron disponibles para los 24 pacientes. Dado que no se informaron los valores de MIC recogidos previo a la dosificación en el Día 1 para el Estudio 2, los valores de MIC del tamizaje, así como también los recuentos de CFU se usaron como valores iniciales.

Mediante el uso de una prueba t de una muestra, se evaluó la significación estadística de los cambios medios desde el valor inicial para cada una de las variables dependientes descritas anteriormente. Mediante el uso de la correlación por rangos de Spearman (r_s), se evaluó la dirección y la fuerza de la relación entre cada una de las variables dependientes y la relación de AUC: MIC para el suero y el esputo.

Los cambios medios en los valores de PFT en el Día 7 con relación al valor inicial fueron estadísticamente significativos para todos los criterios de valoración de PFT. Los cambios medios en FEV₁ % previsto y FEF₂₅₋₇₅ % en el Día 14 con relación al valor inicial también fueron estadísticamente significativos ($p = 0,029$ y $p = 0,016$, respectivamente). Para el Día 21, el cambio medio en FEF₂₅₋₇₅ % con relación al valor inicial fue la PFT única que se mantuvo estadísticamente significativa ($p = 0,036$). Independientemente del día de estudio considerado, el cambio medio en el log₁₀ CFU desde el valor inicial no fue estadísticamente significativo.

Como se muestra en la Tabla 4, las correlaciones entre el cambio en los valores de PFT desde el valor inicial y la relación de AUC: MIC de esputo o suero no fueron estadísticamente significativas, independientemente de si se evaluaron los cambios en el Día 7 o 14. Como se muestra en la Tabla 5, la correlación entre el cambio en el log₁₀ CFU desde el valor inicial y la relación de AUC: MIC de suero fue estadísticamente significativa tanto para el Día 7 como para el 14. Las relaciones crecientes de AUC: MIC de suero se asociaron con mayores disminuciones en el log₁₀ CFU en el Día 7 ($r_s = -0,46$, $p = 0,048$) y 14 ($r_s = -0,45$, $p = 0,048$) con relación al valor inicial.

Las correlaciones entre el cambio en el valor de PFT y el log₁₀ CFU en los Días 7 y 14 con relación al valor inicial fueron estadísticamente significativas para FEV₁, FEV₁ % previsto, y FVC ($p < 0,05$).

Tabla 4. Relación entre el cambio en los valores de las pruebas de función pulmonar desde el valor inicial y relación de AUC: MIC para suero y esputo - Todos los pacientes

Día de estudio AUC: MIC	Correlación por rangos de Spearman	Cambio en los valores de PFT desde el valor inicial			
		FEV ₁	FEV ₁ % previsto	FEF ₂₅₋₇₅ %	FVC
Día 7 suero	r_s^2	0.072	0.0066	< 0,0001	0.021
	Valor de p	0.21	0.71	0.97	0.51
Día 14 suero	r_s^2	0.046	0.0073	0.00018	0.0012
	Valor de p	0.31	0.69	0.95	0.87
Día 7 esputo	r_s^2	0.033	0.040	0.0085	0.19
	Valor de p	0.46	0.41	0.71	0.06
Día 14 esputo	r_s^2	0.025	0.052	0.0053	0.06

Tabla 5. Relación entre el cambio en el log₁₀ CFU y relación de AUC: MIC para suero y esputo - Todos los pacientes

Día de estudio AUC: MIC	Correlación por rangos de Spearman	log ₁₀ CFU
Día 7 suero	r_s^2	0.21
	Valor de p	0.048
Día 14 suero	r_s^2	0.20
	Valor de p	0.048
Día 7 esputo	r_s^2	0.017
	Valor de p	0.64
Día 14 esputo	r_s^2	0.0031
	Valor de p	0.84

Mientras que el cambio medio en el log₁₀ CFU de *P. aeruginosa* desde el valor inicial en los Días 7 y 14 no fue estadísticamente significativo, la correlación entre el cambio en el log₁₀ CFU desde el basal en estos puntos de tiempo y la relación de AUC: MIC de suero fue estadísticamente significativa; los aumentos en la relación de AUC: MIC de suero se asociaron con disminuciones en el log₁₀ CFU. Por el contrario, esta relación no se mantuvo con el AUC: MIC de esputo y confirma la gran variabilidad en la cinética del esputo de la Amikacina Liposomal, que también se muestra con TOBI (Geller, Pitlick y otros 2002).

Las relaciones significativas entre los cambios en el log₁₀ CFU y la relación de AUC: MIC de suero, y entre los cambios en los valores PFT y log₁₀ CFU, y la falta de disminución significativa en el log₁₀ CFU de *P. aeruginosa* durante las dos semanas de tratamiento con amikacina liposomal para inhalación sugiere que se pueden requerir dosis más altas para ser más confiablemente efectivos en una gran población de pacientes.

Resumen del Estudio en Fase 1a/2b

Se han completado dos estudios en Fase 1b/2a que usan la Amikacina Liposomal 50 mg/ml. Los dos estudios fueron similares en el diseño. Un total de 24 pacientes con CF (con FEV₁ ≥ 40 % de lo previsto) recibió 500 mg de Amikacina Liposomal diariamente durante 14 días. El fármaco se administró mediante el uso de un nebulizador PARI LC Star, durante un período de dos sesiones de inhalación de 20 minutos con un período de descanso de 5 minutos entre sesiones. Hubo 13 pacientes inscritos en el Estudio 1, 11 pacientes en el Estudio 2. La demografía de los pacientes fue similar, con la excepción de MIC de *Pseudomonas* inicial. En el Estudio 1, la MIC media (ug/mL) fue de 8 (intervalo 1,5-16) y en el Estudio 2, la MIC media fue de 41 ug/mL (intervalo 8-192). Los pacientes inscritos en el Estudio 2 tenían experiencia previa con antibióticos por inhalación y, según el protocolo, se les permitió reanudar el tratamiento con TOBI®/Colistina

después del Día 28 del estudio. Los pacientes en el Estudio 1 eran vírgenes a los antibióticos por inhalación, y no recibieron antibióticos por inhalación adicionales durante el período de seguimiento. La dosis de 500 mg de Amikacina Liposomal (50 mg/ml) fue bien tolerada, y en pacientes seleccionados mejoró la función pulmonar y disminuyó la densidad de *P. aeruginosa* en el esputo. Los detalles de la demografía de los pacientes para los Estudios 1 y 2 (combinados) se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Datos demográficos del paciente en los estudios 1 y 2.

Variable	Media	SD	Mediana	Mín	Máx
Edad	23.7	6.96	22.5	14.0	38.0
Peso (kg)	59.1	13.0	58.6	43.4	99.6
Altura (cm)	168	8.10	168	155	194
IBW (kg)	61.4	8.99	60.0	47.9	87.7
CrCL (ml/min)	125	20.9	126	76.8	173

Todos los análisis de eficacia en estos estudios clínicos en Fase 1b/2a en humanos fueron de naturaleza exploratoria. Los criterios de valoración de la eficacia incluyeron:

El Cambio desde el basal en la densidad de *P. aeruginosa* ($\log_{10}$ CFU/g) en esputo;

El Cambio desde el Basal en las pruebas de función pulmonar (FEV_1 , FEV_1 % previsto, FVC y $FEF_{(25-75\%)}$).

Los cambios en la densidad de *P. aeruginosa* en el esputo, FEV_1 y FEV_1 % previsto en el Día 14 se identificó como el criterio de valoración principal de eficacia.

Se realizaron el cultivo cuantitativo de muestras de esputo y subsecuentes pruebas de susceptibilidad de la amikacina de cada una de ellas morfológicamente distintas de *P. aeruginosa*. Se documentó la MIC de amikacina para los aislados con la MIC más alta cultivada de cada sujeto en el tamizaje y el Día 14. La densidad (CFU por gramo de esputo) de *P. aeruginosa* en el esputo se calculó como el valor de $\log_{10}$ para la suma de todos los morfotipos.

En la tabla 7 se muestra un resumen de las características iniciales de la población combinada (n = 24).

Tabla 7. Mediciones basales para los pacientes en los Estudios 1 y 2.

Variable	Media	SD	Mediana	Mín	Máx
FEV_1 (L)	2.38	1.07	2.18	1.15	6.10
FEV_1 % previsto (L/seg)	65.5	18.9	62.5	40.0	119
FEF_{25-75} (L/seg)	1.71	1.26	1.49	0.55	5.50
FVC (L)	3.32	0.92	3.27	1.67	5.28
$\log_{10}$ CFU Recuento	7.05	1.3	7.3	3.51	8.98
MIC (mcg/ml)	35	56	10	2	192

Estudio 1: En este estudio, se incluyeron los pacientes con CF infectados con *P. aeruginosa* con aislados sensibles a la amikacina (amikacina MIC < 64 μ g/mL), y aquellos sujetos vírgenes a antibióticos inhalados. La administración de 500 mg de Amikacina Liposomal una vez al día durante 2 semanas mostró un cambio medio en la suma logarítmica de los recuentos de *P. aeruginosa* desde el valor inicial hasta el Día 14 de 1,09 (n = 13; intervalo de confianza del 95 %, 2,09 a 0,09). Las reducciones en los recuentos se observaron en 9 de los 13 sujetos. El tratamiento con Amikacina Liposomal no resultó en la selección de cepas resistentes de *P. aeruginosa*. El MIC media de amikacina para *P. aeruginosa* fue de 8,04 μ g/mL en el Día 0 y de 30,79 μ g/mL en el Día 14. En el Día 14, un solo aislado en un sujeto tenía una MIC no sensible (> 256 μ g/mL); todos los demás aislados del Día 14 fueron sensibles a la amikacina. Ningún humano fue hospitalizado o recibió antibióticos intravenosos anti-Pseudomonas. Adicionalmente, hubo una mejora en la función pulmonar medida por un aumento en FEV_1 desde el valor inicial hasta el Día 14 de +260 ml (n = 13; intervalo de confianza del 95 %, +30 ml a +500 ml). El cambio correspondiente en FEV_1 % previsto desde el valor inicial hasta el Día 14 fue de + 7,32 %. Se observaron aumentos en FEV_1 en 9 de los 13 sujetos. También hubo aumentos en $FEF_{(25-75\%)}$ (media: 570 ml) y FVC (media: 180 ml).

Estudio 2: El Estudio 2 se realizó en una población de pacientes con CF que estaban infectados con *P. aeruginosa*, y se experimentó el tratamiento con antibióticos por inhalación. En estos pacientes, la administración de Amikacina Liposomal 500 mg q. d. durante 2 semanas no mostró ningún cambio significativo en la densidad de *P. aeruginosa* durante el estudio (valores p $\geq 0,297$ para el cambio desde el Día 1). La proporción de pacientes con *P. aeruginosa* mucóide permaneció constante durante todo el estudio. No se observaron cambios estadísticamente significativos en FEV_1 , FEV_1 % previsto, FVC y $FEF_{(25-75\%)}$ después de la administración de Amikacina Liposomal 500 mg. Sin embargo, se observaron tendencias que sugieren una mejora en FEV_1 % previsto, FVC y $FEF_{(25-75\%)}$ en el Día 7, el Día 14 (fin del tratamiento) y el Día 15.

Resumen de la Eficacia Integrada: Estudios 1 y 2

Los datos de la población combinada de 24 pacientes en los estudios 1 y 2 se resumen a continuación en las Tablas 8, 9, 10 y 11. El criterio de valoración microbiológico de cambio en log CFU de *P. aeruginosa*, demostró una reducción en la densidad bacteriana en la población combinada, pero esto no alcanzó significación estadística. Pero, cuando se analizaron los datos de pacientes vírgenes a antibióticos por inhalación (estudio 1), se observó una reducción estadísticamente significativa en las CFU al final del tratamiento. Los factores que podrían explicar este efecto son la variabilidad inherente en las muestras de esputo, la variabilidad entre los laboratorios en la metodología y el informe de la microbiología cuantitativa, y la inscripción de pacientes con MIC más altas (incluidos los aislados resistentes) en el estudio 2. Todo lo anterior se ve agravado por el pequeño tamaño de la muestra de cada estudio.

La evaluación del beneficio clínico mediante la medición de las pruebas de función pulmonar mostró una mejora estadísticamente significativa en la función pulmonar medida por un aumento en FEV₁ desde el valor inicial hasta el Día 7 de +240 ml (n = 23; valor p 0,0024). El efecto en el día 14 fue un aumento de 126 ml desde el valor inicial en FEV₁, que no fue estadísticamente significativo. Un aumento estadísticamente significativo correspondiente en FEV₁ % previsto desde el valor inicial hasta el Día 7 fue + 7,49 % (n = 24; valor p 0,0002), y en el Día 14 fue + 4,37 % (n = 24; valor p 0,0285). La mejora en la función pulmonar también se observó con la evaluación de las vías respiratorias pequeñas medida por FEF_(25-75 %) en el día 7, un aumento en +494 ml (n = 23; valor p 0,001), y en el Día 14, +423 ml (n = 24; valor p 0,0162). Estos datos respaldan una mejora clínicamente significativa en la función pulmonar en pacientes con CF con infección crónica por *Pseudomonas* que ha recibido un curso de tratamiento de 14 días con Amikacina Liposomal.

Tabla 8. Cambio en FEV desde el valor inicial en varios momentos en todos los pacientes.

Punto de Tiempo	N	Media	CV	valor de p
Día 7 (predosis)	23	0.24	1.4	0.0024
Día 14 (predosis)	24	0.126	2.66	0.1006
Día 21	23	0.073	4.9 1	0.3397

Tabla 9. Cambio en el % de FEV previsto desde el valor inicial en varios momentos en todos los pacientes.

Punto de Tiempo	N	Media	CV	valor de p
Día 7 (predosis)	23	7.491	1.09	0.0002
Día 14 (predosis)	24	4.379	2.10	0.0335
Día 21	23	2.713	3.25	0.1544

Tabla 10. Cambio en FEF₂₅₋₇₅ desde el valor inicial en varios momentos en todos los pacientes.

Punto de Tiempo	N	Media	CV	valor de p
Día 7 (predosis)	23	0.494	1.26	0.001
Día 14 (predosis)	24	0.423	1.89	0.0162
Día 21	23	0.338	2.15	0.0361

Tabla 11. Cambio en las CFU desde el valor inicial en varios momentos en todos los pacientes.

Punto de Tiempo	N	Media	CV	valor de p
Día 7	19	-0.154	-7.37	0.5616
Día 14	20	-0.315	-4.42	0.3242
Día 21	20	0.24	5.4	0.4182

Ejemplo 2

Estudio Clínico en Fase 1

Se completaron dos estudios clínicos en Fase 1 de dosis única con formulaciones de 20 y 50 mg/ml de Amikacina Liposomal en voluntarios sanos y en pacientes con CF, respectivamente. Seis voluntarios sanos recibieron una dosis única de 120 mg de Amikacina Liposomal y la toleraron bien, y exhibieron una retención prolongada de los liposomas radiomarcados en los pulmones, con una vida media medida de 46 horas.

Se administró Amikacina Liposomal a sujetos con CF con infecciones crónicas por *P. aeruginosa* en un estudio clínico en Fase I en humanos (Estudio 3). Se administraron dosis únicas de 90 mg (n = 6), 270 mg (n = 6) o 500 mg (n = 4) a sujetos con CF para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y la farmacocinética de la amikacina liposomal para inhalación. Se evaluaron un total de 24 pacientes con sesiones de dosificación de una administración de dosis única de Amikacina Liposomal o placebo por inhalación a través del nebulizador Pari LC Star. Se informaron dos eventos adversos graves (ambos ocurrieron en el grupo placebo). Ambos eventos se recuperaron sin secuelas. Un total de 41 eventos adversos (AE) se experimentaron en 17 de las 24 pacientes dosificados (71 %) durante el ensayo. De los AE informados, 10 de los

16 pacientes (62,5 %) que informaron eventos adversos estaban en el grupo activo y 7 de los 8 pacientes (87,5 %) estaban en el grupo placebo. El dolor de cabeza fue el AE más común reportado en el grupo activo y ningún paciente fue descontinuado del estudio debido al AE. La Amikacina Liposomal fue bien tolerada y segura hasta una dosis única de 500 mg administrada mediante inhalación.

Adicionalmente, los datos de PK confirman niveles mínimos de fármaco sistémico y altos niveles de fármaco en el esputo, y el modelado farmacodinámico estima una vida media de eliminación prolongada presumiblemente debido a la liberación lenta desde los liposomas.

Ejemplo 3

Estudio Clínico en Fase 2

El diseño del estudio se resume en la Figura 4. Los pacientes incluidos en el estudio fueron pacientes con CF mayores o iguales a seis años de edad con infecciones crónicas por *P. aeruginosa*. Los pacientes no tomaron antibióticos inhalados durante 28 días antes de comenzar el estudio. Los pacientes fueron estratificados por FEV₁ (% prev) inicial y aleatorizados 2:1 a Arikace™ o placebo (1,5 % NaCl). La Cohorte 1 recibió 280 mg y la Cohorte 2, 560 mg de fármaco activo o placebo durante 28 días por inhalación con nebulizador PARleFlow®, y se siguieron durante 28 días durante los cuales no se administraron antibióticos inhalados. La seguridad, la farmacocinética, la densidad del esputo de Pa, la calidad de vida (CFQ-R) y la velocidad de exacerbación se evaluaron semanalmente durante el período de estudio de 56 días.

En resumen, la administración diaria de 280 mg y 560 mg de amikacina liposomal durante 28 días parece segura y bien tolerada. La administración de amikacina liposomal a 280 mg y 560 mg durante 28 días resulta en una mejora dependiente de la dosis en la función pulmonar, que se mantiene al menos durante 28 días después de la finalización de la dosificación. Los pacientes que recibieron amikacina liposomal experimentaron menos exacerbaciones pulmonares (7,14 %) en comparación con los que recibieron un placebo (18,18 %). Adicionalmente, el tiempo de exacerbación se prolongó en los grupos de amikacina (41 días) en comparación con el placebo (19 días). Los grupos que recibieron amikacina no experimentaron exacerbaciones pulmonares durante el período de tratamiento de 28 días. Los pacientes que recibieron amikacina liposomal demostraron un mayor beneficio clínico en comparación con el grupo placebo, medido por la mejora en la calidad de vida de la escala respiratoria CFQR.

Las Figuras 5 y 6 representan gráficos que muestran el cambio en la saturación de oxígeno desde el valor inicial en pacientes pediátricos (de 6 a 12 años) en comparación con el placebo. Los resultados demuestran una mejora en la saturación de oxígeno que comienza durante el período de tratamiento de 28 días y continúa más allá del período de tratamiento. También se observó una mejora similar en la saturación de oxígeno en pacientes mayores de 12 años.

Las Figuras 7a y 7b representan el cambio en la función pulmonar medido por el volumen espiratorio forzado (FEV₁) en el grupo de placebo y en el grupo de amikacina, respectivamente, desglosado por grupos de edad. Los pacientes en el grupo placebo muestran una disminución general en FEV₁ para el día 56, mientras que los pacientes que recibieron amikacina liposomal demostraron consistentemente un aumento en FEV₁ tanto durante como hasta 28 días después del tratamiento. El grupo placebo tuvo el siguiente cambio en los valores de la función pulmonar (medido en ml):

Tabla 12: Cambio en FEV₁ en el grupo placebo.

Edad	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 35	Día 56
6-12	-79	-88 (117)	26	0 (61)	-6	-4
13-18	87	2 (80)	25	26 (149)	25	-65
18+	102	-22 (150)	46	36 (135)	-24	-56

El grupo de amikacina tuvo el siguiente cambio en los valores de la función pulmonar (ml):

Tabla 13: Cambio en FEV₁ en el grupo tratado con amikacina liposomal.

Edad	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 35	Día 56
6-12	173	232 (117)	138	154 (165)	110	178
13-18	136	133 (157)	143	158 (153)	79	44
18+	103	94 (107)	68	46 (95)	29	55

Una comparación del cambio en FEV₁ desde el valor inicial (medido en ml) para todos los pacientes en los grupos de 560 mg, 280 mg y placebo se muestra en la Figura 8. Una vez más, los datos demuestran un efecto sostenido que dura tanto como hasta el día 56 en pacientes que reciben amikacina liposomal, donde el efecto es aún más pronunciado en el grupo de 560 mg en comparación con el grupo de 280 mg. La Figura 9 representa el cambio desde el valor inicial como un porcentaje. FEV₁ aumentó significativamente en el grupo de 560 mg, con un efecto del tratamiento sostenido de un aumento de 224 ml (un 17,6 %) en comparación con el placebo en el día 56.

Los datos del estudio también demostraron una reducción significativa en las CFU en pacientes que reciben amikacina liposomal en comparación con el placebo, y esta reducción se mantuvo al menos hasta el día 35. La reducción en las CFU fue más pronunciada para el grupo que recibió 560 mg de amikacina en comparación con el grupo de 280 mg, como se observa en la Figura 10. La Figura 11 representa el cambio de Log CFU para las cepas mucoides. Estos resultados demuestran que la densidad de *P. aeruginosa* se redujo, medido por log CFU, en los grupos que recibieron amikacina liposomal, en comparación con el placebo, y este efecto se mantuvo al menos hasta el día 35 del estudio. Los pacientes con cepas mucoides de *P. aeruginosa* también fueron susceptibles al tratamiento con amikacina liposomal. Se observó una reducción de 1,2 log CFU en el grupo de 280 mg, y una reducción de 2,0 log en el grupo de 560 mg. La reducción se mantuvo en el día 35 del grupo de 560 mg con una reducción de 1,8 log CFU, mientras que la reducción se mantuvo con una reducción de 0,4 log CFU en el grupo de 280 mg.

Los datos farmacocinéticos revelaron altos niveles de amikacina en el esputo de pacientes que recibieron amikacina liposomal, con una $C_{\text{máx}}$ media (CV) de 3496 (0,973) mcg/g. El valor medio del área bajo la curva (AUC) fue de 13 120 (1,63) mcg/g*h para el grupo de 280 mg, mientras que el AUC medio fue de 22 445 (0,831) mcg/g*h. Los datos farmacocinéticos del suero, por otro lado, demostraron una baja exposición sistémica a la amikacina, con una $C_{\text{máx}}$ media (SD) de 2,27 (1,58) mcg/mL.

Los pacientes que recibieron amikacina liposomal también tuvieron una frecuencia y tiempo reducidos hasta la exacerbación pulmonar. Tabla 14:

Tabla 14: Exacerbaciones pulmonares.

	Arikace	Placebo
Pacientes	3/42 (7,1 %)	3/22 (13,6 %)
Tiempo hasta la exacerbación (días)	40,6*	19,3
* Sin exacerbación durante el período de tratamiento.		

Como se observa en la Tabla 14, el porcentaje de exacerbaciones en pacientes tratados con amikacina liposomal (incluidos los grupos de 280 mg y 560 mg) fue menor en comparación con el grupo placebo. Además, el tiempo hasta la exacerbación fue mucho mayor en pacientes que recibieron amikacina liposomal (40,6 días) en comparación con 19,3 días en el grupo placebo.

Los tratamientos de rescate anti-Pseudomonal también se redujeron en los pacientes que recibieron amikacina liposomal inhalada, en comparación con el grupo placebo, como se observa en la Tabla 15.

Tabla 15: Tratamiento de rescate Anti-Pseudomonal.

	Arikace	Placebo
Pacientes	4/42 (9,5 %)	3/22 (13,6 %)
Tiempo hasta la exacerbación (días)	43,0*	21,3
* Sin rescate durante el período de tratamiento.		

Como se observa en la tabla 15, un porcentaje menor de pacientes que recibieron amikacina liposomal inhalada requirió tratamiento de rescate anti-Pseudomonal, en comparación con el grupo placebo. Adicionalmente, el tiempo antes de que fuera necesario el tratamiento de rescate se redujo en los pacientes con amikacina liposomal (43,0 días) en comparación con el grupo placebo (21,3 días).

Ejemplo de referencia 4

Nebulización de Amikacina Liposomal

Las propiedades de aerosol de la Amikacina Liposomal producida a partir del eFlow 40L se muestran en la Tabla 15. En comparación con el nebulizado generado a partir de LC Star, los valores del diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) para el eFlow son ~ 0,5 μm más grandes. En la Figura 1 se muestran las distribuciones de masa dependientes del tamaño real de los impactadores de cascada ACI (con eFlow) y NGI (con LC Star) para la Amikacina Liposomal nebulizada. El aerosol de las mediciones de eFlow/ACI fue ligeramente más estrecho en distribución de tamaño que el del LC Star/NGI. Esta diferencia se refleja en la desviación estándar geométrica media más baja (GSD) (1,66 versus 1,99), que es una medida del ancho de la distribución alrededor del MMAD, ver valores en la Tabla 14. Esta distribución más estrecha compensa cualquier efecto potencial de un MMAD más grande y, por lo tanto, la cantidad de fármaco nebulizado en el intervalo respirable (<5 μm de tamaño de gota) es comparable tanto para eFlow como para LC Star.

Tabla 14. Propiedades de la Amikacina Liposomal Nebulizada con los Nebulizadores eFlow y LC Star.

Nebulizador	Propiedades de gotas del aerosol				Por ciento de Amikacina Asociada	
	Impactador en cascada usado	MMAD (μm)	GSD (sin unidad)	Fracción respirable*	Pre-nebulización	Post-nebulización
eFlow	Andersen	3.68 ± 0.26	1.66 ± 0.07	72.9 ± 5.5	$96.3 \pm 2.1 \%$	$66.3 \pm 5.8 \%$
LC Star	NGI	3.18 ± 0.18	1.99 ± 0.05	74.5 ± 2.6	$96.3 \pm 2.1 \%$	$62.1 \pm 7.4 \%$

El impactador en cascada Andersen se usó a una velocidad de flujo de 28,3 l/min, 18 °C y 50 % de humedad. El impactador NGI se usó a una velocidad de flujo de 15 l/min y 5 °C para lograr > 60 % de humedad. *Por ciento de masa de la dosis nominal del fármaco que tiene menos de 5 μm de diámetro.

Ejemplo de referencia 5

Efecto de la Amikacina Liposomal sobre las infecciones pulmonares de *P. aeruginosa* en ratas

La eficacia de la Amikacina Liposomal para inhalación, la amikacina liposomal se estudió mediante el uso de un modelo para la infección pulmonar crónica (Cash, Woods y otros 1979) donde *P. aeruginosa*, embebida en una matriz de perlas de agarosa, se instiló en la tráquea de las ratas. Este modelo animal de *Pseudomonas mucoides* se desarrolló para asemejarse a las infecciones crónicas por *Pseudomonas* observadas en pacientes con CF (Cantin y Woods 1999). Los pulmones de rata se inocularon con 10^4 CFU de una cepa *P. aeruginosa* mucoide (cepa mucoide 3064) originalmente aislada de un paciente con CF. Tres días después, se administró 60 mg/kg de Amikacina Liposomal (75 mg/ml) por inhalación una vez al día durante 14 dosis (Q1D x 14) o cada dos días durante 7 dosis (Q2D x 7) (6 mg/kg por dosis). A modo de comparación, la tobramicina se administró por inhalación BID durante 14 días (30 mg/kg por dosis para un total de 60 mg/kg diarios). Hubo una reducción significativa en la densidad bacteriana en los tres grupos de tratamiento en comparación con el control de solución salina (ver Figura 2). No hubo diferencias significativas en la reducción de $\log_{10}$ CFU/pulmón entre los tres grupos de tratamiento de ratas. Se debe señalar que la Amikacina Liposomal (75 mg/ml) administrada cada dos días durante 14 días (Q2D x 7), que suministró efectivamente la mitad de la dosis acumulada de aminoglucósido, fue tan efectiva como el régimen de dosificación diaria en este modelo.

Como se muestra en la Figura 3, cuando la dosificación se extendió en este modelo a 28 días, hubo reducciones equivalentes en las CFU para los animales que recibieron Amikacina Liposomal dosificada diariamente a -60 mg/kg o dosificada cada dos días a -120 mg/kg. Sin embargo, esto solo fue visto como estadísticamente significativo para el último grupo en comparación con los animales que recibieron solución salina al 1,5 % en los mismos horarios ($p = 0,24$ y $0,03$, respectivamente). En ambos casos, hubo un número significativo de animales en los grupos control de solución salina que también experimentaron 2 reducciones logarítmicas en las CFU. La mayor duración (posterior a los 14 días) del tratamiento de inhalación de solución salina pareció mejorar la capacidad espontánea de las ratas para limpiar sus pulmones de infección y presumiblemente de las perlas de agar que mantienen la afección de infección crónica. Las ratas que recibieron Amikacina Liposomal -120 mg/kg diariamente durante 14 días, se observaron durante otros 14 días y luego se sacrificaron en el día 35. Los pulmones de estos animales tenían bacterias por debajo del límite de detección, como fue el caso en el grupo que recibió tobramicina 60 mg/kg (administrado dos veces al día) diariamente durante 28 días, y luego se sacrificó. Los datos indican que en este experimento, la Amikacina Liposomal administrada a 120 mg/kg una vez al día durante 14 días fue tan efectiva como la tobramicina 60 mg/kg/día (administrada dos veces al día) durante 28 días. Este resultado sugiere un AUC más alto y posiblemente un efecto posterior al antibiótico prolongado con la Amikacina Liposomal a 120 mg/kg.

Referencias

- Cash, H.A., D.E. Woods, y otros (1979). "A rat model of chronic respiratory infection with *Pseudomonas aeruginosa*." *Am Rev Respir Dis* 119(3): 453-9.
- Challoner, P.B., M.G. Flora, y otros (2001). Gamma Scintigraphy Lung Deposition Comparison of TOBI in the PARI LC PLUS Nebulizer and the Aerodose Inhaler. 97a Conferencia Internacional de la American Thoracic Society, San Francisco, California, Aerogen, Inc.
- Chmiel, J.F. y P.B. Davis (2003). "State of the art: why do the lungs of patients with cystic fibrosis become infected and why can't they clear the infection?" *Respir Res* 4: 8.
- Cow, G.D. (2007a). Exploratory 28 Day Inhalation Toxicity Study of SLIT™ Amikacin in Rats, Charles River Laboratories: 259.
- Cow, G.D. y A. Morgan (2007c). 30 Day Inhalation Toxicity Study of SLIT™ Amikacin in Rats with a 30 day Recovery Period, Charles River Laboratories: 870.

6. Cow, G.D. y A. Morgan (2007d). 30 Day Inhalation Toxicity Study of SLIT™ Amikacin in Dogs with a 30 Day Recovery Period, Charles River Laboratories: 777.
7. Doring, G., S.P. Conway, y otros (2000). "Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus." *Eur Respir J* 16(4): 749-67.
8. Geller, D.E., W.H. Pitlick, y otros (2002). "Pharmacokinetics and bioavailability of aerosolized tobramycin in cystic fibrosis." *Chest* 122(1): 219-26.
9. Gibson, R.L., J.L. Burns, y otros (2003). "Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis." *Am J Respir Crit Care Med* 168(8): 918-51.
10. Gibson, R.L., J. Emerson, y otros (2003). "Significant microbiological effect of inhaled tobramycin in young children with cystic fibrosis." *Am J Respir Crit Care Med* 167(6): 841-9.
11. Gilbert, B.E., C. Knight, y otros (1997). "Tolerance of volunteers to cyclosporine A-dilauroylphosphatidylcholine liposome aerosol." *Am J Respir Crit Care Med* 156(6): 1789-93.
12. Goss, C.H. y M. Rosenfeld (2004). "Update on cystic fibrosis epidemiology." *Curr Opin Pulm Med* 10(6): 510-4.
13. Gunther, A., C. Ruppert, y otros (2001). "Surfactant alteration and replacement in acute respiratory distress syndrome." *Respir Res* 2(6): 353-64.
14. Hug, M. (2007a). Characterization of the PARI eFlow® (40L to 50L) and Liposomal Amikacin™ (48 to 79 mg/ml(1)) PARI GmbH, Aerosol Research Institute: 10.
15. Hug, M. (2007b). Aerosol Characterization of the PARI eFlow® 40L an Transave Liposomal Amikacin™ for Inhalation (70 mg/ml(1)), PARI GmbH, Aerosol Research Institute: 12.
16. Hung, O.R., S.C. Whynot, y otros (1995). "Pharmacokinetics of inhaled liposome-encapsulated fentanyl." *Anesthesiology* 83(2): 277-84.
17. Landyshev lu, S., A.A. Grigorenko, y otros (2002). "[Clinico-experimental aspects of liposomal therapy of bronchial asthma patients with hydrocortisone therapy]." *Ter Arkh* 74(8): 45-8.
18. Lass, J.S., A. Sant, y otros (2006). "New advances in aerosolised drug delivery: vibrating membrane nebuliser technology." *Expert Opin Drug Deliv* 3(5): 693-702.
19. Li, Z. (2007). Droplet Size of Liposomal Amikacin™: Comparison of Nebulizate for the eflow Electronic Nebulizer and the PARI LC STAR Jet Nebulizer. Monmouth Junction, Transave Inc.: 20.
20. Martini, W.Z., D.L. Chinkes, y otros (1999). "Lung surfactant kinetics in conscious pigs." *Am J Physiol* 277(1 Pt 1): E187-95.
21. Myers, M.A., D.A. Thomas, y otros (1993). "Pulmonary effects of chronic exposure to liposome aerosols in mice." *Exp Lung Res* 19(1): 1-19.
22. Niven, R.W., T.M. Carvajal, y otros (1992). "Nebulization of liposomes. III. The effects of operating conditions and local environment." *Pharm Res* 9(4): 515-20.
23. Niven, R.W. y H. Schreier (1990). "Nebulization of liposomes. I. Effects of lipid composition." *Pharm Res* 7(11): 1127-33.
24. Niven, R.W., M. Speer, y otros (1991). "Nebulization of liposomes. II. The effects of size and modeling of solute release profiles." *Pharm Res* 8(2): 217-21.
25. Ramsey, B.W., M.S. Pepe, y otros (1999). "Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Tobramycin Study Group." *N Engl J Med* 340(1): 23-30.
26. Skubitz, K.M. y P.M. Anderson (2000). "Inhalational interleukin-2 liposomes for pulmonary metastases: a phase I clinical trial." *Anticancer Drugs* 11(7): 555-63.
27. Taylor, K.M., G. Taylor, y otros (1989). "The influence of liposomal encapsulation on sodium cromoglycate pharmacokinetics in man." *Pharm Res* 6(7): 633-6.

28. Ten, R.M., P.M. Anderson, y otros (2002). "Interleukin-2 liposomes for primary immune deficiency using the aerosol route." *Int Immunopharmacol* 2(2-3): 333-44.
- 5 29. Thomas, D.A., M.A. Myers, y otros (1991). "Acute effects of liposome aerosol inhalation on pulmonary function in healthy human volunteers." *Chest* 99(5): 1268-70.
30. Vecellio, L. (2006). "The Mesh Nebuliser: A Recent Technical Innovation for Aerosol Delivery." *Breath* 2(3): 253-260.
- 10 31. Vidgren, M.T., J.C. Waldrep, y otros (1994). "A study of 99mtechnetium-labelled beclomethasone dipropionate dilauroylphosphatidylcholine liposome aerosol in normal volunteers." *Int J Pharm*: 8.
32. Wenker, A. (2006). In vitro characterization of nebulized Amikacin, Activaero GmbH: 28.
- 15 33. Wolff, R.K. y M.A. Dorato (1993). "Toxicologic testing of inhaled pharmaceutical aerosols." *Crit Rev Toxicol* 23(4): 343-69.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de amikacina liposomal para usar en el tratamiento de una infección pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa* en un paciente con fibrosis quística durante al menos dos ciclos de tratamiento, en donde la formulación de amikacina liposomal se nebuliza y comprende amikacina encapsulada en un liposoma que tiene un componente lipídico que consiste en dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y colesterol, y la relación en el liposoma del componente lipídico con respecto a amikacina es 0,6-0,7: 1 (peso/peso), y en donde el ciclo de tratamiento comprende un período de administración de una dosis terapéuticamente efectiva de la amikacina liposomal nebulizada de 20 a 35 días, seguido por un período de reposo de 15 a 75 días, y se sigue al menos dos veces y en donde la dosis efectiva consiste en 100 a 2500 mg de amikacina diaria durante el período de administración.
2. La formulación de amikacina liposomal para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la relación de lípido con respecto a amikacina es 0,6 en peso.

Figura 1

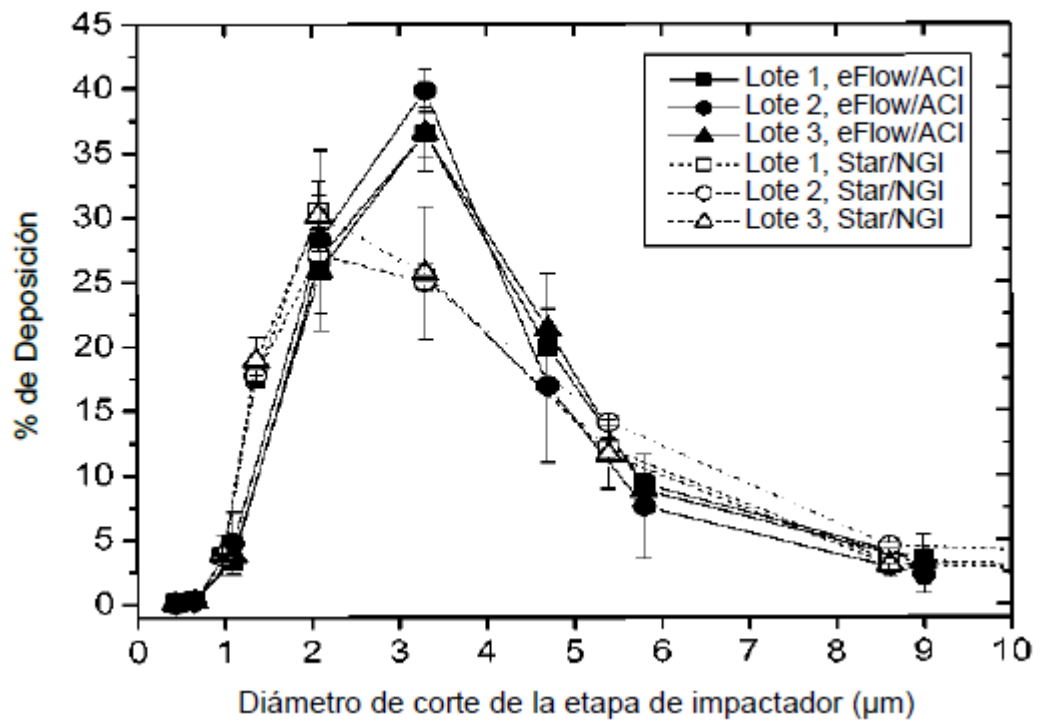


Figura 2

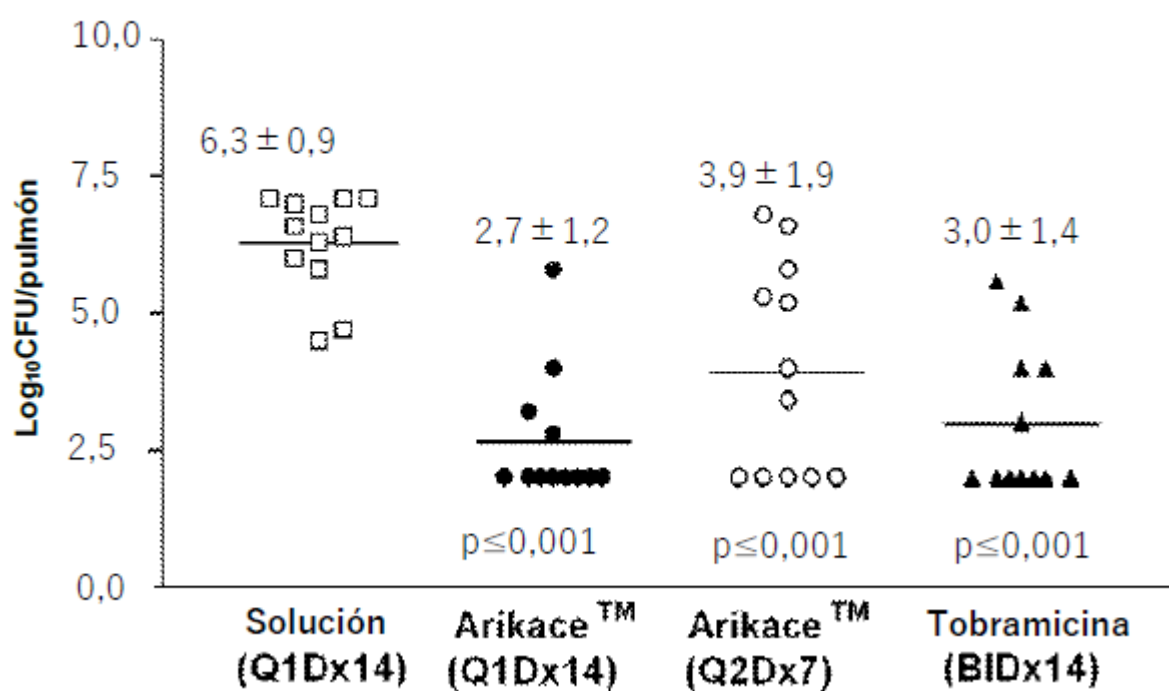


Figura 3

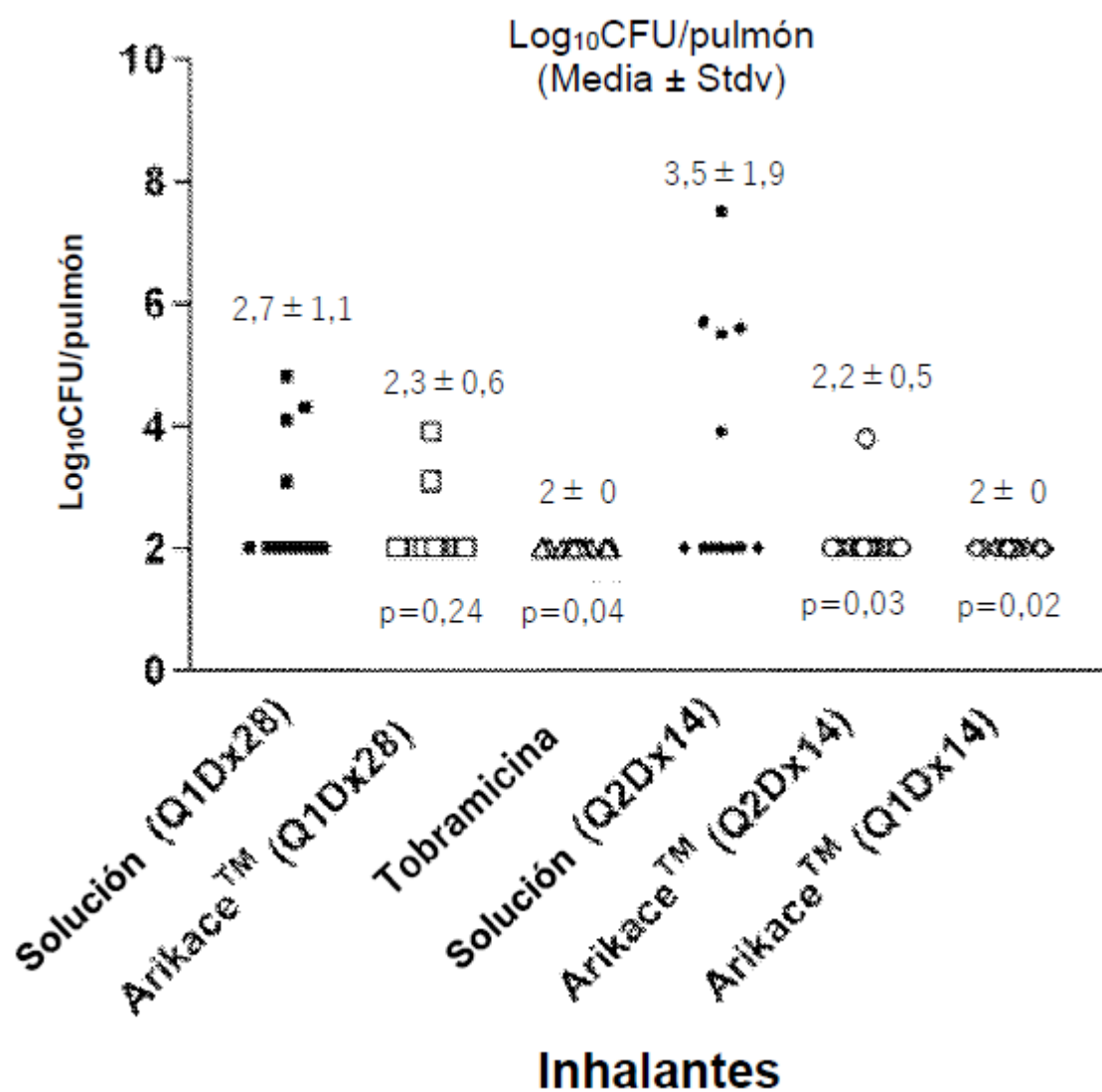


Figura 4

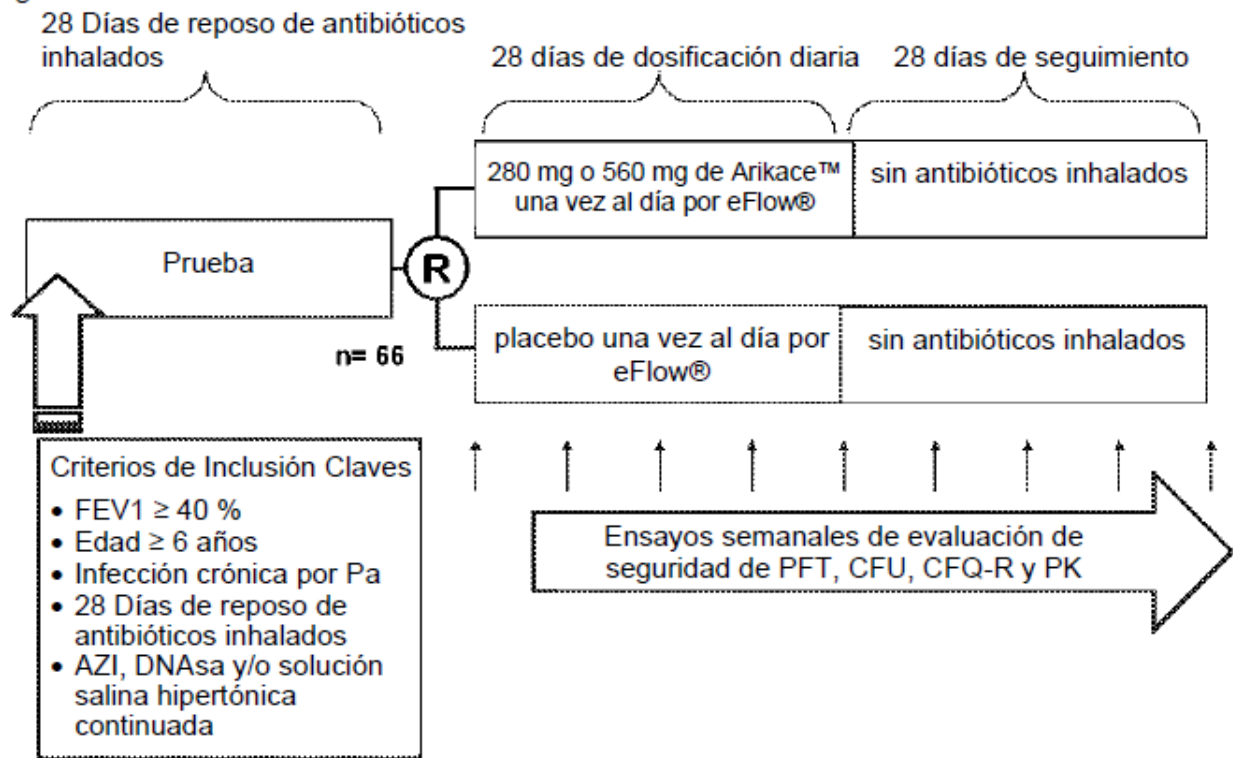
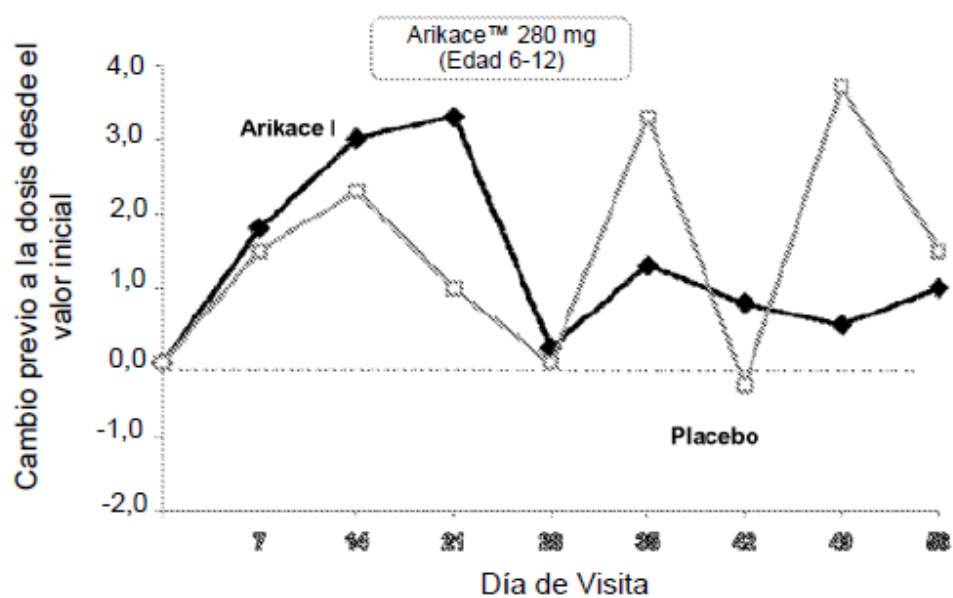


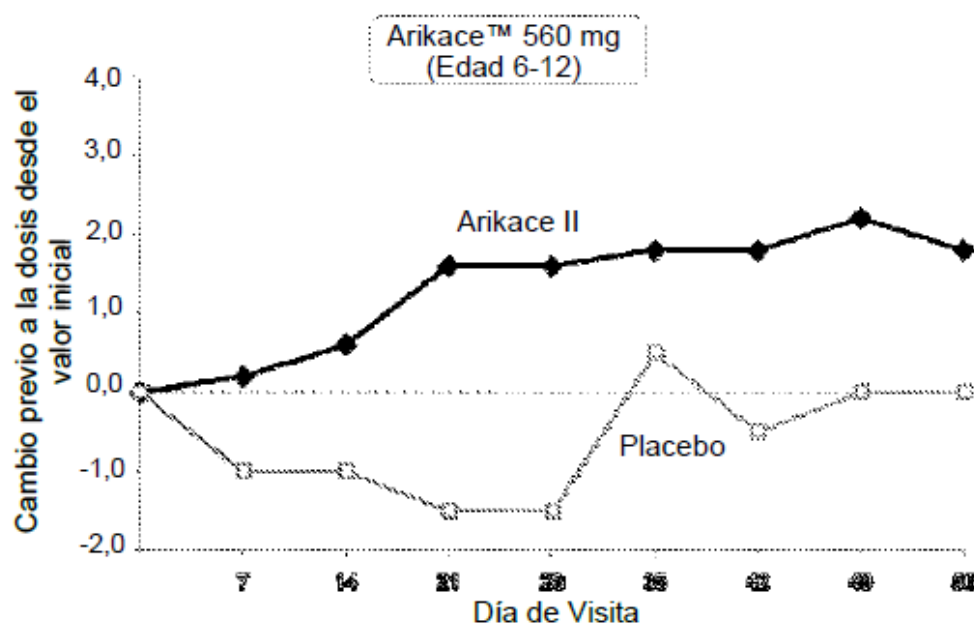
Figura 5



Arikace I	1,8	3,0 (1,4)	3,3	0,2 (4,1)	1,3	0,8 (0,5)	0,5	1,0
Placebo	1,5	2,3 (2,1)	1,0	0,0 (3,6)	3,3	-0,3 (3,3)	3,7	1,5

* Media (SD)

Figura 6



Arikace II	0,2	0,6 (0,9)	1,6	1,6 (1,7)	1,8	1,8 (1,5)	2,2	1,8
Placebo	-1,0	-1,0 (0,0)	-1,5	-1,5 (0,7)	0,5	-0,5 (0,7)	0,0	0,0

* Media (SD)

Figura 7a

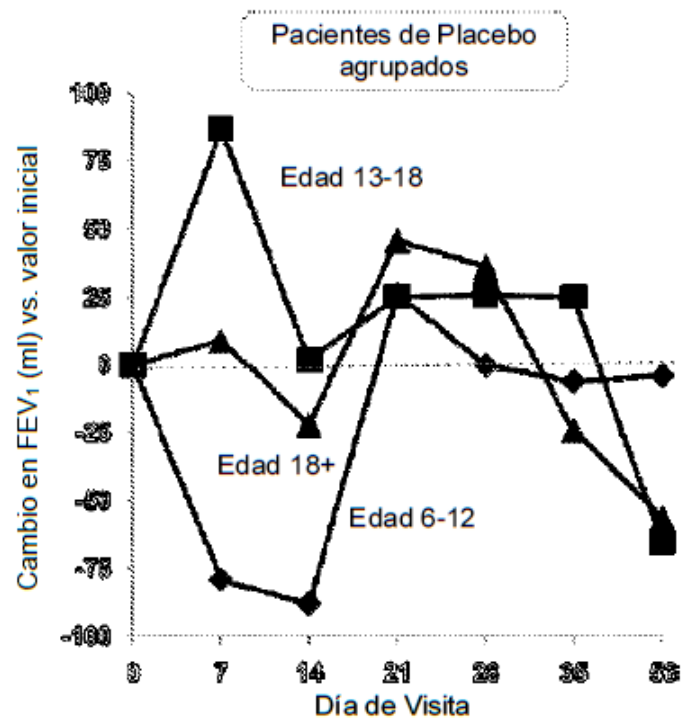


Figura 7b

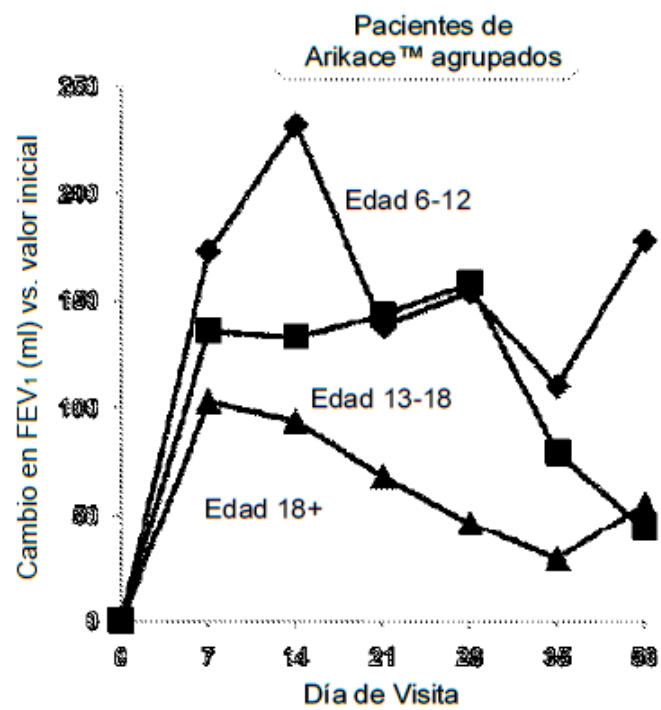
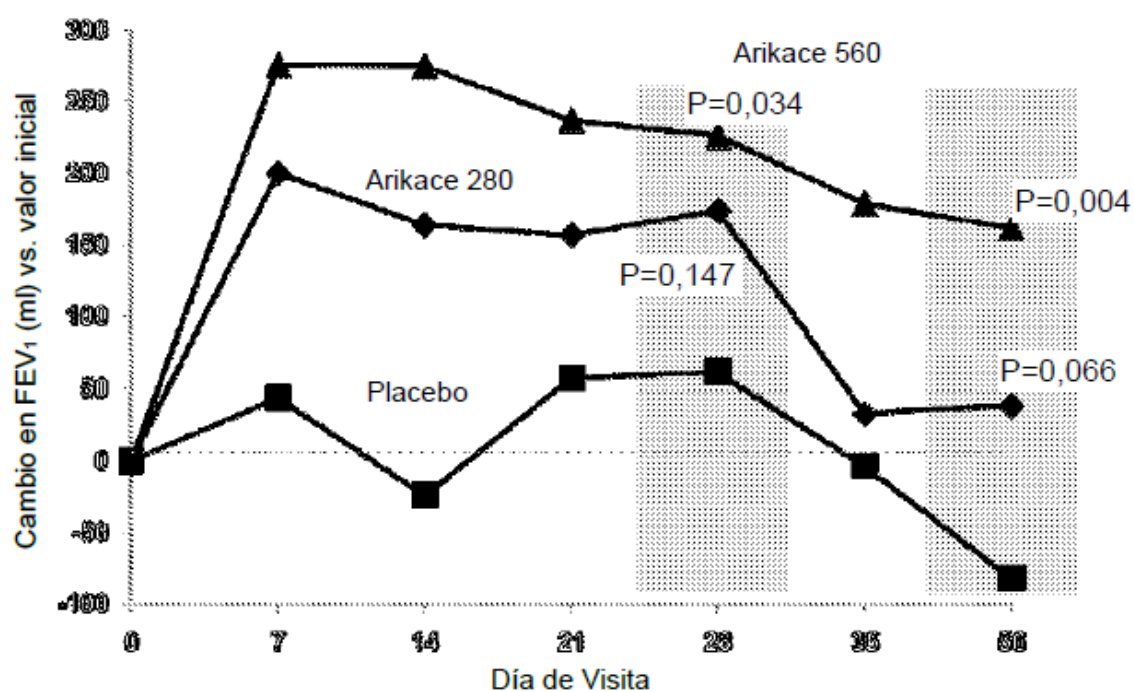


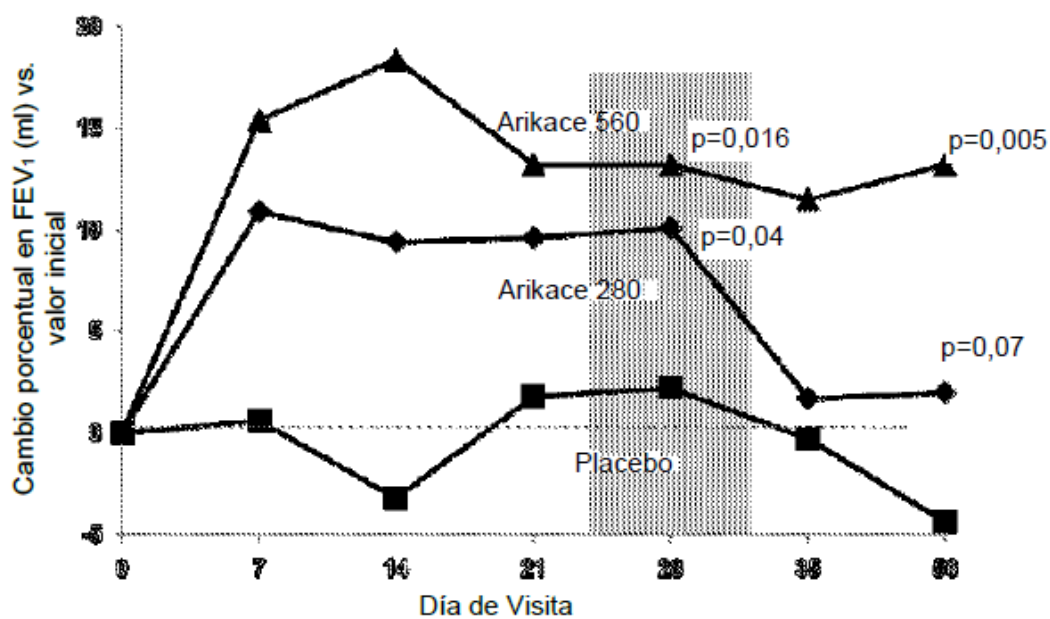
Figura 8



Arikace 560 *	276 (317)	275 (261)	237(243)	226 (229)	179 (245)	162 (292)
Arikace 280 *	200 (220)	164 (240)	157(222)	174 (235)	33 (176)	39 (176)
Placebo *	44 (201)	-24 (218)	58 (224)	62 (253)	-3 (238)	-82 (229)

* Media (SD)

Figura 9



Arikace 560 *	15,4 % (16,5)	18,4 % (21,3)	13,2 % (15,3)	13,2 % (16,2)	11,5 % (16,4)	13,2 % (24,3)
Arikace 280 *	10,9 % (10,6)	9,4 % (12,6)	9,6 % (12,5)	10,1 % (12,8)	1,7 % (9,0)	2,0 % (8,6)
Placebo *	0,6 % (11,7)	-3,2 % (12,2)	1,8 % (10,9)	2,2 % (11,9)	-0,3 % (12,0)	-4,4 % (13,0)

* Media (SD)

Figura 10

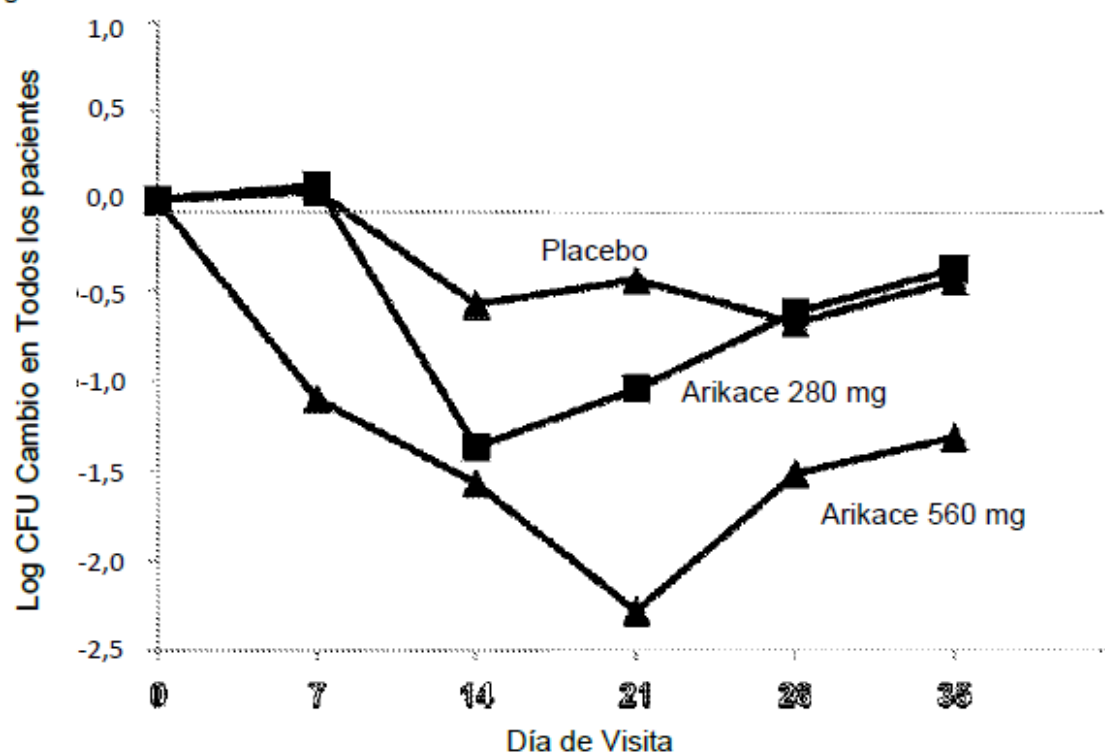
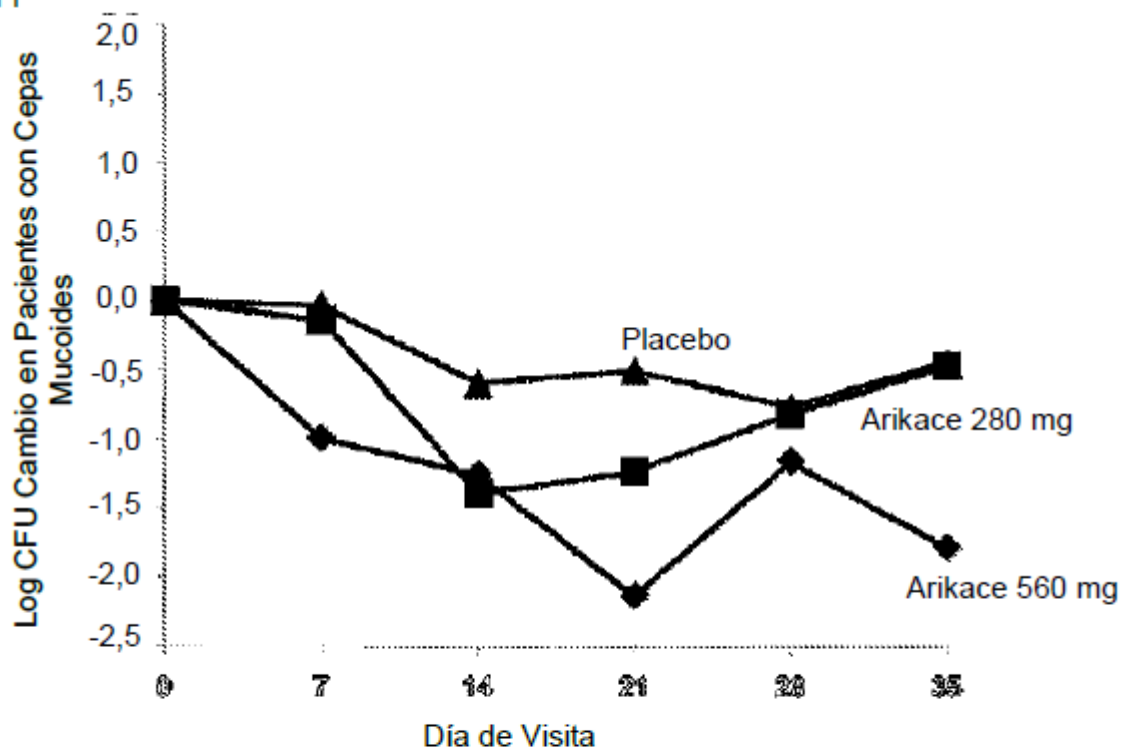


Figura 11



280 mg Arikace	-0,141	-1,391	-1,236	-0,816	-0,480
560 mg Arikace	-0,993	-1,263	-2,138	-1,163	-1,788
Placebo	-0,033	-0,600	-0,510	-0,772	-0,449