

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 809 177**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/5383** (2006.01)

**A61K 33/06** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61P 31/04** (2006.01)

**A61K 31/536** (2006.01)

**A61K 31/7036** (2006.01)

**C07D 498/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.10.2009 PCT/US2009/059740**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.04.2010 WO10042549**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2009 E 09740571 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 2346509**

54 Título: **Inhalación de levofloxacin para reducir la inflamación pulmonar**

30 Prioridad:

**07.10.2008 US 103496 P**

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

**03.03.2021**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**DUDLEY, MICHAEL, N.;  
TSIVKOVSKI, RUSLAN, Y.;  
GRIFFITH, DAVID, C. y  
RODNY, OLGA**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 809 177 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

Inhalación de levofloxacino para reducir la inflamación pulmonar

### Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud estadounidense provisional n.º 61/103.496, titulada "Topical Use of Levofloxacin for Reducing Lung Inflammation", presentada el 7 de octubre de 2008.

### Campo de la invención

La presente invención se refiere a levofloxacino en aerosol para reducir la inflamación pulmonar.

### Antecedentes

10 La inflamación es una respuesta del tejido vascularizado a la lesión; se percibe como enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor, y generalmente se acompaña de pérdida de la función en diversos grados. En su forma aguda, es de corta duración e implica un aumento de la transudación vascular y el edema intersticial y la infiltración de células inflamatorias, predominantemente de neutrófilos. En los tejidos húmedos de la mucosa, como el que recubre las vías respiratorias, también puede haber pérdida de células epiteliales superficiales y secreción de moco. Esta forma de respuesta inflamatoria se considera protectora y, por lo tanto, a corto plazo, es beneficiosa para el hospedante. Sin embargo, si la lesión se repite o es grave, el carácter del infiltrado inflamatorio puede cambiar a uno predominantemente de células mononucleares (es decir, linfocitos, monocitos y macrófagos) y puede volverse persistente.

20 Las enfermedades inflamatorias afectan a millones de personas en todo el mundo, lo que provoca sufrimiento, pérdidas económicas y muerte prematura. Además de las enfermedades inflamatorias pulmonares como el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), otras enfermedades inflamatorias incluyen rinitis alérgica, artritis reumatoide, artrosis, enfermedad inflamatoria intestinal y psoriasis. Las enfermedades inflamatorias de los senos incluyen sinusitis debida a infecciones de duración aguda, subaguda y crónica; rinitis alérgica; e inflamación debida a otras causas subyacentes, como alergias, fiebre del heno, rinitis alérgica, rinitis y asma, que afectan la cavidad nasal o los cuatro senos, cada uno de los cuales tiene mitades izquierda y derecha, los senos frontales, los senos maxilares y los senos etmoidales, y los senos esfenoidales.

30 La inflamación crónica puede desarrollarse a partir de una inflamación aguda sintomática no resuelta o puede evolucionar insidiosamente durante un período de meses sin un inicio agudo aparente de manifestaciones clínicas. Las características histopatológicas de la inflamación crónica incluyen el predominio de macrófagos y linfocitos, la proliferación de pequeños vasos sanguíneos estructuralmente heterogéneos e hiperpermeables, fibrosis y necrosis. Los macrófagos y linfocitos activados son interactivos en la liberación de mediadores inflamatorios o citocinas que amplían la reactividad inmune. Las citocinas incluyen una familia de modificadores de la respuesta biológica que incluyen interleucinas, quimiocinas, interferones, factores de crecimiento y factores estimuladores de colonias de leucocitos. Las citocinas son segregadas por los leucocitos, las células del tejido conjuntivo y las células endoteliales. Las quimiocinas consisten en proteínas de 8 a 10 kd que estimulan el reclutamiento y la migración de leucocitos como parte de la respuesta del hospedante a las agresiones antigénicas. En la inflamación crónica, la respuesta inflamatoria prolongada a menudo se acompaña simultáneamente de destrucción y reparación de tejidos. En "Mpx Candidate, MP-376, Granted US Orphan Drug Status for the Treatment of Cystic Fibrosis", Medical News Today, 5 de marzo de 2008, se sugiere el uso de una disolución de levofloxacino (MP-376) para el tratamiento de infecciones pulmonares causadas por las bacterias Pseudomonas aeruginosa en pacientes con fibrosis quística.

### 40 Compendio

La presente invención se refiere a un aerosol de una disolución que comprende levofloxacino para el tratamiento de la inflamación pulmonar.

45 Se da a conocer un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en métodos para tratar una inflamación pulmonar en un sujeto, en donde los métodos incluyen administrar al sujeto que lo necesita el aerosol de una disolución que incluye levofloxacino y cloruro de magnesio.

50 Algunas realizaciones incluyen un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en métodos para tratar una inflamación pulmonar en un sujeto, en donde la inflamación pulmonar es inducida por una o más citocinas proinflamatorias, en donde los métodos incluyen administrar al sujeto que lo necesita un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino y cloruro de magnesio para lograr una reducción en la concentración pulmonar de dicha citocina en al menos un 10%.

En un aspecto, se da a conocer un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en métodos para tratar una inflamación pulmonar en un sujeto, en donde los métodos incluyen administrar al sujeto que lo necesita un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino y cloruro de magnesio para lograr una reducción en la

concentración pulmonar de una o más citocinas proinflamatorias que incluyen IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, por lo que la inflamación pulmonar se reduce o suprime.

5 En otro aspecto, se da a conocer un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en métodos para tratar una inflamación pulmonar en un sujeto, en donde la inflamación pulmonar es inducida por uno o más mediadores que incluyen TNF $\alpha$  y LPS, en donde los métodos incluyen la administración al sujeto que lo necesita de un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino y cloruro de magnesio.

10 Algunas realizaciones incluyen un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en métodos para reducir la concentración pulmonar de una citocina proinflamatoria en un sujeto, en donde los métodos incluyen administrar al sujeto que lo necesita un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino y cloruro de magnesio, por lo que se reduce la concentración pulmonar de la citocina.

**Breve descripción de los dibujos**

15 La Figura 1A muestra un gráfico de los niveles de IL-6 producidos por las células NL20 en respuesta al tratamiento con control, TNF $\alpha$  y TNF $\alpha$  con levofloxacino, moxifloxacino o ciprofloxacino. La Figura 1B muestra un gráfico de IL-8 producido por células NL20 en respuesta al tratamiento con control, TNF $\alpha$  y TNF $\alpha$  con levofloxacino, moxifloxacino o ciprofloxacino.

La Figura 2A muestra un gráfico de los niveles de IL-6 producidos por las células HBE135 en respuesta al tratamiento con control, LPS y LPS con levofloxacino, moxifloxacino o ciprofloxacino. La Figura 2B muestra un gráfico de IL-8 producido por células HBE135 en respuesta al tratamiento con control, LPS y LPS con levofloxacino, moxifloxacino o ciprofloxacino.

20 La Figura 3A muestra un gráfico del porcentaje de supervivencia celular para células NL20 tratadas con concentraciones crecientes de levofloxacino, moxifloxacino o ciprofloxacino. La Figura 3B muestra un gráfico del porcentaje de supervivencia celular para las células HBE135 tratadas con concentraciones crecientes de levofloxacino, moxifloxacino o ciprofloxacino.

25 La Figura 4A muestra un gráfico de los niveles relativos de IL-6 producidos por las células NL20 tratadas con TNF- $\alpha$  en respuesta a concentraciones crecientes de levofloxacino y levofloxacino formulados con MgCl<sub>2</sub>. La Figura 4B muestra un gráfico de los niveles relativos de IL-8 producidos por las células NL20 tratadas con TNF- $\alpha$  en respuesta a concentraciones crecientes de levofloxacino y levofloxacino formulados con MgCl<sub>2</sub>. La Figura 4C muestra un gráfico de los niveles relativos de IL-6 producidos por las células HBE135 tratadas con LPS en respuesta a concentraciones crecientes de levofloxacino y levofloxacino formulados con MgCl<sub>2</sub>. La Figura 4D muestra un gráfico de los niveles relativos de IL-8 producidos por las células HBE tratadas con LPS en respuesta a concentraciones crecientes de levofloxacino y levofloxacino formulados con MgCl<sub>2</sub>.

30 La Figura 5A muestra un gráfico de los niveles de IL-6 producidos por las células NL20 en respuesta al tratamiento con control, TNF- $\alpha$  y TNF- $\alpha$  con 10  $\mu$ g/ml, 30  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml o 300  $\mu$ g/ml de levofloxacino o tobramicina. La Figura 5A muestra un gráfico de los niveles de IL-8 producidos por las células NL20 en respuesta al tratamiento con control, TNF $\alpha$  y TNF $\alpha$  con 10  $\mu$ g/ml, 30  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml o 300  $\mu$ g/ml de levofloxacino o tobramicina. Los resultados son medias  $\pm$  DE de tres repeticiones. \* P <0,005.

35 La Figura 6 muestra un gráfico de los niveles de IL-6 e IL-8 producidos por las células HBE135 en respuesta al tratamiento con LPS, y LPS con concentraciones crecientes de levofloxacino o tobramicina. Los niveles de IL-6 e IL-8 se muestran en relación con las células tratadas solo con LPS (n = 3). \* P <0,05, células tratadas con LPS y antibióticos en comparación con solo LPS. \*\* P <0,005, células tratadas con LPS y antibióticos en comparación con solo LPS.

40 La Figura 7A muestra un gráfico de los niveles de IL-1 $\beta$  en células THP-1 tratadas con control; LPS y 10  $\mu$ g/ml, 30  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml, 300  $\mu$ g/ml de levofloxacino y LPS. La Figura 7B muestra un gráfico de los niveles de TNF $\alpha$  en células THP-1 tratadas con control; LPS y 10  $\mu$ g/ml, 30  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml, 300  $\mu$ g/ml de levofloxacino y LPS. La Figura 7C muestra un gráfico de los niveles de IL-6 en células THP-1 tratadas con control; LPS y 10  $\mu$ g/ml, 30  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml, 300  $\mu$ g/ml de levofloxacino y LPS. La Figura 7D muestra un gráfico de los niveles de IL-8 en células THP-1 tratadas con control; LPS y 10  $\mu$ g/ml, 30  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml, 300  $\mu$ g/ml de levofloxacino y LPS. Las células se incubaron con LPS solo o LPS con levofloxacino durante 24 h. La concentración de citocinas en los medios celulares se determinó mediante ELISA. Los resultados se expresaron como media  $\pm$  DE (n = 3). \* P <0,05, células tratadas con LPS y antibióticos en comparación con solo LPS. \*\* P <0,005, para células tratadas con LPS y antibióticos en comparación con LPS solamente.

45 La Figura 8 muestra un gráfico del nivel relativo de ARNm de IL-8 en células NL20 estimuladas con control; TNF $\alpha$ ; TNF $\alpha$  y 100  $\mu$ g/ml de levofloxacino; y TNF $\alpha$  y 100  $\mu$ g/ml de levofloxacino. Las células se sembraron, se dejaron sin suero durante 24 h y se añadieron TNF $\alpha$  solo o TNF $\alpha$  con antibiótico y se incubaron durante 24 h. Los niveles de ARNm se midieron por PCR en tiempo real. Los resultados se expresaron como medias  $\pm$  DE de cuatro repeticiones.

55 La Figura 9 muestra un gráfico de la actividad relativa de luciferasa de un constructo promotor de NF $\kappa$ B en células NL20 estimuladas con control; TNF $\alpha$ ; TNF $\alpha$  y 100  $\mu$ g/ml de levofloxacino; y TNF $\alpha$  y 100  $\mu$ g/ml de levofloxacino. Las

células se transfectaron con el plásmido indicador, y después de 24 h se trataron con TNF $\alpha$  solo o TNF $\alpha$  con antibióticos, luego se incubaron durante 8 h adicionales. La actividad de luciferasa dependiente de NF $\kappa$ B se midió usando un ensayo comercial. Los resultados se expresaron como medias  $\pm$  DE de seis repeticiones.

5 La Figura 10A muestra un gráfico de los niveles de MIP-2 en BAL de ratones tratados con 60 mg/kg de solución salina, 60 mg/kg de levofloxacino formulado con MgCl<sub>2</sub>, o 60 mg/kg de tobramicina. La Figura 10B muestra un gráfico de los niveles de IL-6 en BAL de ratones tratados con 60 mg/kg de solución salina, 60 mg/kg de levofloxacino formulado con MgCl<sub>2</sub>, o 60 mg/kg de tobramicina.

### Descripción detallada

10 La presente invención se refiere a un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en métodos para el tratamiento de trastornos y enfermedades asociadas con la inflamación pulmonar. En particular, se da a conocer un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en métodos para reducir la inflamación usando levofloxacino en aerosol formulado con cloruro de magnesio. Algunas realizaciones incluyen el tratamiento de la inflamación aguda o crónica del pulmón o las vías respiratorias superiores mediante la administración tópica de levofloxacino en aerosol formulado con cloruro de magnesio directamente al sitio de inflamación.

15 El daño a los pulmones y la posterior disminución de la función pulmonar que ocurre en la inflamación crónica está mediado principalmente por la infiltración de neutrófilos en el tejido que induce el daño posterior a través de la liberación de varias enzimas hidrolíticas y oxidativas. Esta cascada inflamatoria en la superficie de la mucosa está mediada por bacterias productoras de lipopolisacárido (LPS) y el LPS induce la liberación de TNF $\alpha$  de los macrófagos o directamente en la superficie epitelial del pulmón. La liberación tanto de TNF $\alpha$  como de citocinas inflamatorias, por ejemplo IL-8 e IL-6, produce la activación de neutrófilos y la quimiotaxis. Si bien las infecciones bacterianas juegan un papel importante en el proceso inflamatorio, también se cree que la secreción alterada de cloruro en la fibrosis quística u otras enfermedades también es parcialmente responsable del aumento de los niveles de citocinas (Pérez A. *et al.*, Am J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol (2007) 292: 383-395).

25 Se ha descubierto que la administración tópica de levofloxacino formulado con cationes divalentes o trivalentes, como el cloruro de magnesio, puede disminuir significativamente el nivel de producción de citocinas y quimiocinas. *in vitro* e *in vivo*. Tales disminuciones en los niveles de citocinas proinflamatorias pueden producir una reducción en las inflamaciones mediadas por neutrófilos. Los ejemplos de citocinas proinflamatorias incluyen IL-1, IL-6, IL-7 e IL-8. Se pueden administrar altas concentraciones de levofloxacino a los pulmones y las vías respiratorias superiores por inhalación. Sorprendentemente, las formulaciones de levofloxacino con cationes divalentes o trivalentes, como el cloruro de magnesio, tienen una mayor disponibilidad en los pulmones en comparación con las formulaciones de levofloxacino solamente. Por consiguiente, la presente invención se refiere a un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en métodos para reducir la inflamación en los pulmones y las vías respiratorias superiores mediante la administración de levofloxacino en aerosol, formulado con Mg<sup>2+</sup> en forma de cloruro de magnesio.

35 Los planteamientos terapéuticos para disminuir la inflamación crónica son una estrategia viable para mejorar la función pulmonar en pacientes con FQ y EPOC. Las propiedades antiinflamatorias de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) (por ejemplo, ibuprofeno) y azitromicina se han asociado con beneficios en ciertos subgrupos de pacientes con FQ (Flume PA, *et al.* Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health. Am J Respir Crit Care Med 2007; 176: 957-969) Además, el antibiótico eritromicina reduce la incidencia de exacerbaciones pulmonares en pacientes con EPOC (Seemungal TA, *et al.* Long-term erythromycin therapy is associated with decreased chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. Am J Respir Crit Care Med 2008; 178: 1139-1147) La eficacia de la azitromicina y la eritromicina en estos entornos probablemente se deba en gran parte a los efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios en lugar de los efectos antibacterianos.

45 Algunas fluoroquinolonas pueden tener una actividad inmunomoduladora, así como una actividad antibacteriana. Estas actividades pueden ser distintas y solo obvias *in vivo* a concentraciones que también son citotóxicas. Algunas fluoroquinolonas pueden afectar su actividad inmunomoduladora a través de diversas vías de señalización que se relacionan con la producción y secreción de diversas citocinas y quimiocinas. Sin embargo, no todas las fluoroquinolonas muestran actividad inmunomoduladora. Además, diferentes fluoroquinolonas provocan respuestas diferentes, como la inducción o inhibición de citocinas y quimiocinas particulares. La actividad inmunomoduladora también puede depender del tipo de célula, el estimulante inmunitario y la concentración de fluoroquinolona. Por ejemplo, las fluoroquinolonas como moxifloxacino y grepafloxacino, pero no ciprofloxacino, pueden inhibir la secreción de factores proinflamatorios como IL-8, IL-6, ERK1/2, JNK y NF $\kappa$ B en células epiteliales de pulmón humano (Blau, H., K. *et al.* 2007. Moxifloxacin but not ciprofloxacin or azithromycin selectively inhibits IL-8, IL-6, ERK1/2, JNK, and NF- $\kappa$ B activation in a cystic fibrosis epithelial cell line. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 292: L343-52; Donnarumma, G., I. *et al.* 2007. Anti-inflammatory effects of moxifloxacin and human beta-defensin 2 association in human lung epithelial cell line (A549) stimulated with lipopolysaccharide. Peptides 28: 2286-92; Hashimoto, S., K. *et al.* 2000. Grepafloxacin inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 expression in human airway epithelial cells. Life Sci 66: PL 77-82). Sin embargo, en todos los estudios, las células se trataron con concentraciones de antibióticos inferiores a 50  $\mu$ g/ml, lo que corresponde a las concentraciones de fármaco en suero que pueden alcanzarse después de la administración sistémica.

Levofloxacin inhibe la producción de TNF- $\alpha$  e IFN $\gamma$  en linfocitos amigdalinos a 50 mg/l, y la producción de IL-8 a 5 mg/l. Además, el levofloxacin inhibe la liberación de RANTES en las células epiteliales nasales de pacientes con poliposis nasal. Sin embargo, la actividad inhibitoria del levofloxacin en la producción de factores proinflamatorios es mucho menor que la de otras fluoroquinolonas como ciprofloxacino y moxifloxacino. Por ejemplo, la actividad inhibitoria de levofloxacin en la producción de factores proinflamatorios como TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-8 requiere 100 mg/l de levofloxacin.

Como se describe en este documento, las células de epitelios de las vías respiratorias humanas inmortalizadas conservan ciertas características del epitelio de las vías respiratorias y se han utilizado ampliamente para caracterizar los efectos inmunomoduladores de otros antibióticos (Blau H *et al.* Moxifloxacin, but not ciprofloxacin or azithromycin selectively inhibits IL-8, IL-6, ERK1/2, JNK, and NF-kappaB activation in a cystic fibrosis epithelial cell line. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 292: L343-352; y Donnarumma G, *et al.* Anti-inflammatory effects of moxifloxacin and human beta-defensin 2 association in human lung epithelial cell line (A549) stimulated with lipopolysaccharide. *Peptides* 2007; 28: 2286-2292). La producción de IL-6 e IL-8 en esas células puede ser fuertemente inducida por TNF $\alpha$  o por LPS bacteriano presente en altas concentraciones en los fluidos pulmonares de pacientes con FQ y EPOC (Sagel SD, *et al.* Sputum biomarkers of inflammation in cystic fibrosis lung disease. *Proc Am Thorac Soc* 2007; 4: 406-417) Tanto IL-6 como IL-8 son de gran importancia para regular la respuesta inflamatoria en pulmones con FQ, y estas últimas tienen el mayor potencial para inducir quimiotaxis de neutrófilos (Strieter RM. Interleukin-8: a very important chemokine of the human airway epithelium. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: L688-689) Se ha descubierto que el levofloxacin produce una reducción dependiente de la dosis de los niveles de IL-6 e IL-8 inducidos por TNF $\alpha$  y LPS en células de epitelios de las vías respiratorias humanas cultivadas. El levofloxacin también disminuye la producción de IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 inducida por LPS en células monocíticas humanas. A su vez, el levofloxacin reduce la producción de IL-6 e IL-8 *in vivo*.

#### Definiciones

El término "administración" o "administrar" se refiere a un método para suministrar una dosis de una composición farmacéutica antiinflamatoria a un vertebrado. El método de administración preferido puede variar dependiendo de varios factores, por ejemplo, los componentes de la composición farmacéutica, el sitio de la inflamación y la gravedad de una inflamación real.

Un "vehículo" o "excipiente" es un compuesto o material utilizado para facilitar la administración del compuesto, por ejemplo, para aumentar la solubilidad del compuesto. Los vehículos sólidos incluyen, por ejemplo, almidón, lactosa, fosfato dicálcico, sacarosa y caolín. Los vehículos líquidos incluyen, por ejemplo, agua estéril, solución salina, tampones, tensioactivos no iónicos y aceites comestibles tales como aceites, aceites de maní y sésamo. Además, se pueden incluir diversos adyuvantes como los que se usan comúnmente en la técnica. Estos y otros compuestos similares se describen en la bibliografía, por ejemplo, en el Índice Merck, Merck & Company, Rahway, NJ. Las consideraciones para la inclusión de varios componentes en composiciones farmacéuticas se describen, por ejemplo, en Gilman *et al.* (Eds.) (1990); Goodman y Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8<sup>a</sup> Ed., Pergamon Press.

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

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y agentes de retardo de absorción, y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. Los ingredientes activos suplementarios también se pueden incorporar en las composiciones.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que retienen la efectividad biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y que no son biológicamente o de otra manera indeseables. En muchos casos, los compuestos de esta invención son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden formarse con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Los ácidos orgánicos de los que se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido naftoico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido pamoico (emboico), ácido esteárico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, malónico. ácido, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucoheptónico, ácido glucurónico, ácido láctico, ácido lactobioico, ácido tartárico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares. Se pueden formar sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables con bases inorgánicas y orgánicas. Las bases inorgánicas a partir de las cuales se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y similares; particularmente preferidas son las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, aminas

primarias, secundarias y terciarias, aminos sustituidas que incluyen aminos sustituidas de origen natural, aminos cíclicas, resinas básicas de intercambio iónico y similares, específicamente tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, histidina, arginina, lisina, benetamina, N-metilglucamina y etanolamina. Otros ácidos incluyen ácido dodecilsulfúrico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico y sacarina.

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

10 Por "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" se entiende un agente antiinflamatorio de fluoroquinolona, como se describe para esta invención, que tiene un efecto terapéutico. Las dosis de agente antiinflamatorio de fluoroquinolona que son útiles en el tratamiento son cantidades terapéuticamente eficaces. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, una cantidad terapéuticamente eficaz significa aquellas cantidades de agente antiinflamatorio de fluoroquinolona que producen el efecto terapéutico deseado según los resultados de ensayos clínicos y/o estudios antiinflamatorios animales en modelos. En realizaciones particulares, el agente antiinflamatorio de fluoroquinolona se administra en una dosis predeterminada y, por lo tanto, una cantidad terapéuticamente eficaz sería una cantidad de la dosis administrada. Esta cantidad y la cantidad del agente antiinflamatorio de fluoroquinolona pueden ser determinadas rutinariamente por un experto en la materia y variarán, dependiendo de varios factores, como la inflamación particular involucrada, por ejemplo, el sitio de inflamación, la intensidad de la inflamación. Esta cantidad puede depender también de la estatura, el peso, el sexo, la edad y los antecedentes médicos del paciente. Para tratamientos profilácticos, una cantidad terapéuticamente eficaz es la cantidad que sería eficaz para prevenir una inflamación particular.

15 Un "efecto terapéutico" alivia, en cierta medida, uno o más de los síntomas de la inflamación e incluye curar una inflamación. "Curar" significa que se eliminan los síntomas de inflamación. Sin embargo, ciertos efectos a largo plazo o permanentes de la inflamación pueden existir incluso después de obtener una cura (como un daño tisular extenso). Como se usa en el presente documento, un "efecto terapéutico" se define como una reducción estadísticamente significativa de una inflamación, aparición de inflamación o mejora de los síntomas de inflamación tal como se mide por resultados clínicos humanos o estudios en animales.

20 "Tratar", "tratamiento" o "que trata", como se usa en el presente documento, se refiere a administrar una composición farmacéutica con fines profilácticos y/o terapéuticos. La expresión "tratamiento profiláctico" se refiere al tratamiento de un paciente que aún no tiene una inflamación, pero que es susceptible a, o de otra manera conlleva riesgo de, una inflamación particular de tal manera que haya un inicio reducido de una inflamación. La expresión "tratamiento terapéutico" se refiere a administrar tratamiento a un paciente que ya padece una inflamación. Por lo tanto, en realizaciones preferidas, el tratamiento es la administración a un mamífero (o bien con fines terapéuticos o profilácticos) de cantidades terapéuticamente eficaces de un agente antiinflamatorio de fluoroquinolona.

25 La expresión "intervalo de administración" se refiere al tiempo entre administraciones de las dos dosis secuenciales de un producto farmacéutico durante los esquemas de administración múltiple. Por ejemplo, en el caso de ciprofloxacino administrado por vía oral, que se administra dos veces al día (esquema tradicional de 400 mg dos veces al día) y levofloxacino administrado por vía oral, que se administra una vez al día (500 mg o 750 mg una vez al día), los intervalos de administración son de 12 horas y 24 horas, respectivamente.

30 Como se usa en este documento, el "período pico" de concentración de un producto farmacéutico *in vivo* se define como el tiempo del intervalo de administración farmacéutica en el que la concentración farmacéutica no es inferior al 50% de su concentración máxima en plasma o sitio de inflamación. En algunas realizaciones, el "período pico" se usa para describir un intervalo de administración antiinflamatoria.

35 La "dosis administrada respirable" es la cantidad de medicamento inhalado durante la fase inspiratoria del simulador de respiración que es igual o inferior a 5 micrómetros usando un simulador programado al patrón estándar europeo de 15 respiraciones por minuto, con una relación de inspiración a espiración de 1:1.

40 Como se usa en el presente documento, "concentración pulmonar" puede incluir la concentración de una sustancia en el pulmón de un sujeto, la concentración de una sustancia en el esputo de un sujeto y/o la concentración de una sustancia en el lavado broncoalveolar de un sujeto. Como se entenderá, la "concentración pulmonar" se puede medir por varios métodos.

45 Un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en tratamiento o profilaxis

50 Se da a conocer un aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en un método para tratar una inflamación en un animal, concretamente en un mamífero, tratando a un animal que padece tal inflamación con levofloxacino formulado con cloruro de magnesio y que tiene una disponibilidad pulmonar mejorada. El levofloxacino se administra después de la formación de aerosol y la inhalación. Por lo tanto, el aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en este método de tratamiento es especialmente apropiado en el tratamiento de inflamaciones pulmonares que son difíciles de tratar usando un agente antiinflamatorio administrado por vía parenteral debido a la necesidad de altos niveles de dosis parenteral (que puede causar efectos secundarios indeseables) o debido a la falta de agentes antiinflamatorios clínicamente eficaces. En una de tales realizaciones, el aerosol de una

disolución que incluye levofloxacino puede usarse para administrar levofloxacino directamente al sitio de inflamación. El aerosol de una disolución que incluye levofloxacino para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar puede reducir la exposición sistémica y maximizar la cantidad de levofloxacino en el sitio de la inflamación.

5 En algunas realizaciones, la terapia con levofloxacino en aerosol puede administrarse como un tratamiento o profilaxis en combinación o secuencia terapéutica alterna con otros aerosoles, antibióticos orales o parenterales. Como ejemplo no limitativo, esto puede incluir tobramicina en aerosol y/u otro aminoglucósido, aztreonam en aerosol y/u otros beta-  
10 o mono-bactam, carbapenems, ciprofloxacino en aerosol y/u otras fluoroquinolonas, azitromicina en aerosol y/u otros macrólidos o cetólidos, tetraciclina y/u otras tetraciclinas, quinupristina y/u otras estreptograminas, linezolid y/u otras oxazolidinonas, vancomicina y/u otros glucopéptidos, eritromicina y cloranfenicol y/u otros fenicoles, y colisitina y/u otras polimixinas.

Además, el aerosol de una disolución que incluye levofloxacino que se da a conocer en este documento puede incluir la terapia con levofloxacino en aerosol administrada como tratamiento o profilaxis en combinación o secuencia  
15 terapéutica alterna con un agente activo adicional. Como se analizó anteriormente, algunos de estos agentes adicionales pueden incluir antibióticos. Otros agentes adicionales pueden incluir broncodilatadores, anticolinérgicos, glucocorticoides, inhibidores de eicosanoides y combinaciones de los mismos. Los ejemplos de broncodilatadores incluyen salbutamol, levosalbuterol, terbutalina, fenoterol, terbutlaine, pirbuterol, procaterol, bitolterol, rimiterol, carbutoleol, tulobuterol, reproterol, salmeterol, formoterol, arformoterol, bambuterol, clenbuterol, indacterol, teofilina, roflumilast, cilomilast. Los ejemplos de anticolinérgicos incluyen ipratropio y tiotropio. Los ejemplos de glucocorticoides incluyen prednisona, fluticasona, budesonida, mometasona, ciclesonida y beclometasona. Los ejemplos de  
20 eicosanoides incluyen montelukast, pranlukast, zafirlukast, zileuton, ramatroban y seratrodist. Más agentes adicionales pueden incluir pulmozima, solución salina hipertónica, agentes que restauran la función del canal de cloruro en la FQ, agonistas beta inhalados, agentes antimuscarínicos inhalados, corticosteroides inhalados e inhibidores de la fosfodiesterasa inhalados u orales. Más agentes adicionales pueden incluir moduladores CFTR, por ejemplo, VX-770, atluren, VX-809. Más agentes adicionales pueden incluir agentes para restaurar el líquido de la superficie de las vías respiratorias, por ejemplo, denofosol, manitol, GS-9411 y SPI-8811. Otros agentes adicionales pueden incluir agentes antiinflamatorios, por ejemplo, ibuprofeno, sildenafil y simvastatina. Más agentes adicionales incluyen agentes antiinflamatorios. Los ejemplos de agentes antiinflamatorios incluyen agentes antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos. Los ejemplos de agentes antiinflamatorios esteroideos incluyen 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, cloroprednisona, ciclesonida, clobetasol, clobetasona, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desciclesonida, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difluprednato, enoxolona, fluzacort, flucoronida, flumetasona, flunisolida, fluocinolona acetónido, fluocinonida, fluocortina butilo, fluocortolona, fluorometalona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednido, fluprednisolona, flurandrenolida, fluticasona, propionato, formocortal, halcinonida, halobetasol propionato, halometasona, halopredona acetato, hidrocortamato, hidrocortisona, loteprednol etabonato, mazipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, mometasona furoato, parametasona, prednicarbo, prednisolona, prednisolona 25-dietilaminoacetato, prednisolona fosfato de sodio, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, triamcinolona acetónido, triamcinolona benetonido, triamcinolona hexacetónido, cualquiera de sus derivados, análogos y combinaciones de los mismos. Los ejemplos de agentes antiinflamatorios no esteroideos incluyen inhibidores de la COX (inhibidores inespecíficos de COX-1 o COX) (p. ej.,  
35 derivados del ácido salicílico, aspirina, salicilato de sodio, trisalicilato de colina y magnesio, salsalato, diflunisal, sulfasalazina y olsalazina; derivados de para-aminofenol como el acetaminofeno ; ácidos de indol e indeno acético como indometacina y sulindac; ácidos heteroarilacéticos como tolmetina, dicofenac y ketorolac; ácidos arilpropiónicos como ibuprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, fenoprofeno y oxaprozina; ácidos antranílicos (fenamatos) como ácido mefenámico y meloxicam; ácidos enólicos como oxicam (piroxicam, meloxicam) y alcanoats como nabumetona) e inhibidores selectivos de la COX-2 (p. ej., furanonas sustituidas con diarilo como rofecoxib; pirazoles sustituidos con diarilo como celecoxib; ácidos acéticos indol como etodolac y sulfonanilidas como nimesulida).

#### Composiciones farmacéuticas

Para los fines del aerosol de una disolución que incluye levofloxacino descrito en este documento, el levofloxacino formulado con cloruro de magnesio que tiene disponibilidad pulmonar mejorada puede administrarse usando un  
50 inhalador. En algunas realizaciones, el aerosol de una disolución que incluye levofloxacino descrito en el presente documento se produce como una composición farmacéutica adecuada para la formación de aerosol, buen sabor, estabilidad de almacenamiento y seguridad y tolerabilidad del paciente. En algunas realizaciones, el contenido de isoformas del levofloxacino fabricado puede optimizarse para la tolerabilidad, la actividad antiinflamatoria y la estabilidad.

55 La disolución comprende cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de zinc o cloruro de cobre. En algunas realizaciones, la concentración de cationes divalentes o trivalentes puede ser de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 400 mM, de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 400 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 300 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 250 mM, de aproximadamente 150 mM a aproximadamente 250 mM, de  
60 aproximadamente 175 mM a aproximadamente 225 mM, de aproximadamente 180 mM a aproximadamente 220 mM, y de aproximadamente 190 mM a aproximadamente 210 mM. En algunas realizaciones, la concentración de cloruro puede ser de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 800 mM, de aproximadamente 50 mM a

5 aproximadamente 400 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 300 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 250 mM, de aproximadamente 150 mM a aproximadamente 250 mM, de aproximadamente 175 mM a aproximadamente 225 mM, de aproximadamente 180 mM a aproximadamente 220 mM, y de aproximadamente 190 mM a aproximadamente 210 mM. En algunas realizaciones, el cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de zinc o cloruro de cobre puede tener una concentración de aproximadamente 5% a aproximadamente 25%, de aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y de aproximadamente 15% a aproximadamente 20%. En algunas realizaciones, la relación de fluoroquinolona a catión divalente o trivalente puede ser 1:1 a 2:1 o 1:1 a 1:2.

10 Los ejemplos de fluoroquinolonas incluyen levofloxacin, ofloxacin, ciprofloxacino, enoxacin, gatifloxacino, gemifloxacino, lomefloxacino, moxifloxacino, norfloxacino, pefloxacino, sparfloxacino, garenoxacin, sitafloxacino y DX-619.

La formulación puede tener una concentración de levofloxacino de 90 mg/ml, aproximadamente 100 mg/ml o aproximadamente 110 mg/ml. La formulación tiene una concentración de levofloxacino de aproximadamente 90 mg/ml a aproximadamente 110 mg/ml.

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

20 La formulación tiene un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 7,0.

25 La formulación puede comprender un vehículo farmacéutico convencional, un excipiente o similar (por ejemplo, manitol, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, talco, celulosa, carmelosa cruzada de sodio, glucosa, gelatina, sacarosa, carbonato de magnesio y similares, pero no lactosa) o sustancias auxiliares tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes solubilizantes, agentes tamponadores del pH y similares (por ejemplo, acetato de sodio, citrato de sodio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitán, acetato de trietanolamina, oleato de trietanolamina y similares). La formulación carece de lactosa. En algunas realizaciones, la formulación puede consistir esencialmente en levofloxacino y cloruro de magnesio.

30 La formulación comprende una concentración de levofloxacino entre aproximadamente 90 mg/ml y aproximadamente 110 mg/ml, una concentración de cloruro de magnesio entre aproximadamente 175 mM y aproximadamente 225 mM, un pH entre aproximadamente 5 y aproximadamente 7; una osmolalidad entre aproximadamente 300 mOsmol/kg y aproximadamente 500 mOsmol/kg, y carece de lactosa.

35 En algunas realizaciones, una formulación comprende una concentración de levofloxacino de aproximadamente 100 mg/ml, una concentración de cloruro de magnesio de aproximadamente 200 mM, un pH de aproximadamente 6,2 y una osmolalidad de aproximadamente 383 mOsmol/kg, y carece de lactosa. En algunas realizaciones, una formulación consiste esencialmente en una concentración de levofloxacino de aproximadamente 100 mg/ml, una concentración de cloruro de magnesio de aproximadamente 200 mM, un pH de aproximadamente 6,2 y una osmolalidad de aproximadamente 383 mOsmol/kg, y carece de lactosa. En algunas realizaciones, una formulación  
40 consiste en una concentración de levofloxacino de aproximadamente 100 mg/ml, una concentración de cloruro de magnesio de aproximadamente 200 mM, un pH de aproximadamente 6,2 y una osmolalidad de aproximadamente 383 mOsmol/kg, y carece de lactosa.

Administración

45 El levofloxacino formulado con cloruro de magnesio y que tiene una disponibilidad pulmonar mejorada puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, por ejemplo, una dosis suficiente para proporcionar tratamiento para los estados de enfermedad descritos previamente. La cantidad de levofloxacino administrada dependerá, por supuesto, del sujeto y el estado de la enfermedad a tratar, la intensidad de la inflamación, la forma y el esquema de administración y el juicio del médico que prescribe; por ejemplo, un intervalo de dosis probable para la administración de levofloxacino en aerosol sería de aproximadamente 20 a 300 mg por día, en donde los agentes activos se  
50 seleccionan para semividas pulmonares más largas o más cortas, respectivamente. En algunas realizaciones, un intervalo de dosis probable para la administración de levofloxacino en aerosol sería de aproximadamente 20 a 300 mg BID (dos veces al día).

55 La administración de levofloxacino descrita en el presente documento puede realizarse a través de cualquiera de los modos de administración aceptados para agentes que cumplen funciones similares, que incluyen, pero no se limitan a, inhalación de aerosol. Los métodos, dispositivos y composiciones para la administración se describen en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2006/0276.483.

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

5 El levofloxacinó puede administrarse solo o en algunas alternativas, en combinación con un vehículo farmacéutico convencional, excipiente o similar (por ejemplo, manitol, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, talco, celulosa, carmelosa cruzada de sodio, glucosa, gelatina, sacarosa, carbonato de magnesio y similares, pero no lactosa). Si se desea, la composición farmacéutica también puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes solubilizantes, agentes tamponadores del pH y similares (por ejemplo, acetato de sodio, citrato de sodio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitano, acetato de trietanolamina, oleato de trietanolamina y similares). Generalmente, dependiendo del modo de administración pretendido, la formulación farmacéutica contendrá aproximadamente de 0,005% a 95%, preferiblemente de aproximadamente 0,5% a 50% en peso de levofloxacinó. Los métodos reales de preparación de tales formas de dosificación son conocidos, o serán evidentes, para los expertos en esta técnica; por ejemplo, ver Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania.

En una realización preferida, las composiciones tomarán la forma de una forma de dosificación unitaria, tal como un vial que contiene un líquido, sólido a suspender, polvo seco, liofilizado u otra composición y, por lo tanto, la composición puede contener, junto con el ingrediente activo, un diluyente tal como sacarosa, fosfato dicálcico o similares pero no lactosa; un lubricante tal como estearato de magnesio o similar; y un aglutinante tal como almidón, goma arábica, polivinilpirrolidina, gelatina, celulosa, derivados de celulosa o similares.

Las composiciones líquidas farmacéuticamente administrables pueden, por ejemplo, prepararse disolviendo, dispersando, etc. levofloxacinó y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un vehículo (por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, glicoles, etanol o similares) para formar una disolución o suspensión. Las disoluciones a ser aerosolizadas pueden prepararse en formas convencionales, o bien como disoluciones o suspensiones líquidas, como emulsiones, o en formas sólidas adecuadas para disolución o suspensión en líquido antes de la producción e inhalación de aerosoles. El porcentaje de levofloxacinó contenida en tales composiciones de aerosol depende en gran medida de su naturaleza específica, así como de la actividad del levofloxacinó y las necesidades del sujeto. Sin embargo, se pueden emplear porcentajes de ingrediente activo de 0,01% a 90% en disolución, y serán más altos si la composición es un sólido, que posteriormente se diluirá a los porcentajes anteriormente indicados. En algunas realizaciones, la composición comprenderá 1,0%-50,0% de disolución de levofloxacinina.

Las composiciones descritas en este documento pueden administrarse con una frecuencia de aproximadamente 1, 2, 3, 4 o más veces al día, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más veces a la semana, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más veces al mes. En realizaciones particulares, las composiciones se administran dos veces al día.

### 35 Suministro en aerosol

Para la administración pulmonar, se evitan las vías respiratorias superiores en favor de las vías respiratorias medias e inferiores. El suministro pulmonar del fármaco puede lograrse mediante la inhalación de un aerosol a través de la boca y la garganta. Las partículas que tienen un diámetro mediano de masa aerodinámico (MMAD) mayor que aproximadamente 5 micrómetros generalmente no llegan al pulmón; en cambio, tienden a afectar la parte posterior de la garganta y se tragan, y posiblemente se absorben por vía oral. Las partículas que tienen diámetros de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 micrómetros son lo suficientemente pequeñas como para llegar a la región pulmonar superior a media (vías aéreas conductoras), pero son demasiado grandes para llegar a los alvéolos. Las partículas más pequeñas, es decir, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2 micrómetros, son capaces de llegar a la región alveolar. Las partículas que tienen diámetros menores a aproximadamente 0,5 micrómetros también se pueden depositar en la región alveolar por sedimentación, aunque se pueden exhalar partículas muy pequeñas.

En una realización, se selecciona un nebulizador sobre la base de permitir la formación de un aerosol de levofloxacinó que tiene un MMAD predominantemente entre aproximadamente 2 y aproximadamente 5 micrómetros. En una realización, la cantidad administrada de levofloxacinó proporciona un efecto terapéutico para las infecciones respiratorias. El nebulizador puede suministrar un aerosol que comprende un diámetro de masa mediana aerodinámico de aproximadamente 2 micrómetros a aproximadamente 5 micrómetros con una desviación estándar geométrica menor o igual a aproximadamente 2,5 micrómetros, un diámetro de masa mediana aerodinámico de aproximadamente 2,5 micrómetros a aproximadamente 4,5 micrómetros con una desviación estándar geométrica menor o igual a aproximadamente 1,8 micrómetros, y un diámetro de masa mediana aerodinámico de aproximadamente 2,8 micrómetros a aproximadamente 4,3 micrómetros con una desviación estándar geométrica menor o igual a aproximadamente 2 micrómetros. En algunas realizaciones, el aerosol se puede producir usando un nebulizador de chorro. En algunas realizaciones, el aerosol se puede producir usando un nebulizador de malla vibratoria. Un ejemplo de nebulizador de malla vibratoria incluye el nebulizador PARI E-FLOW®. Se proporcionan más ejemplos de nebulizadores en las patentes estadounidenses n.º 4.268.460; 4.253.468; 4.046.146; 3.826.255; 4.649.911; 4.510.929; 4.624.251; 5.164.740; 5.586.550; 5.758.637; 6.644.304; 6.338.443; 5.906.202; 5.934.272; 5.960.792; 5.971.951; 6.070.575; 6.192.876; 6.230.706; 6.349.719; 6.367.470; 6.543.442; 6.584.971; 6.601.581; 4.263.907; 5.709.202;

5.823.179; 6.192.876; 6.644.304; 5.549.102; 6.083.922; 6.161.536; 6.264.922; 6.557.549; y 6.612.303. Más ejemplos comerciales de nebulizadores que se pueden usar con las formulaciones descritas en el presente documento incluyen Respirgard II®, Aeroneb®, Aeroneb® Pro y Aeroneb® Go producidos por Aerogen; AERx® y AERx Essence™ producidos por Aradigm; Porta-Neb®, Freeway Freedom™, Sidestream., Ventstream e I-neb producidos por Respironics, Inc.; y PARI LC-Plus®, PARI LC-Star®, producido por PARI, GmbH. También se hace referencia a la patente de EE. UU n.º 6.196.219.

La cantidad de levofloxacino que se puede administrar a los pulmones puede incluir al menos aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg, aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 610 mg, aproximadamente 620 mg, aproximadamente 630 mg, aproximadamente 640 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 660 mg, aproximadamente 670 mg, aproximadamente 680 mg, aproximadamente 690 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 710 mg, aproximadamente 720 mg, aproximadamente 730 mg, aproximadamente 740 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 760 mg, aproximadamente 770 mg, aproximadamente 780 mg, aproximadamente 790 mg y aproximadamente 800 mg.

El aerosol se puede administrar a los pulmones en menos de aproximadamente 120 minutos, aproximadamente 100 minutos, aproximadamente 90 minutos, aproximadamente 80 minutos, aproximadamente 70 minutos, aproximadamente 60 minutos, aproximadamente 20 minutos, aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 4 minutos, aproximadamente 3 minutos, aproximadamente 2 minutos y aproximadamente 1 minuto.

#### Indicaciones

El aerosol de una disolución que comprende levofloxacino se usa para tratar trastornos y enfermedades particulares que se asocian a inflamación pulmonar. En realizaciones particulares, la inflamación puede ser inflamación aguda o crónica del pulmón o las vías aéreas superiores. Como se usa en el presente documento, "inflamación pulmonar" puede referirse a inflamación aguda o crónica de al menos una porción del aparato respiratorio, tal como los pulmones y las vías aéreas superiores. Los ejemplos de tales trastornos y enfermedades asociados con la inflamación pulmonar pueden incluir asma, fibrosis quística, fibrosis pulmonar, bronquitis crónica, bronquiectasia, enfermedad granulomatosa crónica, sinusitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y neumonía.

Algunas realizaciones incluyen el aerosol de una disolución que comprende levofloxacino para su uso en métodos para lograr una reducción de la inflamación pulmonar. Una reducción puede incluir la reducción de los signos y síntomas de una inflamación pulmonar. En algunas realizaciones, el aerosol de una disolución que comprende levofloxacino se usa en métodos que incluyen lograr una reducción en los niveles de citocinas proinflamatorias en los pulmones. Una reducción en los niveles de citocinas proinflamatorias en los pulmones se puede medir mediante varios métodos, como una reducción en los niveles de citocinas proinflamatorias en el esputo y/o BAL. En algunas realizaciones, los métodos incluyen lograr una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en los pulmones.

#### **Ejemplos**

##### Ejemplo 1 - Actividad *in vitro* de levofloxacino, ciprofloxacino y moxifloxacino a bajas concentraciones en la producción de IL-6 e IL-8

Las células NL20 y las células HBE135 son células epiteliales de las vías respiratorias humanas inmortalizadas que conservan ciertas características del epitelio de las vías respiratorias y se han utilizado ampliamente para caracterizar los efectos inmunomoduladores de otros antibióticos (Blau H *et al.* Moxifloxacin but not ciprofloxacin or azithromycin selectively inhibits IL-8, IL-6, ERK1/2, JNK, and NF-kappaB activation in a cystic fibrosis epithelial cell line. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 292: L343-352; y Donnarumma G, *et al.* Anti-inflammatory effects of moxifloxacin and human beta-defensin 2 association in human lung epithelial cell line (A549) stimulated with lipopolysaccharide. *Peptides* 2007; 28: 2286-2292). La producción de IL-6 e IL-8 en las células NL20 y HBE135 se indujo mediante la adición de TNFα o Lipopolisacárido (LPS) de *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente. El efecto de los antibióticos sobre los niveles de citocinas se evaluó mediante el ensayo ELISA.

Las células NL20 se mantuvieron en medio F12 de Ham con L-glutamina 2 mM, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, insulina 5 µg/ml, factor de crecimiento epidérmico 10 ng/ml, transferrina 1 µg/ml, hidrocortisona 500 ng/ml y FBS al 4%. Las células HBE135 se cultivaron como habitualmente en medio sin suero de queratinocitos con 5 ng/ml de EGF recombinante humano y 0,05 mg/ml de extracto pituitario bovino (Invitrogen, San Diego, CA) enriquecido con 5 µg/ml de insulina y 500 ng/ml de hidrocortisona.

Se sembraron células NL20 en placas de cultivo de tejidos de 24 pocillos a  $2 \times 10^4$  célula/ml. El día después de la siembra, las células recibieron medio de crecimiento normal sin suero durante 24 h adicionales. Se utilizó el mismo medio libre de suero para todos los tratamientos posteriores de células NL20. La producción de IL-6 e IL-8 en monocapas NL20 fue inducida por tratamiento con 10 ng/ml de TNF $\alpha$ . Las células HBE135 se dividieron en alícuotas en placas de cultivo de tejidos de 24 pocillos a  $1 \times 10^5$  células/ml y se usaron para experimentos de producción de citocinas aproximadamente 24 horas después de disponerse en las placas sin cambios de medios adicionales. La producción de IL-6 e IL-8 en células HBE135 fue inducida por tratamiento con 5 µg/ml de LPS de *P. aeruginosa*. Después de 48 h, se recogió el medio celular, se aclaró y se cuantificó la cantidad de IL-6 e IL-8 liberada en el medio usando kits de ELISA quimioluminiscentes QuantiGlo (R&D Systems, Minneapolis, MN). Para probar el efecto de los antibióticos sobre la secreción de IL-6 e IL-8, se agregaron antibióticos a los medios de cultivo junto con LPS o TNF $\alpha$  y se procesaron como se describió anteriormente.

TNF $\alpha$  indujo un aumento de varias veces en la producción de IL-6 e IL-8 en células NL20 (Figuras 1A y 1B). LPS indujo un aumento en el nivel de IL-8 en las células HBE135 (Figura 2B). En las células NL20 tratadas con 10 µg/ml y 30 µg/ml de levofloxacin, moxifloxacin o ciprofloxacino, los niveles de IL-8 se redujeron en aproximadamente un 20-30% (Figuras 1A y 1B). No se observaron cambios significativos en los niveles de IL-6 en las células tratadas con levofloxacin o ciprofloxacino. Sin embargo, en las células NL20 tratadas con 30 µg/ml de ciprofloxacino, se observó un aumento en los niveles de IL-6. Las Figuras 2A y 2B muestran los niveles de IL-6 e IL-8 en las células. En células HBE135 tratadas con 10 µg/ml y 30 µg/ml de levofloxacin, moxifloxacin o ciprofloxacino. Este experimento demuestra que bajas concentraciones de levofloxacin pueden reducir los niveles de IL-8 en las células HBE135 estimuladas con LPS.

#### Ejemplo 2 - Citotoxicidad *in vitro* de levofloxacin, ciprofloxacino y moxifloxacin

La citotoxicidad de levofloxacin, moxifloxacin y ciprofloxacino en líneas celulares NL20 y HBE135 se midió usando un ensayo de Azul Alamar. Después de 48 horas de incubación con el antibiótico, las células se incubaron en medios de crecimiento frescos que contenían colorante azul Alamar al 5%, y se registró la fluorescencia a las 0 h y 4 h para evaluar la citotoxicidad de los antibióticos. Las concentraciones más altas de levofloxacin fueron menos citotóxicas para las células NL20 o HBE135 en comparación con moxifloxacin y ciprofloxacino (Figuras 3A y 3B). Moxifloxacin y ciprofloxacino fueron significativamente citotóxicos para las células NL20 a 300 µg/ml.

#### Ejemplo 3 - Actividad *in vitro* de levofloxacin en la producción de IL-6 e IL-8

Las células NL20 inducidas con TNF $\alpha$  y las células HBE135 inducidas con LPS se trataron con 300 µg/ml levofloxacin o 300 µg/ml levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub>. Se observó una reducción aproximada de 10 y 5 veces en los niveles de IL-6 e IL-8, respectivamente, en células NL20 tratadas con 300 µg/ml levofloxacin o 300 µg/ml levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub>. (Figuras 4A y 4B). Además, se observaron reducciones en los niveles de IL-6 e IL-8 en células HBE tratadas con 300 µg/ml levofloxacin o 300 µg/ml levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> (Figuras 4C y 4D). Levofloxacin y levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> tuvieron actividad similar *in vitro*.

#### Ejemplo 5 - Actividad *in vitro* de levofloxacin y tobramicina

Las células NL20 inducidas por TNF $\alpha$  y las células HBE135 inducidas por LPS se trataron con 10 - 300 µg/ml de levofloxacin o tobramicina. No se observaron cambios significativos en la viabilidad celular en los ensayos de citotoxicidad entre ningún tratamiento (no se muestran los datos).

En las células NL20 tratadas con 10 ng/ml de TNF $\alpha$ , se observó un aumento en la producción de IL-6 de  $3,4 \pm 0,2$  pg/ml a  $40,3 \pm 2,3$  pg/ml (Figura 5A). La producción de IL-8 aumentó de  $3,3 \pm 0,2$  pg/ml a  $197,3 \pm 28,9$  pg/ml (Figura 5B). La incubación de células NL20 con 5 µg/ml de LPS no produjo aumentos significativos en la producción de IL-6 o IL-8 (no se muestran los datos). La adición de 10 µg/ml o 30 µg/ml de levofloxacin no cambió significativamente el nivel de IL-6 e IL-8 producido por las células NL20. No obstante, 100 µg/ml y 300 µg/ml de levofloxacin dieron como resultado reducciones de 2 a 4 veces en los niveles de IL-6, respectivamente ( $p < 0,005$ ) (Figura 5A). Los niveles de IL-8 disminuyeron en un 50% y 60% en las células NL20 tratadas con 100 µg/ml y 300 µg/ml de levofloxacin, respectivamente ( $p < 0,005$ ) (Figura 5B). La tobramicina de 10 µg/ml a 100 µg/ml no afectó significativamente la producción de IL-6 o IL-8 (Figuras 5A y 5B). Sin embargo, 300 µg/ml de tobramicina produjeron un incremento en la producción de IL-6 (Figura 5A). Por lo tanto, el levofloxacin demuestra una capacidad para reducir la producción de citocinas proinflamatorias en células NL20 *in vitro*.

La incubación de células HBE135 con 5 µg/ml de LPS aumentó la producción de IL-6 de  $46,1 \pm 6,4$  pg/ml a  $86,3 \pm 6,4$  pg/ml y la producción de IL-8 de  $280,7 \pm 54,9$  pg/ml a  $541,9 \pm 54,8$  pg/ml. La incubación de células HBE135 con 10 o 30 µg/ml de levofloxacin y células LPS no cambió significativamente los niveles de IL-6 e IL-8. Sin embargo, 100 µg/ml y 300 µg/ml de levofloxacin resultaron en una disminución de 45% y 40% en los niveles de IL-6,

respectivamente (Figura 6). Los niveles de IL-8 disminuyeron en un 30% y un 20% en las células HBE135 tratadas con 100 µg/ml y 300 µg/ml de levofloxacin, respectivamente (Figura 6). La incubación de células con 10 µg/ml, 30 µg/ml o 100 µg/ml de tobramicina no afectó los niveles de IL-6, mientras que 300 µg/ml de tobramicina aumentaron los niveles de IL-6 en un 30%. El tratamiento con 30 µg/ml a 300 µg/ml de tobramicina aumentó la producción de IL-8 en un 20% a 30% ( $p < 0,05$ ).

Estos estudios *in vitro* demostraron que el levofloxacin puede inducir una reducción relacionada con la dosis en la producción de las citocinas proinflamatorias, IL-6 e IL-8, en líneas celulares epiteliales de pulmón humano cultivadas. El tratamiento con 300 µg/ml de levofloxacin redujo los niveles de IL-6 en 4 veces e IL-8 en 2 veces ( $p < 0,05$ ); en contraste, la tobramicina aumentó los niveles de IL-6 en un 50%, pero no tuvo efecto sobre la IL-8. Estos hallazgos sugieren que las altas concentraciones de levofloxacin obtenidas en los tejidos pulmonares después del tratamiento con levofloxacin en aerosol formulado con MgCl<sub>2</sub> proporcionará beneficios antiinflamatorios en pacientes con infecciones pulmonares crónicas.

#### Ejemplo 6 - Actividad *in vitro* de levofloxacin en células monocíticas humanas

La línea celular de monocitos humanos THP-1 es un modelo *in vitro* establecido de células monocíticas humanas y es capaz de segregar una mayor variedad de citocinas en comparación con las células NL20 y HBE135. Las células THP-1 se cultivaron en medio RPMI-1640 con FBS al 10%, 2-mercaptoetanol 0,05 mM. Las células THP-1 se sembraron en placas de cultivo de tejidos de 24 pocillos a  $1 \times 10^6$  células/ml en medio de crecimiento sin suero. Al día siguiente, se añadieron 100 ng/ml de LPS de *P. aeruginosa* y antibióticos, y las células se incubaron durante 24 horas antes de recoger del medio para evaluar la producción de citocinas. La cuantificación de la producción de IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  y TNF $\alpha$  se realizó como se describió anteriormente para las células NL20.

La estimulación de THP-1 con 10 ng/ml de LPS aumentó los niveles de IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-8 en 60, 200, 30 y 600 veces, respectivamente (Figuras 7A, 7B, 7C, y 7D). La incubación conjunta de LPS y 100 µg/ml y 300 µg/ml de levofloxacin dio como resultado una disminución del 40% y del 70% en los niveles de IL-1 $\beta$ , respectivamente (Figura 7A). El tratamiento con 300 µg/ml de levofloxacin aumentó la producción de TNF $\alpha$  (Figura 7B). La incubación con mayores concentraciones de levofloxacin causó una disminución dependiente de la dosis de la producción de IL-6, con 300 µg/ml de levofloxacin, reduciendo los niveles de IL-6 en cinco veces (Figura 7C). Los niveles de IL-8 disminuyeron significativamente con 100 µg/ml y 300 µg/ml de levofloxacin (Figura 7D).

#### Ejemplo 7 - Actividad *in vitro* de levofloxacin en la expresión de ARNm de IL-8

La línea celular de monocitos humanos THP-1 es un modelo *in vitro* establecido de células monocíticas humanas y es capaz de segregar una mayor variedad de citocinas en comparación con las células NL20 y HBE135. La expresión de ARNm de IL-8 en monocapas NL20 se indujo mediante tratamiento con 10 ng/ml de TNF $\alpha$ . Se añadió levofloxacin simultáneamente con TNF $\alpha$ . Después de 24 h de incubación, la monocapa celular se lavó con PBS, se preparó ARN celular total y se realizó la transcripción inversa usando un cebador específico de IL-8 humano y el kit "Cells-to-cDNA" de Ambion (Austin, TX). El ADNc se sometió a análisis de PCR en tiempo real usando la mezcla maestra de PCR PowerSYBR Green y un instrumento GeneAmp 5700 (Applied Biosystems; Warrington, Reino Unido). Todos los datos se normalizaron al gen constitutivo  $\beta$ -actina. La estimulación de las células NL-20 con TNF $\alpha$  produjo un aumento estadísticamente significativo ( $p < 0,005$ ) de 20 veces en los niveles de ARNm de IL-8 (Figura 8). Este aumento se correlaciona con el aumento de los niveles de proteína IL-8 inducida por TNF $\alpha$ . La adición de 100 µg/ml y 300 µg/ml de levofloxacin no tuvo un efecto significativo sobre el nivel de expresión de ARNm de IL-8 (Figura 4). Estos resultados sugieren que el levofloxacin reduce los niveles de la proteína segregada por IL-8 al modular procesos que incluyen la traducción de proteínas y/o la segregación de proteínas.

#### Ejemplo 8 - Actividad *in vitro* de levofloxacin en la actividad de NFkB

NFkB y AP-1 son reguladores importantes en la actividad transcripcional de algunas citocinas proinflamatorias. Este ejemplo se refiere al efecto del levofloxacin sobre la actividad reguladora de la transcripción de NFkB.

La línea celular de monocitos humanos THP-1 es un modelo *in vitro* establecido de células monocíticas humanas y es capaz de segregar una mayor variedad de citocinas en comparación con las células NL20 y HBE135. Las células se sembraron en una placa de 96 pocillos a  $3 \times 10^4$  células/pocillo y se transfectaron al día siguiente con plásmido indicador pMetLuc-NFkB (Clontech) que codifica una proteína luciferasa segregada bajo el control de un promotor regulado por NFkB. Para normalizar la eficiencia de la transfección, las células se co-transfectaron con un plásmido pSEAP-Control (Clontech) que codifica una fosfatasa alcalina segregada bajo el control de un fuerte promotor constitutivo. 24 horas después de la transfección, los medios se reemplazaron con medios frescos sin suero que contenían 10 ng/ml de TNF- $\alpha$  y levofloxacin. 8 horas después de la incubación, se recogieron los sobrenadantes celulares, y se midieron las actividades de luciferasa y fosfatasa alcalina utilizando el ensayo de indicador segregado dual "Ready-to-Glow Dual Secreted Reporter Assay" (Clontech, Mountain View, CA). Las células transfectadas con el plásmido indicador que codifica el gen de luciferasa bajo el control del factor de transcripción NFkB produjeron un nivel basal bajo de actividad de luciferasa. La estimulación con TNF $\alpha$ , un activador conocido de la ruta NFkB, resultó en un aumento de casi 20 veces en la actividad del promotor (Figura 9). La adición de 100 µg/ml y 300 µg/ml de levofloxacin no produjo

un efecto significativo sobre el nivel de actividad del gen indicador. Esto sugiere que el levofloxacin no afectó la actividad transcripcional de NFκB estimulada por TNFα.

Ejemplo 9 - Actividad antiinflamatoria *in vivo* de levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub>

5 Los ratones (n = 4) recibieron inyecciones de 50 µg de LPS por vía intraperitoneal. Treinta minutos después del tratamiento con LPS, los ratones fueron tratados usando un dispositivo de aerosol de microspray (PennCentury, Filadelfia) con 60 mg/kg de solución salina control, levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> o tobramicina. Los ratones se sacrificaron 6 horas después del tratamiento con aerosol, y se recogió el líquido broncoalveolar (BAL) mediante lavado con 1 ml de solución salina. Los niveles de IL-6 y MIP-2 (homólogo murino de IL-8 humana) se determinaron por ELISA.

10 Tratamientos con solución salina, levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> y tobramicina dieron como resultado niveles medios de MIP-2 de 515 pg/ml, 233 pg/ml y 502 pg/ml, respectivamente (Figuras 10A). Tratamiento con levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> resultó en una reducción de más de 2 veces en los niveles de MIP-2 en relación con el control de solución salina. Además, la reducción fue significativamente mayor que la de los ratones tratados con solución salina y tobramicina (p<0,05). Se observó una tendencia similar en los niveles de IL-6 (Figura 10B). El tratamiento con levofloxacin produjo niveles de IL-6 más de 2 veces menores que los niveles de IL-6 en el control de solución salina (p <0,05). El tratamiento con tobramicina resultó en un aumento en los niveles de IL-6 en comparación con el control de solución salina. Estos datos *in vivo* son consistentes con los datos *in vitro* del Ejemplo 5, donde el tratamiento con levofloxacin disminuyó los niveles de IL-6 e IL-8, mientras que la tobramicina no tuvo un efecto significativo sobre los niveles de IL-8 y una tendencia a aumentar los niveles de IL-6.

20 Este estudio *in vivo* demuestra que el tratamiento con altas concentraciones de levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> puede reducir las citocinas proinflamatorias que incluyen IL-6 e IL-8. Por consiguiente, estos hallazgos sugieren que, además de los potentes efectos antibacterianos, las altas concentraciones de levofloxacin pueden tener beneficios antiinflamatorios en pacientes susceptibles a inflamaciones agudas y crónicas, por ejemplo, pacientes con FQ y EPOC.

Ejemplo 10 - Actividad antiinflamatoria de levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> en pacientes con FQ

25 Los pacientes con FQ que tienen inflamación pulmonar aguda o crónica reciben levofloxacin en aerosol formulado con MgCl<sub>2</sub>. Después del tratamiento, se observa una reducción en la inflamación aguda. Se observa una reducción en los niveles de citocinas proinflamatorias. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en los pulmones. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en el esputo y/o BAL.

Ejemplo 11 - Actividad antiinflamatoria de levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> en pacientes con EPOC

30 A los pacientes con EPOC con inflamación pulmonar aguda o crónica se les administra levofloxacin en aerosol formulado con MgCl<sub>2</sub>. Después del tratamiento, se observa una reducción en la inflamación aguda. Se observa una reducción en los niveles de citocinas proinflamatorias. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en los pulmones. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en el esputo y/o BAL.

Ejemplo 12 - Actividad antiinflamatoria de levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> en pacientes con bronquitis crónica

35 Los pacientes con bronquitis crónica que tienen inflamación pulmonar aguda o crónica reciben levofloxacin en aerosol formulado con MgCl<sub>2</sub>. Después del tratamiento, se observa una reducción en la inflamación aguda. Se observa una reducción en los niveles de citocinas proinflamatorias. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en los pulmones. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en el esputo y/o BAL.

Ejemplo 13 - Actividad antiinflamatoria de levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> en pacientes con bronquiectasia

40 A los pacientes con bronquiectasia que tienen inflamación pulmonar aguda o crónica se les administra levofloxacin en aerosol formulado con MgCl<sub>2</sub>. Después del tratamiento, se observa una reducción en la inflamación aguda. Se observa una reducción en los niveles de citocinas proinflamatorias. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en los pulmones. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en el esputo y/o BAL.

Ejemplo 14 - actividad antiinflamatoria de levofloxacin formulado con MgCl<sub>2</sub> en pacientes con bronquiectasia sin FQ

45 A los pacientes con bronquiectasia sin FQ que tienen inflamación pulmonar aguda o crónica se les administra levofloxacin en aerosol formulado con MgCl<sub>2</sub>. Después del tratamiento, se observa una reducción en la inflamación aguda. Se observa una reducción en los niveles de citocinas proinflamatorias. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en los pulmones. Se observa una reducción en los niveles de IL-1β, IL-6 e IL-8 en el esputo y/o BAL.

50 A menos que se defina lo contrario, todos los términos (incluidos los términos técnico-científicos) deben tener su significado habitual y para una persona con experiencia en la técnica, y no deben limitarse a un significado especial o personalizado a menos que así se defina expresamente aquí.

5 Los términos y frases utilizados en esta solicitud, y sus variaciones, a menos que se indique expresamente lo contrario, deben interpretarse como abiertos y no como limitativos. Como ejemplos de lo anterior, el término "incluido" debe leerse en el sentido de "incluido, sin limitación" o similar; el término "que comprende", como se usa en el presente documento, es sinónimo de "que incluye", "que contiene" o "caracterizado por", e incluye o es abierto y no excluye elementos adicionales no citados o pasos del método; el término "ejemplo" se usa para proporcionar casos ilustrativos del punto bajo análisis, no una lista exhaustiva o limitante del mismo; los adjetivos como "conocido", "normal", "estándar" y términos de significado similar no deben interpretarse como limitativos del elemento descrito a un período de tiempo determinado o a un elemento disponible a partir de un tiempo determinado, sino que deben interpretarse que abarcan tecnologías conocidas, normales o estándar que pueden estar disponibles o conocidas ahora o en cualquier momento en el futuro; y el uso de términos como "preferiblemente", "preferido", "deseado" o "deseable", y palabras de significado similar no deben entenderse como que implican que ciertas características son críticas, esenciales o incluso importantes para la estructura o función de la invención, sino más bien como una mera intención de resaltar características alternativas o adicionales que pueden o no ser utilizadas en una realización particular de la invención. Asimismo, un grupo de elementos vinculados con la conjunción "y" no debe leerse como que requiere que todos y cada uno de esos elementos estén presentes en la agrupación, sino que debe leerse como "y/o" a menos que se indique expresamente lo contrario. Del mismo modo, un grupo de elementos vinculados con la conjunción "o" no debe leerse como que requiere exclusividad mutua entre ese grupo, sino que debe leerse como "y/o" a menos que se indique expresamente lo contrario. Además, como se usa en esta solicitud, los artículos "un" y "una" deben interpretarse como que se refieren a uno o más de uno (es decir, al menos a uno) de los objetos gramaticales del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

10 La presencia en algunos casos de palabras y frases más amplias como "una o más", "al menos", "pero no limitado a" u otras frases similares no se interpretará en el sentido de que se pretende o requiere el caso más estrecho en casos donde tales frases de ampliación pueden estar ausentes.

15 Además, aunque lo anterior se ha descrito con cierto detalle a través de ilustraciones y ejemplos con fines de claridad y comprensión, es evidente para los expertos en la materia que se pueden practicar ciertos cambios y modificaciones. Por lo tanto, la descripción y los ejemplos no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención a las realizaciones y ejemplos específicos descritos en este documento, sino que también cubren todas las modificaciones y alternativas que vienen con el verdadero alcance de la invención.

**REIVINDICACIONES**

1. Un aerosol de una disolución que comprende levofloxacino a una concentración de 90 mg/ml a 110 mg/ml, cloruro de magnesio a una concentración de 175 mM a 225 mM, un pH entre 5 y 7; una osmolalidad de 300 mOsmol/kg a 500 mOsmol/kg, y que carece de lactosa para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar mediante una reducción de la concentración pulmonar de una o más citocinas proinflamatorias seleccionadas entre IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8.  
5
2. Un aerosol de una disolución que comprende levofloxacino a una concentración de 90 mg/ml a 110 mg/ml, cloruro de magnesio a una concentración de 175 mM a 225 mM, un pH entre 5 y 7; una osmolalidad de 300 mOsmol/kg a 500 mOsmol/kg, y que carece de lactosa para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar inducida por uno o más mediadores seleccionados entre TNF $\alpha$  y LPS.  
10
3. El aerosol para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar según la reivindicación 1 o 2, en donde la inflamación pulmonar está asociada con al menos un trastorno seleccionado de asma, fibrosis quística (FQ), fibrosis pulmonar, bronquitis crónica (BC), bronquiectasia, enfermedad granulomatosa crónica, sinusitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o neumonía.
- 15 4. El aerosol para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar según la reivindicación 1 o 2, en donde la disolución comprende una osmolalidad de desde aproximadamente 350 mOsmol/kg hasta aproximadamente 425 mOsmol/kg, y un pH de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 6,5.
5. El aerosol para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar según la reivindicación 1 o 2, en donde la disolución comprende un pH de desde aproximadamente 5,5 hasta aproximadamente 6,5.
- 20 6. El aerosol para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar según la reivindicación 1 o 2, en donde el aerosol comprende un diámetro mediano de masa aerodinámico de desde aproximadamente 2 micrómetros hasta aproximadamente 5 micrómetros con una desviación estándar geométrica inferior o igual a aproximadamente 2,5 micrómetros, preferiblemente un diámetro mediano de masa aerodinámico de desde aproximadamente 2,5 micrómetros hasta aproximadamente 4,5 micrómetros con una desviación estándar geométrica menor o igual a aproximadamente 1,8 micrómetros, más preferido un diámetro mediano de masa aerodinámico de desde aproximadamente 2,8 micrómetros hasta aproximadamente 4,3 micrómetros con una desviación estándar geométrica menor o igual a aproximadamente 2 micrómetros.
- 25
7. El aerosol para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar según la reivindicación 1 o 2, en donde se administran al pulmón al menos aproximadamente 20 mg, preferiblemente al menos aproximadamente 100 mg, más preferiblemente al menos aproximadamente 125 mg y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 150 mg de levofloxacino.  
30
8. El aerosol para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar según la reivindicación 1 o 2, en donde se administra al pulmón en menos de aproximadamente 10 minutos, preferiblemente en menos de aproximadamente 5 minutos, más preferiblemente en menos de aproximadamente 3 minutos y lo más preferiblemente en menos de aproximadamente 2 minutos.  
35
9. El aerosol para su uso en el tratamiento de una inflamación pulmonar según la reivindicación 1 o 2, en combinación con un agente activo adicional seleccionado del grupo que consiste en agente antiinflamatorio, antibiótico, broncodilatador, anticolinérgico, glucocorticoide, inhibidor de eicosanoides, y combinaciones de los mismos.  
40

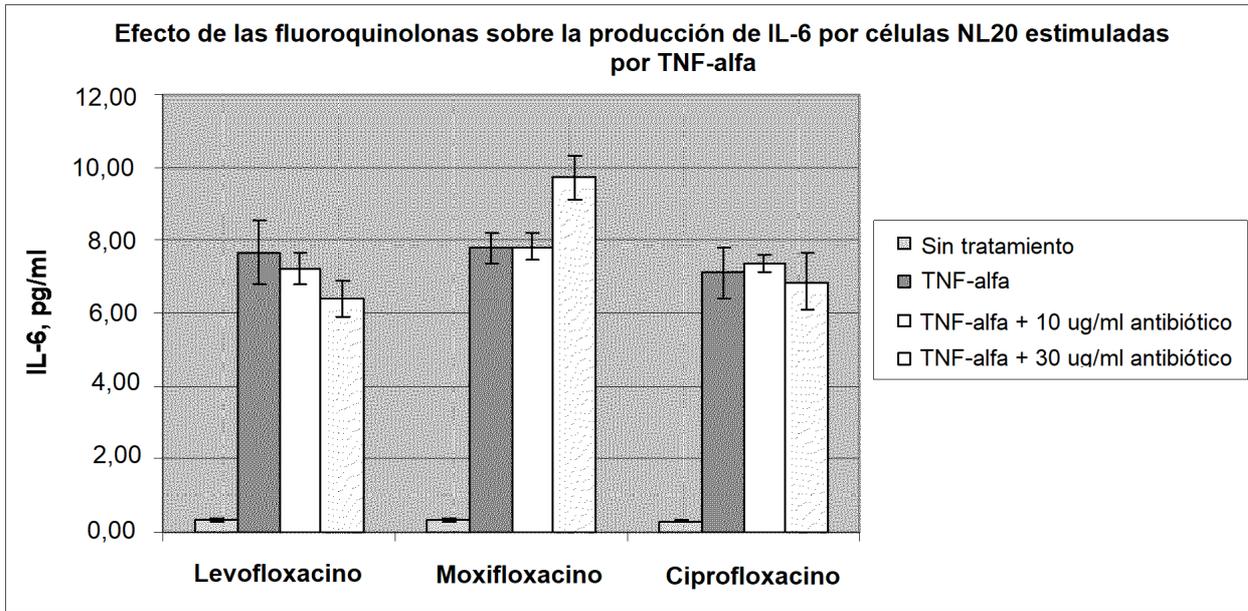


Figura 1A

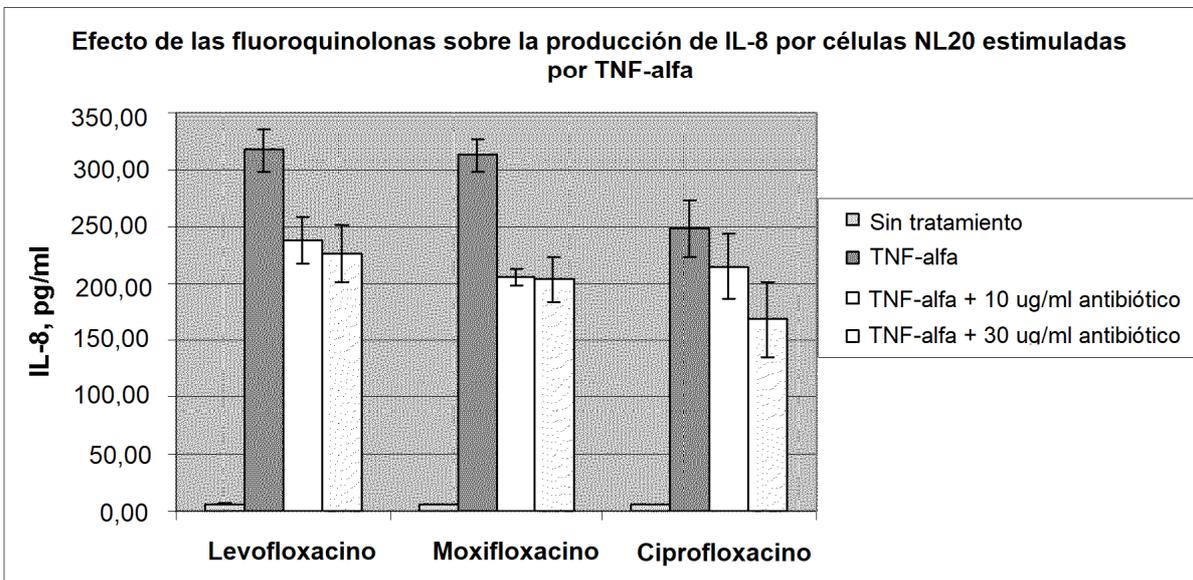


Figura 1B

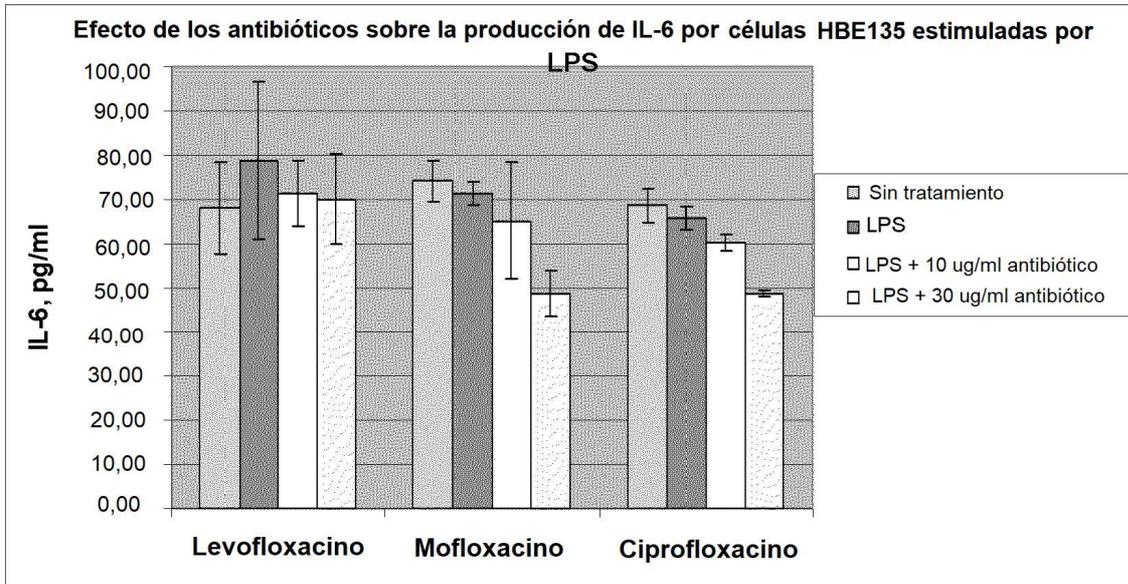


Figura 2A

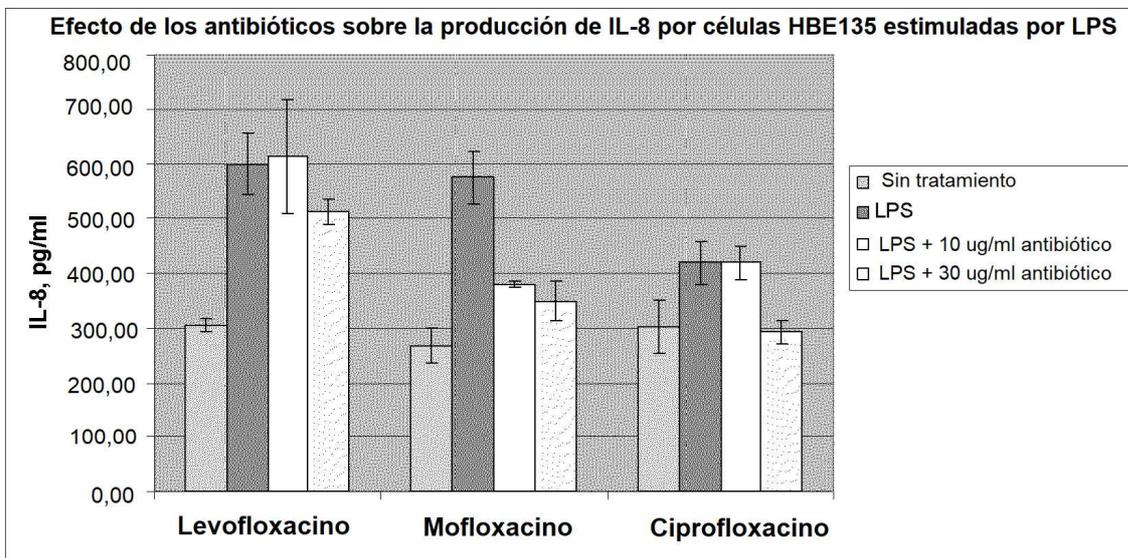


Figura 2B

Figura 3A

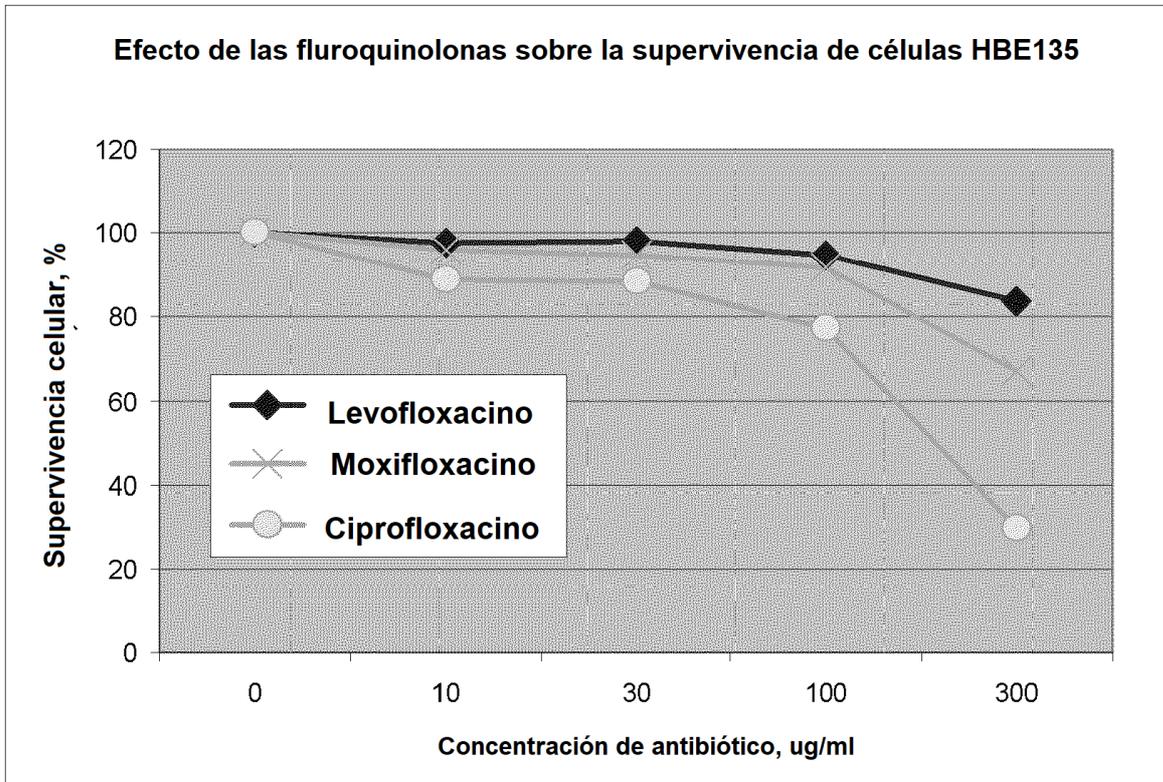


Figura 3B

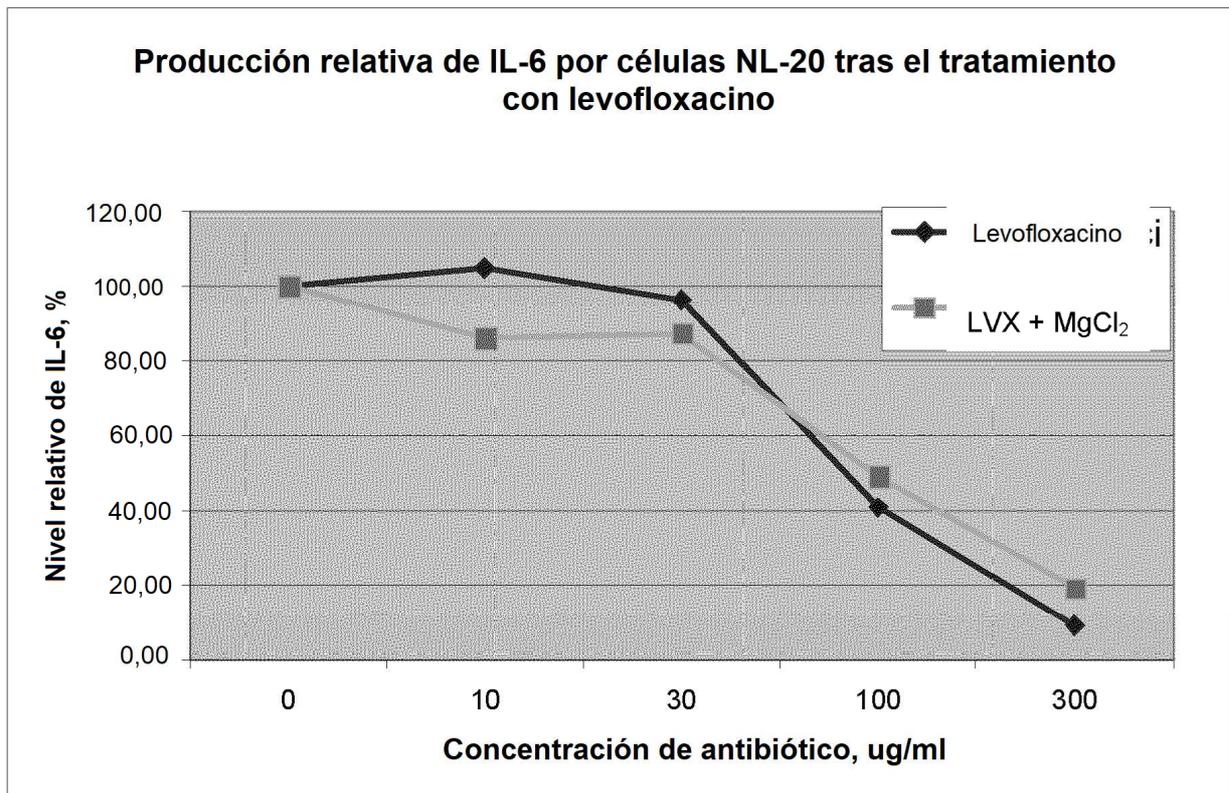


Figura 4A

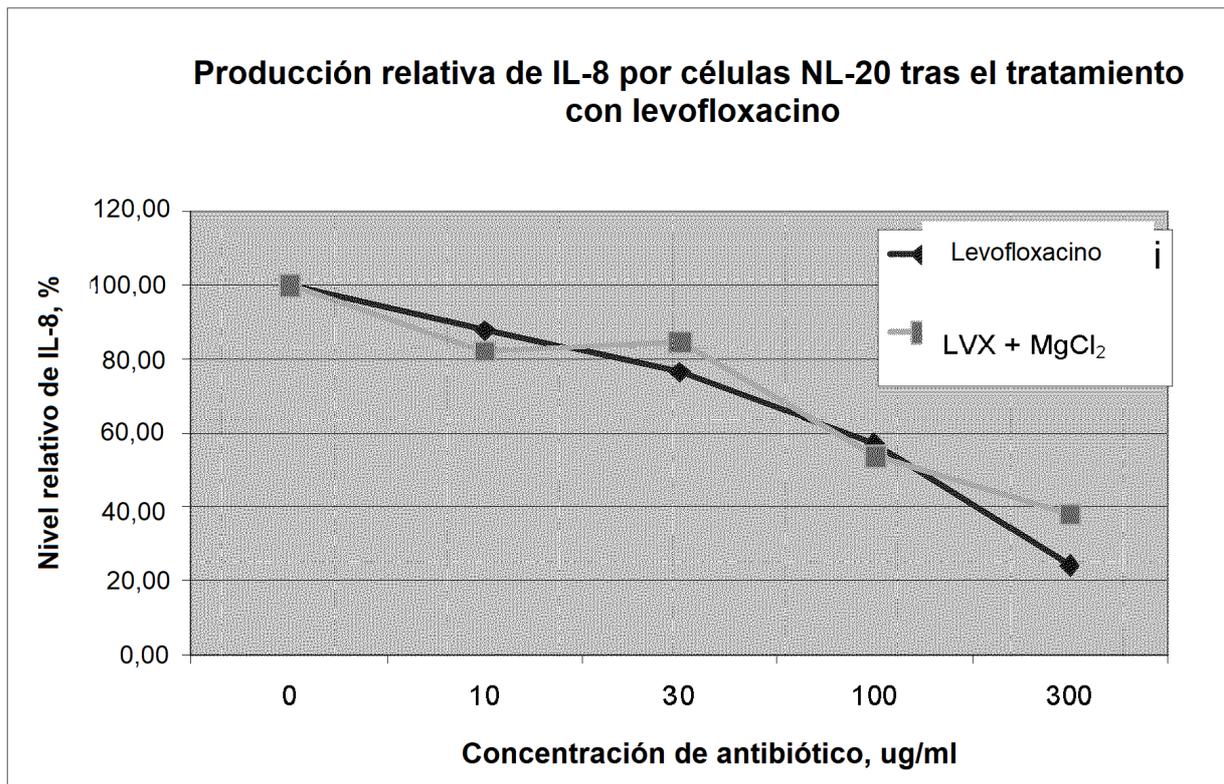


Figura 4B

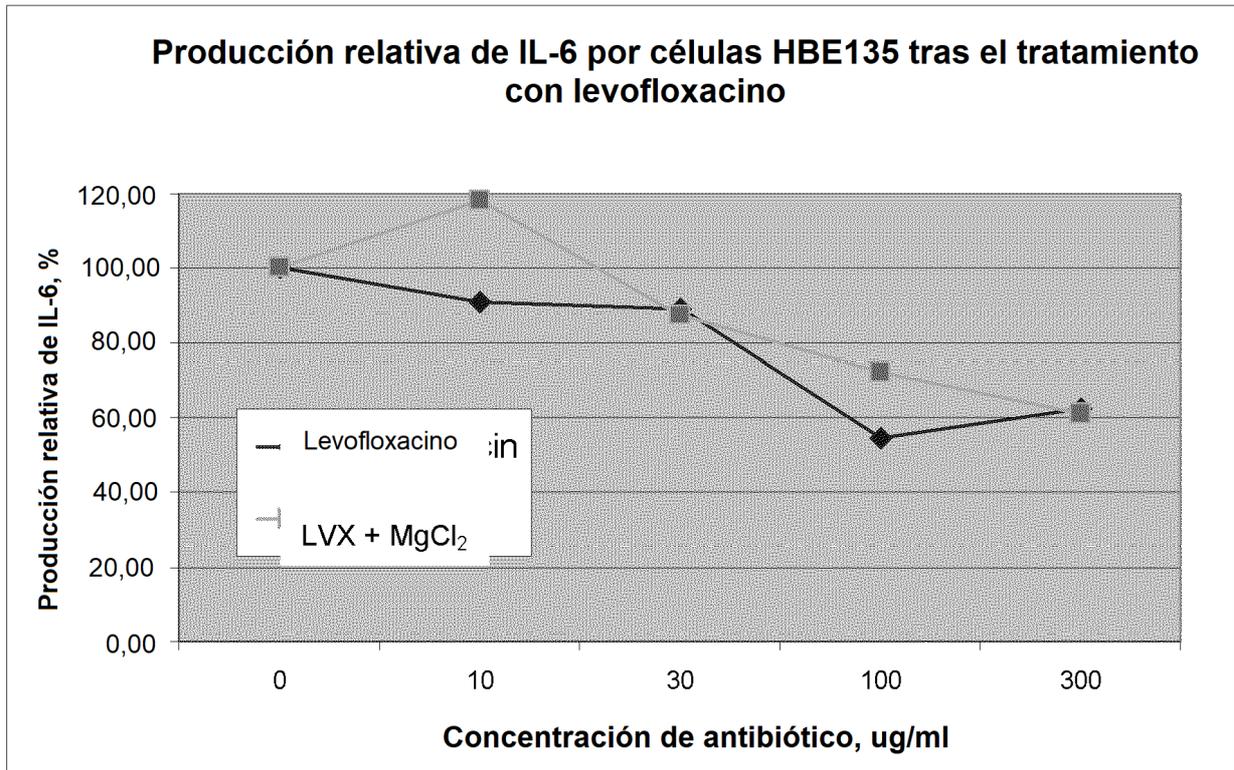


Figura 4C

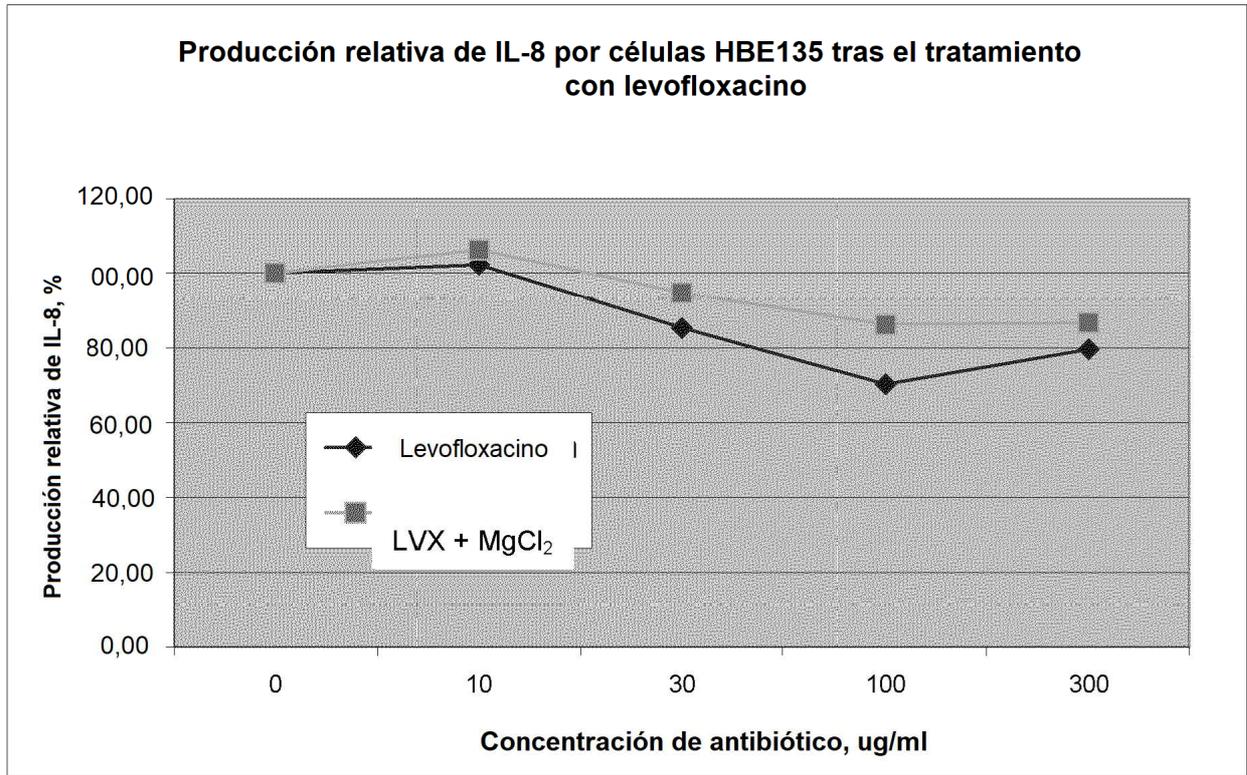
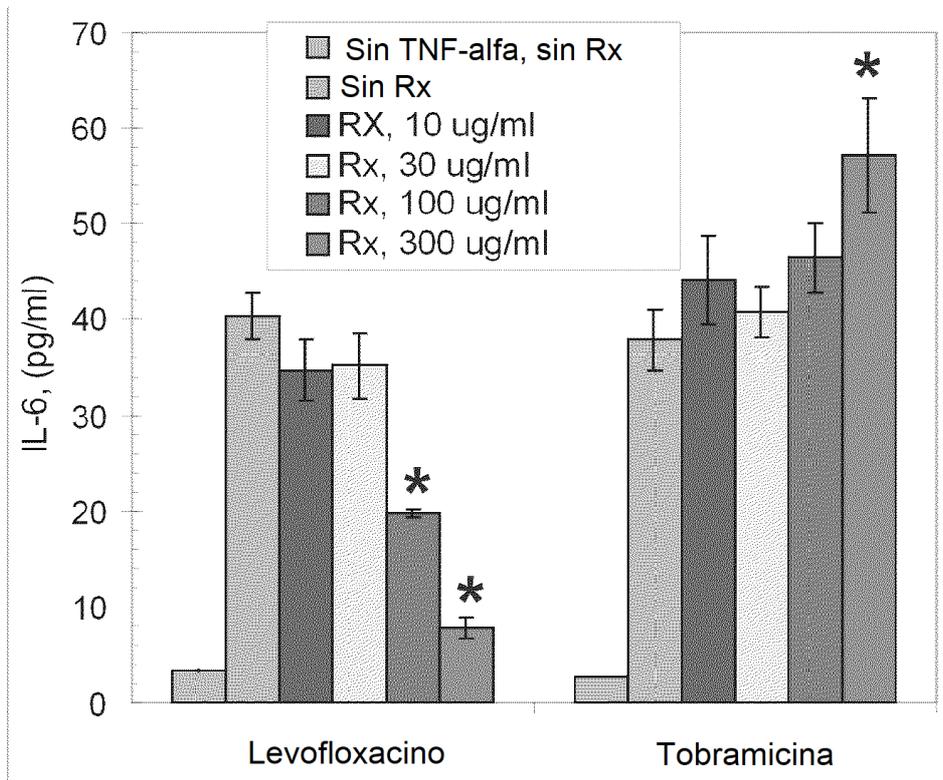
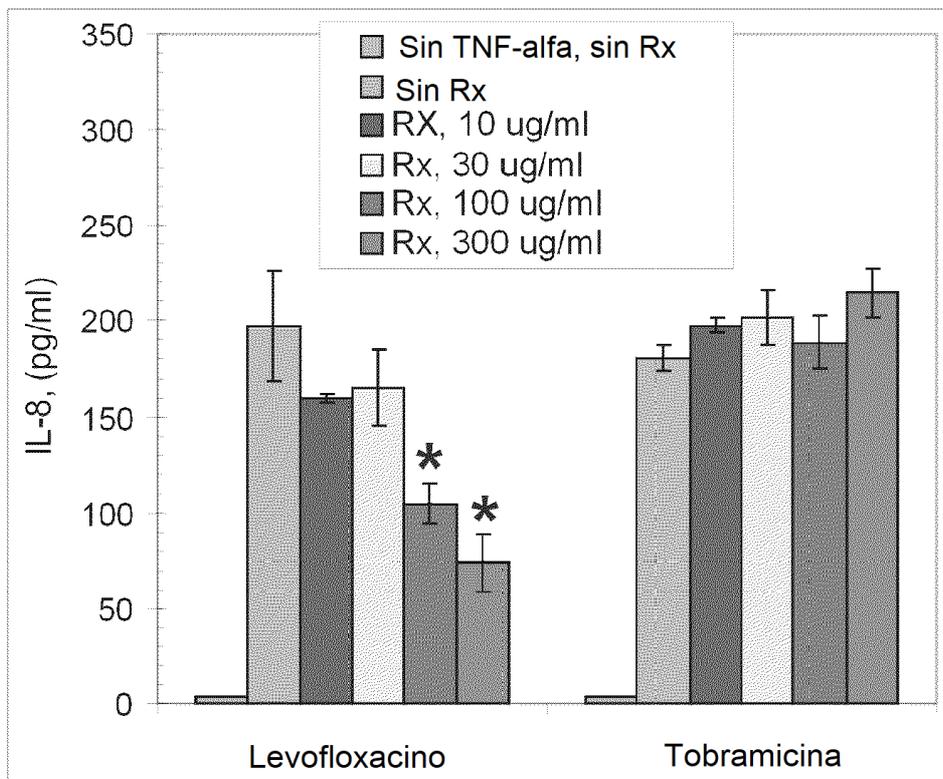


Figura 4D

**A**



**B**



**Figura 5**

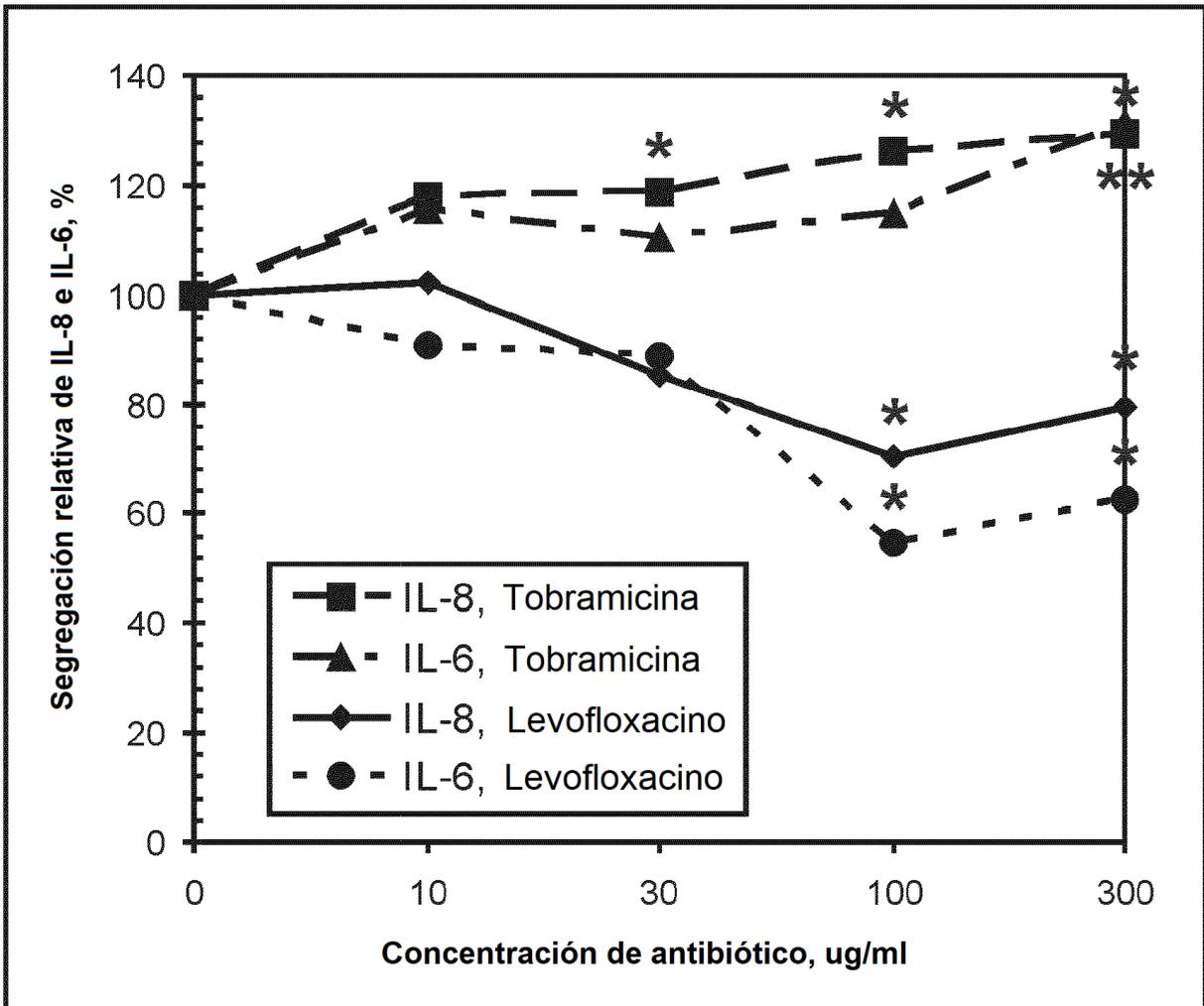


Figura 6

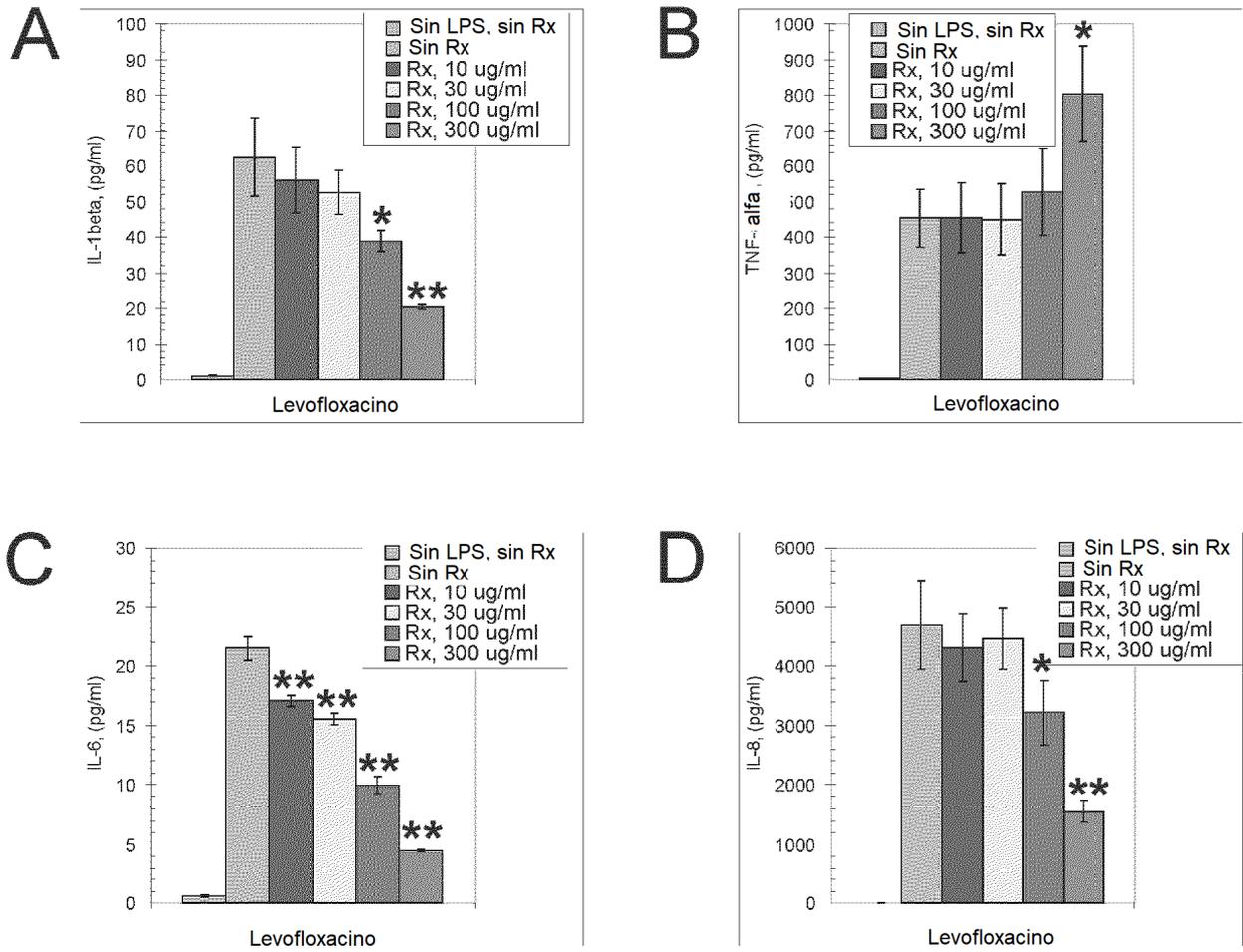


Figura 7

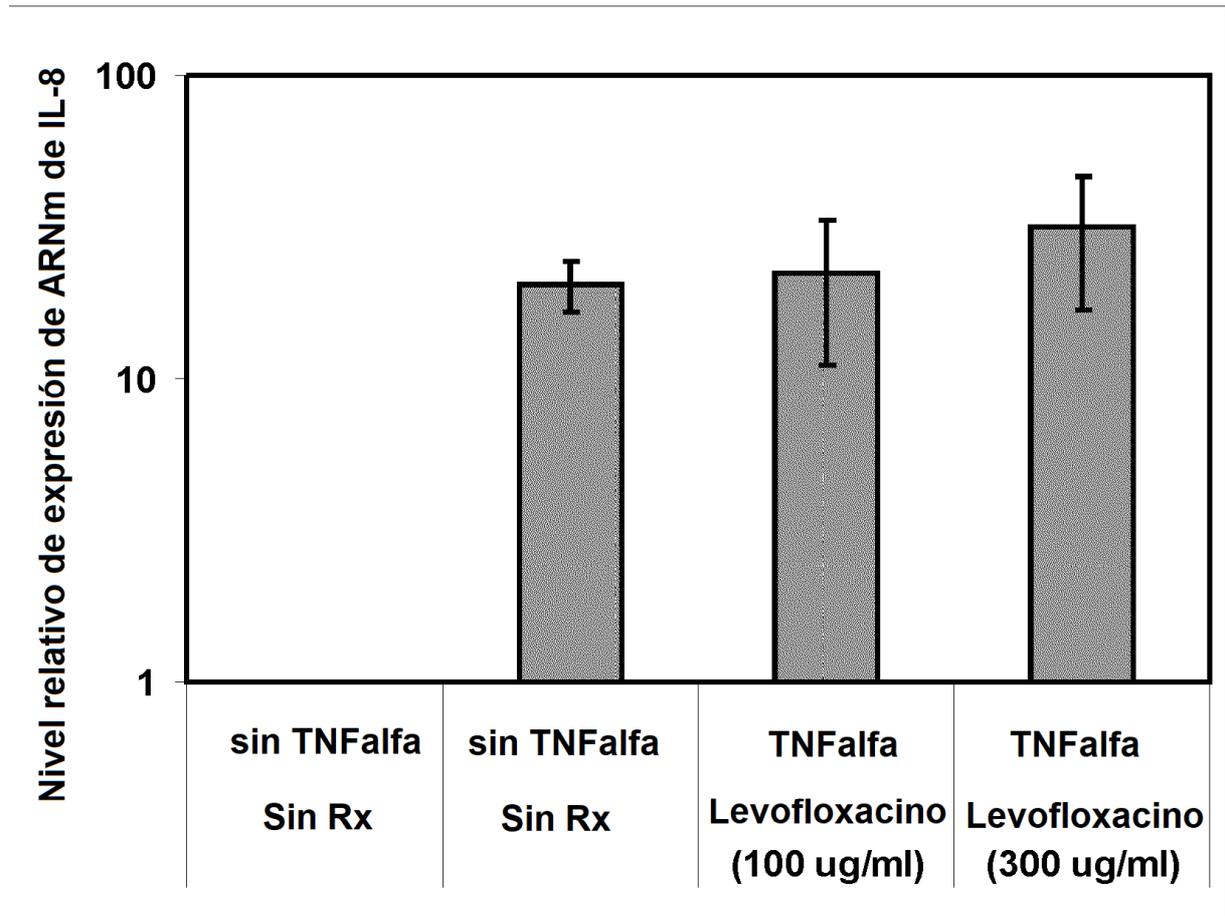
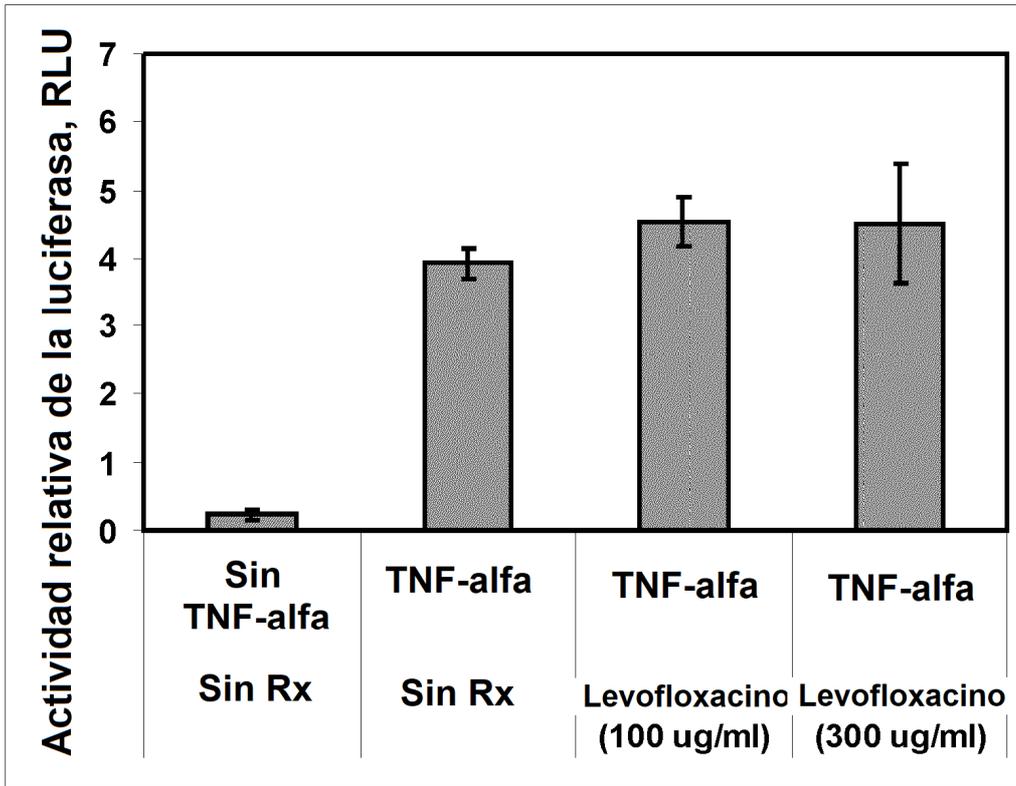
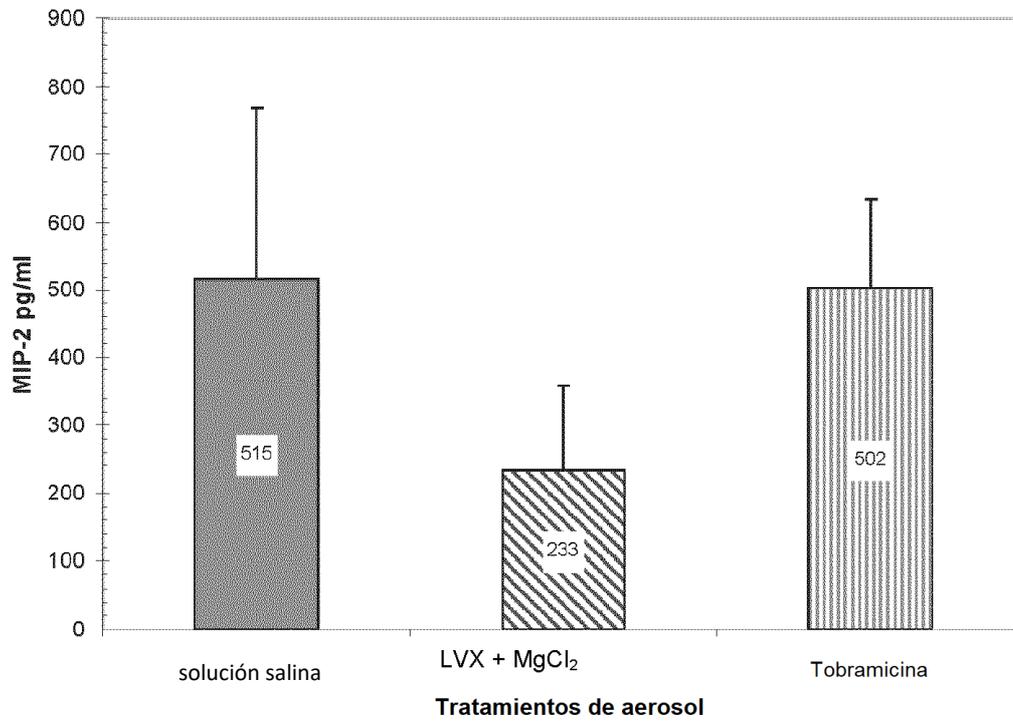


Figura 8

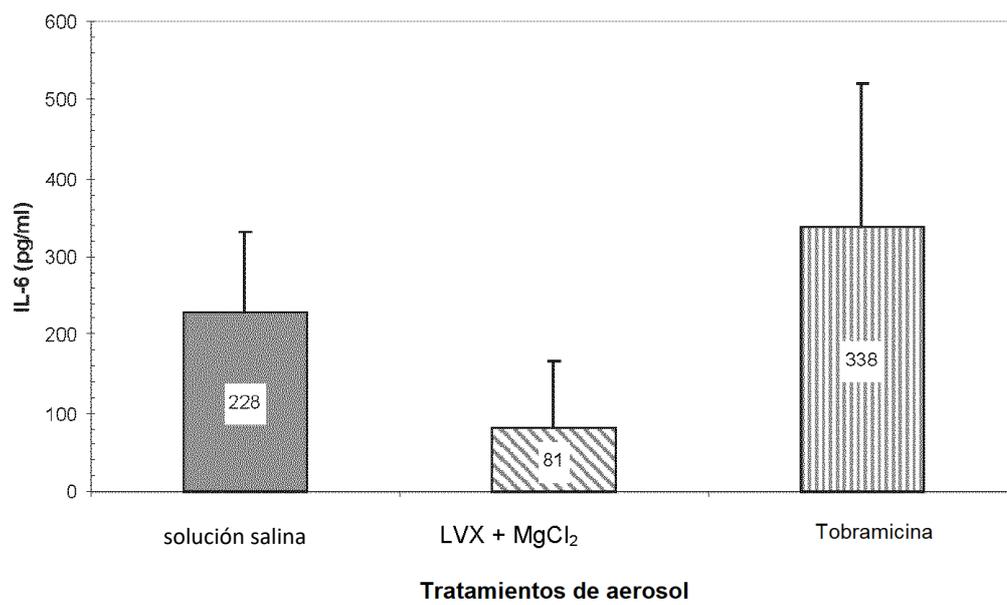


**Figura 9**

**A**



**B**



**Figura 10**