

TM TAMAYO & ASOCIADOS
INTERNATIONAL PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Trademark
Patent
Health Permit
Software
Commercial Name
Design

Marcas
Patentes
Registros Sanitarios
Soporte Lógico
Nombres Comerciales
Diseños

Señor
JEFE DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
E. S. D.

Rad: 06-032753-00004-0000
Fec: 2006-08-29 15:58:01 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tr. 11 PATENTE/II
Ere: 378 PASERACIONAL
Act 329 CTOINFORMACION Folios: 176

REF: EXPEDIENTE : 06-032753

PATENTE PCT : "USO DE TIGECICLINA SOLA O EN
CONBINACIÓN CON RIFAMPICINA PARA
TRATAR LA ..."

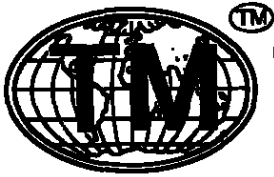
ACTUACION : COMPLEMENTO DE INFORMACION

Estimados señores:

Damos alcance a la solicitud de patente PCT Fase nacional, presentada ante su Despacho y radicada el día 04 de abril de 2006 según expediente citado en la referencia, con el fin de presentar la traducción de los documentos expedidos según el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes, los cuales fueron aportados en Inglés Junto con la solicitud, así:

1. Traducción al Español de la publicación internacional No. WO 2005/023263 A1 de la patente PCT/US2004/028980,
2. Traducción al español de la carta remisoría de pedido solicitando que la solicitud internacional siga el proceso formulario PCT/RO/101,
3. Traducción al español de formulario de acuse de recibo de copia de archivo de presentación de la solicitud internacional, Formulario PCT/IB/301.
4. Traducción al español de la presentación o transmisión del documento de prioridad, Formulario PCT/IB/304.

Carrera 13 A No. 28-38 Mz 2 Bufette 245 Parque Central Bavaria
Tel. (57 1) 341 9841 - FAX (57 1) 336 8592 - Cel. (315) 317 1181
E-mails: consultas@tmtamayo.net, carlos.tamayo@tmtamayo.net
www.tmtamayo.com / Bogotá D.C., COLOMBIA, S.A.



TM TAMAYO & ASOCIADOS
INTERNATIONAL PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Trademark
Patent
Health Permit
Software
Commercial Name
Design

Marcas
Patentes
Registros Sanitarios
Soporte Lógico
Nombres Comerciales
Diseños

5. Traducción al español del Formulario de transmisión de informe de búsqueda internacional y de la Opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional, formulario PCT/ISA/220, 210 y 237.

Por lo anterior, ruego a usted tener en cuenta los anteriores documentos y una vez finiquitado esta diligencia, ordenar lo pertinente para que el expediente siga su curso normal.

Del señor Jefe,


(TM)
CARLOS ORLANDO MAYA RODRIGUEZ
No.17.117.818 expedida en Bogotá,
T.P No. 17.402 del C.S.J.

Anexo.- traducciones al español
De formularios PCT

Marcas
Patentes
Registros Sanitarios
Nombres de Autor
Software

Carrera 13 A No. 28-38 Mz 2 Bufette 245 Parque Central Bavaria
Tel. (57 1) 341 9841 - FAX (57 1) 338 8592 - Cel. (315) 317 1181
E-mails: consultas@tmtamayo.net, carlos.tamayo@tmtamayo.net
www.tmtamayo.com / Bogotá D.C., COLOMBIA, S.A.

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA DE ACUERDO CON EL
TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL

Oficina Internacional

WIPO - OMPI

PCT

(43) Fecha de Publicación Internacional: 17 de marzo de 2005
(17-03-2005)

(10) Publicación Internacional Número: WO 2005/023263 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: A61K 31/496,
A61P 19/02, 31/04, A61K 31/65

(21) Solicitud Internacional Número: PCT/US2004/028980

(22) Fecha de Presentación Internacional: 7 de septiembre de
2004 (7-09-2004)

(25) Idioma de Presentación: inglés

(26) Idioma de Publicación: inglés

(30) Datos de la Prioridad:

60/500.474 5 de septiembre de 2003 (5-09-2003) US

No provisto 3 de septiembre de 2004 (3-09-2003) US

(71) Solicitante (para todos los Estados designados excepto
Estados Unidos): WYETH [Estados Unidos/Estados Unidos]; Five
Giralda Farms, Madison, New Jersey 07940 (Estados Unidos).
CONSEJO DE REGENTES, LA UNIVERSIDAD DEL SISTEMA DE TEXAS

4
252

[Estados Unidos/Estados Unidos]. 201 West 7th Street, Austin, Texas 78701 (Estados Unidos).

(72) Inventores: TESTA, Raymond Thomas, 55 Rockledge Place, Cedar Grove, New Jersey 07009 (Estados Unidos); CALHOUN, Jason, Departamento de Cirugía Ortopédica, Universidad de Missouri, One Hospital Drive, Suite MC213, Columbia, Missouri 65212 (Estados Unidos). MADER, Jon T. (fallecido).

(74) Agente: LAVENUE, Teresa A. et al; KENYON & KENYON, 1500 K. Street, NW. Suite 11700, Washington, DC 20005-1257 (Estados Unidos).

(81) Estados Designados (a menos que se indique de otro modo, para todos los tipos de protección nacional existentes): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a menos que se indique de otro modo, para todos los tipos de protección regional existentes):

253

Patente ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Patente de Eurasia (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

- con informe de búsqueda internacional
- con anterioridad al vencimiento del plazo para enmendar las reivindicaciones y para ser republicado en el caso de recibirse enmiendas

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, recurra a las "Notas de Guía acerca de Códigos y Abreviaturas" que aparece al comienzo de cada emisión regular del Boletín del PCT.

(54) Título: USO DE TIGECICLINA SOLA O EN COMBINACIÓN CON RIFAMPICINA PARA TRATAR LA OSTEOMIELITIS Y/O LA ARTRITIS SÉPTICA

(57) **Resumen:** La presente invención está dirigida a un método para el tratamiento de infecciones de hueso o médula ósea, infección de la articulación o infección de los tejidos

circundantes a la articulación por la administración del antibiótico tigeciclina sola o en combinación con un antibiótico de rifamicina. En una realización de preferencia, la infección de hueso o de médula ósea causa osteomielitis. En otra realización, la infección articular o infección de los tejidos circundantes causa artritis séptica. La invención también está dirigida a la fabricación de un medicamento para el tratamiento de infecciones de hueso y/o médula ósea, o infecciones articulares y/o infecciones en los tejidos circundantes a la articulación con tigeciclina sola o en combinación con rifampicina.

63

USO DE TIGECICLINA SOLA O EN COMBINACIÓN CON RIFAMPICINA PARA
TRATAR LA OSTEOMIELITIS Y/O LA ARTRITIS SÉPTICA

Esta solicitud reivindica prioridad en la solicitud
5 provisional de los Estados Unidos 60/500.474 presentada el 5 de
septiembre de 2003, que se incorpora en su totalidad a la
presente como referencia.

CAMPO DE LA INVENCION

10 La presente invención se refiere a un método nuevo para el
tratamiento de osteomielitis y artritis séptica causada o
consecuente de infecciones bacterianas. La presente invención
también se refiere al tratamiento de infecciones bacterianas
del hueso, la médula ósea, las articulaciones y el líquido
15 sinovial. La presente invención también se refiere al
tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a
antibióticos en estas patologías y tejidos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

20 En la última mitad del siglo XX se produjeron
significativos progresos en el desarrollo de agentes
antibacterianos. Este éxito generó la percepción de que las
enfermedades bacterianas se curaban con mayor facilidad que
cualquier otro trastorno importante, pero la emergencia de
25 microorganismos resistentes a múltiples fármacos en la década

de 1990 dio por resultados severas implicaciones de salud pública. La resistencia se diseminó a microorganismos previamente susceptibles, y algunos microorganismos son esencialmente resistentes a todos los agentes antibacterianos
5 aprobados.

La tigeciclina, que pertenece a la clase de antibióticos de la glicilciclina, supera los mecanismos existentes de resistencia microbiana. Demostró un amplio espectro de actividad antibacteriana, con inhibición de múltiples bacterias
10 resistentes grampositivas, gramnegativas y anaerobias. La tigeciclina es activa contra la mayoría de los agentes patógenos más comunes. La tigeciclina es activa contra agentes patógenos tales como *Staphylococcus aureus* resistente a met icilina (MRSA), enterococos resistentes a vancomicina
15 (incluso *Enterococcus faecalis*), neumococos resistentes a penicilina /macrólidos, *Prevotella* spp., peptostreptococos, micobacterias y microorganismos resistentes a minociclina (Boucher et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(8): 2225-2229, Gales et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 46:
20 19-36, Goldstein et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(10): 2747-2751). La tigeciclina es útil para el tratamiento agentes patógenos respiratorios tales como *Streptococcus pneumoniae* (sensible a penicilina y resistente a penicilina), *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma*
25 *pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (susceptible a met icilina y

resistente a meticilina), bacilos gramnegativos aerobios, y enterococos (enterococos susceptibles a vancomicina y resistentes a vancomicina). Los resultados *in vivo* han sido muy alentadores y mejores de los previsto, sobre la base del tiempo superior a la concentración inhibitoria mínima (CIM) en suero. Se observa que tigeciclina es un agente antibacteriano seguro.

Los estafilococos meticilinoresistentes son los microorganismos más comunes en las infecciones de huesos y articulaciones (Waldvogel, *Infectious Diseases* 1988: 1339-1344). Las opciones para el tratamiento de infecciones debidas a estos microorganismos son limitadas: la sensibilidad de las cepas clínicas a las quinolonas, clindamicina, cotrimoxazol y rifampicina es variable, y a menudo la sensibilidad se limita a los glucopéptido, que se deben administrar por vía parenteral. Ya se describió la resistencia de los estafilococos a los glucopéptidos, lo cual representa un problema importante, dado que esos fármacos se consideran la regla de oro para el tratamiento de infecciones severas debidas a estafilococos meticilinoresistentes (Smith, et al., *N Engl J Med* 1999; 340: 493-501).

Recientemente se han introducido en la práctica clínica nuevos fármacos para el tratamiento de infecciones estafilocócicas meticilinoresistentes, tales como quinupristina-dalfopristina y linezolid (Johnson, et al., *Lancet* 1999; 354: 2012-2013, Livermore, *J Antimicrob Chemother*

2000; 46: 347-350). No obstante, ninguno de ellos se ha investigado con detenimiento en estudios clínicos para el tratamiento de osteomielitis.

El tratamiento de infecciones ortopédicas agudas y
5 crónicas es difícil, en parte debido a que muchas de las infecciones son causadas por agentes patógenos resistentes a antibióticos, pero también debido en parte a la localización de la infección. A menudo el tratamiento requiere una prolongada terapéutica con antibióticos y tratamiento quirúrgico
10 (Lazzarini et al., *Curr Infect Dis Rep* 2002; 4: 439-445). Se han llevado a cabo varios estudios con diversos modelos animales de osteomielitis (Rissing, *Infect Dis Clin North Am* 1990; 4: 377-390). A pesar de un prolongado tratamiento con antibióticos, aún se pueden hallar bacterias viables en el
15 hueso. La erradicación de más bacterias del hueso se ha asociado con una duración prolongada de tratamiento con antibióticos (Norden, *Rev Infect Dis* 1988; 10: 103-110). Tras cuatro semanas de tratamiento con antibióticos, la mayoría de los regímenes antibióticos fueron incapaces de erradicar los
20 estafilococos del hueso.

Tradicionalmente se administra el tratamiento antibiótico para osteomielitis por vía intravenosa. Sin embargo, se han probado con éxito regímenes orales para osteomielitis en estudios humanos (Bell, *Lancet* 1968; 10: 295-297, Feigin et
25 al., *Pediatr* 1975; 55: 213-223, Slama et al., *Am J Med* 1987; 82

(Suppl 4A): 259-261). Lamentablemente, la elección de agentes antimicrobianos orales es restringida cuando se manejan microorganismos resistentes a múltiples fármacos, y el tratamiento de estos microorganismos resistentes a múltiples fármacos puede requerir el uso de fármacos parenterales (Tice, *Infect Dis Clin North Am* 1998; 12: 903-919).

En consecuencia, aún hay necesidad de un método para el tratamiento de osteomielitis y/o artritis séptica causadas por infecciones bacterianas, especialmente las causadas por cepas bacterianas resistentes a antibióticos. La presente invención cubre esta necesidad de larga data.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

La presente invención provee un método para el tratamiento de infecciones del hueso o de la médula ósea (a menudo denominadas osteomielitis) y/o infecciones articulares e infecciones de los tejidos circundantes (a menudo denominados artritis séptica) en un mamífero, de preferencia un humano. Este método comprende la administración al mamífero de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina y/o un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina o estreptovaricina, para tratar la infección. De preferencia, el antimicrobiano es rifampicina.

La infección puede ser causada por un agente patógeno

seleccionado del grupo formado por bacterias gramnegativas, bacterias grampositivas, bacterias anaerobias, y bacterias aerobias. Entre los ejemplos de estas bacterias se incluyen *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Haemophilus*,
5 *Salmonella*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*,
Escherichia, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Rickettsia*, neumococos, *Prevotella*, peptoestreptococos, *Bacteroides*, *Legionella*, estreptococos beta hemolíticos, estreptococos grupo B y espiroquetas. De preferencia, la infección se debe a *Neisseria*,
10 *Mycobacterium*, *Staphylococcus* y *Haemophilus*, con mayor preferencia a *Neisseria meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, o *Mycobacterium leprae*.

15 En realizaciones de preferencia, la infección comprende un agente patógeno que exhibe resistencia a antibióticos. Como ejemplos de resistencia a antibióticos se incluye la resistencia a meticilina, resistencia a glucopéptido, resistencia a tetraciclinas, resistencia a oxitetraciclinas,
20 resistencia a doxiciclina; resistencia a clortetraciclinas, resistencia a minociclina, resistencia a glicilciclina, resistencia a cefalosporinas, resistencia a ciprofloxacina, resistencia a nitrofurantoína, resistencia a trimetoprima-sulfas, resistencia a piperacilina/tazobactam, resistencia a
25 moxifloxacina, resistencia a vancomicina, resistencia a

teicoplanina, resistencia a penicilina y resistencia a macrólidos.

Una resistencia a glucopéptidos de preferencia es la resistencia a vancomicina. En otra realización de preferencia, la infección comprende *S. aureus* que exhibe resistencia seleccionada del grupo formado por resistencia a glucopéptido, resistencia a tetraciclinas, resistencia a minociclina, resistencia a meticilina, resistencia a vancomicina y resistencia a antibióticos de glicilciclina distintos de tigeciclina.

En otra realización, la infección comprende *Acinetobacter baumannii*, que puede o no exhibir resistencia a antibióticos seleccionada del grupo formada por resistencia a cefalosporinas, resistencia a ciprofloxacina, resistencia a nitrofurantoína, resistencia a trimetoprima-sulfas, resistencia a y piperacilina/tazobactam.

En otra realización, la infección comprende *Mycobacterium abscessus* que puede o no exhibir resistencia a moxifloxacina. En otras realizaciones, la infección comprende *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia typhi*, o *Rickettsia rickettsii*.

La presente invención también provee el uso de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina para el tratamiento de osteomielitis y/o artritis séptica en un

14
752

mamífero. En otra realización, la presente invención provee el uso de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina y un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina o estreptovaricina para el tratamiento de osteomielitis y/o artritis séptica. En otra realización, la invención provee el uso de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de osteomielitis y/o artritis séptica en un mamífero. En otra realización se provee el uso de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina y un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina o estreptovaricina para el tratamiento de osteomielitis y/o artritis séptica en un mamífero.

15

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los dibujos ilustran ciertas realizaciones de la presente invención y de ninguna manera intentan limitar el alcance de la invención.

20 La Figura 1 muestra farmacocinética de tigeciclina en conejos New Zealand blancos normales, que establece niveles séricos superiores a la concentración inhibitoria mínima más de doce horas después del tratamiento con 14 mg/kg de tigeciclina.

La Figura 2 muestra la gradación por los investigadores de la extensión de la infección ósea como se observa en las

25

75
263

imágenes de rayos X. Los datos demuestran el efectivo tratamiento de la osteomielitis mediante tigeciclina y tigeciclina en combinación con rifampicina, sobre los controles.

5 La Figura 3 muestra las unidades formadores de colonias por gramo de médula y de hueso en cada uno de los tratamientos, lo cual demuestra que tigeciclina y tigeciclina en combinación con rifampicina fueron tratamientos efectivos de la infección del hueso y de la infección de la médula ósea respecto de los
10 controles.

La Figura 4A provee una descripción gráfica de los pesos de los conejos durante el curso temporal de la administración de diversos agentes antibacterianos.

La Figura 4B provee una descripción gráfica de las
15 variaciones de pesos de los conejos durante el curso temporal de la administración de diversos agentes antibacterianos.

Las Figuras 5A y 5B muestran los picos y valles de tigeciclina (14 mg/kg dos veces por día) y vancomicina (30 mg/kg dos veces por día) en el suero de conejos infectados,
20 tras la administración de los fármacos respectivos. Los datos demostraron que los niveles séricos de antibiótico eran superiores a las concentraciones inhibitorias mínimas durante el tratamiento.

25 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención está dirigida a métodos para el tratamiento de infecciones de hueso y médula ósea en un mamífero. De preferencia, el mamífero es un humano. En una realización de preferencia, la infección de hueso o médula ósea causa osteomielitis. La osteomielitis es una infección aguda o crónica del hueso y/o la médula ósea, e incluye el proceso inflamatorio relacionado del hueso y sus estructuras debido a la infección por microorganismos piogénicos. La infección asociada con osteomielitis puede ser localizada o diseminarse por el periostio, la corteza, la médula y el tejido trabecular. Los agentes patógenos bacterianos comunes causales de osteomielitis varían sobre la base de la edad del paciente y al mecanismo de infección. La osteomielitis aguda incluye dos categorías principales: osteomielitis hematógena y osteomielitis por inoculación directa o contigua.

La osteomielitis hematógena es una infección causada por la siembra bacteriana desde la sangre. La osteomielitis hematógena aguda se caracteriza por una infección aguda del hueso causada por la siembra de la bacteria dentro del hueso, proveniente de una fuente remota. La osteomielitis hematógena ocurre sobre todo en niños. El sitio más frecuente es la metáfisis altamente vascular y de rápido crecimiento de los huesos en desarrollo. El aparente enlentecimiento y la sedimentación del flujo sanguíneo a medida que los vasos forman ángulos agudos en la metáfisis distal predispone a trombosis de

los vasos y a necrosis localizada del hueso, con siembra bacteriana. Estos cambios de la estructura ósea se puede detectar en las imágenes radiológicas. A pesar de su nombre, la osteomielitis hematógena aguda puede tener un desarrollo
5 clínico lento y un inicio insidioso.

La inoculación directa o contigua de osteomielitis es causada por el contacto del tejido con la bacteria durante un traumatismo o una cirugía. La osteomielitis por inoculación directa (foco contiguo) en una infección del hueso secundaria a
10 la inoculación de microorganismos por traumatismo directo, diseminación a partir de un foco de infección contiguo, o sepsis tras un procedimiento quirúrgico. Las manifestaciones clínicas de la osteomielitis por inoculación directa son más localizadas que las de la osteomielitis hematógena, y tienden a
15 comprometer múltiples microorganismos / agentes patógenos.

Otras categorías incluyen osteomielitis crónica y osteomielitis secundaria a enfermedad vascular periférica. La osteomielitis crónica persiste o recurre, con independencia de la causa y/o mecanismo inicial y a pesar de la intervención
20 agresiva. Si bien se considera una etiología, la enfermedad vascular periférica en realidad es un factor predisponente más que una causa verdadera de infección.

Los síntomas de osteomielitis a menudo incluyen fiebre alta, fatiga, irritabilidad y malestar. A menudo hay
25 restricción de movimientos en el miembro o articulación

infectado. Por lo general, la infección viene acompañada de edema local, eritema y sensibilidad, y puede haber calor alrededor de la zona afectada. También puede haber drenaje de los tractos sinusales en estadios más tardíos de la infección.

- 5 Por lo general, la osteomielitis hematógica se presenta con una progresión insidiosa lenta de síntomas, mientras que la osteomielitis cónica puede incluir una úlcera que no cura, drenaje del tracto sinusal, fatiga crónica y malestar. Por lo general, la osteomielitis directa se presenta con síntomas y
- 10 signos destacados en una zona más localizada.

Se sabe que ciertos estados patológicos predisponen a los pacientes a osteomielitis. Estos estados incluyen diabetes mellitus, enfermedad de células falciformes, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), abuso de drogas IV,

15 alcoholismo, uso crónico de esteroides, inmunosupresión y artropatías crónicas. Además, la presencia de un dispositivo protésico ortopédico es un factor de riesgo independiente, al igual que cualquier cirugía ortopédica o fractura abierta recientes.

- 20 Varios agentes patógenos bacterianos son causales comunes conocidas de osteomielitis aguda y directa. Por ejemplo, la osteomielitis directa aguda en recién nacidos (menores de 4 meses) suele ser causada por *S. aureus*, especies de *Enterobacter*, y especies de *Streptococcus* grupos A y B. En
- 25 niños de entre 4 meses y 4 años, la osteomielitis hematógica

aguda suele ser causada por *S. aureus*, especies de *Streptococcus* grupo A, *Haemophilus influenzae*, y especies de *Enterobacter*. En niños y adolescentes entre 4 años y adultos, la osteomielitis hematógena aguda suele ser causada por *S.*
5 *aureus* (80%), especies de *Streptococcus* grupo A, *Haemophilus influenzae*, y especies de *Enterobacter*. En adultos, la osteomielitis hematógena aguda suele ser causada por *S. aureus* y, en ocasiones, especies de *Enterobacter* o *Streptococcus*. En épocas pasadas, el tratamiento primario incluía una combinación
10 de penicilina sintética resistente a penicilinasa y una cefalosporina de tercera generación. La terapéutica alternativa incluye vancomicina o clindamicina y una cefalosporina de tercera generación. Además de estos agentes antibacterianos antes mencionados, se han usado ciprofloxacina y rifampicina en
15 terapéutica combinada para pacientes adultos. En los casos de evidencias de infección por bacilos gramnegativos, a menudo se administra una cefalosporina de tercera generación.

En general, la osteomielitis directa suele ser causada por *S. aureus*, especies de *Enterobacter*, y especies de *Pseudomonas*.
20 A menudo, la osteomielitis directa es causada por una herida punzante a través de un calzado deportivo. En estos casos, la osteomielitis directa suele ser causada por *S. aureus* y especies de *Pseudomonas*. En este escenario, los principales antibióticos incluyen ceftazidime o cefepime. A menudo se
25 utiliza ciprofloxacina como tratamiento alternativo. En

pacientes con enfermedad de células falciformes, la osteomielitis directa suele ser causada por *S. aureus* y especies de *Salmonella*, y la principal elección de tratamiento es un antibiótico de fluoroquinolona (no en niños). Una
5 elección alternativa es una cefalosporina de tercera generación (p.ej., ceftriaxona).

Para pacientes con osteomielitis debida a traumatismo, por lo general los agentes infecciosos incluyen *S. aureus*, bacilos coliformes y *Pseudomonas aeruginosa*. Los antibióticos
10 principales son nafcilina y ciprofloxacina. Entre las alternativas se incluyen vancomicina y una cefalosporina de tercera generación con actividad antipseudomonas.

En consecuencia, tal como se usa en la presente y en las reivindicaciones, el término "osteomielitis" incluye
15 osteomielitis hematógena, osteomielitis de inoculación directa o contigua, osteomielitis crónica y osteomielitis secundaria a enfermedad vascular periférica. La osteomielitis puede ser consecuencia de infecciones causadas por cualquiera de los agentes patógenos antes descritos, sino también otros agentes
20 patógenos con capacidad para infectar el hueso, la médula ósea, la articulación o el tejido circundante.

El término "tratamiento de osteomielitis" incluye la erradicación de los agentes patógenos / bacterias causales de infección asociada con osteomielitis, la inhibición de
25 crecimiento bacteria, la reducción de la concentración

289

bacteriana, la reducción del tiempo de recuperación de la infección, el mejoramiento, la eliminación o la reducción de los síntomas de infección tales como tumefacción, necrosis, fiebre, dolor, debilidad y/u otros indicadores seleccionados como medidas adecuadas por los expertos en el arte.

En la actualidad, el principal tratamiento de osteomielitis consiste en antibióticos parenterales que penetran las cavidades óseas y articulares. Se requiere tratamiento durante al menos cuatro a seis semanas. Después de iniciar la administración de antibióticos intravenosos en un paciente internado se puede continuar la terapéutica con antibióticos intravenosos u orales, según el tipo y la localización de la infección, para pacientes externos.

Por ejemplo, por lo general la osteomielitis causada por infección por *S. aureus* se trata con 2 gramos de cloxacilina administrada por vía intravenosa o parenteral cada seis horas, durante al menos los primeros 14 días, o durante todo el curso del tratamiento de hasta seis semanas. Otros tratamientos son cefazolina administrada en 1-2 gramos cada ocho horas durante seis semanas o 600 mg de clindamicina cada ocho horas durante seis semanas.

En general, la osteomielitis causada por estreptococos beta-hemolíticos se trata por vía intravenosa o parenteral con penicilina bencílica con dos millones de UI cada cuatro a seis horas durante dos a cuatro semanas. Las infecciones por

Salmonella spp. se tratan con ciprofloxacina a 750 mg por vía oral cada 12 horas durante seis semanas.

En general, el tratamiento de la osteomielitis causada por *Haemophilus influenzae* en niños consiste en la administración intravenosa o parenteral de 25-50 mg de cloxacilina cada cuatro a seis horas durante cuatro a seis días, mas ceftriaxona en 50-75 mg/kg cada 24 horas durante cuatro a seis días. Este tratamiento se continúa con amoxicilina en 15 mg/kg más ácido clavulánico por vía oral (máximo 500 mg) cada ocho horas durante cuatro semanas.

En recién nacidos se logra el tratamiento con cloxacilina por vía intravenosa o parenteral en 25-50 mg/kg cada cuatro a seis horas durante cuatro a seis días, más cefotaxime intravenoso o parenteral en 50-75 mg/kg cada ocho horas durante cuatro a seis días. Se sigue el tratamiento con amoxicilina en 15 mg/kg más ácido clavulánico oral (máximo 500 mg) cada ocho horas durante cuatro semanas.

En general, la infección en niños por *S. aureus* se trata mediante la administración intravenosa o parenteral de 25-50 mg de cloxacilina cada cuatro a seis horas durante cuatro a seis días, mas ceftriaxona en 50-75 mg/kg cada 24 horas durante cuatro a seis días. Este tratamiento se sigue con cloxacilina en 12,5 mg/kg por vía oral cada seis horas durante tres o cuatro semanas.

El tratamiento de la infección en niños por *Salmonella*

spp. depende de la susceptibilidad del agente patógeno. Las elecciones de tratamiento incluyen cloxacilina más ceftriaxona, seguido de sulfametoxazol en 20 mg/kg y trimetoprima en 4 mg/kg por vía oral cada 12 horas durante seis semanas, o amoxicilina
5 en 7,5-15 mg/kg por vía oral cada 12 horas durante seis semanas, o ciprofloxacina en 10-15 mg/kg cada cuatro a seis horas durante cuatro a seis días, más cefotaxime en 50-75 mg/kg por vía intravenosa cada ocho horas durante cuatro a seis días, seguido de sulfametoxazol y trimetoprima o amoxicilina o
10 ciproflaxacina.

Otra realización de la presente invención provee métodos para el tratamiento de infecciones articulares y/o infecciones de tejidos circundantes en un mamífero. De preferencia, el mamífero es un humano. En una realización de preferencia, la
15 infección articular y/o la infección de tejidos circundantes causa artritis séptica.

La artritis séptica es una infección de la articulación y los tejidos circundantes, y causa inflamación de la articulación causada por la presencia de microorganismos
20 intraarticulares vivos. Con mayor frecuencia, la artritis séptica es secundaria a osteomielitis, especialmente en la infancia, es consecuencia de la infección bacteriana.

La infección de la articulación se puede producir por varias vías. Con mayor frecuencia, la diseminación del agente
25 patógeno infectante es hematógena. Con frecuencia, la artritis

séptica se origina a partir de infecciones o abscesos en la piel. La sepsis en la boca y los dientes o tras procedimientos dentales o en asociación con infecciones de las vías respiratorias o urogenitales también pueden causar artritis séptica. Los traumatismos penetrantes directos de la articulación con objetos punzantes, o por lesiones traumáticas importantes también pueden causar infección articular. La aspiración o la inyección articular y los procedimientos quirúrgicos tales como el reemplazo articular también pueden causar infección articular. Además, a menudo la osteomielitis se disemina y afecta la articulación. Esto es especialmente común en niños pequeños. Por último, la infección de los tejidos blandos adyacentes a la articulación, por ejemplo la inflamación de las bolsas o vainas tendinosas, se pueden diseminar hasta afectar el espacio articular. La diseminación de la infección por vía hematógena sigue siendo la causa más frecuente de sepsis articular.

Entre los síntomas de artritis séptica se incluyen malestar y fiebre, articulación o articulaciones calientes agudas, junto con inflamación aguda: tumefacción y efusión articular, enrojecimiento, dolor y pérdida de función.

Los microorganismos causales de artritis séptica más comunes son *Staphylococcus aureus*. En artritis séptica neonatal también son agentes patógenos comunes *Escherichia coli* y *Haemophilus influenzae*. En niños de hasta 5 años, la causa más

común de sepsis articular hematógena es *Haemophilus influenzae*. Las bacterias gramnegativas intestinales también son agentes patógenos comunes en ancianos y en personas con diabetes mellitus o prótesis articulares. En los casos de lesiones penetrantes, y en personas que abusan de drogas intravenosas a menudo se encuentra infección por *Pseudomonas aeruginosa* o *Staphylococcus epidermidis*. En adultos jóvenes sanos, en ocasiones la causa de artritis séptica es la infección por *Neisseria gonorrhoeae* o por meningococos. La artritis séptica crónica de grado bajo, especialmente en la columna, puede ser consecuencia de infección por microorganismos tales como *Mycobacteria* o *Brucella abortus*. Además, el rango de agentes patógenos en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida es variado.

Algunos de los agentes patógenos de artritis séptica más comunes incluyen, sin limitaciones, (1) grampositivos: *Staphylococcus aureus* (80% de los casos), *Streptococcus pyogenes/pneumoniae*; (2) gramnegativos: *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae/meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, especies de *Brucella*, especies de *Salmonella*, bacterias fusiformes; (3) bacilos ácido-alcohol resistentes: *Mycobacterium tuberculosis*, micobacterias atípicas; y (4) espiroquetas: *Leptospira icterohaemorrhagica*.

En consecuencia, tal como se usa en la presente y en las reivindicaciones el término "artritis séptica" incluye

infecciones articulares y de los tejidos circundantes causados por los agentes patógenos antes mencionados, además de cualquier otro agente patógeno con capacidad para infectar la articulación y los tejidos circundantes. Los tejidos circundantes incluyen, sin limitaciones, el músculo circundante, los tendones relacionados, los huesos conectados, las bolsas, las vainas tendinosas, el sinovio, el líquido sinovial y el cartílago relacionado.

El término "tratamiento de la artritis séptica" incluye la erradicación de los agentes patógenos / bacterias causales de la infección subyacente asociada a artritis séptica, la inhibición del desarrollo bacteriano, la reducción de la concentración bacteriana, la reducción del tiempo de recuperación de la infección, el mejoramiento, la eliminación, o la reducción de síntomas de infección tales como tumefacción, necrosis, fiebre, dolor, debilidad, y/u otros indicadores seleccionados como medidas adecuadas por los expertos en el arte.

Por lo general, las articulaciones sépticas se tratan durante cuatro a seis semanas, mientras que las artroplastias infectadas se tratan durante cuatro a seis semanas o más. (Calhoun et al., *Am. J. of Surgery* 1989; 157: 443-449, Calhoun et al., *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery* 1988; 114: 1157-1162, Gordon et al., *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(10): 2747-2751, Mader et al., *West J Med*

1988; 148: (5)568, Mader et al., *Orthopaedic Review* 1989; 18: 581-585, Mader et al. *Drugs & Aging* 2000; 16(1): 67-80). Estos prolongados tratamientos antibióticos, se tornan aún más problemáticos cuando hay bacterias resistentes a fármacos, 5 tales como *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina.

Antes de la caracterización del agente patógeno, por lo general el tratamiento de la artritis séptica en adultos comienza con 2 g de cloxacilina por vía intravenosa o intramuscular cada seis horas en combinación con 1-2 g de 10 ceftriaxona cada 24 horas. En niños mayores de dos meses, el tratamiento incluye cloxacilina por vía intravenosa o intramuscular en 25-50 mg/kg, hasta un máximo de 2 g cada seis horas, en combinación con ceftriaxona 25-50 mg/kg hasta un máximo de 2 g cada 24 horas. En neonatos, el tratamiento 15 incluye cloxacilina por vía intravenosa o intramuscular en 50-75 mg/kg hasta un máximo de 2 g por vía intravenosa cada ocho horas. Otros tratamientos antibióticos incluyen cefotaxima, flucloxacilina, y penicilina bencílica.

Una vez identificado el agente patógeno, el curso común de 20 tratamiento se basa en los agentes patógenos infectantes presentes. Por ejemplo, cuando se determina que la infección comprende *Staphylococcus aureus*, a menudo se trata la artritis séptica con cloxacilina por vía intravenosa cada seis horas, o cefazolina cada ocho horas, o clindamicina cada ocho horas, 25 donde el tratamiento elegido dura dos o tres semanas. El S.

aureus meticilinoresistente se trata con vancomicina administrado por vía parenteral.

El tratamiento antibiótico de osteomielitis y artritis séptica es aún un desafío para el médico. Muchas infecciones
5 ortopédicas se adquieren en el ambiente hospitalario (Holtom et al., *Clin Orthop* 2002; 403: 38-44). Además, los agentes causales de estas infecciones a menudo son resistentes a múltiples fármacos. Los estafilococos son los microorganismos hospitalarios resistentes a fármacos más comunes, pero también
10 pueden intervenir agentes patógenos gramnegativos (Cunha, *Clin Infect Dis* 2002; 35: 287-293).

Las infecciones debidas a *Staphylococcus aureus* meticilinoresistentes, comparadas con las debidas a *S. aureus* meticilinosensibles, son más difíciles de tratar y pueden tener
15 un peor pronóstico (Cosgrove et al., *Clin Infect Dis* 2003; 36: 53-59). Las opciones terapéuticas para estas infecciones son limitadas. Los únicos fármacos con eficacia constante contra todas las cepas de estafilococos y extensamente estudiados para el tratamiento de infecciones óseas son los glucopéptidos.
20 Lamentablemente, ya se ha reconocido la resistencia a estos antibióticos como uno de los principales problemas del tratamiento de agentes patógenos grampositivos. Los enterococos resistentes a vancomicina tienen distribución mundial, y dicha resistencia ha demostrado ser potencialmente transmisible a
25 otros microorganismos grampositivos *in vitro* (Noble, et al.,

FEMS Microbiology Letters 1992; 72:195-198). Además, se han aislado cepas esporádicas de *Staphylococcus aureus* resistentes a vancomicina en varios países (Hiramatsu, *Am J Med* 1998; 104:7S-10S, Hamilton-Miller, *Infección* 2002; 30: 118-124). En consecuencia, tiene fundamental importancia la disponibilidad de agentes antimicrobianos alternativos para el tratamiento de patógenos resistentes a múltiples fármacos.

Tigeciclina (antes a menudo aún denominado "GAR-936") es un derivado sintético 9-t-butilglicilamido de una nueva clase de antibióticos denominados glicilciclinas. Esta nueva clase de derivados de las tetraciclinas demostró una excelente actividad *in vitro* contra una gran cantidad de microorganismos grampositivos y gramnegativos, aerobios y anaerobios, incluso *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente (MRSA), enterococos vancomicinorresistentes (incluso *Enterococcus faecalis*), neumococos penicilinorresistentes/macrolidorresistentes, *Prevotella* spp., *peptostreptococos*, y *Mycobacterium* spp. (Boucher et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(8): 2225-2229, Gales et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 46: 19-36, Goldstein et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(10): 2747-2751). Las tetraciclinas son agentes bacteriostáticos que actúan por inhibición de la síntesis de proteínas bacterianas. Se han desarrollado glicilciclinas para superar los mecanismos bacterianos de resistencia a las tetraciclinas, si bien aún no se ha determinado el mecanismo de

acción exacto (Rasmussen et al., *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 38: 1658-1660).

La tigeciclina se concentra en hueso, médula ósea, articulaciones y líquido sinovial, además de muchos otros
5 órganos y tejidos de interés. Además, se ha descubierto que tigeciclina se concentra en las porciones infectadas de los tejidos antes descritos. Los estudios de farmacocinética de tigeciclina intravenosa en humanos han demostrado que hay una fase de difusión rápida, con una vida media prolongada (40 a 60
10 horas) y un elevado volumen de distribución en estado estable (7 a 14 L/kg). Estudios en animales con tigeciclina con marca radiactiva sugieren que esta fase de distribución rápida y elevado volumen de distribución en estado estable representa la penetración de tigeciclina en tejidos que incluyen pulmones y
15 hueso.

Por ejemplo, se ha demostrado la distribución de tigeciclina en tejidos de ratas Sprague-Dawley cuando se administra [^{14}C] tigeciclina en una dosis de 3 mg/kg por infusión IV durante 30 minutos. En general, hubo una buena
20 distribución de la radiactividad en la mayoría de los tejidos, y se observó la mayor exposición global en hueso. Las exposiciones en tejidos que mostraron las mayores concentraciones fueron las siguientes: hueso>médula ósea >glándula salival, tiroides, bazo y riñón. En cada uno de estos
25 tejidos, la relación de superficie bajo la curva concentración-

tiempo (AUC) en tejidos respecto de AUC en plasma fue superior a 10. En este estudio, la relación entre AUC en el pulmón de rata y AUC en plasma fue de 4,4. Además, se ha demostrado que la tigeciclina administrada por vía intravenosa penetra en el
5 tejido óseo de humanos y la administración intravenosa extiende la concentración de tigeciclina en líquido sinovial en humanos en el tiempo.

Los inventores descubrieron que tigeciclina es un tratamiento útil de osteomielitis y artritis séptica. El
10 espectro antimicrobiano es amplio, e incluye todos los agentes patógenos hallados en las infecciones nosocomiales de huesos y articulaciones. Las propiedades farmacocinéticas son favorables, dado que el fármaco se puede administrar dos veces por día. Además, se hallaron penetración ósea y niveles
15 farmacológicos superiores a la concentración inhibitoria mínima (CIM) en casi todas las muestras obtenidas. La concentración inhibitoria mínima es un método para determinar la eficacia de un compuesto en la inhibición del crecimiento bacteriano. Es la menor concentración de un agente antimicrobiano que inhibe el
20 desarrollo de un microorganismo, y debería corresponder a concentraciones requeridas en los sueros de los mamíferos para el tratamiento mínimo. Además, la tigeciclina proporcionó un buen perfil de seguridad en humanos, lo que demuestra que el agente antimicrobiano debería ser adecuado para estudios
25 clínicos sobre infecciones ortopédicas.

En consecuencia, un aspecto de la invención provee un método para el tratamiento de infecciones de hueso, médula ósea, articulaciones y tejidos circundantes, y un método para el tratamiento de osteomielitis y/o artritis séptica en un mamífero por administración al mamífero de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina. Las infecciones de hueso, médula ósea, articulación y tejidos circundantes y osteomielitis y/o artritis séptica pueden ser causadas por cualquiera de los agentes patógenos comúnmente hallados, tales como los agentes patógenos antes analizados, que incluyen bacterias gramnegativas, bacterias grampositivas, bacterias anaerobias y bacterias aerobias. Por ejemplo, la infección puede comprender, sin limitaciones, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Rickettsia*, *Pneumococci*, *Prevotella*, *Peptostreptococci*, *Bacteroides*, *Legionella*, estreptococos beta hemolíticos, y estreptococos grupo B. En realizaciones de preferencia, la infección comprende *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus*, y *Haemophilus*. En realizaciones de mayor preferencia, la infección comprende *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus faecium*, *Rickettsia*

proWazekii, *Rickettsia cyphi*, *Rickettsia rickettsii*,
Mycobacterium leprae, *Mycobacterium abscessus*, o *Mycoplasma*
pneumoniae.

En una realización de la presente invención se provee un
5 método para el tratamiento de infecciones de hueso, médula
ósea, articulaciones y los tejidos circundantes, y un método
para el tratamiento de osteomielitis y/o artritis séptica
causados por las cepas bacterianas (tales como las antes
descritas) que muestran resistencia a antibióticos por la
10 administración de una cantidad farmacéuticamente efectiva de
tigeciclina. Por ejemplo, la resistencia exhibida puede ser,
sin limitaciones, resistencia a meticilina, resistencia a
glucopéptido, resistencia a tetraciclina, resistencia a
oxitetraciclina, resistencia a doxiciclina; resistencia a
15 clortetraciclina, resistencia a minociclina, resistencia a
glicilciclina, resistencia a cefalosporina, resistencia a
ciprofloxacina, resistencia a nitrofurantoína, resistencia a
trimetoprima-sulfas, resistencia a piperacilina/tazobactam,
resistencia a moxifloxacina, resistencia a vancomicina,
20 resistencia a teicoplanina, resistencia a penicilina, y
resistencia a macrólidos.

En una realización de preferencia, la resistencia a
glucopéptido es resistencia a vancomicina. En otra realización
de preferencia, la infección comprende *S. aureus* que exhibe
25 resistencia de resistencia a glucopéptido, resistencia a

tetraciclina, resistencia a minociclina, resistencia a meticilina, resistencia a vancomicina o resistencia a un antibiótico de glicilciclina distinto de tigeciclina.

En otra realización de preferencia, la infección comprende 5 *Acinetobacter baumannii* que puede o no exhibir resistencia a antibióticos tales como resistencia a cefalosporinas, resistencia a ciprofloxacina, resistencia a nitrofurantoína, resistencia a trimetoprima-sulfas, y resistencia a piperacilina/tazobactam. En otra realización, la infección 10 comprende *Mycobacterium abscessus* que puede o no exhibir resistencia a moxifloxacina.

En el tratamiento de humanos y otros mamíferos, tigeciclina se administra más comúnmente por vía intravenosa, si bien los expertos en el arte disponen de otras vías de 15 administración. Los sujetos humanos toleran dosis de hasta 100 mg administradas durante infusiones de una hora. Las administraciones dos veces al día durante nueve días de 75 mg o más en infusiones de 200 ml durante una hora a sujetos alimentados 30 minutos antes de la infusión produjeron 20 intolerancia gastrointestinal en todos los sujetos, con náuseas y vómitos. Fue tolerada la administración dos veces diarias de 25-50 mg en infusiones de 200 ml durante una hora. También se toleró una única infusión de 100 mg, con concentraciones séricas pico promedio de 0,9 a 1,1 microgramos/ml.

25 La administración de 14 mg/kg dos veces al día a conejos

New Zealand White produjo niveles de estado estable superiores a la concentración inhibitoria mínima. Véase Figura 1. Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) y concentraciones bactericidas mínimas (CBM) para tigeciclina en las cepas MRSA
5 utilizadas en este estudio fueron inferiores a 0,2 µg/ml y 0,2 µg/ml, respectivamente. La medición de CBM provee un método para la determinación de la eficacia de un compuesto en la eliminación de las bacterias. La técnica de CBM establece el nivel mínimo de un agente bactericida que eliminará al menos
10 99,9% de los organismo en un inóculo estándar.

Las CIM y CBM fueron determinadas por Mercier et al. para tigeciclina contra *E. faecium* resistente a vancomicina en 0,125 µg/ml y entre 16 y 32 µg/ml, respectivamente. Para *S. aureus*, las concentraciones inhibitorias mínimas y las concentraciones
15 bactericidas mínimas fueron entre 0,25 y 1 µg/ml y 16 y 64 µg/ml, respectivamente. En un estudio de uso compasivo, los inventores hallaron que la concentración inhibitoria mínima de tigeciclina contra *M. abcessus* en un paciente humano fue de 0,25 µg/ml.

20 En mamíferos, *S. aureus* meticilinaresistente se puede tratar con tigeciclina en el rango de 5 mg/kg a 60 mg/kg dos veces al día, con mayor preferencia 10 mg/kg a 40 mg/kg, con mayor preferencia 12 mg/kg a 20 mg/kg. Las dosificaciones adecuadas para el tratamiento de otros agentes patógenos serán

aparentes a los expertos en el arte.

En un estudio de uso compasivo, un paciente humano padecía espina bífida con consecuente paraplejía. El paciente tenía alergia severa a sulfas y se presentó con bacteriemia
5 meticilinorresistente por talón decúbito infectado. El paciente también presentaba degradación cutánea sobre el isquión derecho. Se debridó la úlcera, pero no curó. Una IRM reveló osteomielitis y una sección del hueso fue positiva para infección por *Acinetobacter baumannii*.

10 El *A. baumannii* era resistente a cefalosporinas, ciprofloxacina, nitrofurantoína, y mostró resistencia intermedia a trimetoprima-sulfas y piperacilina/tazobactam. El microorganismo era susceptible a imipenem, gentamicina y tobramicina. Se trató el paciente con meropenem y tobramicina.
15 Luego se reemplazó meropenem por aztreonam debido a la presencia de eosinofilia. Luego se discontinuó aztreonam debido a eosinofilia persistente. También se discontinuó tobramicina debido al aumento de la creatinina. Luego se trató el paciente con tigeciclina durante dos meses con 50 mg cada 12 horas o 50
20 mg cada 24 horas. Al cabo de un mes de recibir tratamiento con tigeciclina, una IRM mostró la resolución de la osteomielitis y se observó notable mejoría en el líquido obtenido de la zona isquial derecha. Se informó que el paciente evolucionaba bien diez semanas después del tratamiento con tigeciclina.

25 En otro estudio de uso compasivo, un paciente con

displasia ectodérmica anhidrótica e inmunodeficiencia tenía antecedentes de tres años y medio de osteomielitis vertebral con infección *Mycobacterium abscessus*. La debridación se logró tras un año un año de infección con colocación de hardware. El
5 paciente mostró cierta mejoría con cefoxitano, claritromicina y amicacina. Más tarde se interrumpió la amicacina debido a deterioro renal. Más tarde se agregó linezolid y azitromicina al régimen terapéutico. Se determinó que el microorganismo era resistente a moxifloxacina.

10 Más adelante, el paciente se presentó con una nueva osteomielitis vertebral justo por encima del sitio de la vieja infección. Se realizó una biopsia y se determinó que no era necesaria una debridación adicional. Se halló que el microorganismo sólo era sensible a cefoxitina. Se determino que
15 sería útil otro agente antimicrobiano; y se encontró que el microorganismo era susceptible a tigeciclina. Se administró tigeciclina en CIM 0,25 microgramos/ml. El recuento de leucocitos del paciente era normal, había hipogamaglobulinemia y disminución de la función linfocitaria. El paciente también
20 había estado bajo tratamiento con IL-12, pero se mantuvo IL-12 durante el tratamiento antibiótico. Se informó que el paciente evolucionaba bien un año después del tratamiento.

Otra realización de la presente invención provee un método para el tratamiento de infecciones de hueso, médula ósea,
25 articulaciones y tejido circundante, y un método para el

tratamiento de osteomielitis y/o artritis séptica en un mamífero, de preferencia un humano, que comprende la administración al mamífero de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina y un agente antimicrobiano de la familia de ansamicina, que incluye los grupos de antibióticos rifamicina y estreptovaricina. La familia de rifamicina incluye rifampicina, rifapentina, rifaximina, y de preferencia, rifampicina. Estos antibióticos macrocíclicos tienen actividad bactericida debido a su propensión a unirse a ARN polimerasa.

5 Estos antibióticos son útiles en combinación con tigeciclina pues efectúan distintos pasos en la síntesis de proteínas bacterianas. Mientras que las rifamicinas actúan con la ARNpolimerasa y limitan la producción de ARN mensajero, la tigeciclina tiene acción sobre los ribosomas y la producción de

10 las proteínas a partir del ARN mensajero. El modo de acción de la tigeciclina parece estar relacionado con la inactivación de los ribosomas 70S a través de la unión al sitio de fijación de una tetraciclina en la subunidad ribosomal 30S con una orientación algo diferente que la tetraciclina. (Bauers et al.,

15 J. Antimicrob Chemother. 2004; 53(4): 592-599).

Los presentes inventores descubrieron que tigeciclina en combinación con un antibiótico de la clase de antimicrobianos de rifamicina provee efecto antimicrobiano aditivo en tejidos infectados. En una investigación con conejos inoculados en la

25 tibia con *S. aureus* meticilinoresistentes, el tratamiento de

osteomielitis con tigeciclina en combinación con rifampicina no demostró infección en hueso en 10 conejos mientras los controles mostraron infección en 11 de 15 conejos. El tratamiento en médula ósea tampoco demostró infección en 10 conejos mientras los controles mostraron 5 conejos infectados de 15 conejos estudiados. Además el tratamiento de osteomielitis en conejos con tigeciclina sola demostró infección en hueso de un conejo de 10 y sin infección en la médula ósea.

10 En mamíferos, el tratamiento con rifampicina puede estar en el rango de 10 mg/kg a 100 mg/kg dos veces por día, con mayor preferencia puede estar en el rango de 20 mg/kg a 70 mg/kg dos veces por día, con mayor preferencia puede estar en el rango de 30 mg/kg a 50 mg/kg dos veces por día. En conejos
15 New Zealand White infectados por MRSA, el tratamiento con 40 mg/kg dio por resultado actividad bactericida. Los niveles de concentración inhibitoria mínima y concentración bactericida mínima para rifampicina contra la cepa MRSA fueron de 0,78 µg/ml y 1,56 µg/ml, respectivamente, para dar una proporción de
20 0,5.

La administración oral a humanos de rifampicina está disponible en cápsulas de 150 y 300 mg. Tras una dosis única de 600 en adultos humanos sanos, las concentraciones séricas pico promediaron 7 microgramos/ml pero con amplia variación entre 4
25 y 32 microgramos/ml. Con la administración de 600 mg por vía

intravenosa a humanos adultos sanos durante 30 minutos se obtuvieron concentraciones séricas pico promedio de aproximadamente 17 microgramos/ml.

De preferencia, la administración de tigeciclina es por vía intravenosa o intramuscular, mientras que la rifampicina se puede administrar por vía intravenosa, intramuscular, oral o por otras vías de administración conocidas en el arte, tales como sistemas de administración transbucal, intrapulmonar o transdérmica. La administración conjunta puede incluir una combinación de cualquiera de estos métodos. Por ejemplo, se puede administrar tigeciclina por vía intravenosa, mientras que la rifampicina se puede administrar por vía oral. La administración conjunta incluye la administración simultánea o secuencial en cualquier orden y no necesariamente implica la administración simultánea a la misma hora o el mismo día o el mismo esquema de tiempo. De preferencia se mantienen las concentraciones de tigeciclina y rifampicina concurrentemente bien por encima de la concentración inhibitoria mínima.

En un estudio de los inventores, un grupo de conejos infectados por *S. aureus* meticilinoresistentes y tratados con tigeciclina mostró menos unidades formadoras de colonias en hueso y médula ósea que el grupo control infectado y no tratado, o el grupo tratado con vancomicina al final del periodo de tratamiento. La CIM y la CBM para tigeciclina (0,2 µg/ml) fueron inferiores que para vancomicina (0,39 µg/ml y

0,78 µg/ml), lo que mejora la resolución de las infecciones osteomielíticas. La asociación de tigeciclina y rifampicina permitió la erradicación completa de bacterias de la médula ósea, mientras que en el grupo con vancomicina más rifampicina una muestra seguía siendo positiva." Véase Figura 3. El tratamiento fue exitoso con la administración subcutánea de 14 mg/kg de tigeciclina dos veces por día y la administración oral de 40 mg/kg de rifampicina dos veces por día. Estos datos demuestran que la osteomielitis en conejos con infección por *S. aureus* meticilinoresistente se trata eficazmente con una combinación de tigeciclina y rifampicina.

En consecuencia, de acuerdo con las descripciones de la presente, tales como los regímenes de dosificación y de tratamiento (es decir, longitud y modo de administración, y curso temporal de la terapéutica) utilizados en los estudios de uso compasivo antes descritos los típicos regímenes de dosificación y de tratamiento de los antibióticos comunes administrados a pacientes para tratar infecciones con los agentes patógenos enumerados, y los regímenes de dosificación y de tratamiento utilizados en el estudio con conejos, un experto en el arte apreciará el régimen de dosificación y de tratamiento adecuado para administrar a un mamífero a fin de lograr una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina y/o antimicrobianos adicionales tales como rifampicina, para tratar osteomielitis y/o artritis séptica. Un experto en el

arte apreciará que factores tales como la extensión de la infección, la salud general, el peso y la edad del paciente tendrán efecto sobre el régimen de dosificación y tratamiento buscado.

5 El término "cantidad farmacológicamente efectiva " significa, de acuerdo con consideraciones conocidas en el arte con la cantidad de agente antimicrobiano efectiva para lograr un efecto farmacológico o una mejoría terapéutica sin efectos secundarios adversos indebidos, incluyendo, sin limitaciones,
10 inhibición del desarrollo bacteriano, reducción de la concentración de bacterias, reducción del tiempo de recuperación de la infección, mejoramiento, eliminación, o reducción de los síntomas de infección u otros patológicos tales como tumefacción, necrosis, fiebre, dolor, debilidad, y/u
15 otros indicadores, como se seleccione como medidas adecuadas para los expertos en el arte.

Otra realización de la presente invención provee el uso de tigeciclina con o sin un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina,
20 rifaximina, o estreptovaricina (de preferencia rifampicina) para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de infecciones de hueso, médula ósea, articulaciones y tejidos circundantes, y osteomielitis y/o artritis séptica en un mamífero, de preferencia un humano.

Otra realización provee una composición farmacéutica para el tratamiento de infecciones de hueso, médula ósea, articulaciones y tejidos circundantes, y osteomielitis y/o artritis séptica en un mamífero, de preferencia un humano, que
5 comprende tigeciclina, con o sin un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina, o estreptovaricina (de preferencia rifampicina), y diluyentes, conservadores, solubilizantes, emulsionantes, coadyuvantes y/o portadores farmacéuticamente
10 aceptables y convencionalmente utilizados en formulaciones farmacéuticas y veterinarias. Las presentes formulaciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración a humanos y/o animales.

Otra realización de la presente invención provee el uso de
15 tigeciclina con o sin un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina, o estreptovaricina (de preferencia rifampicina) para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de infecciones de hueso, médula ósea, articulaciones y tejidos
20 circundantes, y osteomielitis y/o artritis séptica en un mamífero, de preferencia un humano.

Se entiende que las diversas realizaciones de la presente invención, tigeciclina y/o rifampicina y otros agentes antimicrobianos pueden estar presentes como las
25 correspondientes sales farmacéuticamente aceptables. Por

ejemplo, dichas sales pueden incluir, sin limitaciones, las sales de clorhidrato, sulfato o fosfato. También pueden incluir las sales de acetato, citrato o lactato, por ejemplo.

El medicamento o composición farmacéutica se administra en una dosis para obtener una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina y una cantidad farmacológicamente efectiva de un agente antimicrobiana seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina, o estreptovaricina (de preferencia rifampicina). La composición farmacéutica y/o medicamento además comprende diluyentes, conservadores, solubilizantes, emulsionantes, coadyuvantes y/o portadores farmacéuticamente aceptables. Pueden incluir, sin limitaciones, sacarosa, manitol, sorbitol, lecitinas, polivinilpirrolidonas, celulosas microcristalinas, metilcelulosas, carboximetilcelulosas, hidroxietilcelulosas, hidroxipropilcelulosas; almidones, poliacrilatos, etilcelulosas, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y sus derivados, triacetina, dibutilftalato, dibutilsebacato, ésteres de ácido cítrico, polietilenglicoles, polipropilenglicoles, polivinilpirrolidona, lactosa, sacarosa, estearato de magnesio, talco, o aceite de silicona.

Para la administración oral, se pueden utilizar formulaciones farmacológicas tales como, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, emulsiones, soluciones, jarabes o

suspensiones. Para la administración parenteral, las formulaciones se pueden utilizar como ampollas, o como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos acuosos u oleosos. Es obvio que la necesidad de agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión tendrán en cuenta la solubilidad de los compuestos activos en los vehículos que se utilizan en las realizaciones particulares. Las formulaciones pueden además contener conservadores y antioxidantes fisiológicamente compatibles.

10 Las formulaciones farmacológicas también se pueden utilizar como supositorios con las bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos. Como alternativa, las formulaciones pueden estar disponibles en forma de depósito, que liberará el compuesto activo lentamente
15 en el organismo, durante un periodo de tiempo preseleccionado.

Los siguientes ejemplos se presentan a fin de ilustrar diversas realizaciones de la invención y no pretenden de ninguna manera limitar la presente invención.

20 EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Tratamiento de osteomielitis en conejos con tigeciclina

Este ejemplo muestra el tratamiento de osteomielitis en conejos con tigeciclina y tigeciclina en combinación con
25 rifampicina. También se realizaron estudios comparativos con

vancomicina y la combinación de vancomicina con rifampicina. Los datos demuestran mejoramiento de la eficacia antimicrobiana con tigeciclina sobre vancomicina, y con tigeciclina en combinación con rifampicina sobre vancomicina en combinación con rifampicina. Además, tigeciclina en combinación con rifampicina proveyó protección completa contra *S. aureus* meticilinorresistente dentro del grupo de prueba.

Generación de curvas estándar por bioensayos de difusión

10 Se usaron suero normal de conejo NZW (Fisher Scientific) y hueso de tibia normal no infectado de conejo para generar curvas estándar para tigeciclina (Wyeth-Ayerst Research, Pearl River, Nueva York), vancomicina (Abbott Laboratories, Chicago, Illinois), y rifampicina (Merrell Pharmacologicals, Inc. 15 Kansas, Missouri). Se realizaron bioensayos con cada fármaco para generar las curvas estándar para la concentración de antibiótico en suero y/o hueso de la tibia.

Para el bioensayo se usó el microorganismo *Bacillus cereus* ATCC11778. Se prepararon estándares séricos con dos diluciones 20 seriadas al medio con cada antibiótico, a fin de obtener concentraciones de 25 µg/ml a 0,20 µg/ml del fármaco en suero de conejo NZW normal. Se prepararon estándares de eluido de hueso para tigeciclina mediante la exhaustiva limpieza de tibias de conejo no infectado con 70% de etanol en una campana 25 estéril. Cada tibia se rompió en trozos pequeños de

aproximadamente 0,5 cm² con un mortero. Los trozos se colocaron en un tubo de centrifuga cónico estéril de 50 ml y se pesaron. Se agregó un mililitro de solución fisiológica estéril 0,9% normal por cada gramo de hueso. Se agitó bien la solución durante dos minutos. El eluido de hueso obtenido se dejó bajo agitación a 180 rpm en una habitación fría a 4°C, durante 12 horas. Las muestras se centrifugaron a 4.000 rpm durante 3 minutos antes del ensayo para sedimentar los trozos.

Se midió el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento alrededor de cada cavidad, en milímetros. Se generó una curva estándar para la concentración de tigeciclina en los eluidos de suero y de hueso, y para vancomicina en suero, al graficar la concentración conocida de antibiótico en función de la medición de la zona de inhibición obtenida.

15

Farmacocinética de Tigeciclina

A un grupo base de 6 conejos no infectados se administraron por vía subcutánea 14 mg/kg de tigeciclina, reconstituida en agua estéril, cada 12 horas, por un periodo de 8 día. Se obtuvieron muestras de sangre a los siguientes intervalos aproximados, tras el tratamiento inicial con antibiótico: 1 hora, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 171 horas y 180 horas (momento del sacrificio). Se obtuvo medio mililitro de sangre por técnicas estándar. Las muestras se colocaron de inmediato en tubos de centrifuga estériles de 1,5 ml. Tras la

eutanasia se limpiaron exhaustivamente ambas tibias con etanol al 70% y se usaron después de retirar todos los tejidos blandos. Las tibias se colocaron en distintos tubos de centrifuga estériles de 50 ml y se almacenaron a -70°C .

5 Las muestras de suero se almacenaron a -70°C hasta realizar los bioensayos. Las muestras de hueso se prepararon como ya se describió. Se prepararon placas sembradas de agar y se cargaron las muestras por triplicado a las placas sembradas y se incubaron a 30°C durante 18 horas. Se midió el diámetro de
10 la zona de inhibición de crecimiento alrededor de cada cavidad y se extrapolaron las concentraciones de tigeciclina a partir de la curva estándar.

Determinaciones de concentración inhibitoria mínima y de
15 concentración bactericida mínima

Se determinaron las concentraciones inhibitoria mínima (CIM) de tigeciclina, vancomicina y rifampicina mediante el método de dilución de antibiótico a la mitad en tubo. También se determinaron las concentraciones bactericidas mínimas. Los
20 límites de sensibilidad de este método fueron de $25\text{ }\mu\text{g/ml}$ a $0,20\text{ }\mu\text{g/ml}$.

Inducción de osteomielitis tibial

Por vía percutánea se indujo una osteomielitis localizada por *S. aureus* en la metafisis tibial lateral izquierda de todos los conejos de los seis grupos de estudio. La cepa de *S. aureus* met icil in or resis ten te se obtuvo de un paciente sometido a con
5 osteomielitis sometido a tratamiento.

Preparación del medio infeccioso: se incubó *S. aureus* durante la noche en medio Mueller Hinton Broth (Difco Laboratories, Detroit, Michigan) al que se agregó 40 µg/ml oxacilina, a 37°C. La concentración bacteriana del cultivo se
10 ajustó a 10⁷ CFU's/ml.

Procedimiento de infección del conejo: para el estudio se utilizaron conejos New Zealand blancos (Ray Nicholl's Conejory, Lumberton, Texas), de ocho a 12 semanas de edad y con un peso de 2,0 a 3,5 kg. Después de aplicar la anestesia, se insertó
15 una aguja calibre 18 por vía percutánea a través de la cara lateral de la metafisis tibial izquierda, hasta la cavidad medular. A continuación se inyectaron en secuencia 0,15 ml de morruato de sodio 5% (American Regent Laboratories, Inc., Shirley, New York), 0,1 ml de *S. aureus* (10⁷ CFU/ml), y 0,2 ml
20 de solución fisiológica normal 0,9%. Se dejó progresar la infección durante 2 semanas, y entonces se determinó la severidad de la osteomielitis en forma radiológica (Tabla 1).

Grupos de tratamiento: transcurridas las dos semanas de la infección, se separaron los conejos con osteomielitis tibial
25 proximal localizada (confirmada radiológicamente como de grados

2-4) en seis grupos de estudio. Grupo 1 (grupo control): infectado por sin tratamiento durante todo el estudio. Grupo 2: conejos tratados durante 4 semanas con vancomicina subcutánea en 30 mg/kg dos veces por día. Grupo 3: conejos tratados durante 4 semanas con vancomicina subcutánea en 30 mg/kg dos veces por día más rifampicina oral a 40 mg/kg dos veces por día en 0,5% de metilcelulosa. Grupo 4: conejos tratados durante 4 semanas con tigeciclina subcutánea a 14 mg/kg dos veces por día. Grupo 5: conejos tratados durante 4 semanas con tigeciclina subcutánea en la misma dosis que en los conejos del Grupo 4, más rifampicina oral en 40 mg/kg dos veces por día en 0,5% metilcelulosa. Los conejos que recibieron rifampicina oral (Grupos 3 y 5) recibieron un suplemento nutricional oral (Ensure Plus®, Abbott Laboratories, Columbus, Ohio) y una preparación de *Lactobacillus* spp. (Kvvet Supply, 3190 N Road, David City, Nebraska) por día. Grupo 6: conejos tratados durante 1 semana con tigeciclina subcutánea en la misma dosis que el Grupo 4, pero se sacrificaron 3 horas tras la administración de la última dosis. Al mismo tiempo se obtuvieron muestras de sangre y hueso infectado y se determinó la concentración de tigeciclina. Los Grupos 1 a 5 se dejaron sin tratamiento durante 2 semanas después de la fase de tratamiento del experimento y se sacrificaron 8 semanas tras la infección.

Evaluación radiológica

Se obtuvieron radiografías de las tibias bilaterales al comienzo de la terapéutica (2 semanas después de la infección), al final de la antibioticoterapia (6 semanas después de la infección), y en el momento de ser sacrificados (8 semanas tras infección). Las radiografías fueron comparadas con escalas visuales (Tabla 1) por tres investigadores, cada uno ciego respecto del grupo de tratamiento grupo, y se promediaron las evaluaciones.

10

TABLA 1

Criterios para evaluar radiológicamente el grado de severidad de osteomielitis en conejos

Grado ★	Descripción de cambios
0	Normal, sin cambios comparado con la tibia derecha
1+	Elevación o alteración del periostio, o ambos; tumefacción de tejidos blandos
2+	< 10% alteración de la arquitectura del hueso normal
3+	10 - 40% alteración de la

	arquitectura del hueso normal
4+	> 40% alteración de la arquitectura del hueso normal

*porcentaje visualmente estimado de hueso alterado.

Determinación de niveles séricos de antibiótico

Se determinaron niveles pico y valle de antibiótico para los Grupos 2 y 4 a 1 hora (pico) y 12 horas (valle) tras la administración inicial del antibiótico. Véanse Figuras 5A y 5B. Se determinaron las concentraciones de antibiótico mediante un bioensayo. El ensayo de difusión del antibiótico se realizó como se describió antes. Se extrapolaron las concentraciones de antibiótico a partir de las respectivas curvas estándar.

Determinación de la concentración bacteriana por gramo de hueso y médula ósea

Tras el sacrificio se realizaron cultivos macroscópicos para las tibias derecha e izquierda. Se determinaron recuentos cuantitativos de *S. aureus*, en CFU por gramo, de hueso tibial izquierdo y médula ósea para todos los grupos de estudio.

Preparación de cultivos: Se hicieron hisopados de médula ósea y del canal intramedular de las tibias bilaterales con hisopos de algodón estériles para el análisis macroscópico de cultivos de las tibias izquierdas, y controles de seguridad de calidad con las tibias derechas. El hisopo inoculado se estrió

sobre placas de sangre y se colocaron en 5 ml de TSB estéril. Luego se incubaron las placas y los tubos a 37°C durante 24 horas y se registró el desarrollo y/o la turbidez.

La médula ósea se colocó en un tubo de centrifuga estéril de 50 ml y se pesó. Los fragmentos de hueso se rompieron en trozos de 0,5 cm², se colocaron en un tubo de centrifuga estéril de 50 ml y se pesó el producto final. Se agregó solución fisiológica normal 0,9%, en una relación 3 a 1 (3 ml solución fisiológica / gramo de hueso o médula ósea) y se agitaron con fuerza las suspensiones durante 2 minutos. Se prepararon seis diluciones al décimo de cada suspensión con solución fisiológica normal 0,9%. Se sembraron en placas muestras de 20 microlitros de cada dilución, incluso la suspensión inicial, por triplicado en placas de agar sangre, y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Se contaron las CFU a la mayor dilución para cada muestra de tibia. Se calculó la concentración de *S. aureus* en CFUs por gramo de hueso o médula ósea. La resultante calculada se multiplicó por 3 para las muestras de hueso y por 4 para la médula ósea, a fin de compensar las diluciones iniciales en solución fisiológica y la adsorción de la médula ósea en solución fisiológica. Se calculó el log medio de la concentración de *S. aureus* para cada uno.

Análisis estadístico de datos experimentales

88
32

Se calcularon la desviación estándar y el error estándar de la media para todos los datos en crudo, incluso las medidas de difusión de disco, variaciones de peso, grados radiológicos, y los recuentos bacterianos. Se realizaron análisis de regresión lineal, por método de cuadrados mínimos para las curvas estándar de difusión de antibiótico mediante el log de base diez de las concentraciones de antibiótico para graficar la concentración (en $\mu\text{g/ml}$) versus la zona de inhibición medida (en milímetros). Se extrapolaron todas las mediciones de difusión posteriores a microgramos / mililitro de concentración de antibiótico a partir de curvas estándar que utilizan la pendiente y los valores de intersección de y derivados de los cálculos de cuadrados mínimos.

15 Concentraciones inhibitorias mínimas y concentraciones bactericidas mínimas

Para la cepa de *S. aureus* meticilínorresistentes (inóculo de 10^6 CFU/ml) utilizada en el estudio, las concentraciones inhibitorias mínimas y las concentraciones bactericidas mínimas fueron inferiores a $0,2 \mu\text{g/ml}$ y $0,2 \mu\text{g/ml}$, respectivamente. Los niveles de concentración inhibitoria mínima y de concentración bactericida mínima para vancomicina fueron $0,39 \mu\text{g/ml}$ y $0,78 \mu\text{g/ml}$, respectivamente, para una relación CIM/CBM de 0,5. Los niveles de concentración inhibitoria mínima y de concentración

bactericida mínima para rifampicina fueron de 0,78 µg/ml y 1,56 µg/ml, respectivamente, para una relación de 0,5.

i

Niveles de cinética de fármacos en hueso y suero

5 Todas las concentraciones de antibiótico se derivaron de las respectivas curvas estándar. Las tendencias logarítmicas de las concentraciones de tigeciclina (14 mg/kg dos veces por día) en el suero del grupo de animales no infectados se muestran en la Figura 1. La tigeciclina, como se muestra en la Figura 1, se
10 eliminó lentamente, por lo que mantuvo un nivel estable superior a la CIM (0,2 µg/ml) por 12 horas (valle). Los picos y valles de tigeciclina (14 mg/kg dos veces por día) y vancomicina (30 mg/kg dos veces por día) en el suero de conejos infectados tras la administración de los respectivos fármacos
15 se muestran en las Figuras 5a y 5b. Las concentraciones de tigeciclina en hueso (14 mg/kg, Bid) en el grupo de conejos infectados se midió por separado en la tibia infectada al final del tratamiento, donde promediaban 0,78 µg/ml +/- 0,01 µg/ml, y en la tibia no infectada, donde promediaron 0,49 µg/ml +/- 0,01
20 µg/ml. La diferencia fue estadísticamente significativa (p < 0,05).

Hallazgos radiológicos

Se indujo una osteomielitis estadio 2 a 4, de acuerdo con

i

57
304

la Tabla 1, en todos los animales infectados. Los grados radiológicos iniciales fueron similares entre los grupos. Los grados promedio para los grupos tigeciclina, tigeciclina + rifampicina y vancomicina + rifampicina a t=14 días fueron significativamente superiores a los grados promedio a t=56 días ($p < 0,05$). El grupo control mostró la menor cantidad de mejoramiento radiológico ($0,2 \pm 0,2$ o $9,1\%$), comparado con los grupos vancomicina ($0,5 \pm 0,2$ o 25%), tigeciclina ($0,9 \pm 0,1$ o $40,9\%$), vancomicina + rifampicina ($0,9 \pm 0,1$ o $40,9\%$) o tigeciclina + rifampicina ($0,8 \pm 0,1$ o $40,0\%$).

La Figura 2 muestra la severidad radiológica promedio para cada grupo a t=14 y t=56 días. Al final del estudio (t=56 días), los grados radiológicos promedio se compararon entre los distintos grupos. Los grados promedio para los grupos tigeciclina, tigeciclina + rifampicina y vancomicina + rifampicina a t=56 días fueron significativamente inferiores a los grados promedio para el grupo control a t=56 días ($p < 0,05$). La clave para la Figura 2 es la siguiente: Control = grupo control, sin tratamiento; Vancomicina = grupo tratado con vancomicina subcutánea; Van + Rifam = grupo tratado con vancomicina subcutánea y rifampicina oral; Gar-936 = grupo tratado con Gar-936 subcutáneo; Gar + Rifam = grupo tratado con Gar-936 subcutáneo y rifampicina oral.

25 Cultivos de hueso

Un elevado porcentaje de tibias de los controles infectado no tratados (n=15) revelaron cultivos positivos (80%) para *Staphylococcus aureus* meticilinoresistentes a una concentración media de $9,21 \times 10^4$ CFU/g hueso. Comparado con los controles no tratados, los grupos vancomicina grupo (n=11), tigeciclina y tigeciclina + rifampicina demostraron todos un porcentaje significativamente inferior de infección por *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. En el grupo vancomicina grupo, 2 de 11 muestras (18,2%) eran positivos para MRSA, y la concentración bacteriana promedio del grupo fue de $1,4 \times 10^2$ CFU/ gramo de hueso ($p < 0,05$). En el grupo tigeciclina, 1 de 10 muestras fue positiva para *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente y la concentración bacteriana promedio fue de 20 CFU/ gramo hueso, que es inferior a los grupos control o vancomicina ($p < 0,05$). Un conejo del grupo vancomicina + rifampicina mostró concentración bacteriana mayor que el control. Los conejos del grupo que recibió tratamiento con tigeciclina + rifampicina demostraron erradicación completa de bacterias de la tibia (0,0 CFU/ gramo de hueso en todas las muestras). La Figura 3 compara el CFU/gramo de médula ósea y hueso entre todos los grupos. La Figura 3 demuestra que tigeciclina y tigeciclina en combinación con rifampicina representan un efectivo tratamiento para la infección de hueso y la infección de médula ósea respecto de los controles.

La clave de la Figura 3 es la siguiente: Control = grupo

59
306

control, sin tratamiento; Vancomicina = grupo tratado con vancomicina subcutánea; Van + Rifam = grupo tratado con vancomicina subcutánea y rifampicina oral; Gar-936 = grupo tratado con Gar-936 subcutáneo; Gar + Rifam = grupo tratado con
5 Gar-936 subcutáneo y rifampicina oral.

Procesos adversos

De los 66 conejos infectados un total de 6 murieron antes de completar el tratamiento. De los 5 conejos que murieron en
10 el grupo con tratamiento de tigeciclina, uno fue sacrificado el día 19 debido a severo deterioro del estado nutricional. Otro conejo murió el día 17 de tratamiento con tigeciclina debido a gastroenterocolitis. Tres de los conejos de este grupo murieron el día 28 debido a gastroenterocolitis e intolerancia a la
15 anestesia. Un conejo del grupo tigeciclina + rifampicina murió durante el tratamiento el día 15 debido a gastroenterocolitis. Es muy probable que la gastroenterocolitis se debiera a alteraciones de la flora normal del intestino grueso. Todos los conejos fueron controlados semanalmente para la variación de
20 peso. El grupo control mostró el mayor aumento medio (0,58 kg +/- 0,27), vancomicina el segundo mayor (0,39 kg +/- 0,26), vancomicina + rifampicina el tercero (0,21 kg +/- 0,32). Los grupos tigeciclina (-0,05 kg +/- 0,32) y tigeciclina + rifampicina (-0,39 +/- 0,31) perdieron peso después del
25 tratamiento antibiótico. Casi todos los conejos de los grupos

tigeciclina y tigeciclina + rifampicina se presentaron con síntomas leves a severos de disfunción gástrica aproximadamente 1,0-1,5 semanas después de la iniciación del antibiótico, con disminución del apetito, deshidratación, diarrea, y/o pérdida de peso. Las Figuras 4A y B muestran las variaciones de peso entre todos los grupos. La clave de las Figuras 4A y B es la siguiente: Control = grupo control, sin tratamiento; Vancomicina = grupo tratado con vancomicina subcutánea; Van + Rifam = grupo tratado con vancomicina subcutánea y rifampicina oral; Gar-936 = grupo tratado con Gar-936 subcutáneo; Gar + Rifampicina = grupo tratado con Gar-936 subcutáneo y rifampicina oral.

Por seguridad se observó mayor número de muertes y efectos secundarios en los grupos de conejos tratados con tigeciclina. La enterocolitis debida a tigeciclina puede ser causada por extensa destrucción de la flora microbiana normal del intestino. Los síntomas se atenuaron con la administración de probióticos orales. El amplio espectro antimicrobiano de tigeciclina, en contraste con el espectro más angosto de vancomicina, puede ayudar a explicar la diferencia observada entre los grupos de tratamiento.

Resultados

Los datos de recuento para cada animal en cada tejido se enumeran en la Tabla 2. Los recuentos en la tabla son promedios

de las mediciones por triplicado en cada tejido. La inspección de los datos de la Tabla 2 revelan que en los grupos tratados con artículos de prueba, los recuentos en la mayoría de los animales o en todos ellos eran 0. En el grupo control, se midieron recuentos distintos de cero en médula ósea de 5 de 15 animales y en hueso de 11 de 15 animales. Hubo considerable variación en la magnitud de los recuentos distintos de cero en los grupos control, especialmente para hueso.

La cantidad de cultivos positivos y negativos en cada grupo de tratamiento, y los valores p obtenidos por comparación con el control fueron los siguientes:

TABLA 2

Recuento de unidades formadoras de colonias por gramo de hueso
y médula ósea de estudio de osteomielitis en conejos

Grupo de tratamiento	Recuentos (CFU/gm)	Recuentos (CFU/gm)
Control 1	0	238
2	0	0
3	83.000.000	97
4	0	0
5	0	5.000
6	0	2.380
7	610.000	100.000
8	22.000	1.000
9	0	0
10	0	50
11	1.700	1.100.000
12	0	0
13	4.400	10.8000
14	0	72,9
15	0	106,3
Tigeciclina	0	178,6
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

i

Grupo de tratamiento	Recuentos (CFU/gm)	Recuentos (CFU/gm)
Tigeciclina	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
Vancomicina	1.250	270,3
2	0	1.315,8
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0

i

Grupo de tratamiento	Recuentos (CFU/gm)	Recuentos (CFU/gm)
Vancomicina	0	0
2	530.000.000	1.040.000
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

Datos provenientes de la comparación de osteomielitis en conejo

5 con tigeciclina, vancomicina y rifampicina

En médula ósea, la proporción de cultivos positivos en los grupos tigeciclina y tigeciclina + rifampicina fue 0, que en comparación con la proporción de 0,33 (5/15) del grupo control fue casi estadísticamente significativa ($p=0,06$) a nivel

10 convencional $p=0,05$. Las proporciones de los grupos vancomicina y vancomicina + rifampicina no mostraron diferencias estadísticamente significativas del grupo control. En hueso, la proporción de cultivos positivos en cada grupo tratado con

15 artículos de prueba muestra una disminución estadísticamente significativa de la proporción en el grupo control.

En un modelo animal de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente, con endocarditis, se demostró que 14 mg/kg bid de tigeciclina era más efectivo que 40 mg/kg de vancomicina (Murphy, *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(11): 3022-3027). En un modelo de rata se administraron dosis de hasta 80 mg/kg/día. Sin embargo, en el modelo de conejo utilizado en la presente, la administración de dosis superiores a 14 mg/kg por día causó morbilidad y mortalidad relevante en los animales (datos no mostrados). En consecuencia, las dosis antes citadas se usaron en este estudio. Aun cuando el objetivo no era el estudio de la farmacocinética de tigeciclina en conejos, se realizaron algunas mediciones de niveles de fármacos, a fin de asegurar que se usaba una dosificación adecuada en el modelo animal. Los datos confirmaron que los niveles de fármacos en suero seguían siendo superiores a la CIM de la cepa estafilocócica usada 12 horas tras la última administración. Además, el fármaco mostró una importante penetración en hueso, y se hallaron niveles terapéuticos de tigeciclina en el hueso infectado y no infectado. La mayor concentración de fármaco infectado es otro hallazgo relevante, que requiere mayor estudio.

EJEMPLO 2: Distribución de tigeciclina en tejido humano tras una administración intravenosa de 100 mg.

Este ejemplo muestra la penetración de tejidos

seleccionados en sujetos humanos tras una única aplicación intravenosa de tigeciclina. Los datos demuestran una fase de distribución rápida, con una vida media prolongada y un elevado volumen de distribución en estado estable. Establecen además la
5 penetración de hueso, líquido sinovial, pulmones, vesícula biliar, y colon en sujetos humanos. La penetración mejora el tratamiento de las infecciones de hueso y articulaciones.

Los estudios de farmacocinética de tigeciclina intravenosa en humanos han demostrado que hay una fase de distribución
10 rápida, con una vida media prolongada (40 a 60 horas) y un elevado volumen de distribución en estado estable. Los estudios en animales con tigeciclina con marca radiactiva sugieren que esta fase de distribución rápida y elevado volumen de distribución en estado estable representa penetración de
15 tigeciclina en los tejidos, incluso pulmón y hueso. Se administró a ratas Sprague-Dawley (18 machos) tigeciclina con carbono 14 en una dosis de 3 mg/kg por infusión durante 30 minutos. Se determinaron las concentraciones de radiactividad en tejidos de 3 ratas/por punto temporal al final de la
20 infusión y a las 1, 8, 24, 72, y 168 horas tras el final de la infusión. Para todos los tejidos se observó concentración de radiactividad pico al fin de la infusión. En general, se distribuyó bien la radiactividad a la mayoría de los tejidos, con las mayores concentraciones según sigue: hueso>médula ósea
25 >glándula salival, tiroides, bazo, y riñón. En cada uno de

67
34

estos tejidos la proporción de superficie bajo la curva concentración-tiempo en tejido, respecto de la superficie bajo la curva de concentración-tiempo en plasma fue >10 .

El objetivo de este estudio fue determinar las correspondientes concentraciones en tejido y suero de tigeciclina en puntos temporales seleccionados en tejidos de pulmón, colon, vesícula biliar, hueso, y líquido sinovial. Las muestras se obtuvieron de sujetos programados para cirugía de pulmón, colon, vesícula biliar, o hueso, o una punción lumbar, a los que se les dio una única dosis de tigeciclina administrada por vía intravenosa.

Se realizó un muestreo preespecificado de tejidos/fluidos de pulmón, colon, vesícula biliar, hueso y líquido sinovial en cada sujeto durante la cirugía a 4 horas, 8 horas, 12 horas, o 24 horas después del inicio de una dosis única de 100 mg de tigeciclina administrada durante 30 minutos. Se obtuvo suero de todos los sujetos a la hora 0 (antes de la primera dosis), aproximadamente a los 30 minutos (fin de la infusión), y al momento correspondiente a las extracciones de tejido / líquido. Se determinó la concentración en tejido y en suero de acuerdo con el método especificado más adelante.

Parámetros de investigación para muestras de suero

Las muestras de suero y tejido humano obtenidas de sujetos de estudio que había recibido tigeciclina se analizaron de

acuerdo con métodos convalidados previamente. Las muestras de suero y el líquido sinovial (0,2 ml) se mezclaron con 0,6 ml de estándar interno en acetonitrilo, se evaporó el sobrenadante hasta sequedad y se reconstituyó el residuo en 200 microlitros de fase móvil. Alícuotas (10 microlitros) de las muestras reconstituidas se inyectaron en un LC/MS/MS.

Los datos se adquirieron y analizaron en software PE SCIEX "Analyst" versión 1.3. Se usó regresión lineal, con calibración $1/x^2$ para obtener el mejor ajuste de los datos a las curvas de calibración. El límite inferior de cuantificación fue de 10 ng/ml para muestras de suero y de líquido sinovial, de 10 ng/g para muestras de colon y de vesícula biliar, y de 30 ng/g para muestras de hueso.

Se analizaron muestras de control de calidad (2 juegos) bajas (25 ng/ml), medias (500 ng/ml) y altas (1500 ng/ml), preparadas en suero humano, con cada conjunto de muestras de suero. Para las muestras de control de calidad de colon, vesícula biliar y pulmón se analizaron dos conjuntos de muestras de control de calidad a 25, 500, y 1500 ng/g con cada conjunto de muestras de tejido. Para hueso se analizaron dos conjuntos de muestras de control de calidad a 100, 500, y 1500 ng/g con cada juego de muestras de tejido.

Las curvas fueron lineales en el rango de 10 a 2000 ng/ml par suero y líquido sinovial, y desde el límite inferior de cuantificación hasta 2000 ng/g para los tejidos. Se consideró

exitosa una corrida si no más de dos muestras de control de calidad estaban fuera del rango del 85-115% del blanco, y no había dos muestras de control de calidad de la misma concentración fuera de ese rango. Si dos muestras de control de
5 calidad de la misma concentración estaban fuera de ese rango sólo se informaban las concentraciones entre las muestras de control de calidad restantes.

Materiales y Métodos para muestras de suero

10 Se midió tigeciclina en suero humano mediante un método LC/MS/MS. Se preparó la solución madre primaria de tigeciclina a 1 mg/ml por disolución en metanol. Se preparó una solución madre secundaria a partir de la solución madre primaria por dilución a una concentración de aproximadamente 40.000 ng/ml
15 con acetonitrilo. Las soluciones madre se guardaron a -20 °C cuando no se usaban. Se preparó una solución madre estándar interno primaria de ter-butil-d₉-tigeciclina a una concentración de 1 mg/ml en metanol. Se preparó una solución madre estándar interno secundaria por dilución de la solución
20 madre primaria a una concentración de 100 microgramos/ml en acetonitrilo por agregado de 0,1% de trifluoroacetato. Las soluciones madre primaria y secundaria se almacenaron a -20 °C. Se preparó el estándar interno de trabajo por dilución en volumen con acetonitrilo /0,1% de trifluoroacetato. El estándar
25 interno de trabajo se almacenó a 4°C cuando no se usaba. El día

del análisis se llevó la solución madre secundaria a temperatura ambiente antes de usarla para preparar las soluciones de trabajo para la curva estándar. La curva estándar se preparó a aproximadamente 2.000, 1.600, 1.000, 500, 250, 100, 50, 20, y 10 ng/ml por dilución seriada en suero humano control.

El procedimiento de extracción fue el siguiente: a 200 microlitros de calibrador, control de calidad o muestras se agregaron 600 microlitros de solución estándar interno de trabajo y se mezcló por agitación vigorosa. Las muestras se centrifugaron durante 10 minutos a 13.000 rpm para separar las capas, y se transfirió el sobrenadante a un tubo de cultivo. Las muestras se evaporaron hasta sequedad en un Speed Vac. Los residuos se reconstituyeron por sonicación en 200 microlitros de fase móvil y se inyectaron 10 microlitros en el LC/MS/MS.

El LC/MS/MS comprendía HPLC (Agilent 1100), espectrómetro de masa (Applied Biosystems API3000), Columna (Aquasil C18, 50 x 2.1 mm i.s., 5micron (ThermoKeystone) con fase móvil de 16% de acetonitrilo, 6% de metanol, 78% de agua, y 0,1% de tetrafluoroacetato, velocidad de flujo de aproximadamente 0,35 ml/min, volumen de inyección 10 microlitros, Condiciones del detector: 119 búsquedas por periodo, tipo de búsqueda MRM, polaridad positiva, fuente de aerosol de turbo ion, a bajo resolución, con nitrógeno a 6 psi como gas de nebulización, una gas de cortina, y un gas de colisión, con energía iónica a

4.500 mv, y temperatura de aerosol iónico a 450 °C. El detector monitoreó tigeciclina y el estándar interno.

Las muestras se analizaron en tres corridas analíticas. En cada día de análisis de muestras se corrió un estándar completo
5 junto con muestras de control de calidad y muestras de sujeto de estudio. Las muestras con concentración medida superior al mayor calibrador se diluyeron al mezclar muestras de 100 microlitros con 900 microlitros de suero humano y se analizaron 200 microlitros de la mezcla como ya se describió. Se logró la
10 cuantificación de tigeciclina en suero por comparación con una curva estándar preparada en la matriz adecuada y calculada mediante un factor de calibración (1/concentración)².

El límite de cuantificación para tigeciclina fue de 10 ng/ml. No se detectaron picos que interfirieran con la
15 determinación de cualquiera de los isómeros de tigeciclina en ninguna de las muestras previas a la dosis. Todas las muestras calibradoras y de control de calidad estaban dentro del rango (85-115% del blanco). Los resultados de las muestras se presentan en la Tabla 1. Los resultados de las curvas estándar
20 y los calibradoras se presentan en la Tabla 4.

Parámetros de investigación para muestras de tejidos

Se preparó solución madre y solución estándar interno como para los parámetros de investigación para las muestras de suero
25 anteriores. Se prepararon las soluciones estándar de trabajo a

analíticas. Cada día de análisis de las muestras se corrió una curva estándar completa, junto con muestras de control de calidad y tejido. La curva estándar se preparó en la matriz sustituta adecuada para analizar las muestras de tejido. Las
5 muestras con concentración medida superior al calibrador mayor (200 ng/g) se homogenizaron con estándar interno a 10 o 20 veces la concentración utilizada para la curva estándar. Una alícuota (300 microlitros) (dilución al décimo) se evaporó hasta sequedad y se reconstituyeron las muestras de modo tal
10 que las relaciones de superficie de los picos y las superficies de los picos estaban dentro del rango de la curva estándar.

Se logró la cuantificación de tigeciclina en tejidos por comparación con una curva estándar preparada en la matriz adecuada y calculada mediante un factor de calibración
15 $(1/\text{concentración})^2$. Para líquido sinovial se prepararon los calibradores en solución fisiológica con buffer de fosfato. Un segundo conjunto de calibradores se preparó en un líquido sinovial artificial compuesto por los siguientes componentes:
100 mmol/L de glucosa, 2,03-2,26 g/L de hialuronato y
20 aproximadamente 8 g/L de albúmina ajustada a pH 7,4. Para la curva de calibración preparada en PBS y la recuperación se calculó un factor de corrección mediante la realización de una regresión lineal de determinadas concentraciones de muestras de líquido sinovial artificial a partir de la curva de PBS en
25 función de la concentración teórica de estas muestras con una

ecuación potencial ($y=y_0 +ax^b$). Dado que la concentración determinada de las muestras de los sujetos de estudio estaba en el rango bajo de la curva de calibración, sólo los calibradores entre 20 y 500 ng/ml se usaron para calcular esta regresión.

5 Los resultados de esta regresión demostraron una fuerte correlación ($r^2 = 0,9996$) y las concentraciones calculadas hacia atrás de los calibradores ASF fueron de entre 94 y 122% de sus valores blanco para todo el rango completo de la curva estándar (20-2000ng/ml). Luego se aplicó la ecuación de
10 regresión a las concentraciones de muestras de sujeto de estudio a partir de la curva de estándar de PBS y se determinó la concentración corregida de tigeciclina en muestras de líquido sinovial.

El límite de la cuantificación de tigeciclina fue de 10
15 ng/ml. Se hallaron concentraciones medibles de tigeciclina en todas las matrices analizadas. Todos los calibradores y las muestras de control de calidad con concentraciones similares a las muestras estaban dentro del rango (85-115% del blanco). Los resultados de las muestras se presentan en la Tabla 4 (tejidos)
20 y la Tabla 5 (líquido sinovial).

Resultados

Los datos demuestran una fase de distribución rápida, con una vida media prolongada y un elevado volumen de distribución
25 en estado estable. También establecen la penetración de hueso,

líquido sinovial, pulmón, vesícula biliar y colon en sujetos humanos. Además, las concentraciones en líquido sinovial muestran rápida distribución y prolongada retención de tigeciclina, comparado con los datos provenientes de suero en 5 periodos similares.

TABLA 3

Resultados del análisis de suero

Calculado			Calculado			Calculado			
Muestra Concentr. Tiempo			Muestra Concentr. Tiempo			Muestra Concentr. Tiempo			
5	ID.	<u>ng/ml</u>	Hora	I.D.	<u>ng/ml</u>	Hora	I.D.	<u>ng/ml</u>	Hora
	1A	BQL	0	22A	BQL	0	40A	BQL	0
	1B	5450	0,5	22B	1610	0,5	40B	1950	0,5
10	1C	81.6	24	22C	251	4	40C	80.6	24
	2A	BQL	0	23A	BQL	0	41A	BQL	0
	2B	1080	0,5	23B	1530	0,5	41B	2580	0,5
15	2C	151	4	23C	74.4	24	41C	191	12
	3A	BQL	0	24A	BQL	0	42A	BQL	0
	3B	1490	0,5	24B	1650	0,5	42B	789	0,5
20	4C	175	4	24C	85.6	12	42C	198	8
	5A	BQL	0	25A	BQL	0	43A	BQL	0
	5B	1100	0,5	25B	3550	0,5	43B	1150	0,5
25	5C	116	12	25C	136	4	43C	77.4	24
	6A	BQL	0	26A	BQL	0	44A	BQL	0
	6B	1170	0,5	26B	879	0,5	44B	954	0,5
30	6C	113	12	26C	126	12	44C	144	4
	7A	BQL	0	27A	BQL	0	45A	BQL	0
	7B	1640	0,5	27B	847	0,5	45B	894	0,5
35	7C	97.2	12	27C	78.9	12	45C	299	4
	8A	BQL	0	28A	BQL	0	46A	BQL	0
	8B	1710	0,5	28B	922	0,5	46B	1420	0,5
40	8C	186	4	28C	120	12	46C	66.6	24
	9A	BQL	0	29A	BQL	0	47A	BQL	0
	9B	1640	0,5	29B	5190	0,5	47B	447	0,5
45	9C	221	4	29C	147	4	47C	232	4
	10A	BQL	0	30A	BQL	0	48A	BQL	0
	10B	27400	0,5	30B	1190	0,5	48B	976	0,5
50	10C	244	4	30C	50.8	24	48C	86.9	24
	11A	BQL	0	31A	BQL	0	49A	BQL	0
	11B	1320	0,5	31B	2320	0,5	49B	1200	0,5
55	11C	47.2	12	31C	166	4	49C	102	12
	12A	BQL	0	32A	BQL	0	50A	BQL	0
	12B	6950	0,5	32B	3550	0,5	50B	1430	0,5
60	12C	54.4	24	32C	42.1	24	50C	186	8
	13A	BQL	0	33A	BQL	0	51A	BQL	0
	13B	1960	0,5	33B	620	0,5	51B	726	0,5
65	13C	250	4	33C	43.7	24	51C	44.7	24

77
324

5	16A	BQL	3	34A	BQL	0	52A	BQL	0
	16B	741	0,5	34B	1090	0,5	52B	821	0,5
	16C	107	12	34C	92.7	12	52C	125	4
	17A	BQL	0	35A	BQL	0	53A	BQL	0
	17B	1110	0,5	35B	2430	0,5	53B	1060	0,5
10	17C	51	24	35C	53.8	24	53C	209	4
	18A	BQL	0	36A	BQL	0	54A	BQL	0
	18B	761	0,5	36B	2300	0,5	54B	1250	0,5
	18C	133	8	36C	65.7	24	54C	206	6
	19A	BQL	0	37A	BQL	0	55A	BQL	0
15	19B	1240	0,5	37B	2415	0,5	55B	628	0,5
	19C	167	4	37C	95.7	12	55C	431	4
	20A	BQL	0	38A	BQL	0			
	20B	903	0,5	38B	4600	0,5			
	20C	106	12	38C	106	12			
	21A	BQL	0	39A	BQL	0			
	21B	870	0,5	39B	5130	0,5			
	21C	776	4	39C	342	4			

' BQL = por debajo del nivel cuantitativo

71

71

TABLA 4

Resultados del análisis de tejido calculado *BQL = por debajo
de los límites cuantitativos del ensayo (<33,2 ng/ml)

	Muestra Concentración		
	LD.	(ng/g)	Tejido
5	001	8210	Vesícula biliar
	002	1560	Vesícula biliar
	004	41,6	Hueso
	005	20 700	Vesícula biliar
10	006	46,5	Hueso
	007	33,3	Hueso
	008	79,3	Hueso
	009	1.890	Pulmón
	010	141	Hueso
15	011	7.640	Vesícula biliar
	012.	BQL	Hueso
	015	8.400	Vesícula biliar
	016	624	Vesícula biliar
	017	93,3	Hueso
20	018	3.750	Vesícula biliar
	019	18.900	Vesícula biliar
	020	266	Hueso
	021	86,6	Colon
	022	50,0	Hueso
25	023	1.180	Vesícula biliar
	024	BQL	Hueso
	025	1.50	Vesícula biliar
	026	91,2	Colon
	027	BQL	Hueso
30	028	598	Colon
	029	3.240	Vesícula biliar
	030	BQL	Hueso
	031	5 960	Vesícula biliar
	032	938	Vesícula biliar
35	033	BQL	Hueso
	034	3.480	Vesícula biliar
	035	778	Vesícula biliar
	037	3.850	Vesícula biliar
	038	BQL	Hueso
40	039	198	Colon

79
326

5	040	1,500	Vesícula biliar
	041	106	Colon
	042	238	Vesícula biliar
	043	995	Colon
	044	723	Colon
10	045	314	Colon
	046	BQL	Hueso
	047	453	Colon
	048	BQL	Hueso
	050	618	Colon
15	051	633	Pulmón
	052	35,5	Hueso
	053	BQL	Hueso
	054	36,1	Hueso
	055	118	Colon

7

7

7

7

328

de Wyeth-Ayerst Research, Montreal, Canadá. La [^{14}C]-tigeciclina fue provista por Amersham (Boston, MA). La pureza radioquímica y la actividad específica de [^{14}C]-tigeciclina en masa fue del 98% y 93,6 microCi/mg, respectivamente.

5 Se usó agua estéril para preparar la solución de dosificación intravenosa. El cóctel de centelleo líquido utilizado para contar la radiactividad en plasma y orina fue Ultima Gold (Packard Instruments Co., Meriden, CT).

10 Se usó un Tri-Carb Sample Oxidizer Modelo 3078 equipado con un Oximate-80 Robotic Automatic Sampler (Canberra-Packard Co., Downers Grove, IL) para la combustión de las muestras de sangre. Se usaron cóctel de centelleo líquido Permafluor E (Packard Instruments Co., Meriden, CT), Carbo-Sorb-E (Packard Instruments Co., Meriden, CT) para la absorción de dióxido de

15 carbono y agua deionizada para atrapar el dióxido de carbono radiactivo generado por la combustión de la muestra en el oxidador. Las alícuotas de sangre se transfirieron a conos de combustión y parches de cubierta (Canberra-Packard Co., Downers Grove, IL) para la combustión.

20 Todas las determinaciones de radiactividad (dosis, sangre y plasma) se realizaron con un contador de líquido de centelleo Tri-Carb Model 2700 TR (Canberra-Packard Co., Downers Grove, IL) con una curva estándar Ultima Gold o de tolueno. Las

25 cuentas por minuto (CPM) se transformaron en desintegraciones por minuto (DPM) mediante la aplicación de estándares externos

de radiactividad conocida. Se determinó el apagado de cada estándar mediante el índice espectral transformado de un estándar radiactivo externo (TSIE). Los límites inferiores de detección se definieron como fondo doble.

5 Se obtuvieron ratas Sprague-Dawley y Long-Evans machos de Charles River Breeding Laboratories, Raleigh, NC, y dejaron en cuarentena durante al menos una semana antes del inicio del estudio. La solución dosis intravenosa (1,02 mg/ml) se preparó por disolución de 6,90 mg de tigeciclina sin marca y 5,30 mg de
10 [¹⁴C]-tigeciclina en 12 ml de agua estéril. La solución de dosificación se diluyó y se hizo el radioensayo directo en cóctel de recuento de centelleo Ultima[®] Gold (Packard Inc.). Todas las determinaciones de radiactividad total se realizaron con un espectrómetro de centelleo líquido Packard 2700 TR
15 (Canberra-Packard Co.).

Los pesos de las ratas variaban entre 0,206 y 0,301 kg. Todas las ratas recibieron una única dosis por infusión intravenosa de 30 minutos de [¹⁴C]-tigeciclina a través de una cánula de vena yugular, (3 ml/kg, 3 mg/kg como residuo activo,
20 40 microCi/kg) con una bomba de infusión Harvard 22 (Harvard Apparatus, Southnatick, MA). Todas las bombas se calibraron antes de la administración del compuesto. Las ratas se anestesiaron con isoflurano antes de realizar exsanguinación por punción cardíaca en los momentos prescritos tras la
25 dosificación. Las ratas Sprague-Dawley y Long-Evans se

sacrificaron una a la vez en los momentos 0,5, 8,5, 24, 72, 168 y 336 hr después de la dosis.

Se obtuvieron muestras control de sangre entera de ratas macho Sprague-Dawley en tubos que contenían heparina sódica. Se usó sangre de una muestra común para preparar los estándares de calibración y las muestras de control de calidad. Los estándares se usaron para construir la curva estándar para la cuantificación de la distribución de fármaco con marca radiactiva en tejidos de criosecciones de sangre entera. Se usaron controles de calidad incluidos en el mismo bloque de CMC con cada rata, para evaluar la variación entre e intrasecciones en el espesor de criosecciones de cuerpo entero de rata.

Se diluyó en forma seriada una solución madre de 200 microCi/ml de [^{14}C]-glucosa (New England Nuclear, Boston, MA) con sangre entera de ratas macho Sprague-Dawley para obtener catorce estándares con las siguientes concentraciones: 832, 485, 250, 122, 48,6, 24,3, 12,0, 4,72, 2,36, 0,853, 0,638, 0,405, 0,327 y 0,221 nCi equiv./ml. Las concentraciones de GC bajas, medias y altas fueron de 12,39, 25,9 y 508 nCi equiv./ml.

Inmediatamente después de la eutanasia, se sumergió toda la rata en un baño de hexano y hielo seco ($-75\text{ }^{\circ}\text{C}$) hasta su congelación. Cada carcasa se secó y almacenó a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su inclusión. Cada animal se incluyó en un molde (15 cm x 45 cm) por el agregado de 10% descarboximetilcelulosa (CMC) de baja

viscosidad y su congelamiento al colocar la placa en una mezcla de hexano-hielo seco.

Los bloques congelados se transfirieron al Jung Cryomacrocut 3000 (Leica Instruments GmbH, Nussloch, Germany) y se dejaron equilibrar durante la noche hasta la temperatura interna del criótomo durante al menos 12 horas antes de cortar.

Cada rata congelada se sometió a cortes sagitales a -20°C . Se juntó una cantidad suficiente de cortes para asegurar el muestreo de todos los tejidos de interés. Las secciones se deshidrataron durante la noche en una criocámara y luego se transfirieron rápidamente a un desecador que contenía CaSO_4 para impedir la condensación de la humedad ambiente mientras se equilibraba a temperatura ambiente. Las secciones se montaron en cartón y se marcaron con $[^{14}\text{C}]$ -tinta negra con un número de identificación exclusivo. La tinta radiactiva se preparó con volúmenes iguales de tinta china y $[^{14}\text{C}]$ -CL-284846 (100 microCi/ml). Se colocó un pequeño trozo de cinta adhesiva sobre la tinta radiactiva seca para impedir la contaminación de las pantallas de almacenamiento de fósforo.

Las placas de imágenes de fósforo BAS-SR 2025 (Fuji Photo Film Co., Japan) se expusieron a luz visible brillante durante 20 minutos con un borrador IP (Raytest, USA Inc., New Castle, DE) para eliminar la radiación de fondo. Las secciones y los estándares de calibración de sangre se colocaron concurrentemente en contacto directo con Ips y se expusieron

durante 7 días. Todas las secciones se guardaron a temperatura ambiente en una caja protectora de plomo para minimizar los niveles de fondo. Se generaron las imágenes de fósforo con un Fujifilm BAS-5000 Bio-Imaging Analyzer y se cuantificaron
5 mediante MCID M2 Software, versión 3.2 (Imaging Research Inc., St. Catherines, Ontario, Canadá). Los STD y los CC se analizaron mediante la herramienta de muestreo circular del programa de software de MCID. Las zonas de interés en las secciones de cuerpo entero se marcaron manualmente con la
10 herramienta de muestreo regional para generar los datos de recuento.

Se determinaron las concentraciones radiactivas en tejidos seleccionados mediante análisis digital de las autorradiografías obtenidas en base a una curva de calibración.
15 Se generó una curva de calibración de las concentraciones establecidas (nCi/g) versus la respuesta de MCID, con luz fotoestimulada /mm² (PSL/ mm²-menos el fondo convertido a nCi/g) para cada estándar mediante análisis de regresión lineal calibrado (1/x²). Luego se usó la curva de regresión lineal
20 para determinar la concentración de la radiactividad desconocida de las muestras de estudio. Las regiones de interés (ROI) que visualmente exhibieron niveles de radiactividad se marcaron individualmente o se autoescanearon con herramientas de muestreo, a fin de obtener las concentraciones de
25 radiactividad. Para determinar el límite de cuantificación para

QWBAR, se determinaron coeficientes de variación respecto de los estándares de sangre estudiados, y se definió el límite de cuantificación como la menor concentración para la cual los coeficientes de variación no excedían el 15%.

5 Las alícuotas de plasma se combinaron con 10 ml de cóctel de recuento de centelleo Ultima Gold™ (Packard Inc.) y se contaron directamente. Las muestras de sangre se sometieron a combustión con un oxidador de muestras Model 307 (Packard Instrument Company). El [¹⁴C]O₂ obtenido se atrapó en Carbo-
10 Sorb®, se agregó cóctel de centelleo (PermaFluor®E+) y se cuantificaron las muestras mediante LSC.

Las muestras se contaron en un espectrofotómetro de centelleo líquido Packard 2700 TR (Canberra-Packard Co.) durante 10 minutos c 0,2 sigma. Las cuentas por minuto se
15 convirtieron en desintegraciones por minuto mediante el uso de una curva de apagado generada a partir de estándares externos de radiactividad conocida. Se determinó el apagado de cada estándar y muestra mediante variación espectral total. El límite de cuantificación (LOQ) para LSC se definió como dos
20 veces el fondo.

Se calcularon los parámetros farmacocinéticos para la radiactividad derivada de [¹⁴C]-GAR-936 mediante la infusión intravenosa en el módulo de análisis sin compartimientos (Model 202) WinNonlin, ver. 1.1, (Scientific Consultants, Inc.
25 Research Triangle Park, NC), que aplica un enfoque

independiente del modelo y procedimientos estándar como se describe en Gibaldi y Perrier. Gibaldi, *Farmacocinética*, 1982. Para determinar la concentración media se substituyó el cero por cualquier valor inferior al límite de cuantificación (5.10 ng equiv./g). Para la dosificación de la infusión IV, C30 min fue la concentración a los 30 minutos, el primer momento de muestreo. La concentración plasmática máxima (C_{max}) y el correspondiente momento de concentración pico tras la administración IV se obtuvieron directamente por inspección numérica a partir de cada dato de concentración-tiempo. La vida media terminal se calculó mediante la relación $\ln 2 / \lambda_z$ donde λ_z se derivó de la pendiente terminal de la curva de concentración/tiempo. La superficie bajo la curva concentración plasmática versus tiempo entre cero e infinito se calculó mediante la regla del trapecioide, donde C_{ultima} es la última concentración plasmática medible. Las proporciones entre concentración tisular y plasmática se calcularon de acuerdo con la siguiente ecuación: C_{tejido} / C_{plasma} , donde C_{tejido} equivale a la concentración de fármaco en tejido (ng equiv./g), y C_{plasma} equivale a concentración de fármaco en plasma (ng equiv./g).

La actividad específica de [^{14}C] tetrageciclina (base) se determinó por ensayo gravimétrico en 43,94 $\mu Ci/mg$ (Tabla 1). La concentración de la solución de dosificación fue de 1,02 mg/ml. Los animales recibieron una dosis promedio de $3,09 \pm 0,11/kg$ comparada con la dosis blanco de 3 mg/kg.

Resultados

Las concentraciones individuales (ng equiv./g) de radiactividad total en tejidos de ratas Sprague-Dawley tras una infusión IV de 3 mg/kg de [^{14} C]-tigeciclina se representan en la Tabla 6. Los parámetros farmacocinéticos en tejidos se presentan en la Tabla 7. Las relaciones entre tejido y plasma se presentan en la Tabla 8.

Se obtuvieron concentraciones pico individuales (C_{max}) de radiactividad total al final de la infusión para cada todos los tejidos. Los tejidos con las mayores concentraciones de radiactividad fueron riñón (7601 ng equiv./g), hígado (7300 ng equiv./g) y bazo (6627 ng equiv./g) (Tabla 7). Los tejidos con menor concentración pico de radiactividad fueron encéfalo (54 ng equiv./g) y ojo (108 ng equiv./g) (Tabla 7). C_{max} fue superior a 2000 ng equiv./g para la mayoría (70%) de los tejidos. La radiactividad derivada de tigeciclina a C_{max} fue menor en plasma que en todos los tejidos, salvo encéfalo, ojos, grasa y testículos (Tabla 7). A las 24 hs, todos los tejidos tenían concentraciones de radiactividad derivada de [^{14} C]-tigeciclina (Tabla 6) superiores a las de plasma, salvo en ojo.

Las concentraciones tisulares individuales de radiactividad a las 168 horas para la mayoría de los tejidos declinó hasta el 1% o menos, respecto de su C_{max} , salvo hueso, riñón, hígado, piel, bazo y tiroides (Tabla 6). Hacia las 336 horas, la mayoría de los tejidos tenían concentraciones

inferiores al límite de cuantificación (5,10 ng. equiv./g) excepto hueso, riñón, piel y tiroides. Sin embargo, las concentraciones en estos tejidos (hueso, tiroides, riñón y piel) se redujeron mucho respecto de C_{max} . En general, las concentraciones tisulares de radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina en hueso, riñón, piel y tiroides a las 336 horas eran del 19%, 0,18%, 0,43% y 6% de C_{max} , respectivamente.

Con AUC como medida de la carga tisular, hueso y tiroides tenían una carga mucho mayor que cualquier otro tejido. Los mayores valores de AUC se hallaron en hueso (794704 ng eq·hr/g), tiroides (330047 ng eq·hr/g), glándula salival (110979 ng eq·hr/g), riñón (70704 ng eq·hr/g), tiroides (33047 ng eq·hr/g), bazo (70522 ng eq·hr/g) e hígado (53527 ng eq·hr/g). Los tejidos con menor carga eran encéfalo (2865 ng eq·hr/g), grasa (3500 ng eq·hr/g) y testículos (10303 ng eq·hr/g). La exposición AUC en hueso era dos veces superior a la del siguiente tejido (tiroides). Los valores de la relación de AUC en tejido:plasma eran superiores a uno en la mayoría de los tejidos (Tabla 7).

La vida media terminal para la radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina varía desde un mínimo de 5 horas en grasa hasta más de 200 horas en hueso y tiroides, comparado con un $t_{1/2}$ plasmático de 24 horas (Tabla 7). Los tejidos con vida media de eliminación más prolongada fueron tiroides (804 horas), hueso (217 horas), piel (182 horas) y riñón (118 horas)

(Tabla 7).

Las relaciones de concentración tejido:plasma (Tabla 8) fueron superiores a uno en la mayoría de los tejidos, con excepción de encéfalo, ojo, testículo y grasa en los puntos temporales 0,5 y 8,5 horas. A las 24 horas, todas las relaciones eran superiores a uno. Las mayores relaciones entre tejido y plasma se observaron para algunos tejidos a 72 horas: hueso (414), tiroides (56), piel (19,3), bazo (16,7) y riñón (11,1). Las relaciones sangre:plasma fueron mayores a uno para todos los puntos temporales, lo cual sugiere que hubo sustancial particionamiento de la radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina hacia los eritrocitos.

También se evaluó la distribución de la radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina hacia los tejidos que contienen melanina (piel y tracto uveal) en ratas Long-Evans hasta 336 horas después de la dosis. Las concentraciones en sangre y plasma de radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina en ratas Long-Evans fueron similares a ratas Sprague-Dawley (Tablas 2 y 5). Las concentraciones de radiactividad pico (C_{max}) se observaron al final de la infusión (0,5 horas) para piel, tracto uveal, plasma y sangre (Tabla 9). La C_{max} de la radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina en piel y tracto uveal fue de 1997 y 2502 ng equiv./g, respectivamente. La AUC para la radiactividad derivada de [^{14}C] [^{14}C]-tigeciclina en piel y tracto uveal fue de 109.296 y 233.288 ng equiv·hr/g,

respectivamente. Las vidas medias terminales para piel y tracto uveal fueron de 473 y 20 horas, respectivamente (Tabla 10). Los valores de vida media son de incuestionable importancia, dado que no se pudieron identificar con certeza las fases de
5 eliminación en el perfil de concentración-tiempo. Esto también se refleja en la extrapolación de los datos AUC para tracto uveal y piel.

Las relaciones de concentración tejido:plasma fueron superiores a uno para piel y tracto uveal en todos los puntos
10 de tiempo (Tabla 7). Las mayores relaciones globales entre tejido y plasma se observaron a las 72 horas en piel (179) y tracto uveal (393). Las relaciones de AUC tejido:plasma fueron 8,45 y 18,0 para piel y tracto uveal, respectivamente, e indican que estos tejidos retienen selectivamente
15 concentraciones significativas de radiactividad derivada de [¹⁴C]-tigeciclina. Los datos sugieren que la radiactividad es selectivamente particionada en la región del ojo de rata que contiene melanina. Las concentraciones tisulares medias de radiactividad a las 336 horas para piel y tracto uveal
20 declinaron a 8 y 1% de C_{max} , respectivamente.

Tabla 6

Concentraciones medias de radiactividad total en tejidos después de una única infusión durante 30 Minutos de [^{14}C]-tigeciclina en ratas macho Sprague-Dawley

Tipo de tejido	0,5 Hrs	8,5 Hrs.	24 Hrs.	72 Hrs.	168 Hrs.	336 Hrs.
Sangre	1.277	624	44,5	11,8	1,87	<1,03
Plasma	895	504	14,8	4,31	<1,03	<1,03
Glándula suprarrenal	3.580	941	68,9	19,3	<5,10	<5,10
Hueso	3.312	3.794	2.711	1.787	1526	720
Médula ósea	4.376	1.562	291	22,5	<5,10	<5,10
Encéfalo	35,8	54,3	35,8	13,3	<5,10	<5,10
Ojo	106	108	36,6	6,76	<5,10	<5,10
Grasa	450	144	<5,1	<5,10	<5,10	<5,10
Corazón	5.657	1.138	69,9	6,98	<5,10	<5,10
Riñón	7.601	1.725	140	47,9	41,3	13,9
Hígado	7.300	1.192	160	22,7	13,3	<5,10
Pulmón	2.981	496	73,1	13,5	<5,10	<5,10
Ganglio linfático	3.473	1.276	180	29,1	<5,10	<5,10

Músculo	2.260	1.863	85,8	6,24	<5,10	<5,10
Páncreas	4.437	971	70,0	7,41	<5,10	<5,10
Hipófi- sis	3.693	2.014	144	18,8	<5,10	<5,10
Glándula salival	5.771	6.313	300	31,6	<5,10	<5,10
Piel	1.929	577	249	83,1	7,32	8,34
Bazo	6.627	1.691	476	72,0	18,8	<5,10
Testícu- lo	347	361	119	16,4	<5,10	<5,10
Timo	2.528	1.590	158	15,3	<5,10	<5,10
Tiroides	2.992	1.762	354	242	218	187

94
341

Tabla 7

Parámetros farmacocinéticos de radiactividad total en tejidos tras una única infusión de 30 minutos de [^{14}C]-tigeciclina en ratas macho Sprague-Dawley

Tipo de tejido	Cmax Ng equiv/g	T _{1/2}	AUC Ng eq hr/g	AUC Ng eq hr/g	AUC tejido:plasma
Sangre	1.277	105	12.063	1.261	1,15
Plasma	895	24	10.643	10.652	1,00
Glándula suprarrenal	3.580	13	29.153	29.515	2,77
Hueso	3.794	217	569.498	794.704	74,6
Médula ósea	4.376	11	47.116	47.468	4,46
Encéfalo	54	32	2.256	2.865	0,269
Ojo	108	17	3.060	3.221	0,302
Grasa	450	5	2.489	3.500	0,329
Corazón	5.657	9	40.083	40.179	3,77
Riñón	7.601	118	68.333	70.704	6,64
Hígado	7.300	44	52.676	53.527	5,03
Pulmón	2.981	13	21.263	21.523	2,02
Ganglio linfa-	3.473	13	36.478	37.010	3,47

tico					
Músculo	2.260	8	34.833	34.910	3,28
Páncreas	4.437	10	32.908	33.014	3,10
Hipófi- sis	3.693	10	44.882	45.164	4,24
Glándula salival	6.313	9	110.558	110.979	10,4
Piel	1.929	182	31.819	36.471	3,42
Bazo	6.627	33	69.638	70.522	6,62
Testícu- lo	361	15	9.975	10.323	0,97
Timo	2.528	10	35.204	35.430	3,33
Tiroides	2.992	804	113.022	330.047	31,0

Tabla 8

Relación tejido:plasma tras una única infusión de 30 minutos de
[¹⁴C]-tigeciclina en ratas macho Sprague-Dawley

Tipo de tejido	0,5 Hrs	8,5 Hrs.	24 Hrs.	72 Hrs.	168 Hrs.	336 Hrs.
Sangre	1,43	1,24	3,01	2.74	NA	NA
Plasma	1,00	1,00	1,00	1.00	NA	NA
Glándula suprar- renal	4,00	1,87	4,67	4.47	NA	NA

Hueso	3,70	7,53	184	414	NA	NA
Médula ósea	4,89	3,10	19,7	5,21	NA	NA
Encéfalo	0,040	0,108	2,42	3,10	NA	NA
Ojo	0,118	0,215	2,46	1,57	NA	NA
Grasa	0,50	0,287	NA	NA	NA	NA
Corazón	6,32	2,26	4,74	1,62	NA	NA
Riñón	8,49	3,42	9,49	11,1	NA	NA
Hígado	8,16	2,37	10,8	5,26	NA	NA
Pulmón	3,33	0,984	4,96	3,13	NA	NA
Ganglio linfáti-co	3,88	2,53	12,2	6,75	NA	NA
Músculo	2,52	3,70	5,801	1,457	NA	NA
Páncreas	4,96	1,93	4,75	1,72	NA	NA
Hipófi-sis	4,13	4,00	9,79	4,36	NA	NA
Glándula salival	6,45	12,53	20,3	7,32	NA	NA
Piel	2,15	1,14	16,9	19,3	NA	NA
Bazo	7,40	3,36	32,3	16,7	NA	NA
Testicu-lo	0,388	0,716	8,08	3,80	NA	NA
Timo	2,82	3,16	10,7	3,55	NA	NA
Tiroides	3,34	3,50	24,0	56,0	NA	NA

Tabla 9

Concentración media (ng equiv./g) de radiactividad total en tejidos después de una única infusión de 30 minutos de [^{14}C]-tigeciclina en ratas macho Long-Evans

Tipo de tejido	0,5 Hrs	24 Hrs.	72 Hrs.	168 Hrs.	336 Hrs.
Sangre	1.296	340	11,8	2,72	1,24
Plasma	975	70,5	4,31	<1,03	<1,03
Tracto uveal	1.997	124	96,5	74,8	19,3
Piel	2.502	2.363	1.787	351	211

5

Tabla 10

Parámetros farmacocinéticos de radiactividad total en tejidos después de una única infusión de 30 minutos de [^{14}C]-tigeciclina en ratas macho Long-Evans

Tipo de tejido	C _{max} Ng equiv/g	T _{1/2}	AUC Ng eq hr/g	AUC Ng eq hr/g	AUC tejido:plasma
Sangre	1.296	62	21.843	21.954	1,70
Plasma	975	19	12.923	12.938	1,00
Piel	1.997	473	58.287	109.296	8,45
Tracto uveal	2.502	201	131.346	233.288	18,0

. 7 .

Tabla 11

Relación tejido:plasma después de una única infusión de 30 minutos de [^{14} C]-tigeciclina en ratas macho Long-Evans

Tipo de tejido	0,5 Hrs	24 Hrs.	72 Hrs.	168 Hrs.	336 Hrs.
Sangre	1,33	4,81	5,05	5,05	NA
Plasma	1,00	1,00	1,00	1,00	NA
Piel	2,05	8,76	179	179	NA
Tracto uveal	2,57	25,7	393	393	NA

Análisis

La distribución de la radiactividad a los tejidos se evaluó después de una única infusión de 30 minutos (3 mg/kg) de [^{14}C]-tigeciclina en ratas macho Long-Evans y Sprague-Dawley.

5 La radiactividad se distribuyó rápidamente a los tejidos, con Cmax observada al final de la infusión (0,5 hr) para la mayoría de los tejidos. Las concentraciones tisulares fueron similares a un estudio conducido previamente por el método de disección de tejidos. La extensa distribución de tigeciclina en diversos
10 tejidos sugiere un volumen de distribución muy grande. Este hallazgo confirma la observación previa de un elevado volumen de distribución en ratas y perros. En general, la eliminación de la radiactividad de la mayoría de los tejidos fue más lenta que la velocidad en plasma.

15 Las concentraciones de radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina en tejidos de ratas Sprague-Dawley fue mayor que en plasma en la mayoría de los puntos de tiempo. Las concentraciones tisulares de radiactividad a las 168 horas para la mayoría de los tejidos declina a 1% o menos, respecto de los
20 valores al final de la infusión. A las 336 horas, las concentraciones en hueso, tiroides, riñón y piel declinaron a 19%, 6,25%, 0,18% y 0,43% de los valores de Cmax, respectivamente.

Los tejidos con los mayores valores de exposición en ratas
25 Sprague-Dawley, como se indica con los valores medios de AUC,

fueron hueso, tiroides, glándulas salivales, riñón y bazo. Las vidas medias de eliminación fueron bastante largas (5 a 217 horas), donde las vidas medias de eliminación más prolongadas en hueso, piel y tiroides. El valor de la vida media para el tejido tiroide es cuestionable, dado que las fases de eliminación en el perfil concentración-tiempo no se pudieron identificar con certeza. Esto también se refleja en la extrapolación de los datos AUC a AUC.

Las relaciones entre tejido y sangre o plasma fueron mayores de uno para todos los puntos de tiempo, o que sugiere que hubo sustancial particionamiento de la radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina a los tejidos y las células de la sangre. Los resultados de la relación tejido:plasma obtenidos en este estudio son similares a los resultados de la relación tejido:plasma de la rara después de una dosis IV de minociclina.

Si bien no está limitado por la teoría, las elevadas concentraciones de radiactividad en hueso se pueden deber a la quelación de tigeciclina con calcio. La capacidad de las tetraciclinas (minociclina, clortetraciclinas) para formar complejos de quelación con calcio u otros iones metálicos, y así adherirse al hueso ha sido descrita en la bibliografía. En el estudio actual, la radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina era retenida significativamente en hueso, con AUC de 794.704 ng equiv·hr/g. Este valor es aproximadamente 75

veces más elevado que en plasma. En hueso también se observó una vida media de eliminación aparente de 217 horas. La retención de radiactividad en hueso puede ser responsable de la recuperación algo incompleta ($89,4 \pm 2,50\%$) de [^{14}C]-tigeciclina en un estudio de equilibrio de masa en ratas macho Sprague-Dawley observada tras una dosis intravenosa de 5 mg/kg. La exposición (AUC) en hueso fue 2,5 veces superior que en el siguiente tejido, en valor elevado (tiroides). La radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina también mostró una fuerte afinidad y vida media prolongada para los tejidos de hueso y tiroides, similar a otras tetraciclinas conocidas.

Las concentraciones de radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina se detectaron hasta 336 horas en el riñón y fueron más elevadas que las de otros tejidos, excepto hueso y tiroides. No obstante, en el estudio de equilibrio de masa, además del estudio de excreción biliar y urinaria, la mayor parte de la radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina se excretó durante las primeras 48 horas, lo cual sugiere que parte de la radiactividad derivada de [^{14}C]-tigeciclina puede ser fijadora, con gran afinidad por el tejido renal. La fijación al tejido renal también es conocida en las tetraciclinas.

Como se determinó mediante QWBAR, la radiactividad presente en tejidos oculares de rata, sólo se particionó selectivamente en los tejidos que contienen melanina del tracto

uveal, además de la piel de ratas Long-Evans. El tracto uveal tenía concentraciones relativamente elevadas de radiactividad en todos los puntos temporales después de 0,5 horas, lo cual sugiere un significativo nivel de exposición y una vida media prolongada. En un estudio realizado con anterioridad mediante el método de disección de tejidos, la evaluación del globo ocular intacto reveló la presencia de radiactividad en este órgano; sin embargo, no fue posible asociar la ubicación de esta radiactividad en ningún tejido ocular específico.

10 Las concentraciones de los 14 estándares y 28 QCS determinados por recuento convencional de centelleo líquido (LSC) fueron similares a las evaluaciones QWBAR para estos mismos estándares. La exposición de estos estándares a 14 pantallas de almacenamiento de fósforo diferentes dio por
15 resultado una respuesta MCID confiable que se correlacionaba con las actividades específicas determinadas por LSC, lo cual sugiere que la variabilidad entre días e intra días era muy baja. La CV y la exactitud del método QWBAR estaban dentro de límites aceptables ($\leq 20\%$). La reproducibilidad de la respuesta
20 MCID y la buena correlación de las actividades específicas entre LSC convencional y QWBAR demostraron que los estándares RBC tenía concentraciones uniformes de radiactividad. Se consideró que la variabilidad observada en este estudio se relacionaba con diversos aspectos de los cortes congelados, la
25 técnica QWBAR y el análisis por imágenes. Se demostró que QWBAR

era reproducible, con una sensibilidad de 0,221 nCi/g (límite inferior de cuantificación). El rango¹ dinámico era lineal a través de cuatro órdenes de magnitud entre 0,221 y 832 nCi/g.

En conclusión, las concentraciones tisulares de
5 radiactividad derivada de [¹⁴C]-tigeciclina eran superiores para la mayoría de los tejidos que para las concentraciones plasmáticas. En general, la eliminación de la radiactividad proveniente de la mayoría de los tejidos era más lenta que la tasa proveniente del plasma. La AUC era más elevada para la
10 mayoría de los tejidos que para el plasma, lo cual sugiere que la mayoría de los tejidos eliminaba lentamente la radiactividad derivada de [¹⁴C]-tigeciclina.

. 7 1

. 7 1

REIVINDICACIONES

1. Un método para el tratamiento de una infección en hueso o médula ósea en un mamífero, que comprende la
5 administración al mamífero de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1 que, además, comprende la administración de un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina,
10 rifapentina, rifaximina o estreptovaricina.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, donde el agente antimicrobiano es rifampicina.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3, donde la infección comprende un agente patógeno seleccionado
15 del grupo formado por bacterias gramnegativas, bacterias grampositivas, bacterias anaerobias y bacterias aerobias.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, donde el agente patógeno se selecciona del grupo formado por *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Haemophilus*,
20 *Salmonella*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Rickettsia*, *Pneumococci*, *Prevotella*, *Peptostreptococci*, *Bacteroides* *Legionella*,

estreptococos beta-hemolíticos, estreptococos grupo B y espiroquetas.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde la infección comprende *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus*
5 y *Haemophilus*.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, donde la infección comprende *Neisseria meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, o *Haemophilus influenzae*.

10 8. El método de acuerdo con la reivindicación 4, donde le agente patógeno exhibe resistencia a antibióticos.

9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, donde la resistencia a antibióticos se selecciona del grupo formado por resistencia a meticilina, resistencia a glucopéptidos,
15 resistencia a tetraciclinas, resistencia a oxitetraciclina, resistencia a doxiciclina; resistencia a clortetraciclina, resistencia a minociclina, resistencia a glicilciclina, resistencia a cefalosporinas, resistencia a ciprofloxacina, resistencia a nitrofurantoína, resistencia a trimetoprima-
20 sulfas, resistencia a piperacilila/tazobactam, resistencia a moxifloxacina, resistencia a vancomicina, resistencia a teicoplanina, resistencia a penicilina y resistencia a macrólidos.

10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, donde la resistencia a glucopeptido resistencia a vancomicina.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde el agente patógeno se selecciona del grupo formado por
5 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*,
Streptococcus pneumoniae, o *Streptococcus pyogenes*.

12. El método de acuerdo con la reivindicación 11, donde la infección comprende *Staphylococcus aureus*.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, donde
10 el *Staphylococcus aureus* exhibe resistencia a antibióticos
seleccionada del grupo formado por resistencia a glucopeptido,
resistencia a tetraciclina, resistencia a minociclina,
resistencia a meticilina, resistencia a vancomicina y
resistencia a un antibiótico de glicilciclina distinto de
15 tigeciclina.

14. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde la infección comprende *Acinetobacter baumannii*.

15. El método de acuerdo con la reivindicación 14, donde *Acinetobacter baumannii* exhibe resistencia a antibiótico
20 seleccionada del grupo formado por resistencia a cefalosporina,
resistencia a ciprofloxacina, resistencia a nitrofurantoína,

resistencia a trimetoprima-sulfas, y resistencia a piperacilina/tazobactam.

16. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde la infección comprende *Mycobacterium abscessus*.

5 17. El método de acuerdo con la reivindicación 16, donde el *Mycobacterium abscessus* exhibe resistencia a moxifloxacin.

18. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde la infección comprende *Haemophilus influenzae*.

10 19. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde la infección comprende *Enterococcus faecium*.

20. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde la infección comprende *Escherichia coli*.

21. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde la infección comprende *Neisseria gonorrhoeae*.

15 22. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde la infección comprende *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia typhi* o *Rickettsia rickettsii*.

23. El método de acuerdo con la reivindicación 4, donde la infección causa osteomielitis.

20 24. Un método para el tratamiento de una infección articular o una infección de los tejidos circundantes de la

articulación en un mamífero, que comprende la administración al mamífero de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina.

25. El método de acuerdo con la reivindicación 1 que, además, comprende la administración de un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina o estreptovaricina.

26. El método de acuerdo con la reivindicación 25, donde al agente antimicrobiano es rifampicina.

27. El método de acuerdo con la reivindicación 24, 25 o 26, donde la infección comprende un agente patógeno se selecciona del grupo formado por bacterias gramnegativas, bacterias grampositivas, bacterias anaerobias y bacterias aerobios.

28. El método de acuerdo con la reivindicación 27, donde el agente patógeno se selecciona del grupo formado por *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Rickettsia*, *Pneumococci*, *Prevotella*, *Peptostreptococci*, *Bacteroides*, *Legionella*, estreptococo beta-hemolítico, estreptococos grupo B y espiroquetas.

29. El método de acuerdo con la reivindicación 28, donde la infección comprende *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus*, y *Haemophilus*.

30. El método de acuerdo con la reivindicación 29, donde la infección comprende *Neisseria meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* o *Haemophilus influenzae*.

31. El método de acuerdo con la reivindicación 27, donde el agente patógeno exhibe resistencia a antibióticos.

32. El método de acuerdo con la reivindicación 31, donde la resistencia a antibióticos se selecciona del grupo formado por resistencia a meticilina, resistencia a glucopéptido, resistencia a tetraciclina, resistencia a oxitetraciclina, resistencia a doxiciclina; resistencia a clortetraciclina, resistencia a minociclina, resistencia a glicilciclina, resistencia a cefalosporina, resistencia a ciprofloxacina, resistencia a nitrofurantoína, resistencia a trimetoprima-sulfas, resistencia a piperacilina/tazobactam, resistencia a moxifloxacina, resistencia a vancomicina, resistencia a teicoplanina, resistencia a penicilina y resistencia a macrólidos.

33. El método de acuerdo con la reivindicación 32, donde la resistencia a glucopéptido es resistencia a vancomicina.

34. El método de acuerdo con la reivindicación 28, donde el agente patógeno se selecciona del grupo formado por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, o *Streptococcus pyogenes*.

5 35. El método de acuerdo con la reivindicación 34, donde la infección comprende *Staphylococcus aureus*.

36. El método de acuerdo con la reivindicación 35, donde el *Staphylococcus aureus* exhibe resistencia a antibiótico seleccionada del grupo formado por resistencia a glucopéptido,
10 resistencia a tetraciclina, resistencia a minociclina, resistencia a meticilina, resistencia a vancomicina y resistencia a un antibiótico glicilciclina distinto de tigeciclina.

37. El método de acuerdo con la reivindicación 28, donde
15 la infección comprende *Acinetobacter baumannii*.

38. El método de acuerdo con la reivindicación 37, donde *Acinetobacter baumannii* exhibe resistencia a un antibiótico seleccionado del grupo formado por resistencia a cefalosporina, resistencia a ciprofloxacina, resistencia a nitrofurantoína,
20 resistencia a trimetoprima-sulfas, y resistencia a piperacilina/tazobactam.

39. El método de acuerdo con la reivindicación 28, donde la infección comprende *Mycobacterium abscessus*.

40. El método de acuerdo con la reivindicación 39, donde *Mycobacterium abscessus* exhibe resistencia a moxifloxacin⁷¹a.

5 41. El método de acuerdo con la reivindicación 28, donde la infección comprende un agente patógeno seleccionado del grupo formado por *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia typhi* o *Rickettsia rickettsii*.

10 42. El método de acuerdo con la reivindicación 27, donde la infección articular o la infección de los tejidos circundantes a la articulación causan artritis séptica.

43. El uso de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina para el tratamiento de infecciones en hueso, médula
15 ósea o articulaciones en un mamífero.

44. El uso de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina y un agente antimicrobiano seleccionado del grupo formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina, o estreptovaricina para el tratamiento de infecciones de hueso,
20 médula ósea o articulares en un mamífero.

45. El uso de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina para la fabricación de un medicamento para el

tratamiento de infecciones de hueso, médula ósea o articulares en un mamífero.

46. El uso de una cantidad farmacológicamente efectiva de tigeciclina y un agente antimicrobiano seleccionado del grupo
5 formado por rifamicina, rifampicina, rifapentina, rifaximina, o estreptovaricina para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de infecciones de hueso, médula ósea o articulaciones en un mamífero.

47. El uso de las reivindicaciones 43 - 45, donde la
10 infección de hueso o médula ósea causa osteomielitis.

48. El uso de las reivindicaciones 43 - 45, donde la infección articular o la infección de los tejidos circundantes de la articulación causa artritis séptica.

. 7 1

7 1

RESUMEN

La presente invención está dirigida a un método para el tratamiento de infecciones de hueso o médula ósea, infección de la articulación o infección de los tejidos circundantes a la articulación por la administración del antibiótico tigeciclina sola o en combinación con un antibiótico de rifamicina. En una realización de preferencia, la infección de hueso o de médula ósea causa osteomielitis. En otra realización, la infección articular o infección de los tejidos circundantes causa artritis séptica. La invención también está dirigida a la fabricación de un medicamento para el tratamiento de infecciones de hueso y/o médula ósea, o infecciones articulares y/o infecciones en los tejidos circundantes a la articulación con tigeciclina sola o en combinación con rifampicina.

774
301

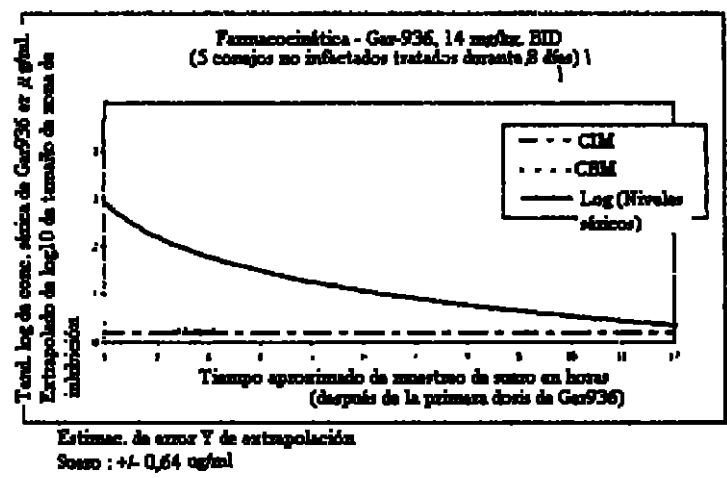


Fig 1 Pharmacocinética en conejos normales New Zealand White

. 7 1

. 7 1

. 7 1

7/5
362

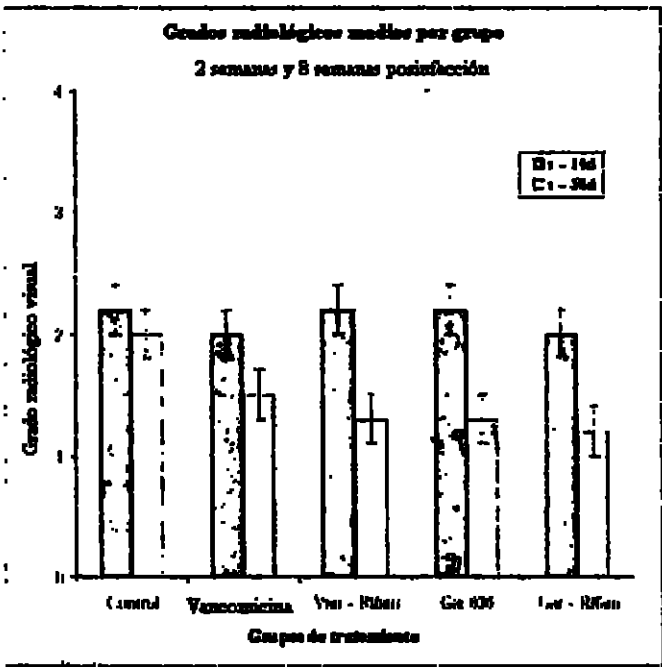
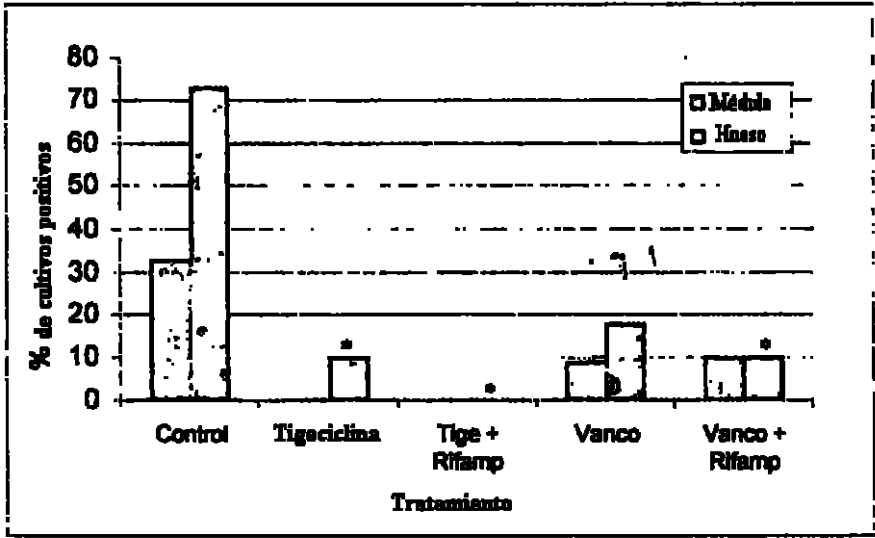


Fig. 2 Se muestran los grados radiológicos medios los días 14 y 56 en cada grupo.
Control: grupo control, sin tratamiento; Vancomicina: grupo tratado con vancomicina subcutánea; Van - Rifam: grupo tratado con vancomicina subcutánea y rifampicina oral.
Gar-936: grupo tratado con Gar-936 subcutáneo;
Gar + Rifam: grupo tratado con Gar-936 subcutáneo y rifampicina oral

7/6
263

Figura 3
Recuperación de MRSA de estudio de osteomielitis en conejo



* Indica diferencia significativa con el control $p \leq 0.004$

Wyeth
Pharm.

71

71

71

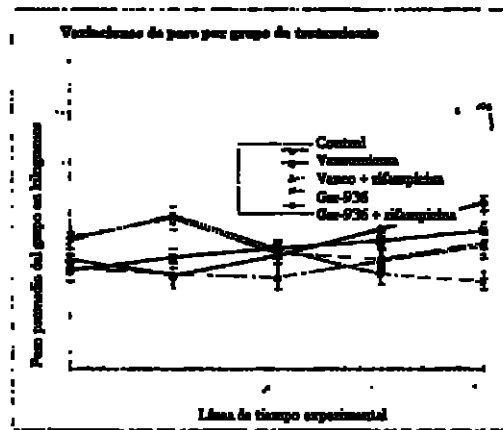
272
304

Fig. 4a. Se muestra el peso promedio del grupo durante el experimento.

Control: grupo control, sin tratamiento.

Venclozina: grupo tratado con Venclozina subcutánea.

Venclozina + rifampicina: grupo tratado con Venclozina subcutánea y rifampicina oral.

Gm-936: grupo tratado con Gm-936 subcutáneo.

Gm-936 + rifampicina: grupo tratado con Gm-936 subcutáneo y rifampicina oral.

178
365

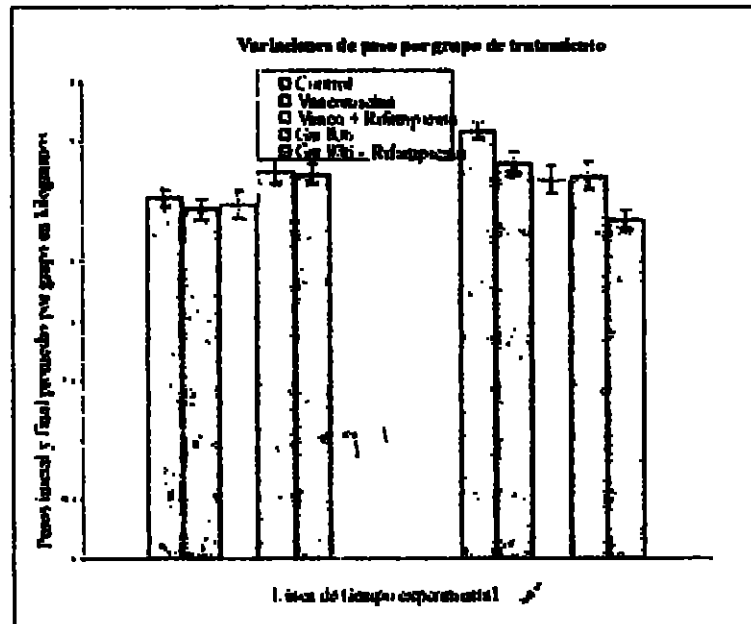


Fig 4b Se muestran los pesos inicial y final (promedio) de cada grupo.

Ctr de grupo control, sin tratamiento
 Vasconitina: grupo tratado con vasconitina subcutánea
 Vasco + Rifampicina: grupo tratado con vasconitina subcutánea y rifampicina oral
 Ctr 936: grupo tratado con Ctr 936
 Ctr 936 + Rifampicina: grupo tratado con Ctr 936 subcutánea y rifampicina oral

279
366

Figura 5a Concentración pico y valle de Gas-936 en suero de conejo

Gas-936 14 mg/kg BW, SC. Las muestras se obtuvieron 1 y 12 horas después de la primera dosis

Pico (1 hora)							
conejo	grupo	Diámetro 1 (mm)	Diámetro 2 (mm)	Diámetro 3 (mm)	Media de diámetro	Desviación estándar	Error estándar de media
117	2	16.5	16.5	16.5	16.50	0.0	0.01
119	2	18	18	17	18.00	0.0	0.01
120	2	16.5	16.5	16.5	16.50	0.0	0.01
125	2	17	17.2	17.5	17.23	0.2	0.12
126	2	16.5	16.5	16.5	16.50	0.0	0.01
128	2	16.5	16.5	16.5	16.50	0.0	0.01
Subtendencia promedio: mm					16.97	0.0	0.01
Eq. 18					0.21	-2.00168	-2.00438
concentrac. Gas-936 14 mg/kg					1.82	0.00	0.00

Valle (hora 12)							
conejo	grupo	Diámetro 1 (mm)	Diámetro 2 (mm)	Diámetro 3 (mm)	Media de diámetro	Desviación estándar	Error estándar de media
117	2	14	14	11	13.00	0.0	0.01
119	2	14	14	14	14.00	0.0	0.01
120	2	11	13.2		13.00	0.1	0.23
125	2	12.6	13		12.80	0.1	0.21
126	2	11	12		12.50	0.5	0.29
128	2	14	13		13.50	0.5	0.29
Subtendencia promedio: mm					13.76	0.3	0.17
Eq. 18					-0.32	-2.38	-2.38
concentrac. Gas-936 14 mg/kg					0.46	0.00	0.00

720
367

Figura 5b Pico y valle para vancomicina en suero de conejo

Vancomicina 30 mg/kg SID, SC Se obtuvieron muestras de suero a 1 y 12 horas después de la primera dosis

Pico (Corta 1)							
conejo	grupo	Diámetro 1 (mm)	diámetro 2 (mm)	diámetro 3 (mm)	media de diámetro	desviación estándar	error estándar de media
110	1	18.1	19		18.75	0.3	0.11
111	1	17.2	17.2	36	18.00	0.0	0.33
112	1	18.5	18.8	18.8	18.80	0.0	0.00
113	1	12.3	12.3		12.30	0.0	0.00
114	1	14.3			14.30	0.0	0.00
115	1	18.1	18.4	18.1	18.40	0.0	0.00
absorbencia promedio: mm					14.84	0.3	0.09
Corta 2					14.81	0.37	0.09
concent. vancomicina (µg/ml)					14.30	1.00	0.09

Valle (Corta 1)							
conejo	grupo	diámetro 1 (mm)	diámetro 2 (mm)	diámetro 3 (mm)	media de diámetro	desviación estándar	error estándar de media
110	1	8	8	8	8.00	0.0	0.00
112	1	8	8	8	8.00	0.0	0.00
114	1	10.5	10.5	10.5	10.50	0.0	0.00
116	1	8	8	8	8.00	0.0	0.00
118	1	11.5	11.5	11.8	11.60	0.1	0.08
113	1	13.1	13.1	13.4	13.40	0.0	0.00
absorbencia promedio: mm					9.94	0.07	0.07
Corta 2					9.95	0.09	0.09
concent. vancomicina (µg/ml)					9.40	0.10	0.09

71

71

727
368

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/028980

A. Clasificación de la Materia:

5 IPC 7: A61K31/496 A61P19/02 A61P31/04 A61P31/65

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (IPC)
o con la clasificación nacional e IPC.

B. Campos de Búsqueda:

10 Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido
por símbolos de clasificación)

IPC 7 A61K

Documentación buscada además de la documentación mínima en la
medida en que tales documentos están incluidos en los campos de

15 búsqueda:

--

Base de datos electrónica consultada, durante la búsqueda
internacional (nombre de la base de datos y, si es posible,
términos de búsqueda usados):

20 EPC-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, BIOSIS

782
369

C. Documentos Considerados Relevantes

Categoría*	Cita de documento, indicando, si corresponde, los pasajes relevantes	Relevante para la reivindicación N°
Y	NORDEN C W ET AL: "Chronic staphylococcal osteomyelitis: treatment with regimens containing rifampin" REVIEWS OF INFECTIOUS DISEASES. JULIO-AGOSTO 1983, vol. 5 Suplemento 3, julio 1983 (07-1983), páginas S495-S501, XP009041L854. SIN: 0162-0886. Tabla 1	1-23, 43-47
Y	WO 03/005971 A (PARATEK PHARMACEUTICALS INC) 23 de enero de 2003 (23-01-2003). Página 110; ejemplo DZ Página 98, línea 10 - línea 31 Ejemplo 24 Reivindicación 3 Página 100; ejemplo A	1-23, 43-47

[x] Se mencionan otros documentos en la continuación del Casillero C.

[x] Se mencionan miembros de familia de patente en el anexo.

* Categorías especiales de documentos citados:

"A": documento que define el estado general del arte que no se considera de particular relevancia . 7 1

"E": documento anterior pero publicado en la fecha de
5 presentación internacional o con posterioridad a ella.

"L": documento que puede arrojar dudas sobre la reivindicación de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra cita o por otra razón especial (especificada).

10 "O": documento que refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otro medio. . 7 1

"P": documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

15 "T": documento posterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o a la fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para comprender un principio o teoría que sustenta la invención.

"X": documento de particular relevancia: la invención
20 reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que implica un paso inventivo cuando el documento se toma solo.

"Y": documento de particular relevancia: la invención
reivindicada no puede considerarse que implica un paso
25 inventivo cuando el documento se combina con otro u otros

124
371

. 7 1

documentos, siendo dicha combinación obvia para un experto en el arte.

"&": documento miembro de la misma familia de patentes.

Fecha de la finalización efectiva de la búsqueda internacional:

5 21 de diciembre de 2004

Fecha de envío del informe de búsqueda internacional: 1-07-2005

Nombre y domicilio para correspondencia de la ISA

Oficina de Patentes Europea, P.B. 5818, Patentlaan 2

NL-2280 HV Rijswijk

10 Tel: (31-70) 340-2040. Tx 31 651 epo nl

Fax: (31-70) 340-3016

Funcionario autorizado: Giacobbe, S

Formulario PCT/ISA/210 (página dos) (enero de 2004)

15 INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°: PCT/US2004/028980

C. (Continuación) Documentos Considerados Relevantes

Categoría*	Cita de documento, indicando, si corresponde, los pasajes relevantes	Relevante para la reivindicación N°
Y	MERCIER RENEE-CLAUDE ET AL: "Antimicrobial activity of tigecycline (GAR-936) against Enterococcus faecium and	1-48

. 7 1

	Staphylococcus aureus used alone and in combination." PHARMACOTHERAPY, vol.22, N°12, diciembre 2002 (12-2002), páginas 1517-1523, XP009041884 ISSN: 0277-0008 Tabla 1 Tabla 2 Página 1520, columnna 2, línea 9 - línea 11 Página 1521, columnna 2, línea 12 - línea 14 Página 1522, columnna 1, último párrafo	
Y	WO L02/102384 (GARDNER REBECCA; ORTHOGENICS AS (NO); EL-GEWELY MOHAMED RAAFAT (NO)) 27 de diciembre de 2002 (27-12-2002) Reivindicaciones 1-5	24-46, 48
Y	PATEL R ET AL: "In vitro activity of GAR-936 against vancomycin-risistant enterococci, methicillin-resistant Staphylococcus aureus	1-48

	Staphylococcus aureus used alone and in combination."	
	PHARMACOTHERAPY, vol.22, N°12, diciembre 2002 (12-2002), páginas 1517-1523, XP009041884 ISSN: 0277-0008	
	Tabla 1	
	Tabla 2	
	Página 1520, column 2, línea 9 - línea 11	
	Página 1521, column 2, línea 12 - línea 14	
	Página 1522, column 1, último párrafo	
Y	WO L02/102384 (GARDNER REBECCA; ORTHOGENICS AS (NO); EL-GEWELY MOHAMED RAAFAT (NO)) 27 de diciembre de 2002 (27-12-2002)	24-46, 48
	Reivindicaciones 1-5	
Y	PATEL R ET AL: "In vitro activity of GAR-936 against vancomycin-resistant enterococci, methicillin-resistant Staphylococcus aureus	1-48

726
373-

	of penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae" DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE, NOV. 2000, Vol. 38, N°3, Noviembre 2000 (11-2000), páginas 177-179, XP002311637 ISSN: 0732-8893 El documento completo	
Y	ZIMMERLI W ET AL: "Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. Foreign-Body infection (FBI) Study Group." JAMA: THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION. 20 de mayo de 1998, Vol. 279, N°19, 20 de mayo de 1998 (20-05-1998), páginas 1537-1541, XP009041853 ISSN: 0098-7484 El documento completo	1-48

727
374

Y	LEW D P ET AL: "Osteomyelitis" THE NEW ZEALAND JOURNAL OF MEDICINE. 3 de abril de 1997, vol. 336, N°14, 3 de abril de 1997 (3-04-1997), páginas 999-1007, XP009041924 ISSN: 0028-4793 Tabla 1	1-23, 43-47
---	---	-------------

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

C. (Continuación) Documentos Considerados Relevantes

Categoría*	Cita de documento, indicando, si corresponde, los pasajes relevantes	Relevante para la reivindicación N°
Y	VARIOS: "The Merck Index, 7th Ed." 1999, MERCK RESEARCH LABORATORIES WHITEHOUSE STATION, NJ, ESTADOS UNIDOS, XP002311638 página 455 - página 460	1-48
P, Y	WO 03/099217 A (ACTIVBIOTICS INC) 4 de diciembre de 2003 (4-12-2003)1	1-48

728
375

	Reivindicaciones 1, 8	
	Página 6, línea 20 - página 7,	
	línea 21	

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028960

5 Casillero N° II. Observaciones cuando ciertas reivindicaciones se consideraron no buscables (Continuación del punto 2 de la página 1).

Este Informe de Búsqueda Internacional no se ha establecido con respecto a ciertas reivindicaciones conforme a la Cláusula

10 17(2)(a) por los siguientes motivos:

1. ☒ Reivindicaciones N°:

porque se relacionan con un objeto ⁷¹que no se requiere que busque esta Autoridad, a saber:

Aunque las reivindicaciones 1-44, 47 y 48 se refieren a un
15 método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda se ha realizado y basado en los supuestos efectos del compuesto/composición.

2. ☐ Reivindicaciones N°:

20

porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos en tal magnitud

71

que no se puede realizar una búsqueda significativa,
específicamente:

3. [] Reivindicaciones N°:

5 porque son reivindicaciones dependientes y no están redactadas
de acuerdo con la segunda y tercera oraciones de la Norma
6.4(a).

Casillero N° III. Observaciones cuando falta unidad de
10 invención (Continuación del punto 3 de la página 1)

La Autoridad de Búsqueda Internacional encontró varias
invenciones en esta solicitud internacional, a saber:

Véase la página adicional

1. [] Como todos los aranceles de búsqueda adicionales se
15 pagaron oportunamente por el solicitante, este informe de
búsqueda internacional abarca todas las reivindicaciones
buscables.

2. [] Como las reivindicaciones buscables pudieron buscarse sin
esfuerzo que justifique un arancel adicional, esta Autoridad no
20 intima al pago de ningún arancel adicional.

3. [] Como ninguno de los aranceles de búsqueda adicionales
requeridos se pagaron oportunamente por el solicitante, este
informe de búsqueda internacional abarca solamente aquellas
reivindicaciones para las cuales se pagaron aranceles,
25 específicamente las reivindicaciones N°:

4. ☐ El solicitante no pagó ninguno de los aranceles de búsqueda adicionales. En consecuencia, este informe de búsqueda internacional se limita a la invención mencionada en primer lugar en las reivindicaciones; está abarcada por las
- 5 reivindicaciones N°:

Observación Bajo Protesta:

☐ Los aranceles de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por el protesto del solicitante

- ☐ Ningún protesto acompañó el pago de los aranceles de
- 10 búsqueda adicionales.

Formulario PCT/ISA/210 (continuación de la página 1 (2)) (enero de 2004)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

- 15 Información sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

Documento de patente citado en informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de familia de patentes	Fecha de Publicación
WO 03005971 A	23-01-2003	EP 14018987 A2	21-04-2004
		WO 030005971 A2	23-01-2003
		US2004L063674A1	1-04-2004

137
370

WO 02102384 A	27-12-2002	CA 2456685 A1	27-12-2002
		EP 1401448 A1	31-03-2004
		WO 02102384 A1	27-12-2002
		US2004236074 A1	25-11-2004
WO 03099217 A	4-12-2003	WO 0351299 A2	26-06-2003
		WO 03051300 A2	26-06-2003
		WO 03099217 A2	4-12-2003
		US2004014749 A1	22-01-2004
		US2004014750 A1	22-01-2004
		US2003236265 A2	25-12-2003
		US2004077533 A1	22-04-2004

Formulario PCT/ISA/210 (anexo de familia de patentes) (enero de 2004)

SOLICITUD PCT

Original (para PRESENTACIÓN)

0	Para uso exclusivo de la Oficina receptora	
0-1	Solicitud Internacional N°	
0-2	Fecha de Presentación Internacional	
0-3	Nombre de la Oficina receptora y "Solicitud Internacional PCT"	
0-4	Formulario - PCT/RO/101 Solicitud PCT	PCT-EASY Versión 3.50
0-4-1	Preparado usando	(Build 0002.162)
0-5	Pedido El abajo firmante solicita que la presente solicitud internacional pueda ser procesada de acuerdo con el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes	
0-6	Oficina Receptora (especificada por el solicitante)	Oficina de Patentes y Marcas de Estados Unidos (USPTO) (RO/US)

0-7	Referencia de archivo del Solicitante o agente	01855.185
I	Título de la invención	USO DE TIGECICLINA SOLA O EN COMBINACIÓN CON RIFAMPICINA PARA TRATAR LA OSTEOMIEELITIS Y/O LA ARTRITIS SÉPTICA
II	Solicitante:	
II-1	Esta persona es:	sólo solicitante
II-2	Solicitante para	todos los Estados designados excepto Estados Unidos
II-4	Nombre	WYETH
II-5	Domicilio:	Five Giralda Farms Madison, New Jersey 07940 Estados Unidos
II-6	Estado de Nacionalidad	Estados Unidos
II-7	Estado de residencia	Estados Unidos
III-1	Solicitante y/o inventor	
III-1-1	Esta persona es:	sólo solicitante
III-1-2	Solicitante para:	todos los estados designados excepto Estados Unidos
III-1-4	Nombre	CONSEJO DE REGENTES, THE

184
301

III-1-5	Domicilio	UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM 201 West 7 th Street Austin, Texas 78701 Estados Unidos Estados Unidos
III-1-6	Estado de Nacionalidad	Estados Unidos
III-1-7	Estado de residencia	
III-2	Solicitante y/o inventor	
III-2-1	Esta persona es:	sólo inventor
III-2-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	TESTA, Raymond Thomas
III-2-5	Domicilio	55 Rockledge Place Cedar Drive, New Jersey 07009 Estados Unidos
III-3	Solicitante y/o inventor	
III-3-1	Esta persona es:	sólo inventor
III-3-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	CALHOUN, Jason
III-3-5	Domicilio	Departamento de Cirugía Ortopédica Universidad de Missouri One Hospital Drive Suite MC213 Columbia, Missouri 65212 Estados Unidos
III-4	Solicitante y/o inventor	

75
32

III-4-1	Esta persona es:	sólo inventor (fallecido)
III-4-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	MADER, Jon T.
IV-1	Agente o representante legal; o domicilio para correspondencia Por la presente se designa a la persona identificada abajo para que actúe en nombre del solicitante(s) ante las Autoridades Internacionales competentes como:	agente
IV-1-1	Nombre (APELLIDO, Primer Nombre)	LAVENUE, Teresa A.
IV-1-2	Domicilio	KENYON & KENYON 1500 K Street, N.W. Suite 700, Washington, DC 20005-1257 Estados Unidos
IV-1-3	N° telefónico	(202) 220-4200
IV-1-4	N° de fax	(202) 220-4201
IV-1-5	Correo electrónico	<u>tlavenue@kenyon.com</u>
IV-1-6	Inscripción de Agene N°	47.737
IV-2	Agente(s) Adicional	Agente(s) adicional con el

IV-2-1	Nombre(s)	mismo domicilio que el agente nombrado en primer lugar ALI, Zeba (51.3192); MELORO, Thomas J. (33.538); TSEVDOS, Estelle J. (31.145); GALBRAITH, James (28.509); WALLACE, W. David (42.210); MCCARTHY, Neil M. (43.435); ZIKER, Dana (54.567)
V	DESIGNACIONES	
V-1	La presentación de esta solicitud constituye conforme a la Norma 4.9(a), la designación de todos los Estados Firmantes obligados por el PCT en la fecha de presentación internacional, para el otorgamiento de todo tipo de protección existente y	AP: GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZW y cualquier otro Estado que sea un Estado Firmante del Protocolo de Harare y del PCT EA: AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM y cualquier otro Estado sea un Estado Firmante de la Convención de Patentes Europea y del

	cuando corresponda, para la concesión de patentes regionales y nacionales	
VI-1	Reivindicación de prioridad de la solicitud nacional anterior	
VI-1-1	Fecha de presentación	5 de septiembre de 2003 (5-09-2003)
VI-1-2	Número	60/500.474
VI-1-3	País	Estados Unidos
VI-2	Reivindicación de prioridad de la solicitud nacional anterior	
VI-2-1	Fecha de presentación	3 de septiembre de 2004 (3-09-2004)
VI-2-2	Número	
VI-2-3	País	Estados Unidos
VI-6	Solicitud de documento de prioridad Se solicita a la Oficina receptora que prepare y remita a la Oficina Internacional una copia certificada de la	VI-1, VI-2

	solicitud(es) anterior identificada anteriormente como punto(s):		
VII-1	Autoridad de Búsqueda Internacional Elegida	Oficina de Patentes Europea (EPO) (ISA/EP)	
VIII	Declaraciones Juradas	Cantidad de declaraciones juradas	
VIII-1	Declaración Jurada en cuanto a la identidad del inventor	-	
VIII-2	Declaración Jurada en cuanto al derecho del solicitante, en la fecha de presentación internacional, de presentar y que se le conceda una patente	-	

VIII-3	Declaración Jurada en cuanto al derecho del solicitante, en la fecha de presentación internacional, de reivindicar la prioridad de la solicitud anterior	-	
VIII-4	Declaración Jurada de carácter de inventor (solamente para los fines de la designación de Estados Unidos)	-	
VIII-5	Declaración Jurada en cuanto a invenciones no perjudiciales o excepciones de falta de novedad	-	
IX	Lista de Verificación	número de páginas	archivo electrónico adjunto
IX-1	Solicitud (que incluye páginas de declaración jurada)	5	3
IX-2	Memoria Descriptiva	52	-

IX-3	Reivindicaciones	5	-
IX-4	Resumen	1	3
IX-5	Dibujos	7	-
IX-7	TOTAL	70	
	Elementos que se acompañan	documento(s) en papel adjunto	archivo(s) electrónico adjunto
IX-8	Planilla de cálculo de arancel	3	-
IX-17	Medios Físicos PCT-SAFE	-	3
IX-18	Otro	Recibo de entrega en mano	
IX-18	Otro	remisión	
IX-18	Otro:	Tarjeta de N° de acta anterior con franqueo	
IX-19	Lámina de los dibujos que deberá acompañar al resumen	3	
IX-19	Idioma de presentación de la solicitud internacional	inglés	
X-1	Firma del solicitante o	[firma]	

7/11
388

	agente	
X-1-1	Nombre	ALI, Zeba
X-1-2	Aclaración de firma	
X-1-3	Carácter	
PARA USO EXCLUSIVO DE LA OFICINA RECEPTORA		
10-1	Fecha de la recepción real de la solicitud internacional	
10-2	Dibujos:	
10-2-1	Recibidos	
10-2-2	No recibidos	
10-3	Fecha de recepción real corregida debido a documentos o dibujos recibidos más tarde pero oportunamente que completan la solicitud de patente	
10-4	Fecha de recepción oportuna de las correcciones requeridas de acuerdo con la Cláusula de PCT 11(2)	
10-6	Autoridad de Búsqueda	ISA/EP

	Internacional	
10-6	Remisión de copia demorada hasta que se abone el arancel de búsqueda	
PARA USO EXCLUSIVO DE LA OFICINA INTERNACIONAL		
11-1	Fecha de recepción de la copia de archivo por la Oficina Internacional	

743
310

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT

ACUSE DE RECIBO DE COPIA DE ARCHIVO

(PCT, Norma 24.2(a))

5

De: Oficina Internacional

Para: LAVENUE, Teresa A.

KENYON & KENYON

1500 K Street, N.W.

10 Suite 700

Washington, DC 20005-12517

Estados Unidos

Fecha de envío (día,mes,año): 22 de octubre de 2004 (22-10-2004)

15 NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Referencia de archivo de Solicitante o agente: 01855.185

Solicitud Internacional No: PCT/US2004/028980

Por la presente se notifica al solicitante que la Oficina Internacional ha recibido la copia del registro de presentación
20 de la solicitud internacional según el siguiente detalle.

Nombre(s) del(os) Solicitante(s):

WYETH et al (para todos los Estados designados excepto Estados Unidos)

Fecha de presentación internacional: 7 de septiembre de 2004
25 (7-09-2004)

Fecha de Prioridad reivindicada: 5 de septiembre de 2003 (5-09-2003); 3 de septiembre de 2004 (3-09-2004)

Fecha de recepción de la copia del registro de presentación por la Oficina Internacional: 11 de octubre de 2004 (11-10-5 2004)

Lista de Oficinas designadas:

AP: BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW

EA: AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM

EP: AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC,
10 NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR

OA: BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG

Nacional:

AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BE, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL,
15 IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

La Oficina Receptora cerró para actividades el 6 de septiembre de 2004 (6-09-2004)

20 La Oficina Internacional de la WIPO, 34, chemin des Colombettes, 1211 Ginebra 20, Suiza. Fax (41-22) 338-89.70

Funcionario autorizado: Ryad BENTOBAL (Fax 338-8970)

Tel. (41-22) 338-9272

Formulario PCT/IB/301 (enero de 2004)

PCT/US2004/028980

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT. NOTIFICACIÓN SOBRE PRESENTACIÓN O REMISIÓN DE DOCUMENTOS
DE PRIORIDAD

5 (Instrucciones Administrativas del PCT, Artículo 411)

De la OFICINA INTERNACIONAL

Para: LAVENUE, Teresa A.

KENYON & KENYON

10 1500 K Street, N.W.

Suite 700

Washington, DC 20005-1257

Estados Unidos

15 NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Fecha de envió (día/mes/año): 26 de noviembre de 2004 (26-11-2004)

Referencia de archivo del Solicitante o Agente: 01855.185

Solicitud Internacional No.: PCT/US2004/028980

20 Fecha de Presentación Internacional: 7 de septiembre de 2004
(7-09-2004)

Fecha de Publicación Internacional: --

Fecha de Prioridad: 5 de septiembre de 2003 (5-09-2003)

Solicitante: WYETH et al

1. Por medio de este Formulario, que reemplaza a toda notificación emitida previamente referida a la presentación o remisión de documentos de prioridad, el solicitante por la presente queda notificado de la fecha de recepción del
5 documento de prioridad por la Oficina Internacional en relación con todas las solicitudes anteriores cuya prioridad se reivindica. A menos que se indique lo contrario con las letras "NR", en la columna de la derecha, o con un asterisco que aparece junto a la fecha de recepción, el documento de
10 prioridad referido se presentó o, remitió a la Oficina Internacional en cumplimiento de la Norma 17.1(a) o (b).

2. (Si corresponde) Las letras "NR" que aparecen en la columna de la derecha indican un documento de prioridad que, a la fecha
15 de remisión de este formulario, no había sido recibido aún por la Oficina Internacional conforme a la Norma 17.1(a) o (b). Cuando, conforme a la Norma 17.1(a), el documento de prioridad deba ser presentado por el solicitante ante la Oficina receptora o la Oficina Internacional, pero el solicitante no
20 presente el documento de prioridad dentro del plazo aplicable conforme a esa Norma, se llama la atención del solicitante hacia la Norma 17.1(c) que establece que ninguna Oficina designada podrá pasar por alto la reivindicación de prioridad referida antes de dar al solicitante la oportunidad, al entrar

en la fase nacional, de presentar el documento de prioridad dentro de un plazo que sea razonable en las circunstancias.

3. (Si corresponde) Un asterisco(*) que aparece junto a la fecha de recepción, en la columna de la derecha, indica un
5 documento de prioridad presentado o remitido a la Oficina Internacional pero no en cumplimiento de la Norma 17.1(a) o (b) (el documento de prioridad fue recibido con posterioridad al plazo establecido en la Norma 17.1(a) o el pedido de preparar y remitir el documento de prioridad se presentó ante la Oficina
10 receptora con posterioridad al plazo aplicable conforme a la Norma 17.1(b)). Aún cuando el documento de prioridad no se presentó en cumplimiento con la Norma 17.1(a) o (b), la Oficina Internacional remitirá una copia del documento a las Oficinas designadas, para su consideración. En caso de que esa copia no
15 sea aceptada por la Oficina designada como documento de prioridad, la Norma 17.1(c) establece que ninguna Oficina designada podrá pasar por alto la reivindicación de prioridad referida antes de dar al Solicitante la oportunidad, al entrar en la fase nacional, de presentar el documento de prioridad
20 dentro de un plazo que sea razonable en las circunstancias.

Fecha de la solicitud: 5 de septiembre de 2003 (5-09-2003)

Solicitud de Prioridad N°: 60/500.474

País u Oficina Regional u Oficina receptora de PCT: Estados
25 Unidos

Fecha de recepción del documento de prioridad: 11 de octubre de
2004 (11-10-2004)

La Oficina Internacional de la WIPO, 34, chemin des
5 Colombettes, 1211 Ginebra 20, Suiza. Fax: (41-22) 338.14.35

Funcionario autorizado: Wimmer Peter

Teléfono N° (41-22) 338-8970

Fax: (41-22) 338-9896

Formulario PCT/IB/304 (enero de 2004)

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

(Cláusula 18 y Normas 43 y 44 del PCT)

5

Referencia de Archivo del Solicitante o agente: 01855.185

PARA REALIZAR OTROS TRAMITES: Véase Notificación de Transmisión de Informe de Búsqueda Internacional (Formulario PCT/ISA/220) y, si fuere aplicable, del punto 5 más abajo.

10 Solicitud Internacional No: PCT/US2004/028980

Fecha de Presentación Internacional (día/mes/año): 7/09/2004

Fecha de Prioridad (Más antigua) (día/mes/año): 5/09/2003

Solicitante: WYETH

15 Este informe de búsqueda internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante conforme a la Cláusula 18. Se transmite una copia del mismo a la Oficina Internacional.

20 Este informe de búsqueda internacional consta de 6 páginas.

[x] Está acompañado asimismo de una copia de cada documento de arte previo citado en el informe

25

1. Fundamento de Informe

a. Con respecto al idioma, la búsqueda internacional se llevó a cabo basada en la solicitud internacional en el idioma en que ésta se presentó, a menos que en este punto se indique lo
5 contrario.

[] la búsqueda internacional se llevó a cabo basada en una traducción de la solicitud internacional provista a esta Autoridad (Norma 23.1(b)).

b. Con respecto a cualquier secuencia de nucleótidos y/o
10 aminoácidos revelada en la solicitud internacional, véase el Casillero N° I

2. [x] Ciertas reivindicaciones se consideraron no buscables (Véase Casillero N° I)

3. [] Falta Unidad de Invención (Véase Casillero N° II).

15 4. Con respecto al título:

[x] el texto se aprueba tal como lo presentó el solicitante

[] el texto ha sido establecido por esta Autoridad como sigue:

20

5. Con respecto al resumen:

[x] el texto es aprobado como lo presentó el solicitante

[] el texto ha sido establecido, conforme a la Norma 38.2(b), por esta Autoridad como aparece en el Casillero

25 N° IV. El Solicitante puede, dentro de un mes desde la

791
398

fecha de remisión de este informe de búsqueda internacional, presentar comentarios ante esta Autoridad.

6. Con respecto a los dibujos,

5 a. La Lámina de dibujos que se publicará con el resumen es:
Figura No. __.

☐ sugerida por el Solicitante

☐ seleccionada por esta Autoridad, debido a que el Solicitante no sugirió una Figura.

10 ☐ seleccionad por esta Autoridad, debido a que esta figura caracteriza mejor a la invención

b. ☒ No se debe publicar ninguna de las figuras con el resumen.

Formulario PCT/ISA/210 (página 1) (enero de 2004)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/028980

A. Clasificación de la Materia:

5 IPC 7: A61K31/496 A61P19/02 A61P31/04 A61P31/65

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (IPC)
o con la clasificación nacional e IPC.

B. Campos de Búsqueda:

10 Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido
por símbolos de clasificación)

IPC 7 A61K

Documentación buscada además de la documentación mínima en la
medida en que tales documentos están incluidos en los campos de

15 búsqueda:

--

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda
internacional (nombre de la base de datos y, si es posible,
términos de búsqueda usados):

20 EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, BIOSIS

C. Documentos Considerados Relevantes

Categoría*	Cita de documento, indicando, si corresponde, los pasajes relevantes	Relevante para la reivindicación N°
Y	NORDEN C W ET AL: "Chronic staphylococcal osteomyelitis: treatment with regimens containing rifampin" REVIEWS OF INFECTIOUS DISEASES. JULIO-AGOSTO 1983, vol. 5 Suplemento 3, julio 1983 (07-1983), páginas S495-S501, XP009041L854. SIN: 0162-0886. Tabla 1	1-23, 43-47
Y	WO 03/005971 A (PARATEK PHARMACEUTICALS INC) 23 de enero de 2003 (23-01-2003). Página 110; ejemplo DZ Página 98, línea 10 - línea 31 Ejemplo 24 Reivindicación 3 Página 100; ejemplo A	1-23, 43-47

[x] Se mencionan otros documentos en la continuación del Casillero C.

[x] Se mencionan miembros de familia de patente en el anexo.

* Categorías especiales de documentos citados:

"A": documento que define el estado general del arte que no se considera de particular relevancia

"E": documento anterior pero publicado en la fecha de
5 presentación internacional o con posterioridad a ella.

"L": documento que puede arrojar dudas sobre la reivindicación de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra cita o por otra razón especial (especificada).

10 "O": documento que refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otro medio.

"P": documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

15 "T": documento posterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o a la fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para comprender un principio o teoría que sustenta la invención.

"X": documento de particular relevancia: la invención
20 reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que implica un paso inventivo cuando el documento se toma solo.

"Y": documento de particular relevancia: la invención reivindicada no puede considerarse que implica un paso
25 inventivo cuando el documento se combina con otro u otros

documentos, siendo dicha combinación obvia para un experto en el arte.

"g": documento miembro de la misma familia de patentes.

Fecha de la finalización efectiva de la búsqueda internacional:

5 21 de diciembre de 2004

Fecha de envío del informe de búsqueda internacional: 1-07-2005

Nombre y domicilio para correspondencia de la ISA

Oficina de Patentes Europea, P.B. 5818 Patentlaan 2

NL-2280 HV Rijswijk

10 Tel: (31-70) 340-2040. Tx 31 651 epo nl

Fax: (31-70) 340-3016

Funcionario autorizado: Giacobbe, S

Formulario PCT/ISA/210 (página dos) (enero de 2004)

15 INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°: PCT/US2004/028980

C. (Continuación) Documentos Considerados Relevantes

Categoría*	Cita de documento, indicando, si corresponde, los pasajes relevantes	Relevante para la reivindicación N°
Y	MERCIER RENEE-CLAUDE ET AL: "Antimicrobial activity of tigecycline (GAR-936) against Enterococcus faecium and	1-48

	Staphylococcus aureus used alone and in combination."	
	PHARMACOTHERAPY, vol.22, N°12, diciembre 2002 (12-2002), páginas 1517-1523, XP009041884 ISSN: 0277-0008	
	Tabla 1	
	Tabla 2	
	Página 1520, columna 2, línea 9 - línea 11	
	Página 1521, columna 2, línea 12 - línea 14	
	Página 1522, columna 1, último párrafo	
Y	WO L02/102384 (GARDNER REBECCA; ORTHOGENICS AS (NO); EL-GEWELY MOHAMED RAAFAT (NO)) 27 de diciembre de 2002 (27-12-2002)	24-46, 48
	Reivindicaciones 1-5	
Y	PATEL R ET AL: "In vitro activity of GAR-936 against vancomycin-resistant enterococci, methicillin-resistant Staphylococcus aureus	1-48

of penicillin-resistant
Streptococcus pneumoniae"

DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY AND
INFECTIOUS DISEASE, NOV. 2000,
Vol. 38, N°3, Noviembre 2000
(11-2000), páginas 177-179,
XP002311637

ISSN: 0732-8893

El documento completo

Y ZIMMERLI W ET AL: "Role of 1-48

rifampin for treatment of
orthopedic implant-related
staphylococcal infections: a
randomized controlled trial.
Foreign-Body infection (FBI)
Study Group."

JAMA: THE JOURNAL OF THE
AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION.

20 de mayo de 1998,

Vol. 279, N°19, 20 de mayo de
1998 (20-05-1998), páginas
1537-1541, XP009041853

ISSN: 0098-7484

El documento completo

78
405

Y	LEW D P ET AL: "Osteomyelitis" THE NEW ZEALAND JOURNAL OF MEDICINE. 3 de abril de 1997, vol. 336, N°14, 3 de abril de 1997 (3-04-1997), páginas 999- 1007, XP009041924 ISSN: 0028-4793 Tabla 1	1-23, 43-47
---	---	-------------

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

C. (Continuación) Documentos Considerados Relevantes

Categoría*	Cita de documento, indicando, si corresponde, los pasajes relevantes	Relevante para la reivindicación N°
Y	VARIOS: "The Merck Index, 7th Ed." 1999, MERCK RESEARCH LABORATORIES WHITEHOUSE STATION, NJ, ESTADOS UNIDOS, XP002311638 página 455 - página 460	1-48
P, Y	WO 03/099217 A (ACTIVBIOTICS INC) 4 de diciembre de 2003 (4- 12-2003)1	1-48

71

759
406

	Reivindicaciones 1, 8	
	Página 6, línea 20 - página 7,	
	línea 21	

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

5 Casillero N° II. Observaciones cuando ciertas reivindicaciones se consideraron no buscables (Continuación del punto 2 de la página 1).

Este Informe de Búsqueda Internacional no se ha establecido con respecto a ciertas reivindicaciones conforme a la Cláusula

10 17(2)(a) por los siguientes motivos:

1. ☒ Reivindicaciones N°:

porque se relacionan con un objeto que no se requiere que busque esta Autoridad, a saber:

15 Aunque las reivindicaciones 1-44, 47 y 48 se refieren a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda se ha realizado y basado en los supuestos efectos del compuesto/composición.

2. ☐ Reivindicaciones N°:

20

porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos en tal magnitud

que no se puede realizar una búsqueda significativa,
específicamente:

3. [] Reivindicaciones N°:

5 porque son reivindicaciones dependientes y no están redactadas
de acuerdo con la segunda y tercera oraciones de la Norma
6.4(a).

Casillero N° III. Observaciones cuando falta unidad de
10 invención (Continuación del punto 3 de la página 1)

La Autoridad de Búsqueda Internacional encontró varias
invenciones en esta solicitud internacional, a saber:

Véase la página adicional

1. [] Como todos los aranceles de búsqueda adicionales se
15 pagaron oportunamente por el solicitante, este informe de
búsqueda internacional abarca todas las reivindicaciones
buscables.

2. [] Como las reivindicaciones buscables pudieron buscarse sin
esfuerzo que justifique un arancel adicional, esta Autoridad no
20 intima al pago de ningún arancel adicional.

3. [] Como ninguno de los aranceles de búsqueda adicionales
requeridos se pagaron oportunamente por el solicitante, este
informe de búsqueda internacional abarca solamente aquellas
reivindicaciones para las cuales se pagaron aranceles,
25 específicamente las reivindicaciones N°:

769
408

4. ☐ El solicitante no pagó ninguno de los aranceles de búsqueda adicionales. En consecuencia, este informe de búsqueda internacional se limita a la invención mencionada en primer lugar en las reivindicaciones; está abarcada por las
- 5 reivindicaciones N°:

Observación Bajo Protesta:

- ☐ Los aranceles de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por el protesto del solicitante
- ☐ Ningún protesto acompañó el pago de los aranceles de
- 10 búsqueda adicionales.

Formulario PCT/ISA/210 (continuación de la página 1 (2)) (enero de 2004)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

- 15 Información sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

Documento de patente citado en informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de familia de patentes	Fecha de Publicación
WO 03005971 A	23-01-2003	EP 140L8987 A2	21-04-2004
		WO 030005971 A2	23-01-2003
		US2004L063674A1	1-04-2004

WO 02102384 A	27-12-2002	CA 2456685 A1	27-12-2002
		EP 1401448 A1	31-03-2004
		WO 02102384 A1	27-12-2002
		US2004236074 A1	25-11-2004
WO 03099217 A	4-12-2003	WO 0351299 A2	26-06-2003
		WC 03051300 A2	26-06-2003
		WO 03099217 A2	4-12-2003
		US2004014749 A1	22-01-2004
		US2004014750 A1	22-01-2004
		US2003236265 A2	25-12-2003
		US2004077533 A1	22-04-2004

Formulario PCT/ISA/210 (anexo de familia de patentes) (enero de 2004)

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES**PCT****OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL****(Norma 43bis.1 del PCT)****5 De la Autoridad de Búsqueda Internacional**

Para: Véase el formulario PCT/ISA/220

Fecha de remisión (día/mes/año): véase formulario PCT/ISA/210
(página 2)**10 Referencia de archivo del Solicitante o del agente: véase el
formulario PCT/ISA/220**

PARA OTRAS MEDIDAS. Véase el punto 2 a continuación

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

Fecha de presentación internacional (día/mes/año): 7-09-2004

15 Fecha de la prioridad (día/mes/año): 5-09-2003Clasificación Internacional de Patente (IPC) o tanto
clasificación nacional como IPC: A61K31/496, A61P19/02,
A61P31/04, A61P31/65

Solicitante: WYETH

201. Esta opinión escrita contiene indicaciones relacionadas con
los siguientes puntos:☒ Casillero N° I. Fundamento del informe☒ Casillero N° II. Prioridad

[X] Casillero N° III. No establecimiento de opinión sobre la novedad, paso inventivo y aplicabilidad industrial

[] Casillero N° IV. Falta de unidad de invención

[x] Casillero N° V. Declaración fundamentada conforme a la
5 Cláusula 35(2) sobre la novedad, paso inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que fundamentan dicha declaración.

[X] Casillero N° VI. Ciertos documentos citados

[] Casillero N° VII. Ciertos defectos en la solicitud
10 internacional

[] Casillero N° VIII. Ciertas Observaciones sobre la solicitud internacional

2. OTRAS MEDIDAS

15 Si se presenta un pedido de informe preliminar internacional, esta opinión se considerará como la opinión escrita de la Autoridad de Examen de Búsqueda Internacional ("IPEA") excepto que ésta no corresponda cuando el solicitante elige una Autoridad diferente de ésta para que sea la IPEA y la IPEA
20 elegida ha notificado a la Oficina Internacional conforme a la Norma 66.1bis(b) que la opinión escrita de esta Autoridad de Búsqueda Internacional no se considerará así.

Si esta opinión, proporcionada anteriormente, se considera la
25 opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a

presentar ante la IPEA una contestación escrita junto con,
cuando corresponda, enmiendas, con anterioridad al vencimiento
de tres meses desde la fecha de la remisión del Formulario
PCT/ISA/220 o con anterioridad al vencimiento de 22 meses desde
5 la fecha de la prioridad, la que sea posterior.
Para más opciones, véase el Formulario PCT/ISA/220.

3. Para más detalles, véase las notas al Formulario PCT/ISA/220

Nombre y domicilio de la ISA:

10 Oficina de Patentes Europea

D-80298 Munich

Tel 49-89 2399-0 Tx: 523656 epmu d

Fa: 49-89 2399 - 4465

15 Funcionario autorizado: Giacobbe, S.

Teléfono: 49-89-2399-6463

Oficina de Patentes Europea

Formulario (PCT/ISA/237) (Carátula) (enero de 2004)

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

. 7 1

Casillero N° I. Fundamento de esta opinión.

5

1. Con respecto al idioma, esta opinión se ha establecido basada en la solicitud internacional en el idioma en que se presentó, a menos que se indique de otro modo en este punto.

- 10 ☐ Esta opinión se ha establecido basada en la traducción del idioma original al siguiente idioma: _____, que es el idioma de la traducción provista para los propósitos de la búsqueda internacional (conforme a las Normas 12.3 y 23.1(b) del PCT).

- 15 2. Con respecto a todas las secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos que se describen en la solicitud internacional y que son necesarias para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido basada en:

a. tipo de material:

. 7 1

- 20 ☐ un listado de secuencias
- ☐ tabla(s) relacionada(s) con el listado de secuencias
- b. formato del material
- ☐ en formato escrito
- ☐ en forma legible por computadora

25

. 7 1

c. fecha de presentación/provisión

☐ contenida en la solicitud internacional presentada

☐ presentada junto con la solicitud internacional en forma legible por computadora

5 ☐ presentada con posterioridad ante esta Autoridad con propósitos de búsqueda.

3. ☐ Además, en caso de que se haya presentado o provisto más de una versión o copia de un listado de secuencias y/o una
10 tabla relacionada con él, se presentaron las declaraciones requeridas de que la información de las copias posteriores o adicionales es idéntica a aquella de la solicitud presentada o no va más allá de la solicitud presentada, según corresponda.

15 4. Declaraciones adicionales

. 7 1

. 7 1

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

Casillero N° II. Prioridad

1. ☒ No se provisto el siguiente documento:

5 ☒ copia de la solicitud anterior cuya prioridad se ha reivindicado (Norma 43bis.1 y 55.7(a)).

☐ traducción de la solicitud anterior cuya prioridad se ha reivindicado (Norma 43bis.1 y 66.7(b)).

En consecuencia no ha sido posible considerar la validez de la
10 reivindicación de prioridad. Esta opinión de todos modos se ha establecido sobre la suposición de que la fecha relevante es la fecha de prioridad reivindicada.

2. ☐ Esta opinión se ha establecido como si no se hubiera
15 reivindicado ninguna prioridad debido al hecho de que la reivindicación de prioridad se ha considerado no válida (Normas 43bis.1 y 64.1). Por lo tanto para los propósitos de esta opinión, la fecha de presentación internacional indicada anteriormente se considera como la fecha relevante.

20

3. ☐ No ha sido posible considerar la validez de la reivindicación de prioridad porque ^{no} está disponible una copia del documento de prioridad para Estados Unidos a la fecha en que se realizó la búsqueda (Norma 17.1). Esta opinión de todos

modos se ha establecido sobre la suposición de que la fecha relevante es la fecha de prioridad ³¹ precedente.

4. Observaciones adicionales, si es necesario:

5

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

10 Casillero N° III. No establecimiento de opinión sobre la novedad, paso inventivo y aplicabilidad industrial

Las cuestiones sobre si la invención reivindicada parece novedosa, involucra un paso inventivo (no es obvia) o es aplicable industrialmente no se han examinado con respecto a:

15

[] la solicitud internacional completa

[x] las reivindicaciones N° 1-44, 47, 48 (solamente IA)

porque:

20 [x] la solicitud mencionada, o las reivindicaciones mencionadas N° 1-44, 47, 48 se relacionan con la siguiente materia que no requiere un examen preliminar internacional (especifique): véase la página aparte

[] la descripción, las reivindicaciones o los dibujos (indique 25 los elementos particulares a continuación) o las

reivindicaciones mencionadas N° 1 (en parte) son tan poco claras que no se puede formar una opinión sensata (especifique):

[] las reivindicaciones, o las reivindicaciones mencionadas N°
5 ____ están tan insuficientemente sostenidas por la descripción que no se pudo formar ninguna opinión sensata.

. 7 1

[x] no se ha establecido ningún informe de búsqueda internacional para las reivindicaciones mencionadas N°

10 [] el listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos no cumple con la norma establecida en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas en que:

la forma escrita [] no se ha provisto

[] no cumple con la norma

15 la forma legible por computadora [] no se ha provisto

[] no cumple con la norma

[] las tablas relacionadas con el listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos, si está solamente en forma legible por computadora, no cumplen con los requisitos técnicos
20 establecidos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.

[] Véase la página aparte para más detalles.

Formulario PCT/ISA/237 (enero de 2004)

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

Casillero N° V. Declaración fundamentada conforme a la Cláusula
 5 35(2) sobre la novedad, paso inventivo o aplicabilidad
 industrial; citas y explicaciones que fundamentan dicha
 declaración.

1. Declaración

	Novedad (N)	Sí	Reivindicaciones 1-48
10		No	Reivindicaciones
	Paso Inventivo (IS)	Sí	Reivindicaciones
		No	Reivindicaciones 1-48
	Aplicabilidad industrial (IA)	Sí	Reivindicaciones 45, 46
			No Reivindicaciones 1-44, 47, 48

15 2. Citas y Explicaciones:

véase la página aparte

Casillero N° VI. Ciertos documentos citados

1. Ciertos documentos publicados (Normas 43bis.1 y 70.10)
 20 y/o

2. Descripciones no escritas (Normas 43bis.1 y 70.9)
 véase el formulario 210

Formulario PCT/ISA/227 (enero de 2004)

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
(PÁGINA APARTE)

Solicitud Internacional N° PCT/US2004/028980

5 1. Sección III

Las reivindicaciones 1-44, 47 y 48 se refieren a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal mediante terapia. Esta Autoridad considera que esa materia está abarcada por las disposiciones de la Norma 67.1(iv) del PCT y en consecuencia,
10 no se formulará ninguna opinión con respecto a la aplicabilidad industrial de la materia de estas reivindicaciones (Cláusula 34(4)(a)(I) del PCT). Sin embargo, se formulará una opinión con respecto a la novedad y al paso inventivo basado en los supuestos efectos de los compuestos/composiciones.

15

2. Sección V

2.1 Documentos Citados

Los siguientes documentos (D) se citan en esta Opinión; la numeración se mantendrá en el resto del procedimiento.

20

D1: NORDEN C W ET AL: "Chronic staphylococcal osteomyelitis: treatment with regimens containing rifampin." REVIEWS OF INFECTIOUS DISEASES. 1983, vol. 5 Suplemento 3, 1983, páginas S495-S501, XP009041854.

D2: WO 03/005971 A (PARATEK PHARMACEUTICALS INC) 23 de enero de 2003

D3: MERCIER RENEE-CLAUDE ET AL: "Antimicrobial activity of tigecycline (GAR-936) against Enterococcus faecium and Staphylococcus aureus used alone and in combination." PHARMACOTHERAPY, vol.22(12), 2002, páginas 1517-1523, XP009041884

D4: WO 02/102384 (GARDNER REBECCA; ORTHOGENICS AS (NO); EL-GEWELY MOHAMED RAAFAT (NO)) 27 de diciembre de 2002

10 D5: PATEL R ET AL: "In vitro activity of GAR-936 against vancomycin-resistant enterococci, methicillin-resistant Staphylococcus aureus of penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae." DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE, Vol. 38(3), 2000, páginas 177-179, XP002311637

15 D6: ZIMMERLI W ET AL: "Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. Foreign-Body infection (FBI) Study Group." JAMA, Vol. 279(19), 1998, páginas 1537-1541, XP009041853

20 D7: LEW D P ET AL: "Osteomyelitis." THE NEW ZEALAND JOURNAL OF MEDICINE. 3 de abril de 1997, vol. 336(14), páginas 999-1007, XP009041924

D8: VARIOS: "The Merck Index, 7th Ed." 1999, MERCK RESEARCH LABORATORIES WHITEHOUSE STATION, NJ, ESTADOS UNIDOS, XP002311638

174
921

A menos que se indique de otro modo en adelante se hace referencia a los pasajes citados en el Informe de Búsqueda.

2.2 El arte previo

5

. 7 1

D1: El documento describe el tratamiento de osteomielitis con una combinación de rifampicina y doxiciclina, una tetraciclina que pertenece a la misma clase que tigeciclina.

10 D2: El documento describe tigeciclina lcomo un agente antibacteriano. Se describe que la molécula tiene actividad en un modelo de osteoporosis artrítica y contra S. aureus y E. coli y se reivindica contra osteoartritis y osteomielitis. El documento además describe el uso de doxiciclina (ejemplo A en
15 la Tabla 3) con los mismos fines.

D3: El documento describe la actividad de tigeciclina y rifampicina como agentes antibacterianos, solos o en combinación. En particular se dice que "las bacterias
20 resistentes a multidrogas, que incluyen aislados resistentes a doxiciclina, fueron susceptibles a tigeciclina" (cf. Resumen)

. 7 1

D4: El documento revela que doxiciclina se usa para el tratamiento de osteoartritis.

25

. 7 1

D5: El documento describe la actividad de tigeciclina (GAR-1936) contra enterococos resistentes, a vancomicina, S. aureus resistente a meticilina y S. pneumoniae resistente a penicilina.

5

D6: El documento describe el tratamiento de osteomielitis causada por infecciones con S.aureus después de la implantación de dispositivos ortopédicos con flucoxacilina/rifampicina o vancomicina/rifampicina seguido por terapia prolongada con ciprofloxacina/rifampicina.

. 7 1

D7: El documento proporciona una lista de los microorganismos causantes de osteomielitis más comunes.

15 D8: El documento enumera las bacterias que más comúnmente provocan artritis infecciosa (es decir, artritis séptica) y osteomielitis. S.aureus está entre ellas, pero se describen la mayor parte de las bacterias reivindicadas actualmente.

. 7 1

20 2.3 Cláusula 33(2) de PCT (Novedad)

La materia de las reivindicaciones 1-48 de la presente solicitud cumple con los requisitos de la Cláusula 33(2) del PCT.

. 7 1

Ninguno de los documentos citados describe el tratamiento de infecciones de huesos o articulaciones, y en particular de osteomielitis o de artritis séptica, con tigeciclina, sola o en combinación con un segundo agente antibiótico como rifampicina.

5

En particular el documento D2 describe el uso de un largo listado de compuestos para el tratamiento de numerosos listados diferentes de enfermedades no relacionadas. La presente invención se considera una selección novedosa comparada con la
10 invención de D2 basado en el principio los dos listados.

2.4 Cláusula 33(3) del PCT (Paso Inventivo)

La materia de las reivindicaciones 1-48 de la presente solicitud no cumple con los requisitos de la Cláusula 33(3) del
15 PCT

El Documento D1 describe el tratamiento de osteomielitis con una combinación de doxiciclina y rifampicina, mientras que D4 muestra el uso de la primera sola. El problema técnico enfrentado por el experto a la luz de este documento se puede
20 formular como "cómo encontrar un tratamiento diferente, posiblemente mejor, de osteomielitis". La solución propuesta por la presente solicitud es la sustitución de doxiciclina por tigeciclina.

El Documento D2 muestra y reivindica la actividad de doxiciclina y de tigeciclina (ambas solas) en el tratamiento entre otras de osteomielitis, en parte debido a su actividad (mostrada) contra infecciones con S. aureus, que se muestra en los documentos D7 y D8 que es una de las principales causas de osteomielitis y artritis séptica. El documento D5 además muestra la actividad de tigeciclina contra infecciones de MRSA, y el documento D3 muestra que tigeiciclina es activa también contra aislados resistentes a doxiciclina de S.aureus. A partir de este volumen de información el experto en el arte puede deducir que tigeciclina es un candidato ideal para sustituir a doxiciclina en el tratamiento de osteomielitis y artritis séptica, ya que no solamente se demuestra que lo hace en el documento D2, sino también porque posee propiedades que pueden hacerlo mejor que esta última. No se puede reconocer ningún paso inventivo en estas circunstancias.

2.5 Cláusula 33(4) del PCT (Aplicabilidad Industrial)

Como se dijo anteriormente, no se da ninguna opinión sobre la cuestión de si las presentes reivindicaciones 1-44, 47 y 48 son industrialmente aplicables ya que su patentabilidad depende entre otros de su formulación así como de leyes nacionales y regionales y el PCT no brinda ningún criterio unificador en este campo.

778
425

3. Sección VI

Otros documentos citados (Norma 70.10 del PCT)

Patente número	Fecha de presentación	Fecha de prioridad	Fecha de publicación
WO03/099217	22-05-2003	23-05-2002	4-12-2003

- 5 El documento describe el tratamiento de infecciones bacterianas con un antibiótico rifampicina combinado con un segundo antibiótico, que puede ser tigeciclina.

Formulario PCT/Página separada/237 (página 4) (EPO-enero 2004)