



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

OK

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

06.128312

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO Métodos para el tratamiento de
infecciones endobronquiales

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL AG/K 9/12, 31/70
31/73, 47/36

71. SOLICITANTE 1. Novartis Vaccines And Diagnostics, Inc
2. Nektar Therapeutics.

DOMICILIO ly2 calipornia USA

74. APODERADO Dilia Maria Rodriguez D'Alencar

22. BOGOTÁ, D. C., Dic. 21/06

S-11

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1) **SOLICITUD DE:**
☒ Patente de invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capitulo I. ☐ Capitulo II.

2) SOLICITANTE (71)	Nombre: 1. NOVARTIS VACCINES AND DIAGNOSTICS, INC. 2. NEKTAR THERAPEUTICS Dirección: 1. 4560 Horton Street Emeryville, California 94608-2916 USA 2. 150 Industrial Road San Carlos, California 94070 USA Nacionalidad o domicilio: 1. California, USA; 2. California, USA Lugar de constitución: 1. y 2. California USA	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT. ☐ C.E. ☐ OTRO ☐ Cual _____ NÚMERO _____
	Teléfono: _____ Fax: _____ E. Mail: _____	

3) REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN Dirección: Carrera 11 N°. 86-53 Piso 6 Bogotá D.C. Teléfono: 6181088 Fax: 6350824 E. Mail: info@clarkemodet.com.co	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT: ☐ C.E. ☐ OTRO ☐ NÚMERO: 41.654.882 TP: 20824 CSJ
--	---	---

4) INVENTOR (ES) (72)	Nombre: 1. Peter Challoner; 2. Carlos Rodríguez; 3. Thomas E. Tarara; 4. John D. Lord Dirección: 1. 4560 Horton Street, Emeryville, California 94608-2916 USA; 2. 4560 Horton Street, Emeryville, California 94608-2916 USA; 3. 1233 Paloma Avenue Burlingame, California 94010; 4. 326 Belmont Avenue Redwood City, California 94601 USA Nacionalidad o Domicilio: Todos los anteriores, estadounidenses.
------------------------------------	--

5) **PCT (86)**
Solicitud Internacional No. PCT/US2005/021952 Fecha: Junio 20, 2005
Publicación Internacional No. WO2006/002178 A1 Fecha: Enero 5, 2006

6) **Título (54) MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES ENDOBRONQUIALES**

7) Clasificación Internacional: A61K 9/12 31/70, 31/73, 47/36			
8) PRIORIDAD	33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	Estados Unidos	Junio 18, 2004	60/580,848

9) **Compr bante de pago N°. 06-84,254 Fecha: OCT. 31, 2006**

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario. Ver reverso de esta pagina

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona Jurídica
- ☐ Poderes, si fuera el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicación, Dibujos).
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicación, Dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 x 12 y 6 x 6 cm
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros:
1. Reporte internacional de búsqueda
 2. Opinión escrita
 3. Cambio del solicitante

11) FIGURA CARACTERÍSTICA:**12) Solicitud concesión de la patente,****NOMBRE:** DILIA RODRÍGUEZ D'ALEMAN**FIRMA:****C.C. 41.654.882 de Bogotá TP 20824 CSJ****Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario. Ver reverso de esta pagina**

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-128312- -00000-0000
Fec 2006-12-21 16 12 10 Dep 2020 NUECREACIONES
Tra 11 PATENTE/II
Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 208

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 000176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 84.254
FECHA : OCTUBRE 31 DE 2006

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PASO	BANCO	CUENTA	Nº. PASO	FECHA PASO	Vr. PASO
CLARKE ROBERT Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	30107893	31/10/2006	6.592.000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT. CONTABILITICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463.000.00
	TOTAL :	\$ 463.000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
5 January 2006 (05.01.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/002178 A1

(51) International Patent Classification:
31/70, 31/73, 47/36

A61K 9/12,

(74) Agent: SHELTON, Dennis, K., Christensen O'Connor
Johnson Kindness PLLC, 1420 Fifth Avenue, Suite 2800,
Seattle, WA 98101 (US)

(21) International Application Number:

PCT/US2005/021952

(22) International Filing Date: 20 June 2005 (20 06 2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/580,848

18 June 2004 (18 06 2004) US

(71) Applicants (for all designated States except US): CHI-
RON CORPORATION [US/US], 4560 Horton Street,
Emeryville, CA 94608-2916 (US) NEKTAR THERA-
PEUTICS [US/US], 150 Industrial Road, San Carlos, CA
94070 (US)

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CHALLONER, Pe-
ter [US/US], 4560 Horton Street, Emeryville, CA 94608-
2916 (US) RODRIGUEZ, Carlos [US/US], 4560 Hor-
ton Street, Emeryville, CA 94608-2916 (US) TARARA,
Thomas, E. [US/US], 1233 Paloma Avenue, Burlingame,
CA 94010 (US) LORD, John, D. [GB/US], 326 Belmont
Avenue, Redwood City, CA 94061 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, 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, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,
SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette

(54) Title: METHODS OF TREATMENT OF ENDOBRONCHIAL INFECTIONS

(57) Abstract: The present invention provides methods for the treatment of an endobronchial infection in a patient by administering to the endobronchial system of the patient a dry powder aerosol composition comprising from 90 to 130 mg of an aminoglycoside antibiotic one to three times a day for a first treatment period of 20 to 36 days.

WO 2006/002178 A1

5

METHODS OF TREATMENT OF ENDOBRONCHIAL INFECTIONS

This application claims the benefit of U.S. Provisional Application No. 60/580,848, filed June 18, 2004, which is incorporated herein by reference in its entirety.

5

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to new and improved methods for treatment of susceptible endobronchial infections in patients with dry powder formulations of aminoglycoside antibiotics, such as tobramycin.

BACKGROUND OF THE INVENTION

10

Cystic fibrosis (CF) is the most common life-shortening genetic disease in the United States and Northern Europe, affecting approximately 30,000 individuals in the United States (Cunningham, J.C. et al., *"An Introduction to Cystic Fibrosis for Patients and Families,"* 5th ed., Bethesda: Cystic Fibrosis Foundation (2003)) and a similar number of individuals in Western Europe. The genetic defect in this autosomal recessive disease is a mutation in the CF transmembrane conductance regulator (CFTR) gene, which codes for a chloride-channel protein (Collins, F.S., "Cystic Fibrosis Molecular Biology and Therapeutic Implications," *Science* 256:774-779 (1992)). Persons with CF typically suffer from chronic endobronchial infections, sinusitis, and malabsorption due to pancreatic insufficiency, increased salt loss in sweat, obstructive hepatobiliary disease, and reduced fertility (FitzSimmons, S.C., "The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis," *J Pediatr* 122:1-9 (1993)). Respiratory disease is a major cause of morbidity and accounts for 90% of mortality in persons with CF (Cystic Fibrosis Foundation, *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2003 Annual Data Report*, Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation, (2004); Davis, P.B. et al., "Cystic fibrosis," *Amer J. Respir Crit Care Med* 154(5):1229-56 (1996)). Lung function (measured as forced expiratory volume at 1 second (FEV₁ % predicted) is a significant predictor of survival in CF. Two-year survival for a given population of persons with CF is reduced 2-fold with each 10% reduction in FEV₁ % predicted, and persons with FEV₁ below 30% of predicted have a 2-year survival below 50% (Kerem, E. et al., "Prediction of Mortality in Patients with Cystic Fibrosis," *N Engl J Med* 326:1187-1191 (1992)). Rates of lung function loss vary both between individuals and over time for a given individual. Retrospective longitudinal analyses show rates of decline ranging from less than 2% of FEV₁ % predicted per year to greater than 9% FEV₁ % predicted per year, with overall rate of decline strongly

25

30

associated with age of death (Corey, M. et al., "Longitudinal Analysis of Pulmonary Function Decline in Patients with Cystic Fibrosis," *J Pediatr* 131(6):809-1 (1997)).

CF patients suffer from thickened mucus caused by perturbed epithelial ion transport that impairs lung host defenses, resulting in increased susceptibility to early endobronchial infections with *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, and *P* 5 *aeruginosa*. By adolescence, a majority of persons with CF have *P. aeruginosa* present in their sputum (*Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2003 Annual Data Report* (2004)). Chronic endobronchial infections, particularly with *P. aeruginosa*, provoke a persistent inflammatory response in the airway that accelerates progressive obstructive 10 disease characterized by diffuse bronchiectasis (Davis, P.B. et al. (1996), *supra*; Winnie, G.B. et al., "Respiratory Tract Colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis: Correlations Between Anti-*Pseudomonas aeruginosa* Antibody Levels And Pulmonary Function," *Pediatr Pulmonol* 10:92-100 (1991); Ballman, M. et al. "Long Term Follow Up of Changes in FEV₁ and Treatment Intensity During *Pseudomonas* 15 *Aeruginosa* Colonisation in Patients with Cystic Fibrosis," *Thorax* 53:732-737 (1998); Pamukcu, A. et al., "Effects of *Pseudomonas aeruginosa* Colonization on Lung Function and Anthropometric Variables in Children with Cystic Fibrosis," *Pediatr Pulmonol* 19:10-15 (1995)). A link between acquisition of chronic endobronchial *P. aeruginosa* infection, lung inflammation, loss of lung function, and ultimate death is suggested by 20 significantly decreased survival associated with chronic *P. aeruginosa* infection (Henry, R.L. et al., "Muroid *Pseudomonas aeruginosa* is a Marker of Poor Survival in Cystic Fibrosis," *Pediatr Pulmonol* 12(3):158-61 (1992)), and by the significant association of early acquisition of chronic *P. aeruginosa* infection and childhood mortality (Demko, C.A. et al., "Gender Differences in Cystic Fibrosis: *Pseudomonas aeruginosa* Infection," 25 *J Clin Epidemiol* 48:1041-1049 (1995)). Chronic Therapies that either suppress bacterial loads in the lung (MacLusky, L.B. et al, "Long-term Effects of Inhaled Tobramycin in Patients with Cystic Fibrosis Colonized with *Pseudomonas aeruginosa*," *Pediatr Pulmonol* 7(1):42-8 (1989)) or suppress resulting inflammation (Konstan, M.W. et al., "Effect of high-dose Ibuprofen in Patients with Cystic Fibrosis," *N Engl J Med* 30 332(13):848-54 (1995)) have been shown to reduce rates of lung function decline in infected patients.

Historically, the standard therapy for *P. aeruginosa* endobronchial infections was 14 to 21 days of parenteral antipseudomonal antibiotics, typically including an

7

aminoglycoside. However, parenteral aminoglycosides, as highly polar agents, penetrate poorly into the endobronchial space. To obtain adequate drug concentrations at the site of infection with parenteral administration, serum levels approaching those associated with nephro-, vestibule-, and oto-toxicity are required ("American Academy of Otolaryngology. Guide for the evaluation of hearing handicap," *JAMA* 241(19):2055-9 (1979); Brummett, R.E., "Drug-induced ototoxicity," *Drugs* 19:412-28 (1980)).

Inhalation administration of aminoglycosides offers an attractive alternative, delivering high concentrations of antibiotic directly to the site of infection in the endobronchial space while minimizing systemic bioavailability (Touw, D.J. et al., "Inhalation of Antibiotics in Cystic Fibrosis," *Eur Respir J* 8:1594-604 (1995); Rosenfeld, M. et al., "Aerosolized Antibiotics for Bacterial Lower Airway Infections: Principles, Efficacy, and Pitfalls," *Clinical Pulmonary Medicine* 4(2):101-12 (1997)).

The current standard of treatment of *P. aeruginosa* infections in CF patients is TOBI® tobramycin solution for inhalation, a preservative-free, stable, and convenient formulation of tobramycin (60 mg/mL tobramycin in 5 mL of 1/4 normal saline) for administration via jet nebulizer, developed by PathoGenesis Corporation, Seattle, Wash. (now Chiron Corporation, Emeryville, Calif.). The combination of a 5 mL BID TOBI dose (300 mg tobramycin) and the PARI LC PLUS/PulmoAide compressor delivery system was approved by the FDA under NDA 50-753, December 1997, as a chronic intermittent therapy for the management of *P. aeruginosa* in CF patients, and remains the industry standard for this purpose. The process of inhalation of the commercially available 300 mg TOBI dose can take 20 minutes per dose with additional time required for set-up and nebulizer cleaning. The aerosol administration of a 5 ml dose of a formulation containing 300 mg of tobramycin in quarter normal saline for the suppression of *P. aeruginosa* in the endobronchial space of a patient is also disclosed in U.S. Pat. No. 5,508,269, the disclosure of which is incorporated herein in its entirety by this reference.

Tobramycin is an aminoglycoside antibiotic produced by the actinomycete, *Streptomyces tenebrarius*. Low concentrations of tobramycin (<4 µg/mL) are effective in inhibiting the growth of many Gram-negative bacteria and under certain conditions may be bactericidal (Neu, H.C., "Tobramycin: an overview," *J Infect Dis* 134: Suppl: S3-19 (1976)). Tobramycin is poorly absorbed across mucosal surfaces, conventionally necessitating parenteral administration. In addition, tobramycin activity is inhibited by purulent sputum: high concentrations of divalent cations, acidic conditions, increased

ionic strength and macromolecules that bind the drug all inhibit tobramycin in this environment. It is estimated that 5 to 10 times higher concentrations of tobramycin are required in the sputum to overcome these inhibitory effects (Levy, J. et al., "Bioactivity of Gentamicin in Purulent Sputum from Patients with Cystic Fibrosis or Bronchiectasis: Comparison with Activity in Serum," *J Infect Dis* 148(6):1069-76 (1983)).

The effectiveness of delivery of the poorly absorbed antibiotic tobramycin to the airway by the aerosol route of cystic fibrosis (CF) patients has been well documented. Much of this work has been done toward treatment of chronic lung infections with *P. aeruginosa* in cystic fibrosis (CF) patients. For example, a multicenter, double blind, placebo-controlled, crossover trial of 600 mg tid of aerosolized tobramycin for endobronchial infections due to *P. aeruginosa* in 71 CF patients demonstrated a significant reduction in sputum density of this pathogen as well as improved spirometry in the treatment group. Emergence of *P. aeruginosa* strains highly resistant to tobramycin (defined as MIC ≥ 128 $\mu\text{g/mL}$) was comparable in the placebo and treatment groups. The presence in the sputum of Gram-negative organisms other than *P. aeruginosa* intrinsically resistant to tobramycin occurred with equal frequency during administration of tobramycin or placebo (Ramsey, B. et al., "Response to Letter to the Editor: Aerosolized Tobramycin in Patients with Cystic Fibrosis," *N Engl J Med* 329:1660 (1993)).

Although this regimen was found to be both safe and efficacious, it is costly and inconvenient. A survey of the MICs for *P. aeruginosa* isolates from initial sputum cultures for patients at the Children's Hospital CF Center, Seattle, Wash., in 1993 found that 90% of isolates had MICs ≤ 16 $\mu\text{g/mL}$ and 98% of all isolates had MICs ≤ 128 $\mu\text{g/mL}$. This survey suggested that achieving a sputum tobramycin concentration of 128 $\mu\text{g/mL}$ should effectively treat endobronchial infections in CF patients (Levy, J. et al., "Bioactivity of Gentamicin in Purulent Sputum from Patients with Cystic Fibrosis or Bronchiectasis: Comparison with Activity in Serum," *J Infect Dis* 148(6):1069-76 (1983)).

A randomized, crossover study compared the ability of several nebulizers to deliver tobramycin by measuring peak sputum tobramycin concentrations in samples collected ten minutes after completion of the aerosol dose. This study administered TOBI[®] tobramycin solution for inhalation, PathoGenesis Corporation, Seattle, Wash. (now Chiron Corporation, Emeryville, Calif.), containing 60 mg/mL tobramycin in 5 mL

9

one quarter (1/4) normal saline, using the PARI® LC jet nebulizer, PARI Respiratory Equipment, Inc., Richmond, Va. This delivery system was shown to deliver a mean peak sputum tobramycin concentration of 678.8 µg/g (s.d. 661.0 µg/g), and a median peak sputum concentration of 433.0 µg/g. Only 13% of patients had sputum levels ≤128 µg/g; 5 87% of patients achieved sputum levels of ≥128 µg/g (Eisenberg, J. et al., "A Comparison of Peak Sputum Tobramycin Concentration in Patients With Cystic Fibrosis Using Jet and Ultrasonic Nebulizer Systems. Aerosolized Tobramycin Study Group," *Chest* 111(4):955-962 (1997)). Recently, the PARI® LC jet nebulizer has been modified with the addition of one-way flow valves, and renamed the PARI® LC PLUS. The one-way 10 valves in the PARI® LC PLUS have been described as permitting the delivery of more drug than the PARI® LC jet nebulizer, while decreasing the potential for accidental spillage and allowing for the use of an expiratory filter. Experience has shown that mean peak sputum tobramycin concentrations achieved using the PARI LC PLUS jet nebulizer are significantly higher than those using the PARI® LC jet nebulizer as described in 15 Eisenberg et al. (1997), *supra*.

In addition to the foregoing, two placebo-controlled, multicenter, randomized, double blind clinical trials of intermittent administration of inhaled liquid aerosol tobramycin in cystic fibrosis patients with *P. aeruginosa* infection were reported in Ramsey, B. W. et al., "Intermittent Administration of Inhaled Tobramycin in Patients 20 with Cystic Fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Tobramycin Study Group." *N. Engl. J. Med.* 340(1):23-30 (1999). In these studies, five hundred twenty subjects were randomized to receive either 300 mg inhaled tobramycin or placebo twice daily for 28 days followed by 28 days off study drug. Subjects continued on treatment or placebo for three "on-off" cycles for a total of 24 weeks. Efficacy variables included sputum *P. aeruginosa* density. 25 Tobramycin-treated patients had an average 0.8 log₁₀ decrease in *P. aeruginosa* density from Week 0 to Week 20, compared with a 0.3 log₁₀ increase in placebo-treated patients (P<0.001). Tobramycin-treated patients had an average 1.9 log₁₀ decrease in *P. aeruginosa* density from Week 0 to Week 4, compared with no change in placebo-treated patients (P<0.001).

30 United States Patent No. 6,890,907 and United States Published Patent Application 2003/0143162 A1 disclose that patients suffering from an endobronchial infection can be effectively treated by administering to the patient for inhalation a dose of 4.0 ml, or less, of a nebulized liquid aerosol formulation comprising from about 60 to

10

about 200 mg/ml of an aminoglycoside antibiotic, such as tobramycin, in a physiologically acceptable carrier, in a time period of less than about 10 minutes. The more efficient administration of the aminoglycoside formulation permits substantially smaller volumes of liquid aminoglycoside than the conventional administration regime to be administered in substantially shorter periods of time, thereby reducing the costs of administration and drug waste. Moreover, the formulations were shown to contain a minimal yet efficacious amount of aminoglycoside formulated in a relatively small volume of a physiologically acceptable solution, thereby reducing irritation of the lungs after inhalation of the aminoglycoside formulation.

10 In addition to inhaled antibiotics such as the commercially available TOBI® product, a variety of other chronic therapies are routinely prescribed to reduce the destructive cycles of obstruction, infection, and inflammation in the CF lung. Aggressive Airway Clearance Therapy (Reisman, J.J. et al., "Role of conventional physiotherapy in cystic fibrosis," *J Pediatr* 113(4):632-6 (1988)), inhaled bronchodilators (Konig P et al.,
15 "Short-term and Long-term Effects of Albuterol Aerosol Therapy in Cystic Fibrosis: A Preliminary Report," *Pediatr Pulmonol* 20(4):205-14 (1995)), and mucolytics such as recombinant human dornase alpha (rhDNase; Fuchs, H.J. et al., "Effect of Aerosolized Recombinant Human DNase on Exacerbations of Respiratory Symptoms and on Pulmonary Function in Patients with Cystic Fibrosis. The Pulmozyme Study Group," *N Engl J Med* 331(10):637-42 (1994)) are all prescribed chronically, creating a potential for significant treatment burden for persons with CF. It has been shown that adherence to therapies is a significant problem for persons with CF (Conway, S.P. et al., "Compliance with treatment in adult patients with cystic fibrosis," *Thorax* 51(1):29-33 (1996)) and that lack of compliance can vary by specific treatment (Abbott J et al., "Treatment
20 Compliance in Adults with Cystic Fibrosis," *Thorax* 49(2):115-20 (1994)).

As described above, the commercially available TOBI® liquid aerosol tobramycin solution for inhalation has proven to be highly effective in treating *P. aeruginosa* infections in CF patients. Given the treatment burden and adherence challenges associated with preservation of lung function in persons with CF, improvements in
30 existing therapies that reduce treatment administration time or increase convenience of treatment for patients will facilitate patient adherence and resulting therapeutic efficacy. Accordingly, there is a need for new and improved methods and devices for the delivery of aminoglycoside antibiotic compounds to a patient by inhalation to reduce

administration costs, increase patient compliance and enhance overall effectiveness of the inhalation therapy.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention provides methods for the treatment of endobronchial
5 infections in a patient, comprising administering to the endobronchial system of the
patient a dry powder aerosol composition comprising from 90 to 130 mg of an
aminoglycoside antibiotic one to three times a day for a first treatment period of 20 to 36
days. In the practice of the invention, the first treatment period may be followed by a
second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the
10 endobronchial system of the patient. For the treatment of virulent infections, the cycle of
the first treatment period of aminoglycoside treatment followed by the second non-
treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the
endobronchial system of the patient may be repeated two or more times until the desired
antibacterial effect is obtained. In the case of chronic infections, such as infections
15 occurring in cystic fibrosis patients, the first and second treatment periods may be
repeated a multiplicity of times throughout the medical treatment of the patient.

The methods of the invention are useful for treating any endobronchial infection
that is susceptible to an aminoglycoside antibiotic, such as a pseudomonal endobronchial
infection associated with cystic fibrosis.

20 BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

The foregoing aspects and many of the attendant advantages of this invention will
become more readily appreciated as the same become better understood by reference to
the following detailed description, when taken in conjunction with the accompanying
drawings, wherein:

25 FIGURE 1 shows mean serum concentration of tobramycin in subjects at various
times after administration of a defined dosage of TPI and TOBI.

FIGURE 2 shows a plot of dosage of Tobramycin Powder for Inhalation (TPI)
and Tobramycin Solution for Inhalation (TOBI) versus Area Under the Curve (AUC)
(0,12).

30 FIGURE 3 shows a plot of dosage of TPI and TOBI versus AUC (0,∞).

FIGURE 4 shows the average concentration of tobramycin in sputum of subjects
who had received a defined dosage of TOBI or TPI.

12

DETAILED DESCRIPTION OF THE PREFERRED EMBODIMENT

Unless specifically defined herein, all terms used herein have the same meaning as they would to one skilled in the art of the present invention. The following abbreviations are used herein:

<u>Abbreviation</u>	<u>Meaning</u>
AE	adverse event
ALT	alanine aminotransferase
AUC	area under curve
BID	twice daily
BUN	blood urea nitrogen
CaCl ₂	calcium chloride
CF	cystic fibrosis
CFC	chlorofluorocarbon
C _{max}	maximum concentration
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
DPI	dry powder inhaler
DSPC	1, 2 distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine
FDA	United States Food and Drug Administration
FEV ₁	forced expiratory volume at 1 second
FVC	forced vital capacity
FEF ₂₅₋₇₅	forced expiratory flow between 25% and 75%
HPMC	2-hydroxypropylmethylcellulose
IRB	Institutional Review Board
IVRS	Interactive Voice Response System
MedDRA	Medical Dictionary for Regulatory Activities
MIC	minimal inhibitory concentration
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PFOB	perfluorooctyl bromide
QPIT	quantitative pilocarpine iontophoresis test
SAE	serious adverse event
t _{max}	time to maximum concentration
TOBI®	300 mg Tobramycin Solution for Inhalation, Chiron Corporation, Emeryville, CA
TIP	Tobramycin Inhalation Powder

3

In one aspect the present invention provides methods for the treatment of endobronchial infections in a patient, comprising administering to the endobronchial system of the patient a dry powder aerosol composition comprising from 90 to 130 mg of an aminoglycoside antibiotic one to three times a day for a first treatment period of 20 to 36 days. In the practice of the invention, the first treatment period may be followed by a second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient. For the treatment of virulent infections, the cycle of the first treatment period of aminoglycoside treatment followed by the second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient may be repeated two or more times until the desired antibacterial effect is obtained. In the case of chronic infections, such as infections occurring in cystic fibrosis patients, the first and second treatment periods may be repeated a multiplicity of times throughout the medical treatment of the patient.

In another aspect, the present invention provides the use of an aminoglycoside antibiotic in the preparation of a medicament for the treatment of endobronchial infections in a patient by administering to the endobronchial system of the patient in a first treatment period a dry powder aerosol composition comprising from 90 to 130 mg of an aminoglycoside antibiotic one to three times a day for a first treatment period of 20 to 36 days. In the practice of this aspect of the invention, the first treatment period may similarly be followed by a second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient, and the first and second treatment periods may be repeated, substantially as described herein.

The methods of this aspect of the invention each include the step of administering, by inhalation, to a human or animal subject, in need of such administration, a therapeutically effective amount of an aerosol powder comprising 20% by weight to 90% by weight of an aminoglycoside antibiotic and a physiologically acceptable carrier, wherein the powder comprises particles, and wherein at least 50% of the particles have an aerodynamic diameter in the range of from 1 μm to 5 μm .

The term "endobronchial infection" refers to a bacterial infection located within a bronchus of the lungs. Examples of endobronchial infections that can be treated using the methods of the present invention include infections by gram negative organisms, such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia*

14

cepacia, *Stenotrophomonas maltophilia*, and *Alcaligenes xiloxidans*. The methods of this aspect of the present invention can be used, for example, to treat human beings suffering from an endobronchial infection associated with cystic fibrosis, such as, e.g., a *Pseudomonas aeruginosa* infection.

5 Aminoglycoside antibiotics useful in the practice of the invention, include, for example, gentamicin, amikacin, kanamycin, streptomycin, neomycin, netilmicin, paramecin and tobramycin. A presently preferred aminoglycoside antibiotic for use in the practice of the present invention is tobramycin. The aminoglycoside antibiotic is typically administered in the form of a pharmaceutically acceptable salt (e.g., sulfate,
10 citrate, ascorbate, gluconate, carbonate, tartarate, succinate, acetate, or phosphate) or ester.

 In the practice of the present invention, the aerosol powder is inhaled by the human or animal subject, and thereby enters the lungs of the human or animal subject. The aerosol powder comprises particles that comprise the aminoglycoside antibiotic. It
15 has been found that aerosol powders (comprising an aminoglycoside antibiotic) wherein at least 50% of the particles have an aerodynamic diameter in the range of from 1 μm to 5 μm effectively penetrate into the lungs of the human or animal subject, thereby effectively delivering the aminoglycoside antibiotic to the lungs of the subject. By way of example, some aerosol powders (comprising an aminoglycoside antibiotic) useful in
20 the practice of the present invention comprise particles wherein at least 60% of the particles, or at least 70% of the particles, or at least 80% of the particles, or at least 90% of the particles, or at least 95% of the particles, have an aerodynamic diameter in the range of from 1 μm to 5 μm .

 The term "aerodynamic diameter" refers to the diameter of a unit-density sphere
25 having the same terminal settling velocity as the particle in question (see, e.g., "Aerosol Measurement: Principles, Techniques and Applications". Edited by Klaus Willeke and Paul A. Baron. Van Nostrand Reinhold, New York, 1993). Aerodynamic diameter is used, for example, to predict where such particles will be deposited in the respiratory tract.

30 "Mass median aerodynamic diameter" (abbreviated as MMAD) is a measure of the aerodynamic size of a dispersed particle. The aerodynamic size distribution defines the manner in which an aerosol deposits during inhalation, and is the diameter of a unit density sphere having the same settling velocity, generally in air, as the particle. The

15 aerodynamic diameter encompasses particle shape, density and physical size of a particle. When there is a log-normal distribution, the aerodynamic size distribution may be characterized by the mass median aerodynamic diameter (MMAD). As used herein, MMAD refers to the midpoint or median of the aerodynamic particle size distribution of an aerosolized powder determined by Anderson cascade impaction.

10 In brief, cascade impaction devices include a series of screens of decreasing pore size. The screens trap particles within a moving jet that passes through the impactor. The amount of particulate material (having particle sizes within a defined size range) that is trapped on each screen can be determined by washing the screen and measuring the amount of eluted material. Examples of cascade impactors, and their use, are described in Chapter 601 (Aerosols) of the Pharmacopoeia of the United States (26th Revision), the cited portion of which publication is incorporated herein by reference.

15 The powdered aminoglycoside antibiotic formulations useful in the practice of the present invention typically contain less than 15% by weight moisture, usually below about 11% by weight, and preferably below about 8% by weight.

20 In the practice of the present invention a therapeutically effective amount of an aerosol powder comprising an aminoglycoside antibiotic is administered by inhalation to a patient suffering from an endobronchial infection. A therapeutically effective amount of an aerosol powder contains sufficient aminoglycoside antibiotic to completely or partially inhibit the growth of susceptible bacteria in the lungs of the patient. As a representative example, for the aminoglycoside tobramycin therapeutically effective amounts are obtained by administering to a patient from once daily to three times a day, and in preferred aspects of the invention twice a day, an aerosol powder compositions comprising a dosage from about 90 mg to about 130 mg, more preferably from about 25 100 mg to about 120 mg, and most preferably from about 110 mg to about 115 mg of tobramycin (determined as free-base weight excluding the weight of counterion(s) that may be present).

30 The dosage of administered aminoglycoside, such as tobramycin, may be administered from a single container as a single unit dose, or it may be divided into multiple containers or units doses for sequential administration, depending of the inhalation device used for delivery of the antibiotic. For example, the administered dosage of aminoglycoside antibiotic may be divided into two to six unit doses, more preferably three to five unit doses and even more preferably four unit doses. In one

1b

representative embodiment a dosage for administration of 112 mg of tobramycin (determined as free-base weight excluding the weight of counterion(s) that may be present) is loaded into 4 separate #2 HPMC capsules at fill weights of 27 mg of tobramycin as free base per capsule.

5 The dry powder aerosol compositions of the invention are administered to a patient for a first treatment period of from 20 to 36 days, more preferably from 26 to 30 days, and even more preferably for about 28 days. This first treatment period is followed by a second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient. In one aspect of the invention, the second
10 non-treatment period will continue for about 20 to 36 days, more preferably from about 26 to about 30 days, and most preferably for about 28 days.

 In one representative embodiment, the methods of the invention are used to treat cystic fibrosis patients for management of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infections. In this aspect, the invention contemplates the treatment of a cystic fibrosis patient
15 suffering from an endobronchial infection, comprising administering to endobronchial system of the patient a dry powder aerosol composition comprising from 110 to 115 mg of tobramycin antibiotic twice a day for a first treatment period of 28 days, providing a second non-treatment period of from 26 to 30 days wherein no tobramycin antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient, and then repeating the first and
20 second treatment periods. In this aspect of the invention, the 110 to 115 mg dosage of tobramycin may be divided into three to five unit doses, preferably into four unit doses, for sequential administration. Since cystic fibrosis patients tend to be chronically infected with *P. aeruginosa*, the cycle of treatment for the first treatment period followed by the second non-treatment period will typically be repeated a plurality or multiplicity of
25 times, and may be continued indefinitely for long term management of endobronchial infections in the cystic fibrosis patient.

 The aerosol powder typically comprises from 20% (by weight) to 90% (by weight) of aminoglycoside antibiotic. Thus, in some embodiments of the present invention the aerosol powder comprises from 30% (by weight) to 80% (by weight) of an
30 aminoglycoside antibiotic. In some embodiments of the present invention the aerosol powder comprises from 40% (by weight) to 70% (by weight) of an aminoglycoside antibiotic. In this context, the percentage (by weight) of the aminoglycoside antibiotic

17

refers to the amount of the free antibiotic, excluding the weight of counterion(s) that may be present. /

Aerosol powders of the invention typically, but not necessarily, include at least one physiologically acceptable carrier. For example, the aerosol powder can include one or more excipients, and/or any other component that improves the effectiveness of the aminoglycoside antibiotic. Such excipients may serve simply as bulking agents when it is desired to reduce the active agent concentration in the powder which is being delivered to a patient. Such excipients may also serve to improve the dispersability of the powder within a powder dispersion device in order to provide more efficient and reproducible delivery of the active agent and to improve the handling characteristics of the active agent (e.g., flowability and consistency) to facilitate manufacturing and powder filling. In particular, the excipient materials can often function to improve the physical and chemical stability of the aminoglycoside, to minimize the residual moisture content and hinder moisture uptake, and to enhance particle size, degree of aggregation, surface properties (e.g., rugosity), ease of inhalation, and targeting of the resultant particles to the deep lung.

Pharmaceutical excipients and additives useful in the aminoglycoside compositions useful in the practice of the present invention include, but are not limited to, proteins, peptides, amino acids, lipids, polymers, and carbohydrates (e.g., sugars, including monosaccharides, di-, tri-, tetra-, and oligosaccharides; derivatized sugars such as alditols, aldonic acids, esterified sugars; and polysaccharides or sugar polymers), which may be present singly or in combination. Exemplary protein excipients include serum albumin such as human serum albumin (HSA), recombinant human albumin (rHA), gelatin, and casein. Representative amino acid/polypeptide components, which may also function in a buffering capacity, include alanine, glycine, arginine, betaine, histidine, glutamic acid, aspartic acid, cysteine, lysine, leucine, proline, isoleucine, valine, methionine, phenylalanine, and aspartame, although arginine is less preferred. Polyamino acids of the representative amino acids such as di-leucine and tri-leucine are also suitable for use with the present invention.

Carbohydrate excipients suitable for use in the invention include, for example, monosaccharides such as fructose, maltose, galactose, glucose, D-mannose, and sorbose; disaccharides, such as lactose, sucrose, trehalose, cellobiose; polysaccharides, such as

18

raffinose, melezitose, maltodextrins, dextrans, and starches; and alditols, such as mannitol, xylitol, maltitol, lactitol, xylitol sorbitol (glucitol), and myoinositol.

The aminoglycoside compositions may also include a buffer or a pH adjusting agent; typically, the buffer is a salt prepared from an organic acid or base. Representative
5 buffers include organic acid salts such as salts of citric acid, ascorbic acid, gluconic acid, carbonic acid, tartaric acid, succinic acid, acetic acid, or phthalic acid; Tris, tromethamine hydrochloride, or phosphate buffers.

Additionally, the aminoglycoside compositions useful in the practice of the invention may include polymeric excipients/additives such as polyvinylpyrrolidones,
10 hydroxypropyl methylcellulose, methylcellulose, ethylcellulose, Ficolls (a polymeric sugar), dextran, dextrans (*e.g.*, cyclodextrins, such as 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, hydroxyethyl starch), polyethylene glycols, pectin, salts (*e.g.*, sodium chloride), antioxidants, antistatic agents, surfactants (*e.g.*, polysorbates such as "TWEEN 20" and "TWEEN 80", lecithin, oleic acid, benzalkonium chloride, and sorbitan esters), lipids
15 (*e.g.*, phospholipids, fatty acids), steroids (*e.g.*, cholesterol), and chelating agents (*e.g.*, EDTA). Other examples of pharmaceutical excipients and/or additives suitable for use in the aminoglycoside compositions are listed in "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19th ed., Williams & Williams, (1995), and in the "Physician's Desk Reference", 52nd ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (1998), the disclosures of
20 which are herein incorporated by reference.

A presently preferred combination of excipients is lecithin and calcium chloride. Lecithin is a member of the phosphatidylcholine group of naturally-occurring phospholipids that act as surfactants in mammalian (including human) lungs.

The aminoglycoside compositions useful in the practice of the invention may
25 include a dispersing agent for improving the intrinsic dispersability properties of the aminoglycoside powders. Suitable agents are disclosed in PCT applications WO 95/31479, WO 96/32096, and WO 96/32149, hereby incorporated in their entirety by reference. As described therein, suitable agents include water soluble polypeptides and hydrophobic amino acids such as tryptophan, leucine, phenylalanine, and glycine.
30 Leucine and tri-leucine are particularly preferred for use according to this invention.

The solid state matrix formed by the aminoglycoside and excipient imparts a stabilizing environment to the aminoglycoside. The stabilizing matrix may be crystalline, an amorphous glass, or a mixture of both forms. Most suitable are dry powder

19

formulations which are a mixture of both forms. For aminoglycoside dry powder formulations which are substantially amorphous, preferred are those formulations exhibiting glass transition temperatures (T_g) above about 35°C, preferably above about 45°C, and more preferably above about 55°C. Preferably, T_g is at least 20°C above the storage temperature. According to a preferred embodiment, the aminoglycoside compositions comprise a phospholipid as the solid state matrix as disclosed in WO 99/16419 and WO 01/85136, hereby incorporated in their entirety by reference.

Dry powder aminoglycoside compositions may be prepared by spray drying under conditions which result in a substantially amorphous glassy or a substantially crystalline bioactive powder as described above. Spray drying of the aminoglycoside -solution formulations is carried out, for example, as described generally in the "Spray Drying Handbook," 5th ed., K. Masters, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1991), and in WO 97/41833, the contents of which are incorporated herein by reference.

To prepare an aminoglycoside solution for spray-drying according to one embodiment of the invention, an aminoglycoside is generally dissolved in a physiologically acceptable solvent such as water. The pH range of solutions to be spray-dried is generally maintained between about 3 and 10, preferably 5 to 8, with near neutral pHs being preferred, since such pHs may aid in maintaining the physiological compatibility of the powder after dissolution of powder within the lung. The aqueous formulation may optionally contain additional water-miscible solvents, such as alcohols, acetone, and the like. Representative alcohols are lower alcohols such as methanol, ethanol, propanol, isopropanol, and the like. Aminoglycoside solutions will generally contain aminoglycoside dissolved at a concentration from 0.05% (weight/volume) to about 20% (weight/volume), usually from 0.4% to 5.0% (weight/volume).

The aminoglycoside-containing solutions are then spray dried in a conventional spray drier, such as those available from commercial suppliers such as Niro A/S (Denmark), Buchi (Switzerland), and the like, resulting in a stable, aminoglycoside dry powder. Optimal conditions for spray drying the aminoglycoside solutions will vary depending upon the formulation components, and are generally determined experimentally. The gas used to spray dry the material is typically air, although inert gases such as nitrogen or argon are also suitable. Moreover, the temperature of both the inlet and outlet of the gas used to dry the sprayed material is such that it does not cause deactivation of aminoglycoside in the sprayed material. Such temperatures are typically

20

determined experimentally, although generally, the inlet temperature will range from about 50°C to about 200°C while the outlet temperature will range from about 30°C to about 150°C.

Aminoglycoside dry powders may also be prepared by lyophilization, vacuum
5 drying, spray freeze drying, super critical fluid processing, or other forms of evaporative
drying or by blending, grinding, or jet milling formulation components in dry powder
form. In some instances, it may be desirable to provide the aminoglycoside dry powder
formulation in a form that possesses improved handling/processing characteristics, *e.g.*,
reduced static, better flowability, low caking, and the like, by preparing compositions
10 composed of fine particle aggregates, that is, aggregates or agglomerates of the above-
described aminoglycoside dry powder particles, where the aggregates are readily broken
back down to the fine powder components for pulmonary delivery, as described, *e.g.*, in
U.S. Patent No. 5,654,007, incorporated herein by reference. Alternatively, the
aminoglycoside powders may be prepared by agglomerating the powder components,
15 sieving the materials to obtain the agglomerates, spheronizing to provide a more spherical
agglomerate, and sizing to obtain a uniformly-sized product, as described, *e.g.*, in
WO 95/09616, incorporated herein by reference. The aminoglycoside dry powders are
preferably maintained under dry (*i.e.*, relatively low humidity) conditions during
manufacture, processing, and storage.

20 According to one embodiment, an exemplary powdered tobramycin formulation
useful in the practice of the present invention may be made according to the
emulsification/spray drying process disclosed in WO 99/16419 and WO 01/85136 cited
above. Formulations according to such embodiments are engineered to comprise dry
powder particles comprising at least 75% w/w tobramycin, preferably at least 85% w/w
25 tobramycin, 2-25% w/w of a phospholipid, preferably 8-18% w/w, and 0-5% w/w of a
metal ion such as calcium chloride. The particles of this embodiment generally have an
MMAD of from 1 micron to 5 microns, and a bulk density of greater than 0.08 g/cm³,
preferably greater than 0.12 g/cm³.

Another exemplary powdered tobramycin formulation useful in the practice of the
30 present invention may be produced by creating an emulsion containing active tobramycin,
1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DSPC), CaCl₂ and perfluorooctyl bromide
(PFOB). This feedstock emulsion is then sprayed through an atomizer nozzle, producing
fine droplets. As the droplets dry, water and PFOB evaporate yielding phospholipid-

71

based spherical particles with porous structure. These spheres are of low density and thus demonstrate favorable aerodynamic characteristics (e.g., the spherical particles have an aerodynamic diameter in the range of from 1 μm to 5 μm). Their high surface porosity also reduces particle-to-particle contact, decreasing the energy required for aerosol suspension.

The aerosol powder (comprising an aminoglycoside antibiotic) can be administered using a dry powder inhaler that uses a patient's (e.g., human's or animal's) inhaled breath to deliver the powdered aminoglycoside antibiotic formulation to the lungs. An example of a useful dry powder inhaler is the model T-326 inhaler (Nektar Therapeutics, 150 Industrial Road, San Carlos, CA 94070, U.S.A.). Other examples of useful dry powder inhalation devices are described in U.S. Pat. Nos. 5,458,135; 5,740,794; 5,775,320; and 5,785,049, each of which patents are incorporated herein by reference. When administered using a device of this type, the powdered medicament is contained in a receptacle having a puncturable lid or other access surface, preferably a blister package or cartridge, where the receptacle may contain a single dosage unit or multiple dosage units. Exemplary methods for filling large numbers of cavities with metered doses of dry powder medicament are described in U.S. Pat. No. 5,826,633, incorporated herein by reference.

Also suitable for delivering the aminoglycoside powders described herein are dry powder inhalers of the type described, for example, in U.S. Pat. Nos. 3,906,950, 4,013,075, 4,069,819, and 4,995,385, each of which patents are incorporated herein by reference, wherein a premeasured dose of aminoglycoside dry powder for delivery to a subject is contained within a capsule, such as a hard gelatin capsule. The size of the capsule, such as 00, 0, No. 1, or No. 3 sized capsules, depends, among other factors, upon the inhalation device used to administer the powders.

Other dry powder dispersion devices for pulmonarily administering aminoglycoside dry powders include those described, for example, in EP 129985, EP 472598, EP 467172, and U.S. Pat. No. 5,522,385, each of which patents are incorporated herein in their entirety by reference. Also suitable for delivering the aminoglycoside dry powders of the invention are inhalation devices such as the Astra-Draco "TURBUHALER". This type of device is described in detail in U.S. Pat. Nos. 4,668,218, 4,667,668, and 4,805,811, all of which are incorporated herein by reference.

22

Also suitable are devices which employ the use of a piston to provide air for either entraining powdered medicament, lifting medicament from a carrier screen by passing air through the screen, or mixing air with powder medicament in a mixing chamber with subsequent introduction of the powder to the patient through the mouthpiece of the device, such as described in U.S. Pat. No. 5,388,572, incorporated herein by reference.

In view of the foregoing, it will be understood that a therapeutically effective amount of an aerosol powder (comprising an aminoglycoside antibiotic) can be administered from a single container, or from more than one container, disposed within a dry powder inhalation device. For example, a dry powder inhalation device may be loaded with a single container containing a therapeutically effective amount of an aerosol powder (comprising an aminoglycoside antibiotic), and the contents of the container are inhaled by a human or animal subject. Again by way of example, a dry powder inhaler may be loaded with multiple unit dose containers (e.g., 2, 3, or 4 containers), such as #2 HPMC capsules, that separately contain less than a therapeutically effective amount of an aerosol powder (comprising an aminoglycoside antibiotic), but which together contain a therapeutically effective amount of the aerosol powder. The dry powder inhaler discharges the contents of all of the containers disposed therein, and thereby provides the user with a therapeutically effective amount of the aerosol powder.

The aminoglycoside treatment regimen of the present invention may be used alone or in combination with one or more additional agents for the treatment of endobronchial infections, particularly infections by *P. aeruginosa*. In this aspect of the invention, the one or more additional agents for the treatment of endobronchial infections may be administered during the first treatment period of aminoglycoside treatment, during the second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient, or during both the first and second treatment periods. In one embodiment of this aspect of the invention, the one or more additional agents for the treatment of endobronchial infections is administered during the second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient. Suitable additional agents for the treatment of endobronchial infections include, for example, non-aminoglycoside anti-infective agents, such as monobactam, β -lactam, macrolide, fluoroquinolone and/or glycopeptide antibiotic compounds. For example, the non-aminoglycoside anti-infective agent may be aztreonam.

23

The emitted dose (ED) of the powdered aminoglycoside antibiotic formulations will generally be greater than 50%. More preferably, the ED of the powdered aminoglycoside antibiotic formulations useful in the practice of the present invention is greater than 70%, and is often greater than 80%. As used herein, the term "emitted dose" or "ED" refers to an indication of the delivery of dry powder from a suitable inhaler device after a firing or dispersion event from a powder unit, capsule, or reservoir. ED is defined as the ratio of the dose delivered by an inhaler device to the nominal dose (i. e., the mass of powder per unit dose placed into a suitable inhaler device prior to firing). The ED is an experimentally-determined amount, and is typically determined using an in-vitro device set up which mimics patient dosing. To determine an ED value, a nominal dose of dry powder (as defined above) is placed into a suitable dry powder inhaler, which is then actuated, dispersing the powder. The resulting aerosol cloud is then drawn by vacuum from the device, where it is captured on a tared filter attached to the device mouthpiece. The amount of powder that reaches the filter constitutes the delivered dose. For example, for a 50 mg, dry powder-containing #2 capsule placed into an inhalation device, if dispersion of the powder results in the recovery of 40 mg of powder on a tared filter as described above, then the ED for the dry powder composition is: $40 \text{ mg (delivered dose)} / 50 \text{ mg (nominal dose)} \times 100 = 80\%$.

In yet other aspects, the invention provides for kits for use in the treatment of endobronchial infections in a patient, the kits comprising one or more doses of from 90 to 130 mg of a dry powder aminoglycoside antibiotic together with instructions for administration of a dosage to the endobronchial system of the patient using a dry powder inhalation device one to three times a day for a first treatment period of 20 to 36 days. In this aspect of the invention, the instructions may further provide that the first treatment period may be followed by a second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient, and that the cycle of the first treatment period of aminoglycoside treatment followed by the second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient may be repeated two or more times until the desired antibacterial effect is obtained, substantially as described herein. In the kits of the invention, the one or more doses may be contained in a single container as a single unit dose, or it may be divided into multiple containers or units doses for sequential administration, depending of the inhalation device used for delivery of the antibiotic. For

24

example, the administered dosage of aminoglycoside antibiotic may be divided into two to six unit doses, more preferably three to five unit doses and even more preferably four unit doses. In one representative embodiment the kits of the invention contain dosages for administration of 112 mg of tobramycin (determined as free-base weight excluding
5 the weight of counterion(s) that may be present) loaded into 4 separate #2 HPMC capsules at fill weights of 27 mg of tobramycin as free base per capsule.

The following examples merely illustrate the best mode now contemplated for practicing the invention, but should not be construed to limit the invention.

EXAMPLE 1

10 Preparation of Tobramycin Powder for Inhalation (TPI)

A tobramycin sulfate dry powder composition is prepared according to the following procedure. Sterile Water for Irrigation (SWFI) is heated above the gel to liquid crystal temperature (about 80° C) of disteroyl phosphatidylcholine (DSPC). DSPC and calcium chloride dihydrate are then added to the heated water. The resulting lipid
15 dispersion is mixed in an UltraTurrax T-50 (IKA Labortechnik) at 8,000 rpm for 5 min. Perfluorooctyl bromide (PFOB) is then added dropwise (15 ml/min) to the lipid dispersion under mixing. After the addition is complete the resulting PFOB-in-water emulsion is mixed for an additional 10 min at 10,000 rpm. Emulsification in the UltraTurrax produces droplets in the micron-size range. Tobramycin sulfate is then
20 dissolved in the continuous phase of the emulsion and the resulting dispersion is used as the feedstock for spray drying. The feedstock is then spray dried to obtain a dry powder formulation having the composition set forth in Table 1 below.

Table 1. TPI Formulation.

<u>Component</u>	<u>Amount</u>
Tobramycin	63.1 % w/w
Sulfate	21.9 % w/w
DSPC	14.02 % w/w
CaCl ₂	0.98 w/w

25

The powder is placed into a capsule filling station at a relative humidity of 10 to 15% and allowed to equilibrate for 10 minutes, and then filled into #2 HPMC capsules at a fill weight of 50 mg (27 mg of tobramycin as free base) per capsule.

5 EXAMPLE 2

This Example describes a clinical study that demonstrates that single dose administration of a tobramycin dry powder composition of the invention results in a more efficient delivery of tobramycin than administration of a tobramycin solution, while maintaining similar tobramycin pharmacokinetics.

10 Overall Study Design and Plan

The study was designed as a randomized, open-label, sequential-cohort, active-controlled, single-dose, dose-escalation study. In each sequential cohort, subjects were randomized in a 3:1 ratio to receive either a single dose of Tobramycin Powder for Inhalation (TPI) administered using a T-326 Inhaler (Nektar Therapeutics, San Carlos, CA, USA), according to the dosing schedule shown below, or a single dose of 300 mg Tobramycin Solution for Inhalation (TOBI), aerosolized by a PARI LC PLUS™ jet nebulizer with a DeVilbiss PulmoAide™ compressor. Subjects were allowed to participate in one cohort only.

Escalation to the next TPI treatment cohort proceeded after review by a Data Monitoring Committee (DMC) of all treatment-emergent adverse events (AEs) and other safety results of the completed cohort and if neither of the following criteria were met: Three or more subjects within a cohort treated with TPI experience at least a 20% relative decline in FEV₁ within 30 minutes after the end of dosing; any TPI-dosed subject experienced a study drug-related Serious Adverse Event (SAE).

25 Experimental Treatment

A single dose of TPI was administered using the T-326 Inhaler:

- Cohort 1: Two capsules of TPI (14 mg dosage strength of tobramycin as free base per capsule ("dosage strength"))
- Cohort 2: Four capsules of TPI (14 mg dosage strength)
- 30 Cohort 3: Two capsules of TPI (28 mg dosage strength)
- Cohort 4: Four capsules of TPI (28 mg dosage strength)
- Cohort 5: Three capsules of TPI (28 mg dosage strength)

26

Control Treatment

A single dose of TOBI at 300 mg/5 mL [preservative free tobramycin 60 mg/mL (excipient 5 mL of 1/4 normal saline adjusted to a pH of 6.0 ± 0.5)] aerosolized by a PARI LC PLUS jet nebulizer with a DeVilbiss PulmoAide compressor.

5 Up to 80 subjects of at least 6 years of age with a confirmed diagnosis of cystic fibrosis (CF) were randomized and treated in the study. Each cohort randomized 12 subjects to the TPI arm and 4 subjects to the TOBI arm for a total of 16 subjects per cohort.

10 Subjects were screened for eligibility 7 to 9 days prior to study drug administration. Subjects were evaluated for safety and for sputum and serum tobramycin concentrations at predose, at 30 minutes, and at 1, 2, 4, 8, and 12 hours after the single dose of study drug was administered under supervision. A 7-day (± 2 days) follow-up visit was conducted.

Discussion of Study Design, Including Choice of Control Group

15 The primary outcome measure for this study was the general safety and tolerability of the experimental treatment. To better assess this outcome, a 3:1 randomization scheme was chosen to maximize enrollment into the experimental treatment arm.

20 The active concurrent control for this study was 300 mg/5 mL TOBI delivered by a PARI LC PLUS jet nebulizer driven by a DeVilbiss PulmoAide compressor. TOBI is indicated for the management of cystic fibrosis patients with *P. aeruginosa*.

Inclusion Criteria for Selection of Study Population

Subjects were eligible to participate in the study if they met all of the following inclusion criteria.

- 25
- Provide written informed consent and HIPAA authorization prior to the performance of any study-related procedure.
 - Male and female subjects ≥ 6 years of age at the time of screening.
 - Diagnosis of cystic fibrosis (CF) with documented sweat chloride ≥ 60 meq/L by quantitative pilocarpine iontophoresis test (QPIT) and/or genotype with
- 30 two identifiable mutations consistent with CF, accompanied by one or more clinical features consistent with CF.

77

- For female subjects who are ≥ 11 years of age or who have reached menarche:
A negative serum pregnancy test. Sexually active females of childbearing age must agree to use contraception during the study period.
- Able to expectorate sputum samples on command.
- 5 • $FEV_1 \geq 40\%$ of predicted value (calculated using Knudson equations based on gender, age, and height).
- Able to comply with all protocol requirements.
- Clinically stable in the opinion of the investigator.

Exclusion Criteria for Selection of Study Subjects

- 10 Subjects were excluded from participating in the study if they met any of the following exclusion criteria.
- Administration of inhaled or intravenous aminoglycosides within 14 days prior to study drug administration and throughout the study period.
 - Administration of any investigational treatment within 14 days prior to study
 - 15 drug administration and throughout the study period.
 - Administration of loop diuretics within 7 days prior to study drug administration and throughout the study period.
 - Hemoptysis more than 60 cc at any time within 30 days prior to study drug administration.
 - 20 • Known local or systemic hypersensitivity to aminoglycosides or inhaled antibiotics.
 - Serum creatinine 2 mg/dl or more, BUN 40 mg/dl or more, or an abnormal urine analysis defined as 2+ or greater proteinuria.

Removal of Subjects from Therapy or Assessment

- 25 Subjects or their parents or legal guardians could withdraw their consent to participate in the study at any time without prejudice. The investigator could withdraw a subject if, in his or her clinical judgment, it was in the best interest of the subject or if the subject could not comply with the protocol. Whenever possible, the tests and evaluations listed for the termination visit were carried out.
- 30 If a subject failed to return for the necessary visits, an effort was to be made to determine the reason(s). This information was to be recorded on the appropriate case report form (CRF).

28

Randomized subjects who withdrew from the study without being dosed were replaced. Any randomized subject who withdrew after dosing was not replaced. The reason for withdrawal and the date of withdrawal were to be recorded on the CRF. The reasons for withdrawal were classified as follows:

- 5 • Adverse event;
- Protocol violation;
- Lost to follow-up;
- Withdrawal of consent;
- Death;
- 10 • Inappropriate enrollment;
- Administrative reason;
- Other, not specified above.

Treatments Administered

- Up to 80 subjects were randomized and treated. Each subject received a single
- 15 dose of either the control treatment or the experimental treatment as listed below.

Experimental Treatment: Administered using the T-326 Inhaler

- Cohort 1: Two capsules of TPI (14 mg dosage strength)
- Cohort 2: Four capsules of TPI (14 mg dosage strength)
- Cohort 3: Two capsules of TPI (28 mg dosage strength)
- 20 Cohort 4: Four capsules of TPI (28 mg dosage strength)
- Cohort 5: Three capsules of TPI (28 mg dosage strength)

Control Treatment

- TOBI at 300 mg/5 mL [preservative free tobramycin 60 mg/mL (excipient 5 mL of 1/4 normal saline adjusted to a pH of 6.0 ± 0.5)] aerosolized by a PARI LC PLUS jet
- 25 nebulizer with a DeVilbiss PulmoAide compressor.

Investigational Product Characteristics

- TPI used in this study is a dry powder formulation of tobramycin and two excipients: 1,2 distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DSPC) and calcium chloride (CaCl_2). TPI was filled into individual size 2-hydroxypropylmethylcellulose (HPMC)
- 30 capsules containing either 25 mg or 50 mg of powder. Two dosage strengths of tobramycin powder were used in the present study: 14 mg tobramycin per capsule and 28 mg tobramycin per capsule.

2a
24

TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation (300 mg/5 mL) is a sterile, non-pyrogenic, preservative-free antibiotic prepared for aerosolization. Each mL of study drug contains 60 mg tobramycin and 2.25 mg sodium chloride in sterile water for injection, pH 6.0 ± 0.5.

5 Directions For Administration

Subjects randomized to the control treatment received 300 mg of TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation at 60 mg/mL. TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation was administered to subjects via a PARI LC PLUS jet nebulizer and DeVilbiss PulmoAide Compressor. The 300 mg dose of TOBI® Tobramycin Solution for
10 Inhalation was supplied as a commercial ampoule of TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation. Two 5 mL ampoules of study drug were provided in a foil pouch. Although this was a single-dose study, a foil pouch containing two 5-mL ampoules of study drug was provided to subjects in the event that there was accidental spillage of the study medication during preparation and set-up of the nebulizer and delivery system.

15 Subjects randomized to the experimental treatment received a single dose of TPI consisting of two or four capsules of 14 mg dosage strength or two, three, or four capsules of 28 mg dosage strength. TPI was administered to subjects via a T-326 Inhaler. TPI capsules were sealed in a double foil-wrapped, moisture-proof container and were to be administered within 30 minutes of opening the container. For cohorts 1, 2, and 3, only
20 one T-326 Inhaler device was to be used to complete the single dose administration. For cohorts 4 and 5, the T-326 Inhaler device was to be replaced after the second capsule was administered; therefore, two T-326 Inhalers were to be used to complete the single dose administration for these cohorts.

Detailed instructions on the preparation and use of both the control and
25 experimental treatment were provided to research staff at the study sites.

Method of Assigning Subjects to Treatment Groups

Eligible subjects were randomly assigned in a 3:1 ratio to either the experimental or control treatment group. Once the investigator or research coordinator confirmed that the subject met eligibility criteria, staff completed a randomization worksheet for the
30 subject and received a subject number and treatment assignment via an Interactive Voice Response System (IVRS).

30

At the outset of the study, up to 80 subjects in five cohorts were expected to be randomized, 60 to the experimental treatment (12 subjects in each cohort) and 20 to the control treatment (4 subjects in each cohort).

Selection of Doses Used in the Study

5 The dose for the control treatment was the FDA-approved dose of 300 mg TOBI for the management of *P. aeruginosa* in CF patients 6 years of age and older. Using PK modeling, the systemic bioavailability of the 300 mg dose of TOBI delivered via the PARI LC PLUS jet nebulizer/DeVilbiss PulmoAide compressor was estimated to be 11.7% of the nebulized dose. The mean and standard deviation of the serum
10 concentration of the 300 mg TOBI dose, one hour after inhalation, was $1.0 \pm 0.58 \mu\text{g/mL}$, suggesting a wide range of deposition.

The dose for the experimental treatment was two or four TPI capsules containing 14 mg tobramycin/capsule; or two, three, or four TPI capsules containing 28 mg tobramycin/capsule.

15 Selection and Timing of Dose for Each Subject

Subjects were given a single dose of either 300 mg TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation at 60 mg/mL or a single dose of TPI consisting of two or four capsules of 14 mg dosage strength, or two, three, or four capsules of 28 mg dosage strength. There was no restriction on the timing of dosing in relation to meals.

20 Blinding

The study was an open-label clinical investigation. The use of two different delivery systems makes blinding of the treatment identity impractical.

Prior and Concomitant Therapy

Additional supportive therapy was administered in accordance with standard
25 practice at each study site. Medications listed in the exclusion criteria were not administered to the subject from the time of screening through the follow-up visit.

Subjects were allowed to use bronchodilators before taking the study drug. Bronchodilators were administered only to subjects who routinely used bronchodilators for clinical therapy. Routine use is defined as once or more daily for two weeks prior to
30 screening. Subjects on short-acting bronchodilators were administered the medication 15 to 60 minutes prior to the initiation of the study drug. Subjects on long-acting bronchodilators took the medication as prescribed in the preceding 24 hours.

31

The use of the following drugs was prohibited: any form of aminoglycosides or any investigational treatment within 14 days prior to study drug administration and throughout the study period; loop diuretics within seven days prior to study drug administration and throughout the study period.

5 Treatment Compliance

The subject self-administered the single dose of study drug in the presence of the investigator or research coordinator. Reasons for any premature termination, interruption, or delay in study drug administration were recorded on the source documentation and CRF. Total study drug administration time was recorded on the
10 source documentation and CRF.

Each subject (or parent/legal guardian if appropriate) in the care of the investigator provided written informed consent, including HIPAA authorization, and the subject assented (if appropriate) to participate in the study, before any study-related procedures were performed. Investigators screened subjects at visit 1, seven to nine days
15 before day 1 (visit 2) study drug administration, to determine eligibility for enrollment. Investigators reviewed and recorded subjects' relevant medical history, including history of current disease and other pertinent respiratory history, baseline signs and symptoms, inhaled dry powder use and inhaled antibiotic use within 6 months before screening, and current medications and therapies ongoing at screening.

20 Investigators performed a screening physical examination of subjects, including measures of height, body weight, and vital signs. Vital signs included heart rate, respiratory rate, oral temperature, and sitting arterial blood pressure. Heart rate and respiratory rate were taken for 1 minute after the subject had rested for at least 10 minutes. Blood pressures were measured while the subject was seated after resting for
25 at least 10 minutes.

All subjects whose regular medication regimen included routine use of short-acting bronchodilators for clinical therapy at least once or more daily for two weeks prior to screening were administered a bronchodilator 15 to 30 minutes before a screening spirometry test and 15 to 60 minutes before study drug administration. Subjects on long-
30 acting bronchodilators took the medication as prescribed within 24 hours before study drug.

Subjects completed a routine spirometry test according to the 1994 American Thoracic Society guidelines to measure forced expiratory volume in 1 second (FEV₁),

32

forced vital capacity (FVC), and mid-range forced expiratory flow rate (FEF₂₅₋₇₅), to document their ability to reliably perform spirometry, and to ensure that they met the inclusion requirement that FEV₁ equal or exceed 40% of the predicted value, calculated using Knudson equations based on gender, age, and height.

5 Subjects provided a blood sample for screening chemistry and hematology tests and a urine sample for dipstick proteinuria evaluation. Female subjects who were 11 years or older or who had reached menarche provided a urine sample for pregnancy testing.

10 Subjects who satisfied all inclusion and exclusion requirements were eligible to participate in the study and were randomized to treatments as described in the protocol. Randomized subjects were to return to the clinic 7 to 9 days later (visit 2) to receive study treatment and treatment-related procedures.

15 At visit 2, before administration of day 1 study treatments, all randomized subjects completed predose procedures, which included assessments of change in baseline symptoms, change in concomitant therapies, and measurement of vital signs. Investigators performed a repeat physical examination if any of the body systems were abnormal and clinically significant at screening or if the subject had any clinically significant change in health status from the time of screening. The urine dipstick test for proteinuria was to be repeated before dosing, if trace or 1+ at screening; serum chemistry
20 and hematology were also to be repeated if abnormal at screening. Investigators performed a predose spirometry test (15 to 30 minutes after subjects' usual short-acting bronchodilator, if applicable) and collected serum and sputum samples for predose tobramycin assays.

25 Before administration of study treatments, TPI subjects currently using a short-acting bronchodilator either regularly or on demand could be pretreated with their short-acting bronchodilator at the discretion of the investigator. Subjects not currently using a short-acting bronchodilator could be pretreated with one if they had a 10% or greater relative decline in FEV₁ between the screening and pre-dose pulmonary function tests. Relative percent change from screening in FEV₁ was calculated as follows.

- 30 • Relative % FEV₁ change from screening
 • $= [(predose\ FEV_1 - screening\ FEV_1) / screening\ FEV_1] \times 100$

33

A single dose of study treatments was administered within 60 minutes after predose bronchodilator administration, if applicable, or spirometry, and subjects were evaluated for aerosol delivery and safety objectives of the protocol as described in following sections. At the time of dosing, subjects were instructed to sit upright, breathe normally, and use nose clips during inhalation of study treatment. The research coordinator recorded start and stop times for study treatment administration. If the subject experienced prolonged cough (greater than 10 seconds), the research coordinator stopped the timer and restarted it when the subject resumed treatment. For TPI subjects, the Investigator and/or research coordinator noted whether a rattling sound emanating from the inhaler was heard on the second inhalation of the study drug. Immediately after completing study drug administration, subjects rinsed their mouths with 30 mL of normal saline, gargled for 5 to 10 seconds, and expectorated the rinse; this rinse procedure was performed three times.

Subjects remained at the clinic to complete safety assessments for 12 hours after the start of administration of study treatments. Subjects were then discharged from the clinic and scheduled to return to the clinic for visit 3 follow-up on day 8 (± 2 days). Flexible scheduling of follow-up visits due to subject constraints (the follow-up visit is designated as "day 8" throughout this Example was permitted). Slight deviations from the protocol schedule were considered to have minimal or no effect on the evaluation of study objectives.

During the day 8 follow-up visit, the research coordinator reviewed any changes in subjects' medical history, including concurrent illnesses, new or worsening adverse events, CF-associated symptoms, current medications and dosages, and over-the-counter medications. Subjects with clinically significant, study drug-related adverse events (AEs) were followed with repeated evaluations (either via phone or at clinic visits) until satisfactory resolution. The investigator performed a physical examination of the subject, measured height, weight, vital signs, and spirometry results, and collected blood and urine specimens for chemistry, hematology, and dipstick proteinuria tests.

Primary Aerosol Delivery Variable(s)

Estimation of the comparable dose of TPI to TOBI 300 mg/5 mL was based on evaluation of the aerosol delivery characteristics of the test treatment and the control treatment. Aerosol delivery characteristics of test and control treatments were determined on the basis of serum and sputum tobramycin concentrations over time, calculation of

34

certain serum and sputum pharmacokinetic parameters as described in this Example, measurement of treatment administration time, and evaluation of T-326 Inhaler device and capsule performance.

Serum Tobramycin Concentrations

5 Blood samples were collected at predose and at 0.5, 1, 2, 4, 8, and 12 hours after the start of the first tidal breath during inhalation of study treatment. Samples were to be collected as close as possible to specified times and were considered to have been drawn on time if collected within ± 2 minutes of the scheduled 0.5-hour posttreatment collection time and within ± 10 minutes of scheduled times for the ensuing posttreatment
10 collections. Samples collected outside these intervals were considered protocol deviations.

Serum was harvested and stored at -20°C or below until analysis. Concentrations of tobramycin in serum were analyzed with a modified fluorescence polarization immunoassay (FPIA) method using the Abbott TDx[®]/TDxFLx[®] System. Samples were
15 added directly to the dilution well of the sample cartridge. The net polarization was acquired by the TDx/TDxFLx apparatus. A weighted four-parameter logistic equation was used to calculate the concentrations of tobramycin. The concentrations of tobramycin were reported in terms of free base equivalents.

For assaying the subject samples of the study, calibration standards (0.05, 0.10, 0.40, 0.80, and 0.90 $\mu\text{g/mL}$) and quality control samples (0.10, 0.40, and 0.80 $\mu\text{g/mL}$)
20 were prepared. The assay was completed in 6 runs.

The lower limit of quantitation was 0.05 $\mu\text{g/mL}$. The precision of the assay, as reflected by the CV of the quality control samples, was 4.9%, 5.7%, and 5.6% for the 0.10, 0.40, and 0.80 $\mu\text{g/mL}$ samples, respectively. The accuracy of the method, reflected
25 by the mean interassay recoveries of the quality control samples, was 103%, 103%, and 101% for the 0.10, 0.40, and 0.80 $\mu\text{g/mL}$ samples, respectively. Overall, this method exhibited suitable accuracy and precision for pharmacokinetic analysis.

Calculation of serum pharmacokinetic parameters and estimation of the comparable dose of TPI are described in this Example.

Sputum Tobramycin Concentrations

30 Sputum samples were expectorated by subjects from a deep cough and collected before day 1 dosing (predose) and at 0.5, 1, 2, 4, 8, and 12 hours after the start of the first tidal breath during inhalation of study treatment. Sputum samples were collected as close

35

as possible to specified times and within the same time windows as the serum collections. Samples collected outside these intervals were considered protocol deviations.

A sputum sample (minimum of 100 mg) was collected before the single dose of study treatment to determine the baseline tobramycin concentration.

5 Sputum samples were stored at -70°C or below until analysis. The concentration of tobramycin was analyzed using a validated, reverse-phase, high-performance liquid chromatography (HPLC) method with ultraviolet detection.

Subject sputum samples were first liquefied with 1/5 normal sodium hydroxide and diluted with Tris buffer (20.0 g Trizma base/L). Sputum standard samples were prepared by spiking diluted pooled sputum from CF subjects with tobramycin to final concentrations of 0, 20, 40, 100, 200, 400, and 1000 µg/g of sputum. Assay quality control samples were prepared by spiking diluted pooled sputum to contain 40, 300, and 800 µg/g. The internal standard sisomycin (100 µL, 0.15 mg/mL in Tris buffer) was added to 100 µL of each standard, control, and subject sample, followed by 400 µL of
10 acetonitrile and 50 µL of 2,4-dinitrofluorobenzene (0.17 g/mL). The sample reaction mixtures were heated in a dry-block heater for 1 h at 80°C. After addition of 600 µL of 60/40 acetonitrile/water (v/v), 50 µL was analyzed by HPLC.
15

Samples were injected onto a Waters Nova-Pak® C-18, 3.9 × 150 mm, 4 µm column connected to a Waters HPLC with 600E pump, 486 or 2487 ultraviolet detector
20 (λ_{max} = 360 nm) and 717 Plus autosampler. The mobile phase consisted of 0.2% acetic acid in acetonitrile (39/61, v/v), pumped at a rate of 1.5 mL/min for 5 min, 2.0 mL/min for an additional 9 or 10 min, depending on the length of the run. Waters Millennium-32 C/S LC Software (version 3.20) was used to operate the Waters HPLC instruments as well as acquire raw data, process, compute, and report the analytical results. The ratio of
25 the peak height of tobramycin to the internal standard sisomycin (PHR) was calculated. The assay was completed in 17 runs.

Retention time ranges of 3.8 to 4.1 min and 10.0 to 10.6 min were observed for tobramycin and sisomycin, respectively. A linear relationship existed between PHR and concentration from 20 to 1000 µg/g for sputum. The regression model was $PHR = Bx + A$ (x = tobramycin concentration), weighted $1/x$. The lower limit of quantitation was 20
30 µg/g. The concentrations of the standard samples were within 97 to 102% of the nominal concentration, with coefficients of variation (CV) not higher than 5.2%. The precision of the assay, as reflected by the CV of the quality control samples, was 5.2%, 3.9% and

36

2.0%, for the 40, 300, and 800 µg/g samples, respectively. The accuracy of the method, reflected by the interassay recoveries of the quality control samples, was 107%, 99%, and 97% for the 40, 300, and 800 µg/g quality control samples, respectively. Overall, this method exhibited suitable accuracy and precision for pharmacokinetic analysis.

5 Treatment Administration Time

Treatment administration time was defined as the length of time from the start of the subject's first inhalation to completion of treatment administration. Treatment administration was complete when the test T-326 Inhaler began to rattle and when the control PARI LC PLUS nebulizer began to sputter. The investigator noted, for TPI capsules, whether rattling was heard on the second breath by the subject, an indication that the capsule had been emptied.

If treatment administration was interrupted for any reason, the time of interruption and start and stop times of continued administration were to be recorded. If dosing was interrupted, total treatment administration time was not to include the duration of the interruption. If dosing was interrupted and either the stop time at interruption or the dose restart time was missing, treatment administration time was considered to be not calculable.

15 Inspection and Residual Tobramycin Analyses of Used T-326 Inhaler Devices and TPI Capsules

20 Although not specified in the study protocol, used T-326 Inhaler devices and used TPI capsules were analyzed after use for performance evaluation.

Adverse Events

An adverse event (AE) is defined as any untoward medical occurrence in a clinical investigation subject administered a pharmaceutical product, at any dose, that does not necessarily have to have a causal relationship with this treatment. An AE could therefore be any unfavorable and unintended sign (including abnormal laboratory findings), symptom, or disease temporally associated with the use of a medicinal product, whether or not considered related to the medicinal product. This definition includes intercurrent illnesses or injuries, and exacerbation of pre-existing conditions. An unexpected AE is an event the nature or severity of which is not consistent with the applicable product information.

30 AEs may have been volunteered spontaneously by the subject or discovered as a result of general questioning by the investigator or research coordinator.

37

All AEs were to be monitored until resolution or, if the AE was determined to be chronic, a cause was identified. If an AE remained unresolved at the conclusion of the study, a clinical assessment was to be made by the investigator and medical monitor whether continued follow-up of the AE was warranted.

- 5 The severity of events reported on the AE CRF was determined by the investigator as follows:

Mild:	No limitation of usual activities.
Moderate:	Some limitation of usual activities.
Severe:	Inability to carry out usual activities.

- 10 The relationship of the study treatment to an AE was determined by the investigator based on the following definitions:

Not Related: Exposure to the investigational product did not occur, or the occurrence of the AE is not reasonably related in time, or the AE is considered unlikely to be related to the investigational product.

- 15 *Possibly Related:* The study product administration and the AE were reasonably related in time, and the AE could be explained equally well by causes other than exposure to the investigational product.

- 20 *Probably Related:* The study treatment and the AE were reasonably related in time, and the AE was more likely explained by exposure to the study product than by other causes, or the investigational product was the most likely cause of the AE.

Serious Adverse Events (SAEs)

No SAEs were reported in this study.

Clinical Laboratory Tests

- 25 Laboratory tests to measure baseline hematology, serum chemistry, and dipstick proteinuria were performed at the time of screening and at the follow-up visit on day 8. At the dosing visit on day 1, blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine were measured 12 hours after the start of study drug administration. In addition, the urine dipstick test for proteinuria was repeated before dosing, if trace or 1+ at screening; serum chemistry and hematology were also repeated if abnormal at screening.

- 30 Hematology tests performed for this study included white blood cell count (WBC), red blood cell count (RBC), hemoglobin, hematocrit, differential, and platelet count.

38
J

Serum chemistry tests performed included sodium, potassium, chloride, bicarbonate, BUN, creatinine, glucose, calcium, phosphorus, gamma glutamyl transferase (GGT), alanine transaminase (ALT or SGPT), aspartate transaminase (AST or SGOT), alkaline phosphatase, lactic dehydrogenase (LDH), total bilirubin, direct bilirubin, 5 indirect bilirubin, total protein, albumin, and serum human chorionic gonadotrophin (HCG).

Bronchospasm and Spirometry

Spirometry testing (forced expiratory volume in one second [FEV₁ in liters], forced vital capacity [FVC in liters], and forced expiratory flow rate during the middle 10 two quarters of the forced vital capacity [FEF₂₅₋₇₅]) was performed before the day 1 single dose and at 30 minutes after completion of dosing to assess airway response to study treatments. A routine spirometry test was also performed at the day 8 follow-up visit.

The study protocol prospectively defined bronchospasm as a relative decline of 20% or more in FEV₁ % predicted from predose to 30 minutes after the end of dosing. 15 Subjects with a relative decline of 10% or more in FEV₁ % predicted were also noted.

At 30 minutes after dosing, if the relative % FEV₁ decline was 20% or more, spirometry (FEV₁, FVC, and FEF₂₅₋₇₅) measurements were to be repeated according to a schedule defined by the investigator until the FEV₁ decrease was less than 10% (this was not done for subject 12/317, the only subject who experienced a 20% or greater decline in 20 FEV₁ percent predicted). All instances of decline in FEV₁ % predicted of 20% or more were to be recorded as AEs (this was not done for subject 12/317). Treatment with appropriate medications and further follow-up were at the discretion of the investigator.

Vital Signs

Vital signs were measured before the day 1 dose and at 30 minutes and 1, 4, 8, 25 and 12 hours after the start of dosing and included sitting arterial blood pressure, heart rate, and respiratory rate taken after 10 minutes rest, and body temperature. Vital signs were also measured at the day 8 follow-up visit.

Physical Examinations

Physical examination of subjects was performed at the day 8 follow-up visit and 30 consisted of physician review of subjects' general appearance, skin, lymph nodes, HEENT, lungs, cardiovascular, abdomen, extremities, musculoskeletal, neurologic, and genitourinary (optional) body systems.

39
54Appropriateness of Measurements

The measures of efficacy used in this study are standard, i.e., widely used and generally recognized as reliable, accurate, relevant, and discriminatory between effective and ineffective agents. The measures of safety used in this study are standard clinical and laboratory procedures.

Pharmacokinetics

The concentration (C) versus time (t) data from sputum and serum tobramycin assays were analyzed by model-independent methods to obtain the pharmacokinetic parameters. The maximum concentration (C_{max}) and the time to maximum concentration (t_{max}) were obtained by inspection. The terminal rate constants (λ_z) were determined by log-linear regression of the terminal phase. The half-life was calculated as $t_{1/2} = \ln(2)/\lambda_z$. Concentrations below the lower limit of quantitation were treated as zero for all calculations. The areas under the sputum and serum concentration-time curves from time zero (predose) to 12 hours, AUC(0,12), was calculated by the trapezoidal rule. The AUC to infinity, AUC(0,∞), was calculated as AUC(0,12) + C(12)/ λ_z where C(12) is the concentration 12 h after the start of dosing.

All pharmacokinetic parameters were expressed as the mean ± SD. A harmonic half-life was estimated as

$$\overline{t_{1/2}} = \ln(2)/\overline{\lambda_z},$$

in which $\overline{\lambda_z}$ is the arithmetic mean of the terminal rate constants at each dose. The standard deviation of the harmonic mean half-life, $SD(\overline{t_{1/2}})$, was obtained as

$$SD(\overline{t_{1/2}}) = \frac{\ln(2)}{\overline{\lambda_z}} \times \frac{SD(\overline{\lambda_z})}{\overline{\lambda_z}},$$

where $SD(\overline{\lambda_z})$ is the standard error of the mean terminal rate constant at each dose.

25 Estimation of the Comparable Dose of TPI to TOBI

A linear regression model was fitted for log AUC(0,12) vs. log (TPI dose) of TPI serum concentration data from all cohorts to estimate the comparable dose of TPI to TOBI. The comparable dose and the 95% confidence interval were determined by taking the inverse of the fitted regression line and the upper and lower 95% confidence bands at the mean log AUC(0,12) of TOBI data.

40

Monitoring

The study was conducted according to the principles of Good Clinical Practice (GCP).

Data Handling

5 Case report form data were entered in duplicate into a Clintrial® database.

Data quality control was performed using Procedural Language/Sequential Query Language (PL/SQL) and SAS® software version 8.2 or higher (SAS Institute, Cary, NC). Analysis was performed using SAS software version 8.2 or higher, based on a predefined analysis plan. The estimated overall database error rate was 0.022% with an upper 95% confidence limit of 0.157% (rounded). This upper confidence limit is below the chosen standard of 0.5%.

Statistical Methods and Determination of Sample Size

The objectives of this phase 1 study were to assess the safety of test TPI and control TOBI treatments and to estimate the dose of TPI that would produce a comparable pharmacokinetic profile to that of TOBI 300 mg/5 mL. There were no efficacy objectives defined for this study. All planned summaries and analyses were exploratory in nature. There were no planned statistical comparisons between TPI and TOBI treatment groups and no planned statistical hypothesis tests for differences between the two treatments. Due to the small number of subjects available for enrollment at each center, the Analysis Plan for the study prospectively specified that data were to be pooled across centers for analyses.

All summaries and analyses were produced for each of the six treatment groups. Unless otherwise specified, frequencies and percentages were calculated for categorical variables, and the number of non-missing values, mean, standard deviation, minimum, median, and maximum were calculated for continuous variables. All data recorded on CRFs were presented in individual subject data listings.

Three subject populations were defined.

- All-Enrolled Population: subjects who were enrolled and randomized in the study.
- 30 • Safety-Evaluable Population: subjects who were randomized and took all or part of the prescribed study drug.
- Pharmacokinetic-Evaluable Population: subjects who were randomized and took all of the prescribed study drug.

4!
H

Baseline and demographic characteristics were summarized for the all-enrolled subject population. Assessments of the pharmacokinetics of tobramycin were conducted using the pharmacokinetic-evaluable population. Estimation of the dose of TPI that provided systemic tobramycin exposure that was comparable to TOBI was undertaken on the TPI comparable dose-evaluable population. Analyses of all other variables were undertaken using the safety-evaluable population.

SAS version 8.2 was used for all analyses. Microsoft Excel was used for graphic display of study results.

10 Aerosol Delivery Analysis and Estimation of Comparable TPI Dose

All subjects who received the single dose treatment were included in the analysis and evaluation of aerosol delivery characteristics, which were characterized on the basis of sputum and serum tobramycin concentrations, estimated serum pharmacokinetic parameters, and treatment administration time.

15 Serum AUC(0,12) was used to estimate the comparable TPI dose to TOBI. A linear regression analysis with log AUC(0,12) as the dependent variable and log (TPI dose) as the independent variable was performed using the data from all TPI groups. The comparable dose of TPI was determined by taking the inverse of the fitted regression line at the mean log AUC(0,12) of TOBI serum tobramycin concentrations from the five combined TOBI cohorts.

20 Secondary Aerosol Delivery Analyses

The study protocol identified no secondary aerosol delivery variables.

Safety Analyses

25 All subjects who received a dose of study treatment were evaluable for safety based on AEs, change in pulmonary function, clinical laboratory results, vital signs, and physical examinations.

Evaluation of Adverse Events

30 Baseline symptoms and treatment-emergent adverse events (AE) were coded using the MedDRA thesaurus. The total incidence of individual treatment-emergent AEs (percent of subjects who experienced the event at least once during or after study treatment) was evaluated descriptively for any noteworthy differences between TPI and TOBI treatments. No statistical tests were planned. AEs were also summarized by severity (mild, moderate, severe) and drug relationship (unrelated, possibly related) for

42

test and control treatments. For drug relationship evaluations, the classification, "possibly related", included individual AEs that were judged to be probably related, possibly related, and of unknown relationship to study treatment by the investigator.

Change in Pulmonary Function

5 Normal values have been developed for FEV₁, FVC, and FEF₂₅₋₇₅ (spirometry measurements) if subjects are free of pulmonary disease. These norms are commonly used in studies of subjects with pulmonary disease. Raw spirometry measurements were converted to normative percent predicted values using Knudson Equations, as described below. For each subject, the Knudson normative value for FEV₁, FVC, or FEF₂₅₋₇₅ is a
10 linear combination of the subject age (years) and height (cm) using the following formula:

$$\text{Knudson Normative Value} = C_0 + C_1 \times \text{Height} + C_2 \times \text{Age}$$

where the coefficients C₀, C₁, and C₂ are determined based on subject gender and age group.

15 Given a raw observed value from spirometry measurements and the Knudson normative value, the percent (%) predicted value is calculated by:

$$\% \text{ predicted value} = (\text{Raw Observed Value} / \text{Knudson Normative Value}) \times 100$$

Change and relative change in FEV₁ % predicted (FEV₁%) from predose to 30 minutes postdose after the end of dosing were calculated using the following
20 formulae:

$$\text{Change} = \text{Postdose FEV}_1\% - \text{Predose FEV}_1\%$$

$$\text{Relative change} = [(\text{Postdose FEV}_1\% - \text{Predose FEV}_1\%) \div \text{Predose FEV}_1\%] \times 100$$

A subject was defined as experiencing bronchospasm when the relative change from baseline was a decline of $\geq 20\%$.

25 Change and relative change, and the incidence of bronchospasm, were compared descriptively between treatment groups. Additionally, the following variables were derived and summarized similarly:

- the incidence of subjects with a relative decline of 10% or more in FEV₁% predicted from predose to 30 minutes after the end of dosing
- 30 • changes and relative changes in FVC % predicted and FEF₂₅₋₇₅ % predicted from predose to 30 minutes after the end of dosing
- changes and relative changes in FEV₁ % predicted, FVC % predicted, and FEF₂₅₋₇₅ % predicted from predose to the day 8 follow-up visit.

43

Other Safety Variables

Other safety variables including clinical laboratory results, vital signs, concomitant medications, medical procedures, physical examinations were summarized descriptively. Additionally, changes from baseline to end of study were calculated and summarized for laboratory data, vital signs, and spirometry measurements; in these calculations, the baseline value was the last available assessment prior to study dosing. Changes in the incidence of laboratory results that were below and above the respective normal ranges were also evaluated.

Determination of Sample Size

The sample size and the choice of parallel design were determined on the basis of clinical and practical rather than statistical power considerations. All analyses were considered exploratory and were undertaken using descriptive methods. No inferential statistical analyses were planned for this study.

Interim Analyses

At the end of each study cohort, summaries of key safety variables were produced and provided to the Data Monitoring Committee (DMC) to review and decide on dose escalation. The following results were listed by subject and summarized by treatment following completion of each cohort to support the deliberations by the DMC:

- subject demography;
- FEV₁ percent predicted before and after dosing and percent change;
- serious adverse events;
- treatment-emergent AEs;
- respiratory system treatment-emergent AEs.

This interim analysis procedure was designed solely to support the review of safety and the decision about dose escalation by the DMC. No statistical tests of study data were planned, and no statistical alpha-level adjustments were required as a result of interim safety and dose escalation reviews.

Screening, Enrollment and Randomization of Subjects

A total of 97 subjects were screened for the study by the 15 investigators.

Ninety of the 97 screened subjects met entrance criteria and were enrolled (Table 2) and randomized to one of the six treatments. Seven of the 97 screened subjects did not meet study entry criteria and were not enrolled.

44

Table 2 Enrollment and Randomization by Site and Treatment

Site	TPI Dosage Regimens					TOBI 300 mg	Total subjects by site
	2x14 mg	4x14 mg	2x28 mg	3x28 mg	4x28 mg		
01	3	1		2	1	3	10
02	3	2m	1	1		1	8
03	3		2			1	6
04		2		3	1	3	9
05		2	1	2	2	1	8
06		2	2	1	1		6
07			1	1	2	1	5
08					2	1	3
09		1	1	1	2	3	8
10		1		1		1	3
11			1	1	2		4
12	1		1	1		1	4
13			2			3	5
16	2	3	2	1	1	1	10
17			1				1
Total enrolled and randomized	12	14	15	15	14	20	90

Withdrawal of Subjects Before Treatment

Three of the 90 enrolled subjects were withdrawn before treatment due to predose AEs and did not receive the single dose of study treatment (Table 2). Eighty-seven of the
5 90 subjects were dosed with study treatment.

Table 3 Subjects Enrolled But Withdrawn Before Study Treatment

<u>Treatment</u>	<u>Disposition</u>	<u>Reason Subject Did Not Receive Study Treatment</u>
4 x14 mg	Withdrawn before dose	Predose AE: wheezing.
2x28 mg	Withdrawn before dose	Predose AE: cough aggravated.
4x28 mg	Withdrawn before dose	Predose AEs: cough aggravated, laryngitis NOS, pyrexia.

Study Completion

Eighty-six of 87 subjects who were dosed with study treatment completed the
10 study. One of the 87 dosed subjects was withdrawn from the study due to treatment-emergent AEs.

One of the 86 completing subjects was dosed, but evaluation of returned capsules after the study revealed that the capsules had not been pierced by the T-326 Inhaler. Serum tobramycin concentrations in this subject were below quantifiable limits (BQL), confirming that the subject received no study treatment.

5 Data Sets Analyzed for Aerosol Delivery Evaluation

Eighty-six of the 90 enrolled subjects were randomized, were administered a single dose of study treatment, and were evaluable for safety objectives of the protocol. Three of the 90 subjects were withdrawn from the study due to AEs before they received study treatment and were excluded from safety evaluations. One additional subject did
10 not receive any study treatment due to the failure of the T-326 Inhaler to pierce the treatment capsules and was excluded from safety evaluations.

Table 4 Subjects Not Evaluable for Safety Evaluations

<u>Treatment</u>	<u>Subject Disposition</u>	<u>Reason Subject Not Evaluable for Safety Objectives</u>
2 x14 mg	Completed	Subject received no study treatment: capsule was not pierced, and tobramycin was not detected in serum.
4 x14 mg	Withdrawn before dose	Predose AE: wheezing.
2x28 mg	Withdrawn before dose	Predose AE: cough aggravated.
4x28 mg	Withdrawn before dose	Predose AEs: cough aggravated, laryngitis NOS, pyrexia.

Eighty-four of the 86 subjects who received study treatment were evaluable for pharmacokinetic objectives and estimation of the TPI dose considered to be
15 pharmacokinetically comparable to the TOBI dose. Two of the treated subjects were excluded from pharmacokinetic and comparable dose evaluations.

46

Table 5 Dosed Subjects Not Evaluable for Pharmacokinetic Evaluations

<u>Treatment</u>	<u>Subject Disposition</u>	<u>Reason Subject Inevaluable for Pharmacokinetic Objectives</u>
2x28 mg	Completed	Did not receive full dose due to technical complications with T-326 Inhaler; one full capsule was returned to sponsor.
4x28 mg	Withdrawn	Did not receive full dose due to AE mid-way through dosing, which led to withdrawal of consent and withdrawal from the study; insufficient number of serum samples.

Subjects who received no study treatment were also not evaluable for pharmacokinetic evaluations.

Demographic Characteristics

- 5 Forty-three male and 47 female subjects, 7 to 50 years of age, diagnosed with cystic fibrosis, were enrolled in the study. Mean ages were similar among the treatment groups, ranging from 19.5 years in the TOBI group to 24.1 years in the TPI 2x14 mg group. Fifteen subjects were 7 to 12 years of age, 22 subjects were 13 to 17 years, and 53 subjects were 18 to 50 years of age.
- 10 Seventy-nine subjects were Caucasian, five subjects were Hispanic, three subjects were black, and three subjects were of other origins. Gender and race distributions were similar between TPI and TOBI treatment groups, although a small gender disparity was noted between TPI 4x14 mg and TOBI groups (TPI: 11 female, 3 male subjects; TOBI: 8 female, 12 male subjects). The effect of this imbalance on study results is uncertain.
- 15 On the average, TPI and TOBI subjects were comparable in height and weight at screening.

Other Baseline Characteristics

- Enrolled subjects had documented laboratory (sweat chloride ≥ 60 mEq/L by quantitative pilocarpine iontophoresis test (QPIT) and/or genotype with two identifiable
- 20 mutations) and clinical evidence consistent with a diagnosis of clinically stable cystic fibrosis. Medical history findings and signs and symptoms present before the start of the study were similar between the treatment groups.

- Other inclusion and exclusion criteria were satisfied. Of note, four subjects experienced mild to moderate, persistent haemoptysis that was present before day 1
- 25 dosing. All subjects met the inclusion criterion of screening FEV₁ being 40% or greater

47

of the predicted value based on sex, age, and height. The median FEV₁ percent predicted was similar for subjects in the six treatment groups (from 58.51% in the TPI 2x14 mg group to 82.40% in the TPI 3x28 mg group and 67.95% in the TOBI group). All but three subjects met the entry requirement to have a dipstick urine protein result of less than 2+; three subjects did not provide a urine sample at screening.

Thirty-nine of 90 enrolled subjects had received dry powder via inhalation within the 6 months before screening, ranging from 25% to 60% of subjects per treatment group. Sixty-seven of 90 subjects had received TOBI (between 40% and 100% of subjects per treatment group), none of the subjects had received other inhaled aminoglycosides, and 10 of the 90 subjects had received other inhaled antibiotics within the previous 6 months.

Thirty-six of the 90 enrolled (i.e., both TPI and TOBI subjects) subjects used a short-acting bronchodilator as a part of their standard CF treatment within 15 to 60 minutes before study treatment. In two instances, bronchodilator use was more than 60 minutes before administration of study treatment.

15 Measurements of Treatment Compliance

Compliance with the single-dose treatment administration requirements of the protocol was acceptable, as 86 of 90 enrolled subjects received study treatment (three subjects withdrew before dosing due to baseline symptoms, and one subject was dosed but received no treatment because the T-326 device did not puncture the treatment capsules). Four additional subjects had dosing non-compliance events as listed in Table 6.

Table 6 Subjects With Dosing Non-Compliance Events

<u>Treatment</u>	<u>Disposition</u>	<u>Dosing Non-Compliance Events</u>
2x28 mg	Completed	Capsule dropped; subject did not take inhalations from 1 st capsule
4x28 mg	Completed	Site used one T-326 Inhaler, instead of two Inhalers, for 4x28 mg capsules. High level (>45%) of TPI residual found in T-326 Inhaler due to improper dosing.
	Completed	Site used one T-326 Inhaler, instead of two Inhalers, for 4x28 mg capsules.
	Completed	Subject was instructed to take one complete breath from 1 st TPI capsule, instead of two breaths.

48

Serum Tobramycin Concentrations and Pharmacokinetic Parameters

As shown in FIGURE 1, mean serum concentration-time profiles of tobramycin after administration of TPI and TOBI indicate that the drug is rapidly absorbed: median t_{max} was 1 h in all treatments. The distribution of the drug appears to be very fast, and the levels declined in a monoexponential fashion, with average terminal half-lives ranging between 2.8 and 3.5 h. The values of the pharmacokinetic parameters of tobramycin after TOBI administration are consistent with previous studies.

Increases in the dose of TPI led to increases in the exposure to tobramycin, as evidenced by the increasing values of $AUC(0,\infty)$, $AUC(0,12)$, and C_{max} (Table 8). These increases were slightly less than proportional with dose).

Four subjects experienced cough, which caused an interruption in dosing. The interruptions were seen at TPI doses 4x14 mg, 3x28 mg, and 4x28 mg. In all evaluable subjects with cough, the values of $AUC(0,\infty)$, $AUC(0,12)$, and C_{max} were within the range of other subjects in their dosing group who completed dosing without interruption.

No differences in exposure to tobramycin, as measured by AUC and C_{max} , were detected between subjects receiving 4x14 mg manual-fill capsules vs. 2x28 mg automatic-fill capsules ($P > .5$). Therefore, the bioavailability of the hand- and automatic-fill capsules was comparable, and these two groups were consolidated.

In general, there was a weak negative correlation between the percentage of powder left in the device and $AUC(0,\infty)$ ($r = -0.22$, $P = .0771$), $AUC(0,12)$ ($r = -0.23$, $P = .0707$), and C_{max} ($r = -0.22$, $P = .0838$). Lower exposures were associated with higher residual amounts of TPI in the device. One of the subjects in the 4x28 mg TPI dosing group (subject 04/409) had more than 45% residual powder in the device and had exposures of tobramycin that were among the lowest in his treatment group.

There were no significant correlations between change from baseline in FEV_1 and serum AUC and C_{max} [for TPI subjects: $AUC(0,\infty)$ ($P = .9838$), $AUC(0,12)$ ($P = .9990$), and C_{max} ($P = .9110$); for TOBI subjects: $AUC(0,\infty)$ ($P = .5216$), $AUC(0,12)$ ($P = .4337$), and C_{max} ($P = .3878$)].

44
44

Table 7 Selected Pharmacokinetic Parameters of Tobramycin in Serum After Administration of TOBI (300 mg) and TPI (28 mg, 56 mg, 84 mg, and 112 mg)

Parameter	TOBI 300 mg	TPI 2x14 mg	TPI 4x14 mg	TPI 2x28 mg	TPI 3x28 mg	TPI 4x28 mg
AUC(0,∞) (μg h/mL)	5.3 ± 2.6	1.7 ± 0.6	3.1 ± 0.8	2.9 ± 1.2	4.1 ± 1.5	5.1 ± 2.0
AUC(0,12) (μg h/mL)	4.8 ± 2.5	1.3 ± 0.6	2.8 ± 0.9	2.5 ± 1.2	3.5 ± 1.3	4.6 ± 2.0
C _{max} (μg/mL)	1.04 ± 0.58	0.33 ± 0.09	0.56 ± 0.23	0.50 ± 0.21	0.70 ± 0.33	1.02 ± 0.53
t _{max} ^a (h)	1 (0.5-2)	1 (0.5-2)	1 (0.5-1)	1 (0.5-2)	1 (1-2)	1 (0.5-2)
t _{1/2} (h)	3.0 ± 0.8	2.8 ± 1.1	3.5 ± 0.8	3.3 ± 0.8	3.4 ± 1.0	3.1 ± 0.4
n PK	20	11	13	13	15	12
n total	20	12	13	14	15	13

^a median (range). Except for number of subjects in last 2 rows, other entries are mean ± standard deviation

5 Comparable Dose Analysis of TPI and TOBI

The exposures achieved after administration of TOBI 300 mg were very similar to that seen after administration of 4x28 mg capsules of TPI (FIGURES 2 and 3). When the AUC(0,12) data from all cohorts was examined as a function of dose (FIGURE 2), the results indicate that a dose of 115 mg of TPI would produce a mean AUC(0,12) similar to
10 TOBI. When AUC(0,∞) was considered (FIGURE 3), a dose of 112 mg would be expected to achieve a similar AUC(0,∞) to TOBI. Based on these results, it appears that four capsules of 28 mg of TPI (total dose of 112 mg) would produce systemic exposure very close to that of TOBI.

Sputum Tobramycin Concentrations and Pharmacokinetic Parameters

15 After administration of TPI and TOBI, maximum concentrations in sputum were achieved on average at 30 min (FIGURE 4), declining thereafter with an average half-life of 0.8 to 2.2 h (Table 8).

The variability in pharmacokinetic parameters was higher in sputum, as compared to serum. In addition to the inherent variability in sputum-derived pharmacokinetic
20 parameters, some subjects were unable to produce sputum on demand (no more than three

50

subjects per group with a missing sputum sample at any one time). This would have an impact on the calculation of exposure measurements: AUC(0,∞), AUC(0,12), and C_{max}. As a consequence, while there is a trend of increasing exposure in sputum with increases in dose, dose proportionality based on sputum levels could not be confirmed.

5

Table 8 Selected Pharmacokinetic Parameters of Tobramycin in Sputum after Administration of TOBI (300 mg) and TPI (28 mg, 56 mg, and 112 mg)

Parameter	TOBI 300 mg	TPI 2x14 mg	TPI 4x14 mg	TPI 2x28 mg	TPI 3x28 mg	TPI 4x28 mg
AUC(0,∞) (μg h/g)	1302 ± 1127	390 ± 139	1714 ± 1173	855 ± 469	2044 ± 1334	1740 ± 809
AUC(0,12) (μg h/g)	974 ± 1143	261 ± 168	1195 ± 1224	652 ± 421	1340 ± 1320	1307 ± 978
C _{max} (μg/g)	737 ± 1028	258 ± 194	515 ± 421	574 ± 527	1092 ± 1052	1048 ± 1080
t _{max} ^a (h)	0.5 (0.5-2.0)	0.5 (0.5-0.5)	0.5 (0.5-1.0)	0.5 (0.5-4.0)	0.5 (0.5-2.0)	0.5 (0.5-1.0)
t _{1/2} (h)	1.7 ± 1.6	0.9 ± 0.8	1.8 ± 0.9	1.3 ± 1.5	0.8 ± 0.8	2.2 ± 1.7
n PK ^b	20	11	12	13	15	11
n total	20	12	13	14	15	13

^a median (range) Except for number of subjects in last 2 rows, other entries are mean ± standard deviation.

^b n may be different for different parameters. The maximum number of subjects used in any single analysis is listed.

10

Study Drug Administration Time

15

Drug administration time averaged nearly 16 minutes in TOBI subjects (Table 9). By comparison, administration time for two capsules of TPI averaged 1.7 and 2.5 minutes for the 2x14 mg and 2x28 mg doses, respectively. Administration times averaged 4.2, 4.5, and 4.9 minutes for TPI 4x14 mg, 3x28 mg, and 4x28 mg doses, but in these cohorts a second device was unpacked and utilized for dosing of the third and fourth capsules,

respectively. Thus, TPI administration time increased primarily as the number of capsules increased and, secondarily, as the dosage strength increased.

Table 9 Study Drug Administration Time

Parameter	TOBI 300 mg (N = 20)	TPI 2x14 mg (N = 11)	TPI 4x14 mg (N = 13)	TPI 2x28 mg (N = 14)	TPI 3x28 mg (N = 15)	TPI 4x28 mg (N = 13)
Inhalation Time (min). Mean ± SD	15.8 ± 4.0	1.7 ± 0.6	4.2 ± 1.4	2.5 ± 1.1	4.5 ± 1.1	4.9 ± 1.8

5

Evaluation of T-326 Inhaler and TPI Capsule Performance

All but two TPI capsules were administered as required (exception: 3rd and 4th capsules for one subject in the TPI 4x28 mg group). Rattling was heard on the second breath in 85% or more of the capsules.

10

There were no device failures reported by the sites or upon inspection by the Nektar analysts. The sum of the residual tobramycin in the subjects' inhaler(s) and capsules averaged 10.5% of the nominal dose. This analysis included subject 04/409, who had more than 45% residual powder in the device due to improper dosing, so more than likely, the actual amount of residual powder in the device was less.

15

Handling of Dropouts or Missing Data

During the study, three randomized subjects withdrew before they received study treatment due to predose AEs. Another randomized subject completed the study but was later found to have not inhaled study treatment because both TPI capsules were not pierced. Screening and enrollment continued until these subjects were replaced; replacement subjects were assigned the next available subject number in the randomization code.

20

One subject withdrew prematurely from the study. No last-result-carried-forward (LRCF) strategy was employed in the analyses to account for the early withdrawal.

25

Tobramycin concentrations below the lower limit of quantitation were treated as zero for all calculations.

Use of an "Aerosol Delivery Subset" of Subjects

The protocol indicated that subjects who were randomized and who took the complete dose of study treatment were evaluable for pharmacokinetics. As the study

52

proceeded, unanticipated dosing and TPI capsule status issues led to revision of the evaluability criteria for pharmacokinetics. A total of six subjects were excluded from pharmacokinetic and comparable dose analyses (four subjects received no study treatment, and two subjects did not receive the full dose of study treatment). Eighty-four
5 subjects were evaluable for pharmacokinetic and comparable dose evaluations.

All 86 enrolled subjects who were administered study treatments by inhalation were included in the evaluation of study treatment administration time and in the evaluation of residual tobramycin in capsules and T-326 Inhalers.

Active-Control Studies Intended to Show Equivalence

10 The study was not designed or powered to show clinical or pharmacokinetic equivalence between the test product and the control.

Examination of Subgroups

The following subgroup analyses were performed on dose-normalized serum exposure ($AUC(0,12)$, $AUC(0,\infty)$, and C_{max}) of tobramycin after administration of TPI:

- 15
- subjects less than 12 years old vs. subjects 12 and older ($P > .4$);
 - previous dry powder users vs. nonusers ($P > .8$);
 - males and females ($P > .1$);
 - body weight ($P > .2$).

None of these variables appeared to influence the exposure of tobramycin.

20 The exposure of tobramycin, as measured by AUC and C_{max} , in TPI subjects ($N = 27$) using bronchodilators from 15 to 60 minutes after dosing was slightly higher than in subjects not using them ($N = 37$). $AUC(0,\infty)$, $AUC(0,12)$, and C_{max} values were 19% ($P = .0685$), 27% ($P = .0240$), and 38% ($P = .0038$) higher. Bronchodilator use may increase the amount of the tobramycin that eventually reaches systemic circulation,
25 perhaps by an increase in the amount deposited in the lungs.

Aerosol Delivery Summary

Mean serum concentration-time profiles of tobramycin after administration of TPI and TOBI indicate that the drug is rapidly absorbed: t_{max} was 1 hour in all treatments. The distribution of the drug appears to be very fast, and the levels declined in
30 a monoexponential fashion, with average terminal half-lives ranging between 2.8 and 3.5 hours. The values of the pharmacokinetic parameters of tobramycin after TOBI administration are consistent with previous studies.

53

Increases in the dose of TPI led to increases in the exposure to tobramycin, as evidenced by the increasing values of $AUC(0,\infty)$, $AUC(0,12)$, and C_{max} . These increases were slightly less than proportional to dose. No differences in exposure to tobramycin were detected between subjects receiving 4x14 mg manual-fill capsules vs. 2x28 mg automatic-fill capsules. Therefore, these two groups were consolidated for the comparable dose analyses. In general, there was a weak negative correlation between the percentage of powder left in the device and $AUC(0,\infty)$ ($P = .0707$), $AUC(0,12)$ ($P = .0771$), and C_{max} ($P = .0838$). There were no significant correlations between changes in FEV_1 from baseline and $AUC(0,\infty)$ ($P = .9838$), $AUC(0,12)$ ($P = .9990$), and C_{max} ($P = .9110$).

The exposures achieved after administration of TOBI 300 mg were between the exposures seen after administration of 3x28 mg and 4x28 mg capsules of TPI. Based on the results, it appears that four capsules of 28 mg of TPI (total dose of 112 mg) produce the closest systemic exposure to TOBI.

Subgroup analyses in TPI subjects showed that age, previous dry powder use, sex, and body weight did not influence the exposure to tobramycin in TPI, indicating that the pharmacokinetics of tobramycin is similar in these TPI subgroups. The exposure to tobramycin in TPI subjects using bronchodilators ($N = 27$) was slightly higher on the average than in TPI subjects not receiving bronchodilators ($N = 37$).

After administration of TPI and TOBI, maximum concentrations in sputum were achieved on average at 30 min, and average estimates of half-life ranged from 0.8 to 2.2 hours.

The variability in pharmacokinetic parameters was higher in sputum than in serum.

Drug administration time averaged nearly 16 minutes in TOBI subjects. By comparison, administration time for two capsules of TPI averaged 1.7 and 2.5 minutes for the 2x14 mg and 2x28 mg doses, respectively; administration times averaged 4.2, 4.5, and 4.9 minutes for TPI 4x14 mg, 3x28 mg, and 4x28 mg doses. Thus, TPI administration time increased primarily as the number of capsules increased and, secondarily, as the dosage strength increased.

Extent of Exposure

Eighty-six of 90 enrolled subjects received a single dose of study treatments, as summarized below.

54

- 12 subjects received up to 28 mg of TPI in a 2x14 mg single dose
- 13 subjects received up to 56 mg of TPI in a 4x14 mg single dose
- 14 subjects received up to 56 mg of TPI in a 2x28 mg single dose
- 15 subjects received up to 84 mg of TPI in a 3x28 mg single dose
- 5 • 13 subjects received up to 112 mg of TPI in a 4x28 mg single dose
- 20 subjects received up to 300 mg of TOBI in 5 mL single dose of a 60 mg/mL solution

Brief Summary of Adverse Events

More TPI subjects (40 of 66 subjects, 60.6%) than TOBI subjects (6 of 20, 30.0%)
10 experienced treatment-emergent AEs during or after administration of single-dose study treatments. The percent of subjects with any AE was similar among the TPI dose levels (TPI 2x14 mg = 45%; 4x14 mg = 54%, 2x28 mg = 64%, 3x28 mg = 67%, 4x28 mg = 69%), sample sizes were too small to determine whether a trend was present for increasing any-AE incidence with increasing TPI dose. All treatment-emergent AEs were
15 mild or moderate in intensity.

One TPI 4x28 mg subject experienced moderate cough and sputum increased on day 2 which persisted and led to hospitalization on the eighth day after the single-dose study treatment was administered. Therefore, on day 8 after the subject completed the study, these AEs were determined to be SAEs. Neither of these SAEs, which occurred in
20 the same subject, was considered related to TPI treatment. Another TPI 4x28 mg subject experienced the non-serious AEs of moderate, probably-related cough aggravated, dysgeusia, and lacrimation increased that caused study drug administration to be interrupted and then stopped; the subject then withdrew consent and was withdrawn from the study. Four subjects experienced non-serious AEs of coughing during inhalation of
25 TPI that led to a modification, interruption, or delay in dosing (one subject each at TPI 4x14 mg and 4x28 mg and two subjects at 3x28 mg); each AE was considered to be probably related to TPI treatment by the investigator.

AEs experienced by the largest number of TPI subjects were cough or cough aggravated (13 of 66 subjects = 19.7%; 12 of the 13 TPI subjects previously reported
30 cough as a baseline symptom before the start of study treatment); dysgeusia (11 subjects, 16.7%); pharyngitis, haemoptysis, and rhinorrhea (4 subjects, 6.1% each); sputum increased, crackles lung, lacrimation increased, abdominal pain upper, dizziness, headache NOS, and throat irritation (3 subjects, 4.5% each). The incidence of cough,

55

cough aggravated, and dysgeusia increased slightly with increasing TPI dose, but no conclusive trend in the incidence of any individual AE was observed in the data. By comparison, no more than one TOBI subject experienced any AE. TOBI subjects experienced no cough, cough aggravated, or dysgeusia. However, most subjects dosed
5 with TOBI (17 of 20, 85%) received TOBI as part of their usual therapy.

The investigators considered most instances of cough and cough aggravated, all instances of dysgeusia, and most instances of haemoptysis and throat irritation to be possibly or probably related to TPI treatment. By comparison, single instances of chest tightness, herpes simplex, eosinophil count increased, dry throat, pharyngitis, sputum
10 increased, and sputum viscosity increased were considered related to TOBI treatment.

Treatment-Emergent Adverse Events: All Causes

Forty of 66 TPI subjects and six of 20 TOBI subjects experienced treatment-emergent AEs during or after treatment. The percent of subjects with any AE was similar among the TPI dose levels. All treatment-emergent AEs were mild or moderate in
15 intensity.

AEs experienced by the largest number of TPI subjects were cough or cough aggravated (13 of 66 subjects = 19.7%); dysgeusia (11 subjects, 16.7%); pharyngitis, haemoptysis, and rhinorrhea (4 subjects, 6.1% each); sputum increased, crackles lung, lacrimation increased, abdominal pain upper, dizziness, headache NOS, and throat
20 irritation (3 subjects, 4.5% each).

No more than one TOBI subject experienced any AE. TOBI subjects experienced no cough, cough aggravated, or dysgeusia.

Treatment-Emergent Adverse Events Considered Related to Treatments

Twenty-four of 66 TPI subjects (36.4%) and 2 of 20 TOBI subjects (10%) had
25 AEs that were considered to be possibly or probably related to treatments by the investigators (Table 12). The investigators considered most instances of cough and cough aggravated (10 of 66 TPI subjects = 15.2%) and all instances of dysgeusia (16.7%) to be possibly or probably related to TPI treatment (Table 11). Haemoptysis and throat irritation (both 4.5%) and lacrimation increased (3.0%) were also considered related to
30 TPI treatment. By comparison, single instances of chest tightness, herpes simplex, eosinophil count increased, dry throat, pharyngitis, sputum increased, and sputum viscosity increased were considered related to TOBI treatment.

56

Other Serious Adverse Events

One TPI 4x28 mg subject experienced SAEs on day 2 (moderate cough and sputum increased) that led to hospitalization for exacerbation of CF lung disease on the eighth day after the single-dose study treatment. Neither of these SAEs, which occurred in the same subject, was considered related to TPI treatment.

Withdrawal of Subjects from the Study Due to Treatment-Related Adverse Events

One TPI 4x28 mg subject experienced moderate cough aggravated, dysgeusia, and lacrimation increased that caused study drug administration to be interrupted and then stopped, and the subject was withdrawn from the study. Each AE was considered to be probably related to TPI treatment by the investigator.

Dose Interventions Due to Treatment-Related Adverse Events

Four subjects experienced coughs that led to a modification, interruption, or delay in dosing (one subject each at TPI 4x14 mg and 4x28 mg and two subjects at 3x28 mg. Each AE was considered to be probably related to TPI treatment by the investigator.

Table 10 Dose Interventions Due to Adverse Events

<u>Treatment</u> (Sex/Age) ^b	<u>Study</u> <u>Day of</u> <u>AE^a</u>	<u>Adverse event^a</u>	<u>Dose interrupt^a</u>	<u>SAE^a</u>	<u>Subject</u> <u>withdrew^c</u>	<u>Drug</u> <u>related^a</u>
<u>TPI 4x14 mg</u> (F/11)	1	Cough aggravated	Modified	No	No	Probable
<u>TPI 3x28 mg</u> (F/13)	1	Cough	Modified	No	No	Probable
(F/25)	1	Cough	Modified	No	No	Probable
<u>TPI 4x28 mg</u> (F/22)	1	Cough aggravated, throat irritation	Modified	No	No	Probable

Analysis and Discussion of Deaths, Other Serious Adverse Events, and Other Significant Adverse Events

No deaths were reported in this study. The only SAEs were moderate cough and sputum increased reported by a single subject on day 2, leading to hospitalization on day 8 after the subject completed the study; these events were considered unrelated to study treatment. Five TPI subjects developed moderate cough or cough aggravated within minutes after inhalation of TPI, which led one subject (who also had dysgeusia and

S 7

increased lacrimation) to withdraw from the study and four subjects to interrupt dosing. All subjects reported baseline respiratory symptoms, and, of those who reported cough as an AE, all but one also noted it as a baseline symptom. These AEs resolved within 5 to 35 minutes with no or minimal intervention. The four latter subjects restarted and successfully completed dosing within minutes of the original interruptions. These AEs were probably related to the underlying bronchial irritability that often accompanies cystic fibrosis, although the investigator considered each event to be probably related to study drug administration. Thus, in this study, TPI at each dose level and TOBI 300 mg/5 mL were well-tolerated.

10 Hematology

No notable mean changes from baseline to follow-up hematology results were observed in TOBI or TPI treatment groups. There were no important differences between TOBI and TPI groups in mean change from baseline and no patterns of increasing mean change with increasing dose of TPI for any hematology test.

15 No notable increases from baseline to follow-up were observed for TOBI or TPI groups in the frequencies of above-normal or below-normal hematology results. There were no important differences between TOBI and TPI groups and no patterns of increasing frequencies of outlier hematology results with increasing dose of TPI.

One TOBI subject had a clinically significant follow-up eosinophil count that was recorded as an AE.

20 Serum Chemistry

No notable mean changes from baseline to follow-up serum chemistry results were observed in TOBI or TPI treatment groups. There were no important differences between TOBI and TPI groups in mean change from baseline and no patterns of increasing mean change with increasing dose of TPI for any chemistry test.

25 No notable increases from baseline to follow-up were observed for TOBI or TPI groups in the frequencies of above-normal or below-normal serum chemistry results. There were no important differences between TOBI and TPI groups and no patterns of increasing frequencies of outlier chemistry results with increasing dose of TPI.

30 One subject had a clinically significant follow-up glucose result; this result was attributed to CF-related diabetes, was not recorded as an AE, and was not attributed to TPI treatment.

58

Dipstick Urine Protein

Quantitative changes from baseline to follow-up results were not calculated since the dipstick urine protein test is a qualitative test. No notable increases from baseline to follow-up were observed for TOBI or TPI groups in the frequency of dipstick urine protein results of positive 2+ or greater.

A single positive 3+ result was noted in a subject who received TPI 4x28 mg dose.

Individual Hematology Abnormalities

With one exception, no clinically significant hematology results were observed during the study. TOBI subject 12/405 had a clinically significant follow-up eosinophil result of 9.0% (normal range, 0 to 6%) that was recorded as an AE and was considered possibly related to TOBI treatment by the investigator. The subject's baseline eosinophil result was at the upper limit of normal (5.9%), but the subject had elevated eosinophils 8 days before the baseline result. The clinical importance of the final eosinophil result of 9.0% is uncertain.

Serum Chemistry

With one exception, no clinically significant serum chemistry results were observed during the study. One subject (TPI 3x28 mg) had a clinically significant follow-up glucose result; this result was attributed to CF-related diabetes.

Dipstick Urine Protein

With one exception, no clinically significant dipstick urine protein results were observed during the study. One subject (TPI 4x28 mg) had a positive 3+ result at day 6 follow-up; the subject had a positive 1+ result at screening and at an unscheduled repeat test on the day of dosing. The study coordinator felt that the 3+ urine protein result was consistent with SAEs (cough and sputum increased) beginning on day 2 that led to hospitalization of the subject.

Bronchospasm and Acute Decrease in Pulmonary Function

A single instance of asymptomatic bronchospasm (20.9% reduction in FEV₁ percent predicted within 30 minutes after the subject inhaled a single dose of TPI 2x28 mg; (Table 11) was observed during a spirometry procedure that was not performed according to American Thoracic Society (ATS) specifications. Had the procedure been performed to specification, the FEV₁ reduction could have been less (11%). A similar

59
84

asymptomatic reduction in FEV₁ percent predicted was also observed in a TOBI subject (19.1% decrease).

One other TOBI subject and six other TPI subjects experienced a decrease of more than 10% but less than 20% in FEV₁ percent predicted (Table 11). Three of the six
5 TPI subjects (subject 02/507 at the TPI 3x28 mg dose and subjects 01/415 and 08/406 at the TPI 4x28 mg dose) experienced cough or cough aggravated within minutes after dosing.

Table 11 Subjects with Acute Decreases in Pulmonary Function

Treatment	Predose FEV ₁ % Predicted	30-minute Postdose FEV ₁ % Predicted	Percent Change in FEV ₁ % Predicted	Associated AEs (especially cough, wheeze, or dyspnea) before/during spirometry?
TPI 4x14 mg	52.3	44.3	-15.3 ^a	No
TPI 2x28 mg	69.9	55.3	-20.9 ^b	No
TPI 3x28 mg	54.3	47.6	-12.3 ^a	No
	87.4	77.1	-11.8 ^a	Cough at time of spirometry
TPI 4x28 mg	73.3	64.0	-12.7 ^a	Cough aggravated, lacrimation increased at time of spirometry
	77.2	67.8	-12.1 ^a	No
	67.8	60.0	-11.4 ^a	Cough aggravated, dizziness ending about 30 minutes before spirometry
TOBI 300 mg	39.3	34.1	-13.2 ^a	No
	104.3	84.3	-19.1 ^a	No

10 ^a Decrease in FEV₁ % predicted is 10% or more but less than 20%.

^b Decrease in FEV₁ % predicted is 20% or more

60

Quantitative Changes in Pulmonary Function

Mean changes in FEV₁ percent predicted, FVC percent predicted, and FEF₂₅₋₇₅ percent predicted in TOBI and all TPI groups were relatively stable from screening to before day 1 dosing and from predose day 1 to day 8 follow-up. There were no apparent differences between TOBI and TPI groups, and no apparent dose-related differences between TPI groups, in mean changes in FEV₁, FVC, or FEF₂₅₋₇₅ percent predicted from before to 30 minutes after dosing.

Vital Signs

There were no large or consistent differences between TPI and TOBI groups in vital signs or changes in vital signs throughout the study.

Concomitant Medications

Thirty-eight of 90 subjects took concomitant medications and therapies after dosing. No differences were apparent in the frequencies or types of concomitant medications and therapies.

Safety Conclusions

More TPI subjects (60.6%) than TOBI subjects (30.0%) experienced treatment-emergent AEs during or after treatment. The percent of subjects with any AE was similar among the TPI dose levels (45% to 69%); sample sizes were too small to determine whether a trend was present for increasing any-AE incidence with increasing TPI dose. All treatment-emergent AEs were mild or moderate in intensity.

One TPI 4x28 mg subject experienced two SAEs (moderate cough and sputum increased indicative of an exacerbation of CF lung disease) that led to hospitalization on the eighth day after the single-dose study treatment was administered; neither of these SAEs was considered related to TPI treatment. Another TPI 4x28 mg subject experienced moderate, probably-related cough aggravated, dysgeusia, and lacrimation increased that caused study drug administration to be interrupted and then stopped; the subject then withdrew consent and was withdrawn from the study. Four subjects experienced coughing during inhalation of TPI that led to a modification, interruption, or delay in dosing (one subject each at TPI 4x14 mg and 4x28 mg and two subjects at 3x28 mg); each AE was considered to be probably related to TPI treatment by the investigator. However, in all four cases, dosing was only interrupted briefly, and the subjects resumed and completed dosing without mishap. All subjects in this study reported respiratory baseline symptoms, with ~90% in each cohort reporting cough.

61
61

Furthermore the reporting of mild cough is not unexpected from the first administration of a dry powder inhaler, especially when airway irritability is already present.

AEs experienced by the largest number of TPI subjects were cough or cough aggravated (13 of 66 subjects = 19.7%); dysgeusia (11 subjects, 16.7%); pharyngitis, haemoptysis, and rhinorrhea (4 subjects, 6.1% each); sputum increased, crackles lung, lacrimation increased, abdominal pain upper, dizziness, headache NOS, and throat irritation (3 subjects, 4.5% each). The incidence of cough, cough aggravated, and dysgeusia increased slightly with increasing TPI dose. No more than one TOBI subject experienced any AE. TOBI subjects experienced no cough, cough aggravated, or dysgeusia, but 85% of the TOBI recipients were chronic TOBI users.

The investigators considered most instances of cough and cough aggravated, all instances of dysgeusia, and most instances of haemoptysis and throat irritation to be possibly or probably related to TPI treatment. By comparison, single instances of chest tightness, herpes simplex, eosinophil count increased, dry throat, pharyngitis, sputum increased, and sputum viscosity increased were considered related to TOBI treatment.

A single instance of asymptomatic bronchospasm (20.9% reduction in FEV₁) was recorded, similar to an asymptomatic 19.1% reduction in a TOBI subject.

There were no notable changes from baseline in clinical laboratory results, no patterns of increasing change with increasing dose of TPI, no increases in the frequency of above-normal or below-normal results, and no apparent TPI vs. TOBI differences. In a single TOBI subject, an elevated eosinophil count was recorded as an AE.

Discussion and Overall Conclusions

Single dose administration of TPI results in a more efficient delivery of tobramycin than TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation, while maintaining similar tobramycin pharmacokinetics. Systemic exposures achieved after administration of TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation were very similar to that seen after administration of 4x28 mg capsules of TPI, with an equivalent dose calculation of 115 mg of TPI. Hence, four capsules of 28 mg TPI (112 mg total) should produce systemic exposures that are comparable to 300 mg of TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation.

Minimal dosing interruptions (temporary in all but one case) due to cough were observed and did not appear to alter the single dose pharmacokinetics of tobramycin in serum after administration of TPI.

62

Approximately 20% of subjects reported cough with TPI, in most cases mild, occasionally causing brief dose interruption, and generally settling quickly. Cough is an expected AE with all inhaled dry powder therapy and was present in the majority of subjects at baseline. While the incidence of AEs was higher in TPI-treated than
5 TOBI-treated subjects, the majority of subjects in most cohorts received chronic cycling TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation.

In one case, a young subject forgot to take his usual medication (consisting of a long-acting bronchodilator) and experienced moderate cough after dosing, which led to his withdrawal. The loss of usual bronchoprotection is likely the cause of this reaction.

10 Administration of single doses of TPI in total doses of 28 mg to 112 mg was well-tolerated by CF subjects during the study. One hundred twelve milligrams of TPI powder gives a close systemic exposure to tobramycin to that from TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation.

This study demonstrated that the inhalation using the methods of the invention
15 with a simple inhaler device is much more rapid and efficient than the standard dose of TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation by nebulization. The side effects of increased cough and throat irritation after inhalation of TPI were not unexpected, given the amount of powder contained in each dose. However, in most cases the effects were mild, and the subjects voiced an appreciation for how quick and simple the dosing was
20 for TPI. The lack of complaint of cough and bad taste from the TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation group may be related to the fact that 85% of those subjects had been taking TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation on a routine basis prior to the study. These subjects may have acclimated to the effects of the wet aerosol form of tobramycin.

25 Thus, single dose administration of dry powder tobramycin resulted in a more efficient delivery of tobramycin than TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation, while maintaining similar tobramycin pharmacokinetics. Systemic exposures achieved after administration of TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation were very similar to that seen after administration of 4x28 mg capsules of TIP, with an equivalent dose calculation
30 of 115 mg of TIP. Hence, four capsules of 28 mg TIP (112 mg total) should produce systemic exposures that are comparable to 300 mg of TOBI® Tobramycin Solution for Inhalation.

63

While the preferred embodiment of the invention has been illustrated and described, it will be appreciated that various changes can be made therein without departing from the spirit and scope of the invention.

64

The embodiments of the invention in which an exclusive property or privilege is claimed are defined as follows:

1. A method for the treatment of an endobronchial infection in a patient, comprising administering to the endobronchial system of the patient a dry powder aerosol composition comprising from 90 to 130 mg of an aminoglycoside antibiotic one to three times a day for a first treatment period of 20 to 36 days.
2. A method of Claim 1 wherein the first treatment period is followed by a second non-treatment period wherein no aminoglycoside antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient.
3. A method of Claim 1 wherein the aminoglycoside antibiotic is selected from the group consisting of gentamicin, amikacin, kanamycin, streptomycin, neomycin, netilmicin and tobramycin, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
4. A method of Claim 3 wherein the aminoglycoside antibiotic is tobramycin, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
5. A method of Claim 4 wherein the aerosol powder composition comprises from 100 to 120 mg of tobramycin.
6. A method of Claim 5 wherein the aerosol powder composition comprises from 110 to 115 mg of tobramycin.
7. A method of Claim 1 wherein the aerosol powder composition administered to the patient is divided into two to six unit doses.
8. A method of Claim 7 wherein the aerosol powder composition administered to the patient is divided into three to five unit doses.
9. A method of Claim 8 wherein the aerosol powder composition is divided into four unit doses.
10. A method of Claim 2 wherein the second non-treatment period is from 20 to 36 days.

6-5

11. A method of Claim 2 wherein the first treatment period is from 26 to 30 days.
12. A method of Claim 11 wherein the second non-treatment period is from 26 to 30 days.
13. A method of Claim 2 wherein the first treatment period is for 28 days.
14. A method of Claim 13 wherein the second non-treatment period is from 26 to 30 days.
15. A method of Claim 2 wherein the treatment regime of the first treatment period followed by the second non-treatment period is repeated a multiplicity of times.
16. A method of Claim 2 wherein the powder comprises particles at least 50% of which have an aerodynamic diameter in the range of from 1 μm to 5 μm .
17. A method of Claim 2 wherein the patient is a cystic fibrosis patient.
18. A method of Claim 17 wherein the cystic fibrosis patient is suffering from a *Pseudomonas* endobronchial infection.
19. A method of Claim 1 wherein the aerosol powder is administered to the patient using a dry powder inhaler.
20. A method of Claim 1 wherein the aerosol powder is disposed within a single container within the dry powder inhaler, and the aerosol powder is delivered from the container into the lungs of the human or animal subject by the inhaler.
21. A method of Claim 20 wherein the aerosol powder is disposed within multiple containers within the dry powder inhaler, and the aerosol powder is delivered from the containers into the lungs of the human or animal subject by the inhaler.
22. A method for the treatment of a cystic fibrosis patient suffering from an endobronchial infection, comprising administering to endobronchial system of the patient a dry powder aerosol composition comprising from 110 to 115 mg of tobramycin antibiotic twice a day for a first treatment period of 28 days, providing a second non-

66

treatment period of from 26 to 30 days wherein no tobramycin antibiotic is administered to the endobronchial system of the patient, and then repeating the first and second treatment periods.

23. A method of Claim 22 wherein the aerosol powder composition administered to the patient is divided into three to five unit doses.

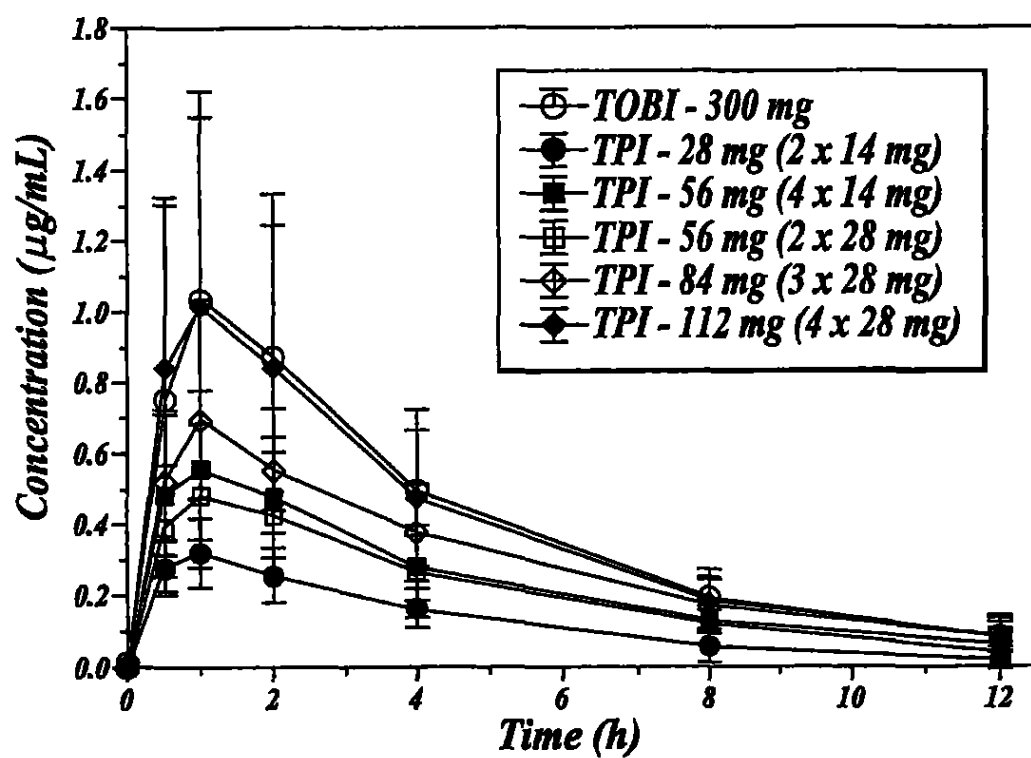
24. A method of Claim 23 wherein the aerosol powder composition is divided into four unit doses.

25. A method of Claim 22 wherein the cystic fibrosis patient is suffering from a *Pseudomonas* endobronchial infection.

26. A method of Claim 22 wherein the first and second treatment periods are repeated a multiplicity of times.

63

1/4

*Fig.1.*

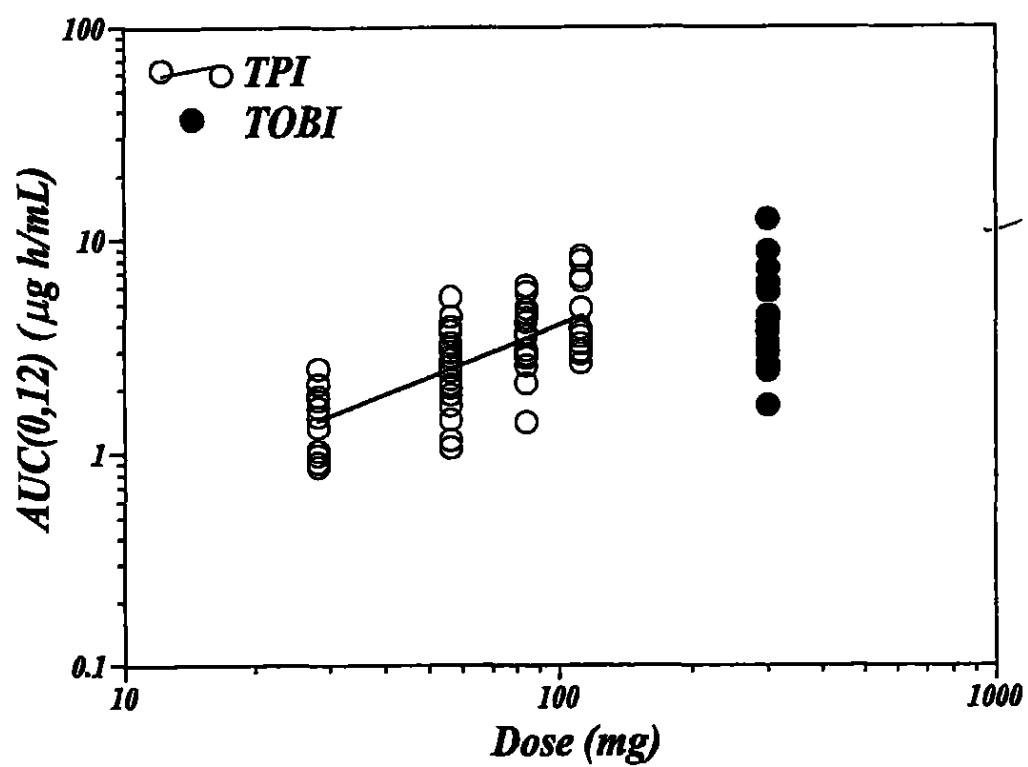


Fig.2.

69.

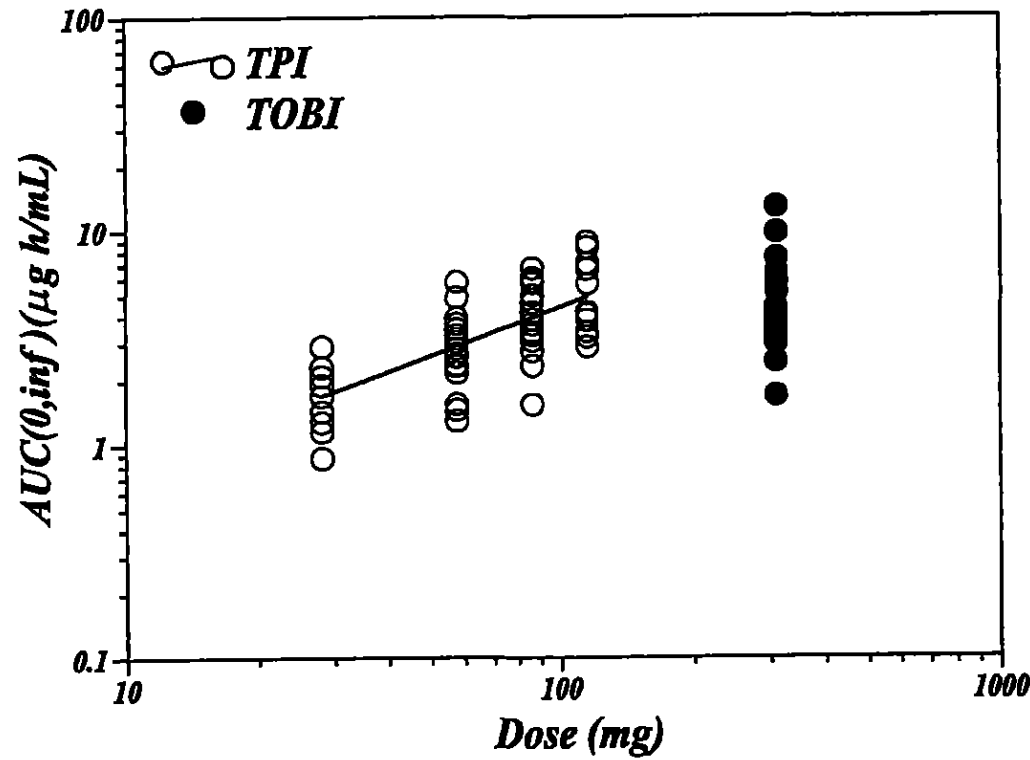


Fig.3.

70

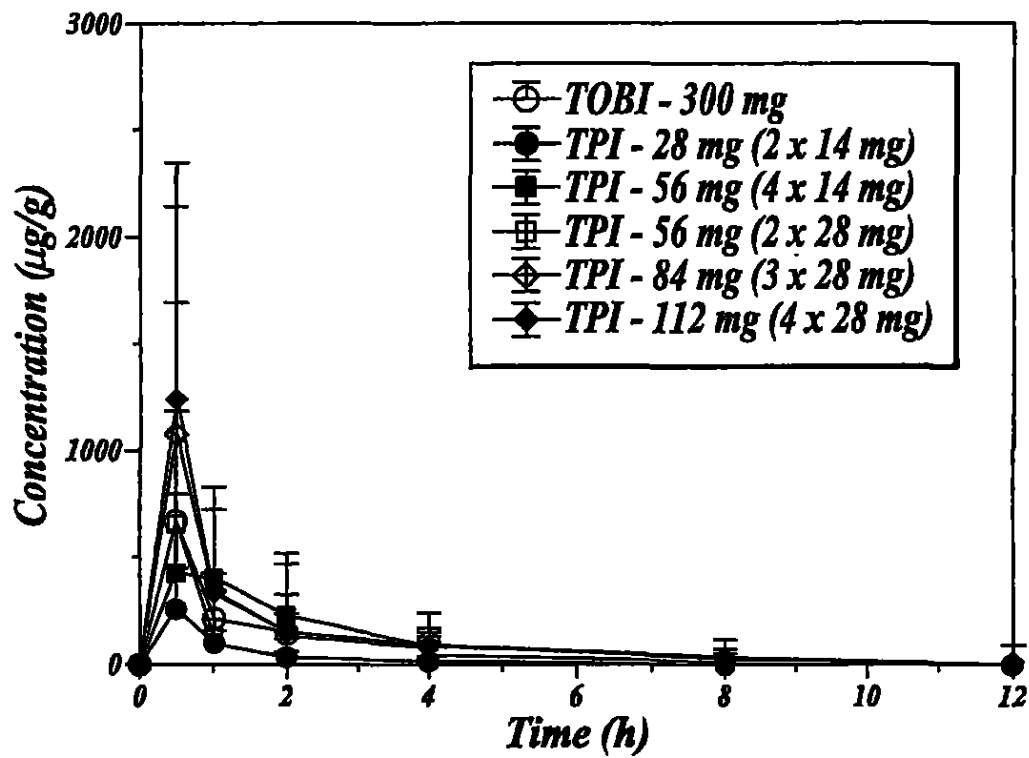


Fig.4.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US05/21952

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) . A61K 9/12, 31/70, 31/73, 47/36
US CL . 424/45; 514/38, 851, 958, 956

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. . 424/45; 514/38, 851, 958, 956

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
WEST, NPL (SCIRUS, PDR, EBSCO), RELATED APPLICATIONS, PALM.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,508,269 (SMITH et al) 16 April 1996 (16.04.1996), entire document, especially abstract, col. 1-3, 6-8.	1-26
Y	WO 0035461 (MONTGOMERY et al), 22 June 2000 (22.06.00), see abstract and pages 1-7.	1-26

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"B" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

06 September 2005 (06.09.2005)

Date of mailing of the international search report

23 SEP 2005

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

Mina Haghighian

Telephone No. 571-272-0600

72

METODOS PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES ENDOBRONQUIALESCAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a nuevos y
5 mejorados métodos para el tratamiento de infecciones
endobronquiales susceptibles en pacientes con formulaciones de
polvo seco de antibióticos aminoglicósidos, tales como
tobramicina.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La fibrosis cística (CF) es la enfermedad genética
más común que acorta la vida en los Estados Unidos y en Norte
de Europa, afectando aproximadamente a 30,000 individuos en
los Estados Unidos (Cunningham, J. C. y otros, "An
Introduction to Cystic Fibrosis for Patients and Families",
15 5o. ed., Bethesda: Cystic Fibrosis Foundation (2003)) y un
número similar de individuos en Europa del Este. El defecto
genético en esta enfermedad recesiva autosomal es una mutación
en el gen del regulador de conductancia de transmembrana CF
(CFTR), que codifica una proteína del canal de cloro (Collins,
20 F. S., "Cystic Fibrosis Molecular Biology and Therapeutic
Implications", Science 256: 774-779 (1992)). Las personas con
CF típicamente sufren de infecciones endobronquiales crónicas,
sinusitis, y mala absorción debido a la insuficiencia
pancreática, una pérdida de sal incrementada en el sudor,
25 enfermedad hepatobiliar obstructiva, y fertilidad reducida

(FitzSimmons, S. C., "The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis", *J Pediatr* 122: 1-9 (1993)). La enfermedad respiratoria es una causa principal de morbosidad y representa el 90% de mortalidad en personas con CF (Cystic Fibrosis Foundation, Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2003 Annual DataReport, Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation, (2004); Davis, P. B. y otros, "Cystic fibrosis", *Amer J Respir Crit Care Med* 154(5):1229-56 (1996)). La función del pulmón (medida como el volumen expiratorio forzado en un segundo (porcentaje de FEV₁ pronosticado) es un pronosticador significativo de la supervivencia en CF. Dos años de supervivencia para una población dada de personas con CF se reduce dos veces con 10% de reducción cada uno en el porcentaje de FEV₁ pronosticado, y las personas con FEV₁ por debajo del 30% pronosticado tienen una supervivencia de 2 años por debajo del 50% (Kerem, E. y otros, "Prediction of Mortality in Patients with Cystic Fibrosis", *N Engl J Med* 326:1187-1191 (1992)). Los grados de la pérdida de la función del pulmón varían tanto entre individuos como a través del tiempo para un individuo dado. El análisis longitudinal retrospectivo muestra grados de declinación en la escala de menos de 2% del porcentaje de FEV₁ pronosticado por año a más de 9% del porcentaje de FEV₁ pronosticado por año, con un grado global de declinación fuertemente asociada con la edad de la muerte (Corey, M. y otros, "Longitudinal Analysis of

Pulmonary Function Decline in Patients with Cystic Fibrosis",
J Pediatr 131(6):809-1 (1997)).

Los pacientes con CF sufren de moco engrosado
causado por el transporte de ión epitelial perturbado que
5 perjudica las defensas del huésped del pulmón, dando como
resultado una susceptibilidad incrementada para infecciones
endobronquiales tempranas con *Staphylococcus aureus*,
Haemophilus influenzae, y *P. aeruginosa*. En la adolescencia, la
mayor parte de las personas con CF tienen *P. aeruginosa*
10 presente en su esputo (Reporte de los Datos Anuales del 2003
del Registro de Pacientes de la Fundación de Fibrosis Cística
(2004)). Más infecciones endobronquiales crónicas,
particularmente con *P. aeruginosa* provocan una respuesta
inflamatoria persistente en las vías aéreas que acelera la
15 enfermedad obstructiva progresiva caracterizada por la
expansión difusa de los bronquios (Davis, P. B. y otros
(1996), supra; Winnie, G. B. y otros, "Respiratory Tract
Colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis:
Correlations Between Anti-*Pseudomonas aeruginosa* Antibody
20 Levels And Pulmonary Function", *Pediatr Pulmonol* 10: 92-100
(1991); Ballman, M. y otros "Long Term Follow Up of Changes in
FEV1 and Treatment Intensity During *Pseudomonas Aeruginosa*
Colonisation in Patients with Cystic Fibrosis", *Thorax* 53:
732-737 (1998); Pamukcu, A. y otros, "Effects of
25 *Pseudomonas aeruginosa* Colonization on Lung Function and

Anthropometric Variables in Children with Cystic Fibrosis",
Pediatr Pulmonol 19:10-15 (1995)). Un enlace entre la
adquisición de la infección por *P. aeruginosa* endobronquial
crónica, la inflamación de pulmones, la pérdida de la función
5 del pulmón, y la muerte final es sugerida por la supervivencia
significativamente disminuida asociada con la infección por *P.*
aeruginosa crónica (Henry, R. L. y otras, "Mucoid
Pseudomonasaeruginosa is a Marker of Poor Survival in Cystic
Fibrosis", Pediatr Pulmonol 12(3):158-61 (1992)), y por la
10 significativa asociación de la adquisición temprana de
infección por *P. aeruginosa* crónica y mortalidad en la
infancia (Demko, C. A. y otros, "Gender Differences in Cystic
Fibrosis: Pseudomonasaeruginosa Infection", J Clin Epidemiol
48: 1041-1049 (1995)). Las terapias crónicas que ya sea
15 suprimen las cargas bacterianas en el pulmón (MacLusky, I.B. y
otros "Long-term Effects of Inhaled Tobramycin in Patients
with Cystic Fibrosis Colonized with Pseudomonas aeruginosa",
Pediatr Pulmonol 7(1):42-8 (1989)) o suprimen la inflamación
resultante (Konstan, M. W. y otros, "Effect of high-dose
20 Ibuprofen in Patients with Cystic Fibrosis", N Engl J Med 332
(13):848-54 (1995)) han demostrado que reducen las tasas de
declinación de la función del pulmón en pacientes infectados.

Históricamente, la terapia estándar para infecciones
endobronquiales por *P. aeruginosa* fue de 14 a 21 días de los
25 antibióticos antipseudomonales parenterales, típicamente

incluyendo un aminoglicósido. Sin embargo, los aminoglicósidos parenterales, como agentes altamente polares, penetran pobremente dentro del espacio endobronquial. Para obtener las concentraciones de fármaco adecuadas en el sitio de la
5 infección con administración parenteral, son requeridos niveles de suero que se acerquen a aquellos asociados con nefro-, vestíbulo-, y oto-toxicidad ("American Academy of Otolaryngology. Guide for the evaluation of hearing handicap", JAMA 241(19):2055-9 (1979); Brummett, R. E., "Drug-induced
10 ototoxicity", Drugs 19:412-28 (1980)).

La administración de aminoglicósidos por inhalación ofrece una alternativa atractiva, distribuyendo altas concentraciones de antibiótico directamente al sitio de infección en el espacio endobronquial mientras minimiza la
15 biodisponibilidad sistémica (Touw, D.J. y otros, "Inhalation of Antibiotics in Cystic Fibrosis," Eur Respir J 8: 1594-604 (1995); Rosenfeld, M. y otros, "Aerosolized Antibiotics for Bacterial Lower Airway Infections: Principles, Efficacy, and Pitfalls," Clinical Pulmonary Medicine 4(2):101-12 (1997)).

20 El estándar de tratamiento actual de infecciones por *P. aeruginosa* en pacientes con CF es la solución de tobramicina TOBI® por inhalación, una formulación libre de conservadores, estable, y conveniente de tobramicina (60 mg/ml de tobramicina en 5 ml de salina normal a 1/4) para
25 administración a través de un nebulizador por inyección de

chorro, desarrollado por PathoGenesis Corporation, Seattle, Wash. (ahora Chiron Corporation, Emeryville, Calif.). La combinación de una dosis de TOBI BID de 5ml (300 mg de tobramicina) y el sistema de distribución de compresor PARI LC PLUS/PulmoAide se aprobó por la FDA bajo NDA 50-753, en diciembre de 1997, como una terapia intermitente crónica para la administración de *P. aeruginosa* en pacientes con CF, y permanece el estándar de la industria para este propósito. El procedimiento de inhalación de la dosis de TOBI de 300 mg comercialmente disponible puede tomar 20 minutos por dosis con un tiempo adicional requerido para la configuración y limpieza del nebulizador. La administración por aerosol de una dosis de 5 ml de una formulación que contiene 300 mg de tobramicina en un 1/4 de salina normal para supresión de *P. aeruginosa* en el espacio endobronquial de un paciente también se describe en la patente de E. U. A. No. 5,508,269, la descripción de la cual se incorpora aquí en su totalidad por referencia.

La tobramicina es un antibiótico de aminoglicósido producido por el actinomiceto, *Streptomyces tenebrarius*. Las bajas concentraciones de tobramicina (<4 µg/ml) son efectivas en la inhibición del crecimiento de muchas bacterias gram-negativas y bajo ciertas condiciones que pueden ser bactericidas (Neu, H. C., "Tobramycin: an overview", J Infect Dis 134: Suppl: S3-19 (1976)). La tobramicina se absorbe pobremente a través de la superficie de la mucosa,

convencionalmente necesitando - administración parenteral. Además, la actividad de tobramicina se inhibe por medio del esputo purulento: altas concentraciones de cationes divalentes, condiciones ácidas, resistencia iónica incrementada y macromoléculas que unen el fármaco, todas inhiben la tobramicina en este entorno. Se estima que las concentraciones de 5 a 10 veces más altas de tobramicina son requeridas en el esputo para superar estos efectos inhibidores (Levy, J. y otros, "Bioactivity of Gentamicin in Purulent Sputum from Patients with Cystic Fibrosis or Bronchiectasis: Comparison with Activity in Serum", J Infect Dis 148(6):1069-76 (1983)).

La efectividad de la distribución de tobramicina del antibiótico pobremente absorbido en las vías aéreas a través de la ruta de aerosol de pacientes con fibrosis cística (CF), ha estado bien documentado. Mucho de este trabajo se ha hecho enfocado hacia el tratamiento de infecciones de pulmón crónicas con *P. aeruginosa* en pacientes con fibrosis cística (CF). Por ejemplo, un ensayo de cruce, de placebo controlado, de doble enlace, de multicentro de 600 mg tid de tobramicina aerosolizada para infecciones endobronquiales debido a *P. aeruginosa* en pacientes CF 71 demostró una reducción significativa en la densidad del esputo de este patógeno así como una espirometría mejorada en el grupo de tratamiento. La emergencia de las cepas de MIC >128 µg/ml) altamente

79
29

resistentes a tobramicina (definida como *P. aeruginosa*) se comparó con los grupos de placebo y tratamiento. La presencia en el esputo de organismo gram-negativos diferentes de *P. aeruginosa* intrínsecamente resistentes a tobramicina ocurrió
5 con una frecuencia igual durante la administración de tobramicina o placebo (Ramsey, B. y otros, "Response to Letter to the Editor: Aerosolized Tobramycin in Patients with Cystic Fibrosis", N Engl J Med 329:1660 (1993)).

Aunque se encontró que este régimen es tanto seguro
10 como eficaz, es costoso e inconveniente. Un estudio de MIC para *P. aeruginosa* aísla cultivos del esputo inicial para pacientes en el centro CF del Hospital para Niños, Seattle, Wash., en 1994 encontró que el 90% de los aislados tuvo MIC de <16 µg/ml y 98% de todos los aislados tuvieron MIC de <128
15 µg/ml. Este estudio sugirió que al lograr una concentración de tobramicina de esputo de 128 µg/ml deberá efectivamente tratar infecciones endobronquiales en pacientes con CF (Levy, J. y otros, "Bioactivity of Gentamicin in Purulent. Sputum from Patients with Cystic Fibrosis or Bronchiectasis: Comparison
20 with Activity in Serum", J Infect Dis 148(6):1069-76 (1983)).

Un estudio de cruce, aleatorizado comparó la habilidad de varios nebulizadores para distribuir tobramicina a través de la medición de concentraciones de tobramicina de esputo pico en muestras recolectadas 10 minutos después de la
25 terminación de la dosis de aerosol. Este estudio administró la

solución de tobramicina TOBI® para inhalación, PathoGenesis Corporation, Seattle, Wash. (ahora Chiron Corporation, Emeryville, Calif.), conteniendo 60 mg/ml de tobramicina en 5 ml de un 1/4 de salina normal (1/4) utilizando un nebulizador de inyección de chorro PARI® LC, el equipo respiratorio PARI, Inc., Richmond, Va. Este sistema de distribución demostró que distribuye una concentración de tobramicina de esputo de pico medio de 678.8 µg/g (s.d. 661.0 µg/g), y una concentración de esputo de pico medio de 433.0 µg/g. Solamente el 13% de los pacientes tuvieron niveles de esputo de <128 µg/g; 87% de los pacientes lograron niveles de esputo de >128 µg/g (Eisenberg, J. y otros, "A Comparison of Peak Sputum Tobramycin Concentration in Patients With Cystic Fibrosis Using Jet and Ultrasonic Nebulizer Systems. Aerosolized Tobramycin Study Group", Chest 111 (4):955-962 (1997)). Recientemente el nebulizador por inyección de chorro PARI® LC ha sido modificado con la adición de válvulas de flujo de una vía, y se renombró como PARI® LC PLUS. Las válvulas de una vía en el PARI® LC PLUS han sido descritas como permitiendo la distribución de más fármaco que el nebulizador de inyección de chorro PARI® LC, mientras disminuye el potencial de derramamiento accidental y permite el uso de un filtro expiratorio. La experiencia ha mostrado las concentraciones de tobramicina de esputo de pico medio logradas utilizando el nebulizador de inyección por chorro PARI LC PLUS fueron

significativamente más altas que aquellas que utilizaron el nebulizador de inyección de chorro PARI® LC como se describe en Eisenberg et al. (1997), supra.

Además de lo anteriormente mencionado, se reportaron
5 dos ensayos clínicos dobles ciegos, aleatorizados, multicentro, controlados de placebo de administración intermitente de tobramicina en aerosol líquida inhalada en pacientes con fibrosis cística con infección *P. aeruginosa* en Ramsey, B. W. y otros, "Intermittent Administration of Inhaled
10 Tobramycin in Patients with Cystic Fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Tobramycin Study Group." N. Engl. J. Med 340(1):23-30 (1999). En estos estudios, se seleccionaron al azar 520 sujetos para recibir ya sea 300 mg de tobramicina inhalada o placebo dos veces diariamente durante 28 días seguido por 28
15 días sin el fármaco del estudio. Los sujetos continuaron en el tratamiento o placebo durante 3 ciclos "intermitentes" durante un total de 24 semanas. Las variables eficaces incluyeron la densidad de *P. aeruginosa* de esputo. Los pacientes tratados con tobramicina tuvieron un promedio de 0.8 Log₁₀ disminuido en
20 la densidad de *P. aeruginosa* durante la semana 0 a la semana 20, comparado con un incremento de 0.3 Log₁₀ en pacientes tratados con placebo (P<0.001). Los pacientes tratados con tobramicina tuvieron un promedio de 1.9 Log₁₀ de disminución en la densidad de *P. aeruginosa* de la semana 0 a la semana 4,
25 comparado con ningún cambio en pacientes tratados con placebo

82

($P < 0.001$).

La patente de E. U. A. No. 6,890,907 y la solicitud de patente publicada de los Estados Unidos 2003/0143162 describen que los pacientes que sufren de una infección endobronquial pueden efectivamente tratarse a través de la administración al paciente para la inhalación de una dosis de 4.0 ml, o menor, de una formulación en aerosol líquida nebulizada que comprende de aproximadamente 60 a aproximadamente 200 mg/ml de un antibiótico de aminoglicósido tal como tobramicina, en un portador fisiológicamente aceptable, en un período de tiempo de menos de aproximadamente 10 minutos. La administración más eficiente de la formulación de aminoglicósido permite volúmenes sustancialmente más pequeños de aminoglicósido líquido que el régimen de administración convencional que se va a administrar en períodos sustancialmente más cortos de tiempo, por lo tanto reduciendo el costo de administración y el desperdicio de fármaco. Además, las formulaciones demostraron que contienen una cantidad eficaz pero mínima de aminoglicósido formulado en un volumen relativamente pequeño de una solución fisiológicamente aceptable, por lo tanto reduciendo la irritación de los pulmones después de la inhalación de la formulación de aminoglicósido.

Además de los antibióticos inhalados tales como el producto TOBI® comercialmente disponible, se prescriben

rutinariamente una variedad de otras terapias crónicas para reducir los ciclos de obstrucción destructivos, infección, e inflamación en el pulmón CF. Terapia agresiva de limpieza de las vías aéreas (Reisman, J. J. u otros, "Role of conventional
5 physiotherapy in cystic fibrosis", *J Pediatr* 113 (4):632-6 (1988)), broncodilatadores inhalados (Konig P y otros, "Short-term and Long-term Effects of Albuterol Aerosol Therapy in Cystic Fibrosis: A Preliminary Report", *Pediatr Pulmonol* 20 (4):205-14(1995)), y mucolíticos tales como alfa-dornasa
10 humana recombinante (rhDNase; Fuchs, H. J. y otros, "Effect of Aerosolized Recombinant Human DNase on Exacerbations of Respiratory Symptoms and on Pulmonary Function in Patients with Cystic Fibrosis. The Pulmozyme Study Group", *N Engl J Med* 331(10):637-42 (1994)) todas se prescriben crónicamente,
15 creando un potencial para una carga de tratamiento significativa para personas con CF. Se ha demostrado que la adherencia a terapias es un problema significativo para personas con CF (Conway, S. P. y otros, "Compliance with treatment in adult patients with cystic fibrosis", *Thorax*
20 51(1):29-33 (1996)) and that lack of compliance can vary by specific treatment (Abbott J y otros, "Treatment Compliance in Adults with Cystic Fibrosis", *Thorax* 49(2):115-20 (1994)).

Como se describe anteriormente, la solución de tobramicina en aerosol líquida TOBI® comercialmente disponible
25 para inhalación ha probado ser altamente efectiva en el

tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa* en pacientes con CF. Dada la carga del tratamiento y los retos de adherencia asociados con la conservación de la función del pulmón en personas con CF, las mejoras en las terapias existentes que reducen el tiempo de administración del tratamiento o incrementa la conveniencia del tratamiento para pacientes facilitará la adherencia del paciente y la eficacia terapéutica resultante. Por consiguiente, existe una necesidad de nuevos y mejorados métodos y dispositivos para distribuir compuestos de antibiótico de aminoglicósido a un paciente a través de inhalación para reducir los costos de administración, la aceptación incrementada del paciente, y mejorar la efectividad global de la terapia por inhalación.

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

La presente invención provee métodos para el tratamiento de infecciones endobronquiales en un paciente, que comprende la administración al sistema endobronquial del paciente de una composición de aerosol de polvo seco que comprende de 90 a 130 mg de un antibiótico de aminoglicósido de una a 2 veces por día durante un primer período de tratamiento de 20 a 36 días. En la práctica de la invención, el primer período de tratamiento puede ser seguido por un segundo período no de tratamiento en donde no se administra el antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente. Para el tratamiento de infecciones virulentas, el

85

ciclo del primer periodo del tratamiento de aminoglicósido seguido por un segundo periodo no de tratamiento en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente puede repetirse dos o más veces hasta que se obtenga el efecto antibacterial deseado. En el caso de infecciones crónicas, tales como infecciones que ocurren en pacientes con fibrosis cística, el primero y el segundo periodos de tratamiento se pueden repetir una multiplicidad de veces a lo largo del tratamiento médico del paciente.

Los métodos de la invención son útiles para tratar cualquier infección endobronquial que es susceptible a un antibiótico de aminoglicósido, tal como una infección endobronquial pseudomonal asociada con fibrosis cística.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

Los aspectos anteriormente mencionados y muchas de las ventajas acompañantes de esta invención serán más rápidamente apreciadas según serán mejor entendidas a través de la referencia a la siguiente descripción detallada, cuando se toma en conjunción con dibujos anexos, en donde:

La Figura 1 muestra la concentración de suero media de tobramicina en sujetos a varios tiempos después de la administración de una dosis definida de TPI y TOBI.

La Figura 2 muestra una gráfica de la dosificación del polvo de tobramicina para inhalación (TPI) y la solución

de tobramicina para inhalación (TOBI) contra el área bajo la curva (AUC) (0,12).

La Figura 3 muestra una gráfica de la dosificación de TPI y TOBI contra AUC(0,∞).

5 La Figura 4 muestra la concentración promedio de tobramicina en el esputo de sujetos que han recibido una dosificación definida de TOBI o TPI.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

A menos que se específicamente se defina aquí, todos
10 los términos utilizados aquí tienen el mismo significado como los serían para un experto en la técnica de la presente invención. Se utilizan aquí las siguientes abreviaturas:

	<u>Abreviatura</u>	<u>Significado</u>
	AE	evento adverso
15	ALT	aminotransferasa de alanina
	AUC	curva bajo el área
	BID	dos veces diariamente
	BUN	nitrógeno de urea en la sangre
	CaCl ₂	cloruro de cálcico
20	CF	fibrosis cística
	CFC	clorofluorocarbono
	C _{max}	concentración máxima
	CFTR	regulador de conductancia de
		transmembrana de fibrosis cística
25	DPI	inhalador de polvo seco

	DSPC	1,2-distearoil-sn-glicerol-3-fosfocolina
	FDA	Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos
5	FEV ₁	volumen expiratorio forzado a un segundo
	FVC	capacidad vital forzada
	FEF ₂₅₋₇₅	flujo expiratorio forzado entre 25% y 75%
10	HPMC	2-hidroxipropilmetilcelulosa
	IRB	Comisión de Revisión Institucional
	IVRS	Sistema de Respuesta por Voz Interactivo
	MedDRA	Diccionario Médico para Actividades
15	Reguladoras	
	MIC	concentración inhibidora mínima
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	PFOB	bromuro de perfluorooctilo
	QPIT	prueba de iontoforesis de pilocarbina
20	cuantitativa	
	SAE	evento adverso serio
	t _{max}	tiempo para concentración máxima
	TOBI®	300 mg de solución de tobramicina para inhalación, Chiron Corporation, Emeryville, CA.
25	TIP	Polvo para Inhalación de Tobramicina

En un aspecto la presente invención provee métodos para el tratamiento de infecciones endobronquiales en un paciente, que comprende la administración al sistema endobronquial del paciente de una composición de aerosol en polvo seco que comprende de 90 a 130 mg de un antibiótico de aminoglicósido de 1 a 3 veces por día durante un período de tratamiento de 20 a 36 días. En la práctica de la invención, el primer período del tratamiento puede ser seguido por un segundo período no de tratamiento en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente. Para el tratamiento de infecciones virulentas, el sitio del primer período del tratamiento de aminoglicósido seguido por el segundo período no de tratamiento en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente se puede repetir 2 o más veces hasta que se obtenga el efecto antibacterial deseado. En el caso de infecciones crónicas, tales como las infecciones que ocurren en pacientes con fibrosis cística, el primero y el segundo períodos de tratamiento se pueden repetir una multiplicidad de veces a lo largo del tratamiento médico del paciente.

En otro aspecto, la presente invención provee el uso de un antibiótico de aminoglicósido en la preparación de un medicamento para el tratamiento de infecciones endobronquiales en un paciente a través de la administración al sistema

endobronquial del paciente en un primer período de tratamiento de una composición en aerosol de polvo seco que comprende de 90 a 130 mg de un antibiótico de aminoglicósido de 1 a 3 veces por día durante un primer período de tratamiento de 20 a 36
5 días. En la práctica de este aspecto de la invención, el primer período de tratamiento puede similarmente ser seguido por un segundo período no de tratamiento en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente, y el primero y el segundo períodos
10 de tratamiento se pueden repetir, sustancialmente como se describe aquí.

Los métodos de este aspecto de la invención cada uno incluye el paso de administrar, a través de inhalación, a un sujeto ser humano o animal, en la necesidad de dicha
15 administración, una cantidad terapéuticamente efectiva de un polvo en aerosol que comprende de 20% en peso a 90% en peso de un antibiótico de aminoglicósido y un portador fisiológicamente aceptable, en donde el polvo comprende
20 partículas, y en donde por lo menos 50% de las partículas tienen un diámetro aerodinámico en la escala de 1 μm a 5 μm .

El término "infección endobronquial" se refiere a una infección bacteriana localizada dentro del bronquio de los pulmones. Ejemplos de infecciones endobronquiales que se pueden tratar utilizando los métodos de la presente invención
25 incluyen infecciones a través de organismos gram negativos,

tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*,
Haemophilus influenzae, *Burkholderia cepacia*; *Stenotrophomonas*
maltophilia, y *Alcaligenes xiloxidants*. Los métodos de este
aspecto de la presente invención se pueden utilizar, por
ejemplo, para tratar seres humanos que sufren de una infección
endobronquial asociada con fibrosis cística, tal como, por
ejemplo una infección por *Pseudomonas aeruginosa*.

Los antibióticos aminoglicósidos útiles en la
práctica de la invención, incluyen, por ejemplo, gentamicina,
amicacina, canamicina, estreptomycin, neomicina, netilmicina,
paramicina, y tobramicina. Un antibiótico de aminoglicósido
actualmente preferido para uso en la práctica de la presente
invención es tobramicina. Un antibiótico de aminoglicósido
típicamente se administra en la forma de una sal
farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sulfato, citrato,
ascorbato, gluconato, carbonato, tartrato, succinato, acetato,
o fosfato) o éster.

En la práctica de la presente invención, el polvo en
aerosol se inhala a través del sujeto ser humano o animal, y
por lo tanto entra a los pulmones del sujeto ser humano o
animal. El polvo en aerosol comprende partículas que
comprenden el antibiótico de aminoglicósido. Se ha encontrado
que los polvos en aerosol (que comprenden un antibiótico de
aminoglicósido) en donde al menos 50% de las partículas tienen
un diámetro aerodinámico en la escala de 1 μm a 5 μm

efectivamente penetran en los pulmones del sujeto ser humano o animal, por lo tanto efectivamente distribuyendo el antibiótico de aminoglicósido en los pulmones del sujeto. A manera de ejemplo, algunos polvos en aerosol (que comprenden
5 un antibiótico de aminoglicósido) útiles en la práctica de la invención comprenden partículas en donde al menos 60% de las partículas, o al menos 70% de las partículas, o al menos 80% de las partículas, o al menos 90% de las partículas, o al menos 95% de las partículas, tienen un diámetro aerodinámico
10 en la escala de 1 μm a 5 μm .

El término "diámetro aerodinámico" se refiere al diámetro de una esfera de densidad unitaria que tiene la misma velocidad perfilada terminal que la partícula en cuestión (ver, por ejemplo "Aerosol Measurement: Principles, Techniques
15 and Applications". Editado por Klaus Willeke y Paul A. Baron. Van Nostrand Reinhold, New York, 1993). El diámetro aerodinámico se utiliza, por ejemplo, para pronosticar en donde se van a depositar dichas partículas en el tracto respiratorio.

20 "Diámetro aerodinámico medio de masa" (abreviado como MMAD) es una medida de tamaño aerodinámico de una partícula dispersada. La distribución de tamaño aerodinámico define la forma en la cual el aerosol se deposita durante la inhalación, y es el diámetro de una esfera de densidad
25 unitaria que tiene la misma velocidad de perfil, generalmente

92
92

en el aire, que la partícula. El diámetro aerodinámico abarca la forma de la partícula, la densidad, y el tamaño físico de una partícula. Cuando existe una distribución log-normal, la distribución de tamaño aerodinámico se puede caracterizar a través del diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD). Como se utiliza aquí, MMAD se refiere al punto medio o la media de la distribución del tamaño de partícula aerodinámico de un polvo aerosolizado determinado por el impacto de cascada Anderson.

En breve, los dispositivos de impacto o de cascada incluyen una serie de filtros de disminución de tamaño de poro. Los filtros atrapan partículas dentro de un chorro en movimiento que pasa a través del proyectil. La cantidad de material en partículas (teniendo tamaños de partículas dentro de una escala de tamaño definido) que se atrapan en cada filtro se puede determinar a través del lavado del filtro y la medición de la cantidad de material eluido. Ejemplos de proyectiles en cascada, y su uso, se describen en el Capítulo 601 (Aerosoles) de la Farmacopea de los Estados Unidos (26o. Revisión), la porción citada de cuya publicación se incorpora aquí por referencia.

Las formulaciones de antibiótico de aminoglicósido en polvo útiles en la práctica de la presente invención típicamente contienen menos de 15% en peso de humedad, usualmente por debajo de aproximadamente 11% en peso, y preferiblemente por debajo de aproximadamente 8% en peso.

En la práctica de la presente invención se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de un polvo en aerosol que comprende un antibiótico de aminoglicósido a través de inhalación al paciente que sufre de una infección endobronquial. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un polvo en aerosol contiene suficiente antibiótico de aminoglicósido para completa o parcialmente inhibir el crecimiento de la bacteria susceptible en los pulmones del paciente. Como un ejemplo representativo, para las cantidades terapéuticamente efectivas de tobramicina de aminoglicósido se obtienen a través de la administración a un paciente de una vez diariamente durante 3 veces al día, en un aspecto preferido de la invención 2 veces al día, composiciones de polvo en aerosol que comprenden una dosificación de aproximadamente 90 mg a aproximadamente 130 mg, más preferiblemente de alrededor de 100 mg a aproximadamente 120 mg, y más preferiblemente de alrededor de 110 mg a aproximadamente 115 mg de tobramicina (determinada como peso de base libre excluyendo el peso del(de los) contraión(es) que pueden estar presentes).

La dosificación del aminoglicósido administrado, tal como tobramicina, se puede administrar desde un solo contenedor como una dosis unitaria individual, o se puede dividir en múltiples recipientes o dosis unitarias para administración secuencial, dependiendo del dispositivo de

94

inhalación utilizado para la distribución del antibiótico. Por ejemplo, la dosificación administrada del antibiótico de aminoglicósido se puede dividir en 1 a 6 dosis unitarias, más preferiblemente 3 a 5 dosis unitarias, y aún más preferiblemente 4 dosis unitarias. En una modalidad representativa una dosificación para la administración de 112 mg de tobramicina (determinada como peso de base libre excluyendo el peso del (de los) contraión(es) que puede estar presente) se carga en 4 cápsulas HPMC #2 separadas a pesos de relleno de 27 mg de tobramicina como la base libre por cápsula.

Las composiciones en aerosol de polvo seco de la invención se administran al paciente durante un primer período del tratamiento de aproximadamente 20 a 36 días, más preferiblemente de 26 a 30 días, y aún más preferiblemente de aproximadamente 28 días. Este primer período de tratamiento es seguido por un segundo período no de tratamiento en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente. En un aspecto de la invención, el segundo período no de tratamiento continuará durante aproximadamente 20 a 36 días, más preferiblemente de aproximadamente 26 a aproximadamente 30 días, y más preferiblemente de aproximadamente 28 días.

En una modalidad representativa, los métodos de la invención se utilizan para tratar pacientes con fibrosis

95

cística para la administración de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*. En este aspecto, la invención contempla el tratamiento de un paciente con fibrosis cística que sufre de una infección endobronquial, que comprende la administración al sistema endobronquial del paciente de una composición en aerosol de polvo seco que comprende de 110 a 115 mg de un antibiótico de tobramicina 2 veces al día durante un primer período de tratamiento de 28 días, proveyendo un segundo período no de tratamiento de 26 a 30 días en donde no se administra ningún antibiótico de tobramicina al sistema endotelial del paciente, y después repetir el primero y el segundo períodos de tratamiento. En este aspecto de la invención, la dosificación de 110 a 115 mg de tobramicina se puede dividir en 3 a 5 dosis unitarias, preferiblemente en 4 dosis unitarias, para administración secuencial. Ya que los pacientes con fibrosis cística tienden a estar crónicamente infectados con *P. aeruginosa*, el ciclo de tratamiento para el primer del tratamiento seguido por el segundo período no de tratamiento típicamente se repetirá una pluralidad o multiplicidad de veces, y se puede continuar indefinidamente para la administración a largo plazo de infecciones endobronquiales en pacientes con fibrosis cística.

El polvo en aerosol típicamente comprende de 20% (en peso) a 90% (en peso) del antibiótico de aminoglicósido. De esta forma, en algunas modalidades de la presente invención el

96

polvo en aerosol comprende 30% (en peso) a 80% (en peso) de un antibiótico de aminoglicósido. En algunas modalidades de la presente invención el polvo en aerosol comprende de 40% (en peso) a 70% (en peso) de un antibiótico de aminoglicósido. En este contexto, el porcentaje (en peso) del antibiótico de aminoglicósido se refiere a la cantidad del antibiótico libre, excluyendo el peso del (de los) contraíón(es) que puede estar presente.

Los polvos en aerosol de la invención típicamente, pero no necesariamente, incluyen por lo menos un portador fisiológicamente aceptable. Por ejemplo, el polvo en aerosol puede incluir uno o más excipientes, y/o cualquier otro componente que mejora la efectividad del antibiótico de aminoglicósido. Dichos excipientes pueden servir simplemente como agentes de volumen cuando se desea reducir la concentración del agente activo en el polvo que se está distribuyendo al paciente. Dichos excipientes también puede servir para mejorar la dispersabilidad del polvo dentro del dispositivo de dispersión de polvo con el fin de proveer una distribución más eficiente y reproducible del agente activo y para mejorar las características de manejo del agente activo (por ejemplo, fluidez y consistencia) para facilitar la fabricación y el relleno del polvo. En particular, los materiales del excipiente por lo general pueden funcionar para mejorar la estabilidad física y química del aminoglicósido,

para minimizar el contenido de humedad residual y para inhibir la absorción de humedad, y para mejorar el tamaño de partícula, grado de agregación, propiedades de superficie (por ejemplo, rugosidad) facilitar la inhalación, y activar las
5 partículas resultantes hacia el pulmón profundo.

Los excipientes y aditivos farmacéuticos útiles en las composiciones de aminoglicósido útiles en la práctica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos, polímeros, y
10 carbohidratos (por ejemplo, azúcares, incluyendo monosacáridos, di-, tri-, tetra-, y oligosacáridos; azúcares derivatizados tales como alditoles, ácidos aldónicos, azúcares esterificados; y polisacáridos o polímeros de azúcar), que pueden estar presentes individualmente o en combinación. Los
15 excipientes de proteína ilustrativos incluyen albúmina de suero, tal como albúmina de suero humano (HAS), albúmina humana recombinante (rHA), gelatina y caseína. Los componentes de aminoácido/polipéptido representativos, que también funcionar en la capacidad reguladora de pH, incluyen alanina,
20 glicina, arginina, betaína, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, prolina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, y aspartame, aunque la arginina es menos preferida. Los ácidos de poliamino de los aminoácidos representativos tales como di-leucina y tri-
25 leucina también adecuados para uso con la presente invención.

Los excipientes de carbohidrato adecuados para uso en la invención incluyen, por ejemplo, monosacáridos tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, y sorbosa; los disacáridos, tales como lactosa, sacarosa, 5 tehalosa, celobiosa; polisacáridos tales como rafinosa, melezitosa, maltodextrinas, dextrinas, y almidones; y alditoles, tales como manitol, xelitol, maltitol, lactitol, xilitol sorbitol (glucitol), y mioinositol.

Las composiciones de aminoglicósido también pueden 10 incluir un regulador de pH, o un agente de ajuste de pH; típicamente, el regulador de pH es una sal preparada de un ácido o base orgánica. Los reguladores de pH representativos incluyen sales de ácidos orgánicos tales como sales de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, 15 ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético, o ácido ftálico; reguladores de pH tris, clorhidrato de trometamina o fosfato.

Adicionalmente, las composiciones de aminoglicósido de la práctica de la invención pueden incluir 20 excipientes/aditivos poliméricos tales como polivinilpirrolidonas, hidroxipropil metilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, Ficoles (una azúcar polimérica), dextrina, dextratos (por ejemplo, ciclodextrinas, tales como 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina, almidón de hidroxietilo), 25 glicoles polietilénicos, pectina, sales (por ejemplo, cloruro

99

de sodio), antioxidantes, agentes antiestáticos, agentes tensioactivos (por ejemplo, polisorbatos tales como "TWEEN 20" y "TWEEN 80", lecitina, ácido oleico, cloruro de benzalconio, y ésteres de sorbitán), lípidos (por ejemplo, fosfolípidos, ácidos grasos), esteroides (por ejemplo, colesterol) y agentes de quelatación (por ejemplo, EDTA). Otros ejemplos de excipientes y/o aditivos farmacéuticos adecuados para uso en las composiciones de aminoglicósido se enumeran en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19o. ed., Williams & Williams, (1995), y en el "Physician's Desk Reference", 52a. ed., Medical Economics, Montvale, N. J. (1998), la descripción de la cual se incorpora aquí por referencia.

Una combinación actualmente preferida de excipientes es lecitina y cloruro de calcio. La lecitina es un miembro del grupo fosfatidilcolina de fosfolípidos de existencia natural que actúan como agentes tensioactivos en los pulmones de mamíferos (incluyendo el ser humano).

Las composiciones de aminoglicósido útiles en la práctica de la invención pueden incluir un agente de dispersión para mejorar las propiedades de dispersabilidad intrínsecas de los polvos de aminoglicósido. Los agentes adecuados se describen en las solicitudes PCT WO 95/31479, WO 96/32096, y WO 96/32149, incorporadas aquí en su totalidad por referencia. Como se describe ahí, los agentes adecuados incluyen polipéptidos solubles en agua y aminoácidos

100

hidrofóbicos tales como triptófano, leucina, fenilalanina, y glicina. La leucina y la tri-leucina son particularmente preferidos para uso de acuerdo con esta invención.

La matriz de estado sólido formada por el
5 aminoglicósido y el excipiente imparte un ambiente estabilizador al aminoglicósido. La matriz estabilizadora puede ser cristalina, un vidrio amorfo, o una mezcla de ambas formas. Más adecuadas son las formulaciones de polvo seco que son una mezcla de ambas formas. Para formulaciones de polvo
10 seco de aminoglicósido que son sustancialmente amorfas, son preferidas aquellas formulaciones que exhiben temperaturas de transición de vidrio (T_g) por arriba de aproximadamente 35°C, preferiblemente por arriba de aproximadamente 45°C, y más preferiblemente por arriba de aproximadamente 55°C.
15 Preferiblemente, T_g es al menos 20°C por arriba de la temperatura de almacenamiento. De acuerdo con una modalidad preferida, las composiciones de aminoglicósido comprenden un fosfolípido tal como la matriz de estado sólida como se describe en WO 99/16419 y WO01/85136, incorpora aquí en su
20 totalidad por referencia.

Las composiciones de aminoglicósido de polvo seco se pueden preparar a través de liofilización bajo condiciones que dan como resultado un polvo bioactivo vidrioso sustancialmente amorfo o bioactivo sustancialmente cristalino como se
25 describió anteriormente. La liofilización de las formulaciones

pd

de solución de aminoglicósido se lleva a cabo, por ejemplo, como se describe generalmente en "Spray Drying Handbook", 5a ed., K. Masters, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1991), y en WO 97/41833, el contenido de las cuales se incorpora aquí por
5 referencia.

Para preparar una solución aminoglicósido para liofilización de acuerdo con una modalidad de la invención, un aminoglicósido generalmente se disuelve en un solvente fisiológicamente activo tal como agua. La escala de pH de las
10 soluciones que se van a liofilizar generalmente se mantiene entre aproximadamente 3 y 10, preferiblemente 5 a 8, con el pH cerca de neutral éste siendo preferido, ya que dichos pH pueden ayudar a mantener la compatibilidad fisiológica del polvo después de la disolución del polvo dentro del pulmón. La
15 formulación acuosa puede opcionalmente contener solventes solubles en agua, tales como alcoholes, acetona, y similares. Los alcoholes representativos son alcoholes inferiores tales como metanol, pentanol, propanol, isopropanol, y similares. Las soluciones de aminoglicósido generalmente contendrán
20 aminoglicósido disuelto de una concentración 0.05% (peso/volumen) a aproximadamente 20% (peso/volumen), usualmente de 0.4% a 5.0% (peso/volumen).

Las soluciones que contienen aminoglicósido después se liofilizan en un liofilizador convencional, tales como
25 aquellos disponibles de proveedores comerciales tales, Niro

102

A/S (Dinamarca), Buchi (Suiza), y similares, dada como resultado un polvo seco de aminoglicósido, estable. Las condiciones óptimas para la liofilización de las soluciones de aminoglicósido variarán dependiendo de los componentes de la formulación, y son en general experimentalmente determinados. El gas utilizado para la liofilización del material típicamente es aire, aunque los gases y no inertes tales como nitrógeno o argón también son adecuados. Además, la temperatura de ambas conexiones de entrada y de salida del gas utilizado para aceptar el material rociado es tal que no causa la desactivación del aminoglicósido en el material rociado. Muchas temperaturas están típicamente determinadas de manera experimental, aunque generalmente, la temperatura de la conexión de entrada estará en escala de aproximadamente 50°C a aproximadamente 200°C mientras la temperatura de la conexión de salida estará en escala de aproximadamente 30°C a aproximadamente 150°C.

Los polvos secos de aminoglicósido también se pueden preparar a través de liofilización, secado por vacío, liofilización por congelamiento, procesamiento de fluidos súper crítico, u otras formas de secado por evaporación a través de la mezcla, trituración, o molienda por inyección de chorro de los componentes de la formulación en una forma de polvo seco. En algunas instancias, puede ser deseable proveer la formulación de polvo seco de aminoglicósido en una forma

que posee características de manejo/procesamiento mejoradas, por ejemplo, estática reducida, mejor fluidez, bajo endurecimiento, y similares, a través de la preparación de composiciones compuestas de agregados de partículas finas, es
5 decir, agregados o aglomerados de las partículas de polvo seco de aminoglicósidos anteriormente descritos, en donde los agregados fácilmente se separan en componentes de polvo fino para distribución pulmonar, como se describe, por ejemplo, en la patente de E.U.A. No. 5,654,007, incorporada aquí por
10 referencia. Alternativamente, los polvos de aminoglicósidos se pueden preparar a través de la aglomeración de los componentes de polvo, tamizando los materiales para obtener los aglomerados, a través de esferonización para proveer un aglomerado más esférico, y dimensionando para obtener un
15 producto de tamaño uniforme, como se describe, por ejemplo en WO 95/09616, incorporada aquí por referencia. Los polvos secos de aminoglicósido preferiblemente se mantienen bajo condiciones secas (es decir, relativamente baja humedad) durante la fabricación, procesamiento, o almacenamiento.

20 De acuerdo con una modalidad, una formulación de tobramicina el polvo ilustrativa útil en la práctica de la presente invención puede hacerse de acuerdo con un proceso de emulsificación/aspersión descrito en WO 99/16419 y WO 01/85136 situadas anteriormente. Las formulaciones de acuerdo con
25 dichas modalidades se fabrican a través de ingeniería para

comprender partículas de polvo seco que comprenden al menos 75% V/V de tobramicina, preferiblemente al menos 85% v/v de tobramicina, de 2-25% de v/v de un fosfolípido, preferiblemente 8-18% v/v y 0-5% v/v de un ion metálico tal como cloruro de calcio. Las partículas de esta modalidad
5 generalmente tienen un MMAD de 1 micra a 5 micras, y una densidad de volumen mayor de 0.08 g/cm³, preferiblemente mayor de 0.12 g/cm³.

Otra formulación de tobramicina de un polvo
10 ilustrativa útil en la práctica de la presente invención se puede producir a través de la creación de una emulsión que contiene tobramicina activa, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), CaCl₂, y bromuro de perfluorooctilo (PFOB). Está emulsión de materias primas después se rocía a
15 través de una boquilla atomizadora, produciendo gotículas finas. Cuando las gotículas se secan, se evapora el agua y PFOB produciendo partículas esféricas basadas en fosfolípidos con una estructura porosa. Estas esferas son de baja densidad y por lo tanto demuestran características aerodinámicas
20 favorables (por ejemplo, las partículas esféricas tienen un diámetro aerodinámico en la escala de 1µm a 5µm). Su alta porosidad de superficie también reduce el contacto de partícula con partícula, disminuyendo la energía requerida para la suspensión en aerosol.

105

El polvo en aerosol (que comprende un antibiótico de aminoglicósido) se puede administrar utilizando un inhalador de polvo seco que utiliza el aliento inhalado del paciente (por ejemplo, seres humanos o animales) para distribuir la formulación de antibiótico aminoglicósido en polvo a los pulmones. Un ejemplo del inhalador del polvo seco utilizado es el inhalador del modelo T-326 (Nektar Therapeutics, 150 Industrial Road, San Carlos, CA 94070, U.S.A.). Otros ejemplos de dispositivos de inhalación de polvo seco útiles se describen en las patentes de E.U.A. Números 5,458,135; 5,740,794; y 5,785,049, cada una de las cuales se incorpora aquí por referencia. Cuando se administra utilizando el dispositivo de este tipo, el medicamento en polvo está contenido en un receptáculo que tiene una pata perforada u otra superficie de acceso, preferiblemente un paquete en ampolla o cartucho, en donde el receptáculo puede contener una sola dosis unitaria o múltiples dosis unitarias. Los métodos ilustrativos para rellenar grandes números de cantidades con dosis medidas de medicamento en polvo seco se describen en las patentes de E.U.A. Número 5,826,633, incorporada aquí por referencia.

También son adecuados para la distribución de polvos de aminoglicósidos descritos aquí los inhaladores de polvo seco del tipo descrito, por ejemplo, en las Patentes de E.U.A. Número 3,906,950, 4,013,075, 4,069,819, y 4,995,385, cada una

de dichas patentes se incorpora aquí por referencia, en donde una dosis premedida del polvo seco de aminoglicósido para distribución a un sujeto está contenida dentro de una cápsula, tal como una cápsula de gelatina dura. El tamaño de la cápsula, tales como cápsulas de tamaño 00, 0, Número 1, o Número 3, dependen de entre otros factores, del dispositivo de inhalación utilizado para administrar los polvos.

Otros dispositivos de dispersión de polvo seco para administración pulmonar de polvos secos de aminoglicósidos incluyen aquellos descritos por ejemplo, en EP 129985, EP472598, EP 467172, y la patente de E.U.A. Número 5,522,385, cada una de dichas patentes se incorpora aquí en su totalidad por referencia. También son adecuados para la distribución de polvos secos de aminoglicósidos de la invención los dispositivos de inhalación tales como Astra-Draco "TURBUHALER". Este tipo de dispositivos se describe con detalle en las patentes de E.U.A. Número 4,668,218, 4,667,668, y 4,805,811, todas las cuales se incorporan aquí por referencia.

También son adecuados los dispositivos que emplean el uso de un pistón para proveer aire para ya sea subir el medicamento en polvo, levantar el medicamento en polvo de un filtro portador a través del paso de aire a través del filtro, o mezclando aire con el medicamento en polvo en una cámara de mezclado con la subsiguiente introducción del polvo al

107

paciente a través de una boquilla del dispositivo, tal como se describe en la patente de E.U.A. No. 5,388,572, incorporada aquí por referencia.

En vista de lo anterior, se entenderá que una
5 cantidad terapéuticamente efectiva de un polvo en aerosol (que comprende un antibiótico de aminoglicósido) se puede administrar desde un solo contenedor, o más de un contenedor, dispuesto dentro de un dispositivo de inhalación de polvo seco. Por ejemplo, un dispositivo de inhalación de polvo seco
10 puede cargarse con un solo contenedor conteniendo una cantidad terapéuticamente efectiva de un polvo en aerosol (que comprende un antibiótico de aminoglicósidos), y el contenido del contenedor se inhala a través de un sujeto ser humano o animal. Otra vez a manera de ejemplo, un inhalador de polvo
15 seco puede cargar con múltiples recipientes de dosis unitarias (por ejemplo, 2, 3, o 4 recipientes) tales como las cápsulas HPMC #2, que separadamente contienen menos de una cantidad terapéuticamente efectiva de un polvo de aerosol (que comprende un antibiótico de aminoglicósido), pero que juntos
20 contienen una cantidad terapéuticamente efectiva de un polvo de aerosol. El inhalador de polvo seco descarga el contenido de todos los recipientes dispuestos ahí, y por lo tanto provee al usuario una cantidad terapéuticamente efectiva del polvo de aerosol.

25 El régimen del tratamiento de aminoglicósido de la

presente invención se puede utilizar solo o en combinación con uno ó más agentes adicionales para el tratamiento de infecciones endobronquiales, particularmente infecciones por *P. aeruginosa*. En este aspecto de la invención, el uno ó más
5 agentes adicionales para el tratamiento de infecciones endobronquiales se puede administrar durante el primer período de tratamiento de aminoglicósido, durante el segundo período no de tratamiento en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente, o
10 durante ambos primero y segundo períodos de tratamiento. En una modalidad de este aspecto de la invención, el uno ó más agentes para el tratamiento de infecciones endobronquiales se administra durante el segundo período de tratamiento en donde no se administran ningún antibiótico de aminoglicósido al
15 sistema endobronquial del paciente. Los agentes adicionales adecuados para el tratamiento de infecciones endobronquiales incluyen, por ejemplo agentes anti infecciosos no aminoglicósidos, tales como monolactama, β -lactama, macrólido, fluoroquinolona y/o compuestos antibióticos de glicopéptido.
20 Por ejemplo, el agente anti-infeccioso no de aminoglicósido puede ser aztreonam.

La dosis emitida (ED) de las formulaciones de antibiótico de aminoglicósido en polvo generalmente serán mayores de 50%. Más preferiblemente, el ED de las
25 formulaciones de antibiótico de aminoglicósido en polvo que

106
109

utilizan la práctica de la presente invención es mayor de 70% y por lo general mayor de 80%. Como se utiliza aquí, el término "dosis emitida" o "ED" se refiere a una indicación del polvo seco de un dispositivo inhalador adecuado después del evento de disparo o dispersión de una unidad, cápsula o depósito del polvo. ED se define como la proporción de la dosis distribuida por un dispositivo inhalador a la dosis nominal (es decir, la masa del polvo por dosis unitaria colocada en un dispositivo inhalador adecuado antes del disparo). El ED es una cantidad experimentalmente determinada y típicamente se determina utilizando una configuración de dispositivo *in vitro* que imita la dosificación del paciente. Para determinar el valor ED se coloca una dosis nominal del polvo seco (como se definió anteriormente) en un inhalador de polvo seco adecuado, el cual después se acciona, dispersando el polvo. La nube de aerosol resultante se extrae después a través del vacío del dispositivo, en donde se captura en un filtro con una tara unida con la boquilla del dispositivo. La cantidad de polvo que alcanza el filtro constituye la dosis distribuida. Por ejemplo, para una cápsula #2 conteniendo 50 mg de polvo seco colocado en el dispositivo de inhalación, sin la dispersión del polvo da como resultado la recuperación de 40 mg de polvo en el filtro con tara como se describe anteriormente, entonces el ED para la composición de polvo seco es: $40 \text{ mg (dosis distribuida)} / 50 \text{ mg (dosis nominal)} \times$

110

100=80%.

En aún otros aspectos, la invención provee kits para uso en el tratamiento de infecciones endobronquiales en un paciente, los kits comprenden una ó más dosis de 90 a 130 mg de antibiótico de aminoglicósido de polvo seco junto con instrucciones para la administración de una dosificación al sistema endobronquial del paciente utilizando un dispositivo de inhalación de polvo seco de una a tres veces por día durante un primer período de tratamiento de 20 a 36 días. En este aspecto de la invención, las instrucciones además proveen que el primer período de tratamiento sea seguido por un segundo período de no tratamiento en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente, y que el ciclo del primer período del tratamiento de aminoglicósido seguido por el segundo período no de tratamiento en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente se puede repetir dos ó más veces hasta que se obtenga el efecto antibacterial deseado, substancialmente como se describió aquí. En los kits de la invención la una ó más dosis pueden estar contenidas en un solo contenedor como una dosis única individual, o se pueden dividir en múltiples recipientes o en dosis unitarias para la administración secuencial, dependiendo del dispositivo de inhalación utilizado para la distribución del antibiótico. Por ejemplo, la dosificación administrada del

antibiótico de aminoglicósido se puede dividir en dos a seis dosis unitarias, más preferiblemente tres a cinco dosis unitarias y aún más preferiblemente cuatro dosis unitarias. En una modalidad representativa los kits de la invención
5 contienen dosificaciones para administración de 112 mg de tobramicina (determinada como el peso de la base libre excluyendo un peso del (de los) contraíón(es) que pueden estar presentes) cargadas en cuatro cápsulas HPMC #2 a pesos de rellenos de 27 mg de tobramicina como base libre por cápsula.

10 Los ejemplos meramente ilustran el mejor modo contemplado ahora para practicar la invención, pero no podrán construirse para limitar la invención.

EJEMPLO 1

Preparación de polvo de tobramicina para inhalación (TPI)

15 Se preparó una combinación de polvo seco de sulfato de tobramicina de acuerdo con el siguiente procedimiento. Se calentó agua estéril para irrigación (SWFT) por arriba de la temperatura de sólido a cristal líquido (aproximadamente 80°C) de fosfatidilcolina de diesteroilo (DSPC). Después se
20 agregaron DSPC y dihidrato de cloruro de calcio al agua calentada. La dispersión de lípido resultante se mezcló en un UltraTurrax T-50 (IKA Labortechnik) a 8,000 rpm durante 5 minutos. Después se agregó por goteo bromuro de perfluorooctilo (PFOB) (15 ml/min) a la dispersión del lípido
25 bajo mezclado. Después de que se completo la adición la

112

emulsión de PFOB en agua resultante se mezcló durante 10 minutos adicionales a 10,000 rpm. La emulsificación en UltraTurrax produce gotículas en una escala de tamaño micra. El sulfato de tobramicina después se disolvió en una fase
5 continúa de emulsión y la dispersión resultante se utilizó como la materia prima para la liofilización. La materia prima después se liofilizó para obtener una formulación de polvo seco que tiene la composición establecida en la tabla 1 siguiente.

10

TABLA 1**Formulación TPI**

Componente	Cantidad
Tobramicina	63.1% v/v
Sulfato	21.9% v/v
15	DSPC 14.02% v/v
	CaCl ₂ 0.98% v/v

El polvo se colocó en una estación de relleno de cápsulas a una humedad relativa de 10 a un 15% y se dejó equilibrar durante 10 minutos, y después se relleno en
20 cápsulas HPMC #2 a un peso de relleno de 50 mg (27 mg de tobramicina como base libre) por cápsula.

EJEMPLO 2

Este ejemplo describe un estudio clínico que demuestra que la administración de una sola dosis de una
25 composición de polvo seco de tobramicina de la invención da

como resultado una distribución más eficiente de tobramicina que la administración de una solución de tobramicina, mientras mantiene similares farmacocinéticos de tobramicina.

Diseño y Plan del Estudio Global

5 El estudio se diseñó como un estudio aleatorizado, de etiqueta abierta, de grupo secuencial controlado activo de dosis individual de escalación de dosis. En cada grupo secuencial, los objetos se aleatorizaron en una proporción de 3:1 para recibir una dosis individual de polvo de tobramicina
10 para inhalación (TPI) administrada utilizando un inhalador T-326 (Nektar Therapeutics, San Carlos, CA, USA), de acuerdo con el programa de dosificación mostrado a continuación, a una sola dosis de 300 mg de solución de tobramicina para inhalación (TOBI) aerosolizada a través de un nebulizador de
15 inyección de chorro PARI LC PLUS™ como un compresor DeVilbiss PulmoAide™. Los sujetos se dejaron participar en un grupo solamente.

La escalación en el siguiente grupo de tratamiento TPI prosiguió después de la revisión a través de un comité de
20 monitoreo de datos (DMC) de todos los eventos adversos que emergieron del tratamiento (AE) y otros resultados de seguridad del grupo completado y si no se reunían ninguno de los siguientes criterios: tres ó más sujetos dentro de un grupo tratados con experiencia TPI de por lo menos un 20%
25 relativo declinó o un FEV₁ dentro de los 30 minutos después de

la terminación de la dosificación; cualquier sujeto dosificado con TPI experimentó un momento adverso serio relacionado con el fármaco del estudio (SAE).

Tratamiento Experimental

5 Se administro una sola dosis de TPI utilizando el inhalador T-326:

Grupo 1: Dos cápsulas de TPI (dosificación de 14 mg de resistencia a tobramicina como la base libre por cápsula ("resistencia a la dosificación")).

10 Grupo 2: Cuatro cápsulas de TPI (14 mg de resistencia de dosificación).

Grupo 3: Dos cápsulas de TPI (28 mg de resistencia de dosificación).

15 Grupo 4: Cuatro cápsulas de TPI (28 mg de resistencia de dosificación).

Grupo 5: Tres cápsulas de TPI (28 mg de resistencia de dosificación).

Tratamiento de Control

20 Una sola dosis de TOBI a 300 mg/5 ml [tobramicina libre de conservador 60 mg/ml (excipientes 5 ml de salina normal a $\frac{1}{4}$ ajustada a un pH de 6.0 ± 0.5)] aerosolizada a través de una de las nebulizadoras de inyección de chorro PARI LC PLUS como un compresor DeVilbiss PulmoAide.

Se escogieron al azar hasta 80 sujetos de por lo

115

menos 6 años de edad con una diagnosis confirmada de fibrosis
cística (CF) y se trataron en el estudio. Cada grupo de 12
sujetos escogidos al azar para el brazo TPI y cuatro sujetos
para el brazo TOBI para un total de 16 sujetos por grupo.

5 Los sujetos se clasificaron por elegibilidad de 7 a
9 días antes de la administración del fármaco del estudio. Los
sujetos evaluaron para seguridad y para concentraciones de
esputo y tobramicina de suero a una predosis a 30 minutos y a
1, 2, 4, 8 y 12 horas después de la dosis individual del
10 fármaco del estudio que se administró bajo supervisión. En el
día 7 ($\pm$ 2 días) se condujo una visita de seguimiento.

**Discusión del Diseño del Estudio, Incluyendo la Elección del
Grupo de Control**

La medición del resultado principal para este
15 estudio fue la seguridad general y la tolerabilidad del
tratamiento experimental. Para evaluar mejor este resultado,
se eligió un esquema de aleatorización de 3:1 para maximizar
el enlistamiento en el brazo de tratamiento experimental.

El control concurrente para este estudio fue de 300
20 mg/5 ml de TOBI distribuido a través de un nebulizador de
inyección de chorro PARI LC PLUS conducido por un compresor
DeVilbiss PulmoAide. TOBI se indicó para administración de
pacientes con fibrosis cística con *P. aeruginosa*.

Hb
116

Inclusión del Criterio para la Selección de la Población del
Estudio

Los sujetos fueron elegidos para participar en el estudio si reunían todos los siguientes criterios de
5 inclusión.

Proveer un consentimiento informado o escrito y una autorización HIPAA antes del desarrollo de cualquier procedimiento relacionado con el estudio.

Sujetos masculinos y femeninos $\geq$ a 6 años de edad en
10 el momento de la clasificación.

La diagnosis de fibrosis cística (CF) con cloro de suero documentado $\geq$ 60 meq/l a través de la prueba del iontoforesis de poliacarpina cuantitativa (QPIT) y/o el genotipo con dos mutaciones identificables con CF, acompañado
15 por una ó más características clínicas consistentes con CF.

Para sujetos femeninos que son de $\geq$ 11 años de edad o a que han alcanzado la menstruación:

Una prueba de embarazo de suero negativa. Las mujeres sexualmente activas con edad para la maternidad deben
20 convenir en utilizar anticonceptivos durante el período del estudio.

Capaces de expectorar muestras de esputo sobre comando.

FEV, $\geq$ 40% del valor pronosticado (calculada

117

utilizando ecuaciones Knudson con base en él genero, edad, y altura).

Capaces de cumplir con todos los requerimientos del protocolo.

5 Clínicamente estables en la opinión del investigador.

Criterios de exclusión para la selección de sujetos del estudio

10 Los sujetos se excluyeron de participar en el estudio si reunían cualquiera de los siguientes criterios de exclusión.

Administración de aminoglicósidos inhalados o intravenoso dentro de los 14 días antes de la administración
15 del fármaco de estudio y a lo largo del período del estudio.

Administración de cualquier tratamiento de investigación dentro de los 14 días antes de la administración del fármaco del estudio y a lo largo del período del estudio.

Administración de diuréticos de bucle dentro de 7
20 días antes de la administración del fármaco del estudio y a lo largo del período del estudio.

Hemoptisis más de 60 cc en cualquier momento dentro de 30 días antes de la administración de fármaco del estudio.

Hipersensibilidad local o sistémica conocida a
25 aminoglicósidos o antibióticos inhalados.

2 mg/dl o más de creatinina de suero, 40 mg/dl o más de BUN o un análisis de orina anormal definido como 2+ o proteinuria mayor.

Remoción de lo sujetos de la Terapia o Evaluación

5 Los sujetos y sus padres o guardianes legales podrían retirar su consentimiento a participar en el estudio en cualquier momento sin perjuicio. El investigador podría retirar un sujeto si, en su juicio clínico, fuera el mejor interés del sujeto o si el sujeto no puede cumplir con el
10 protocolo. Siempre que sea posible, las pruebas y evaluaciones enumeradas para la terminal 100 de las visitas se llevan a cabo.

Si un sujeto falla en regresar las visitas necesarias, se debe hacer un esfuerzo para determinar la(s)
15 razón(es). Esta información se registra en la forma de reporte del caso apropiado (CRF).

Los sujetos seleccionados al azar que se retiraron en el estudio sin haber sido dosificados fueron reemplazados. Cualquier sujeto seleccionado al azar que se retiró después de
20 la dosificación no fue reemplazado. La razón del retiro y la fecha de retiro se registraron en el CRF. Las razones para el retiro se clasificaron como sigue:

- o Evento adverso;
- o Violación del protocolo;
- 25 o Pérdida de seguimiento;

- o Retiro del consentimiento;
- o Muerte;
- o Inscripción inapropiada;
- o Razón administrativa;
- 5 o Otros, no especificados anteriormente.

Tratamientos Administrados

Hasta 80 sujetos se seleccionaron al azar y se trataron. Cada sujeto recibió una sola dosis de ya sea tratamiento de control o de tratamiento experimental como se
10 enumera a continuación.

Tratamiento Experimental: Administrado utilizando el Inhalador T-326.

GRUPO 1: Dos cápsulas de TPI (14 mg de resistencia dosificación).

15 Grupo 2: Cuatro cápsulas de TPI (14 mg de resistencia dosificación).

Grupo 3: Dos cápsulas de TPI (28 mg de resistencia de dosificación).

20 Grupo 4: Cuatro cápsulas de TPI (28 mg de resistencia de dosificación).

Grupo 5: Tres cápsulas de TPI (28 mg de resistencia de dosificación).

Tratamiento de Control

TOBI a 300 mg/5 ml [tobramicina libre de conservador
25 60 mg/ml (excipiente 5 ml de salina normal a $\frac{1}{4}$ ajustada a un

120

pH de 6.0 ± 0.5] aerosolizado a través de un nebulizador de inyección de chorro PRI LC PLUS con compresor DeVilbiss PulmoAide.

Características del Producto de Investigación

5 El TPI utilizado en este estudio es una formulación de polvo seco de tobramicina y dos excipientes: 1,2 diaestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC) y cloruro de calcio (CaCl_2). Se lleno TPI en cápsulas de 2-hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC de tamaño individual
10 conteniendo ya sea 25 mg o 50 mg del polvo. Se utilizaron dos dosificaciones de resistencia de polvo de tobramicina en el presente estudio: 40 mg de tobramicina por cápsula y 28 mg de tobramicina por cápsula.

La solución de tobramicina TOBI® (para inhalación
15 (300 mg/5 ml) es un antibiótico libre de conservador no pirogénico, estéril preparado para aerosolización. Cada ml del fármaco del estudio contiene 60 mg de tobramicina y 2.25 mg de cloruro de sodio en agua estéril para inyección, pH 6.0 ± 0.5 .

Direcciones para la Administración

20 Los sujetos seleccionados al azar para el tratamiento de control recibieron 300 mg de solución de tobramicina TOBI® para inhalación a 60 mg/ml. La solución de tobramicina TOBI® para inhalación se administró a los sujetos a través de un nebulizador de inyección de chorro PARI LC PLUS y

un compresor DeVilbiss PulmoAide. La dosificación de 300 mg de solución de tobramicina TOBI® para inhalación se suministro como una ampula comercial de solución de tobramicina TOBI® para inhalación. Se proveyeron dos ampulas de 5 ml de fármaco del estudio en una bolsita de papel aluminio. Aunque este fue un estudio de una sola dosis, se proveyó una bolsita de papel aluminio conteniendo dos ampulas y 5 ml del fármaco del estudio a sujetos en el caso en el que hubiera un derramamiento accidental de la medicación del estudio durante la preparación y la configuración del sistema nebulizador y distribución.

Los sujetos seleccionados al azar para el tratamiento experimental recibieron una sola dosis de TPI consistiendo de dos o cuatro cápsulas de 14 mg la resistencia de dosificación o 2, 3, o 4 cápsulas de 28 mg de resistencia de dosificación. Se administro TPI a los sujetos a través de un inhalador T-326. Las cápsulas de TPI se sellaron en un contenedor a prueba de humedad envuelto en doble hoja de aluminio y después se administraron dentro de los 30 minutos después de la apertura del contenedor. Para los grupos 1, 2, y 3, se utilizó solamente un inhalador T-326 para completar la administración de la dosis individual. Para los grupos 4 y 5, el dispositivo inhalador T-326 fue reemplazado después de que la segunda cápsula se administro; por consiguiente, se utilizarán dos inhaladores T-326 para completar la

122

administración de una sola dosis para estos grupos.

Se proveyeron instrucciones detalladas sobre la preparación y uso tanto del tratamiento de control como del experimental por medio del personal de investigación en los
5 sitios de estudio.

Método para Asignar Sujetos a los Grupos de Tratamiento

Los sujetos elegibles se asignaron de manera aleatoria en una proporción de 3:1 a ya sea el grupo de
10 tratamiento experimental o de control. Una vez que el investigador o coordinador de la investigación confirmó que un sujeto reúne criterios de elegibilidad, el personal completó una hoja de trabajo de aleatorización para el sujeto y recibió un número de sujeto y asignación de tratamiento a través de un
15 sistema de respuesta de voz interactivo (IVRS, por sus siglas en inglés).

Al inicio del estudio, se esperó que se seleccionaran al azar hasta 80 sujetos en 5 grupos, 60 para el tratamiento experimental (12 sujetos en cada grupo) y 20 para
20 el tratamiento de control (4 sujetos en cada grupo).

Selección de las Dosis Utilizadas

La dosis para el tratamiento de control fue la dosis aprobada por FDA de 300 mg de TOBI para la administración de *P. aeruginosa* en pacientes con CF de 6 años de edad y mayores.
25 Al utilizar la modelación PK, la biodisponibilidad sistemática

de la dosis de 300 mg de TOBI distribuida a través del
movilizador de inyección de chorro PARI LC PLUS/compresor
DeVilbiss PulmoAide se estimó como siendo 11.7% de la dosis
movilizada. La media y la desviación estándar de la
5 concentración de suero o de la dosis de 300 mg de TOBI, una
hora después de la inhalación, fue de 1.0 ± 0.58 µg/ml,
sugiriendo una amplia escala de deposición.

La dosis para tratamiento experimental fue de dos a
cuatro cápsulas de TPI comprimiendo 14 mg de
10 tobramicina/cápsula; o dos, tres, o cuatro cápsulas de TPI
conteniendo 28 mg de tobramicina/cápsula.

**Selección y Cronometraje de la Dosis para cada
Sujeto**

Se les dio a los sujetos una sola dosis de ya sea
15 300 mg de solución de tobramicina TOBI® para inhalación a 60
mg/ml o una sola dosis de TPI consistiendo de dos ó cuatro
cápsulas de 14 mg de resistencia a dosificación, o dos, tres,
o cuatro cápsulas de 28 mg de resistencia de dosificación. No
hubo restricción en el cronometraje de la dosificación con
20 relación a las comidas.

Cegado

El estudio fue una investigación clínica de etiqueta
abierta. El uso de los diferentes sistemas de distribución
hace ciega la identidad del tratamiento como impráctica.

Terapia Anterior y Concomitante

Se administró terapia de soporte adicional de acuerdo con la práctica estándar en cada sitio del estudio. Las medicaciones numeradas en el criterio de exclusión no se
5 administraron al sujeto desde el momento de la clasificación hasta la visita del seguimiento.

Se les permitió a los sujetos utilizar broncodilatadores antes de tomar el fármaco del estudio. Los broncodilatadores se administraron oralmente a los sujetos que
10 rutinariamente utilizaron broncodilatadores para la terapia clínica. El uso de rutina se define como una ó más veces diariamente durante dos semanas antes de la clasificación. Un sujeto con broncodilatadores de corta acción fue administrado con medicamento 15 a 60 minutos antes de la iniciación del
15 fármaco del estudio. Los sujetos con broncodilatadores de larga duración tomaron la medicación como se prescribió en las 24 horas precedentes.

El uso de los siguientes fármacos fue prohibido: cualquier forma de aminoglicósidos o a cualquier tratamiento
20 de investigación dentro de los 14 días antes de la administración del fármaco del estudio y a lo largo del período del estudio; diuréticos de bucle dentro de los siete días antes de la administración del fármaco del estudio y a lo largo del período del estudio.

725

Cumplimiento del Tratamiento

El sujeto se autoadministró la dosis individual del fármaco del estudio en la presencia del investigador o del coordinador de la investigación. Las razones para cualquier
5 terminación prematura, interrupción, o retraso en la administración del fármaco del estudio se registraron en la documentación de origen y CRF. El tiempo de administración del fármaco del estudio total se registró en la documentación de origen y CRF.

10 Cada sujeto (o padre/guardián legal si es apropiado) en el cuidado del investigador proveyó un consentimiento informado y escrito, incluyendo la autorización HIPAA, y el asentimiento del sujeto (si es apropiado) para participar en estudio, antes de que se llevará a cabo cualquier
15 procedimiento con el estudio. Los investigadores clasificaron a los sujetos en la visita 1, de 7 a 9 días antes de la administración del fármaco del estudio del día 1 (visita 2), para determinar la elegibilidad para la inscripción. Los investigadores revisaron y registraron el historial médico
20 relevante de los sujetos, incluyendo el historial de enfermedades actuales y otro historial respiratorio pertinente, signos de la línea base y síntomas, uso de polvos inhalados y uso de antibióticos inhalados dentro de 6 meses antes de la clasificación, y las medicaciones y terapias
25 actuales sobre la marcha en la clasificación.

126

Los investigadores llevaron a cabo un examen físico de clasificación de los sujetos, incluyendo medidas de altura, peso del cuerpo, y signos vitales. Los signos vitales incluyeron ritmo cardíaco, ritmo respiratorio, temperatura oral, y presión sanguínea arterial en reposo. El ritmo cardíaco y el ritmo respiratorio fueron tomados durante un minuto después de que el sujeto descansó durante al menos 10 minutos. Las presiones sanguíneas se midieron mientras que el sujeto estaba sentado después de descansar durante por lo menos 10 minutos.

Todos los sujetos cuyo régimen de medicación regular incluyó el uso rutinario de broncodilatadores de corta acción para terapia clínica al menos una vez ó más diariamente durante dos semanas antes de la clasificación fueron administrados con un broncodilatador de 15 a 30 minutos antes de la prueba de espirometría de clasificación de 15 a 60 minutos antes de la administración del fármaco del estudio. Los sujetos con broncodilatadores de larga duración tomaron la medicación como se prescribió durante las 24 horas antes del fármaco del estudio.

Los sujetos completaron una prueba de espirometría de rutina de acuerdo con las guías de la Sociedad Torácica Norteamericana de 1994 para medir el volumen expiratorio forzado en un segundo (FEV_1), la capacidad vital forzada (FVC) y la velocidad de flujo espiratoria forzada de intervalo medio

127

(FEF₂₅₋₇₅), para documentar su habilidad para confiablemente llevar a cabo la espirometría, y para asegurar que ellos reúnen el requerimiento de inclusión de que FEV₁ es igual o excede 40% del valor pronosticado, calculado utilizando las ecuaciones Knudson con base en el género, edad, y altura.

Los sujetos proveyeron una muestra sanguínea para química de clasificación y pruebas de hematología y una muestra de orina para la evaluación de proteínas de varilla graduada. Los sujetos femeninos que tenían 11 años de edad o mayores o que habían alcanzado la maternidad proveyeron una muestra de orina para la prueba de embarazo.

Los sujetos que satisficieron todos los requerimientos de inclusión y exclusión fueron elegibles para participar en el estudio y se seleccionaron al azar para los tratamientos como se describe en el protocolo. Los sujetos seleccionados al azar regresarán a la clínica de 7 a 9 días después (visita 2) para recibir el tratamiento de estudio y los procedimientos relacionados con el tratamiento.

En la visita 2, antes de la administración de los tratamientos de estudio del día 1, todos los sujetos seleccionados al azar completaron los procedimientos de predosis, que incluyeron evaluaciones del cambio en los síntomas de la línea base, cambios en las terapias concomitantes, y revisión de los signos vitales. Los investigadores llevaron a cabo un examen físico de repetición

si cualquiera de los sistemas del cuerpo fueron anormales y clínicamente significativos en la clasificación o si el sujeto tuvo cualquier cambio significativo clínicamente en el estado de salud desde el momento de la clasificación. La prueba de la varilla graduada de orina para proteinuria se va a repetir después de la dosificación, si se encuentra un rastro o 1+ en la clasificación; la química de suero y hematología también se repiten si existe un anormal en la clasificación. Los investigadores llevaron a cabo una prueba de espirometría de predosis (15 a 30 minutos después del broncodilatador de corta acción usual del sujeto, si es aplicable) y suero recolectado y muestras de esputo para ensayos de tobramicina de predosis.

Antes de la administración de los tratamientos de estudio, los sujetos TPI actualmente utilizando un broncodilatador de corta acción, ya sea regularmente, o sobre demanda podrían pre-tratarse con su broncodilatador de corta acción a la discreción del investigador. Los sujetos no utilizando actualmente un broncodilatador de corta acción, podrían pre-tratarse con uno, si tienen un 10% o mayor de declinación relativa en FEV₁ entre la clasificación y las pruebas de función pulmonar pre-dosis. El cambio en el porcentaje relativo de la clasificación en FEV₁ se calculó como sigue.

- Porcentaje de cambio FEV₁ relativo de clasificación.

$$\bullet = \frac{[(\text{pre-dosis FEV}_1 - \text{clasificación FEV}_1) / \text{clasificación FEV}_1] \times 100}{}$$

Una sola dosis de los tratamientos de estudio se administró dentro de los 60 minutos después de la administración del broncodilatador de pre-dosis, si es aplicable, o espirometría, y los sujetos se evaluaron para distribución en aerosol y objetivos de seguridad del protocolo como se describe en las siguientes secciones. En el momento de la dosificación, los sujetos fueron instruidos para sentarse derechos, respirar normalmente, y utilizar sujetadores de nariz durante la inhalación del tratamiento del estudio. El coordinador de la investigación registró los tiempos de inicio y de terminación para la administración del tratamiento del estudio. Si el sujeto experimentó una tos prolongada (mayor de 10 segundos), el coordinador de la investigación detuvo el cronómetro y lo reinició cuando el sujeto resumió el tratamiento. Para sujetos TPI, el investigador y/o coordinador de la investigación observó si el tornillo de repiqueteo que emana del inhalador se escucho en la segunda inhalación del fármaco del estudio. Inmediatamente después de completar la administración del fármaco del estudio, los sujetos se enjuagaron la boca con 30 ml de salina normal, hicieron gárgaras durante 5 a 10 segundos, y expectoraron el enjuague; este procedimiento de enjuague se llevó a cabo 3 veces.

Los sujetos permanecieron en la clínica para

130
130

completar las evaluaciones de seguridad durante 12 horas después del inicio de la administración de los tratamientos de estudio. Después los sujetos fueron despedidos de la clínica y se les programó para regresar a la clínica para la visita tres
5 de seguimiento en el día 8 (± 2 días). La programación flexible de las visitas de seguimiento debido a las reacciones del sujeto (visita de seguimiento es designada como "día 8" a lo largo de este ejemplo fue permitida). Las ligeras desviaciones del programa del protocolo se consideraron como teniendo un
10 efecto mínimo o ningún efecto en la evaluación de los objetivos del estudio.

Durante la visita de seguimiento en el día 8, el coordinador de la investigación revisó cualesquiera cambios en el historial médico del sujeto, incluyendo enfermedades
15 concurrentes, eventos adversos nuevos o de empeoramiento, síntomas asociados con CF, medicaciones actuales y dosificaciones, y medicaciones de fácil acceso. Los sujetos con eventos adversos relacionados con el fármaco del estudio clínicamente significativo (AE) fueron seguidos con
20 evaluaciones repetidas (ya sea a través del teléfono o visitas a la clínica) hasta una resolución satisfactoria. El investigador llevó a cabo un examen físico del sujeto, midió su altura, peso, signos vitales, y resultados de espirometría, y recolectó especímenes de sangre y orina para pruebas de
25 química, hematología, y proteinuria de varilla graduada.

Variable(s) de la Distribución en Aerosol Principal

La estimación de la dosis comparable de TPI con TOBI 300 mg/5 ml se basó en la evaluación de las características de distribución del aerosol del tratamiento de prueba y del
5 tratamiento de control. Las características de distribución del aerosol de los tratamientos de prueba y de control se determinaron sobre las bases de las concentraciones de tobramicina en el suero y en el esputo a través del tiempo, un
10 cálculo de ciertos parámetros farmacocinéticos de suero y esputo, como se describe en este ejemplo, la medición del tiempo de administración del tratamiento, y la evaluación del dispositivo inhalador T-326 y el funcionamiento de la cápsula.

Concentraciones de Tobramicina en el Suero

Se recolectaron muestras sanguíneas a pre-dosis y a
15 0.5, 1, 2, 4, 8, y 12 horas después del inicio de la primera bocanada durante la inhalación del tratamiento del estudio. La muestras se recolectaron tan cercanamente cómo fue posible a tiempos especificados y se consideraron como habiendo sido extraídas en el tiempo si se recolectaron dentro de los ± 2
20 minutos del tiempo de recolección de post-tratamiento de 0.5 horas programado y dentro de los ± 10 minutos de tiempos programados para las recolecciones de post-tratamiento subsiguientes. Las muestras recolectadas fuera de estos intervalos se consideraron desviaciones del protocolo.

25 El suero se cosechó y se almacenó a -20°C o por

debajo hasta el análisis. Las concentraciones de tobramicina en el suero se analizaron con un método de inmunoensayo de polarización de fluorescencia modificado (FPIA, por sus siglas en inglés) utilizando el sistema Abbott TDx®/TDxFLx®. Las muestras se agregaron directamente a la cavidad de dilución del cartucho de la muestra. La polarización neta se adquirió a través del aparato TDx/TDxFLx. Se utilizó una ecuación logística de 4 parámetros ponderada para calcular las concentraciones de tobramicina. Las concentraciones de tobramicina se reportaron en términos equivalentes de base libre.

Para ensayar las muestras del sujeto del estudio, se prepararon los estándares de calibración (0.05, 0.10, 0.40, 0.80, y 0.90 µg/ml) y las muestras de control de calidad (0.10, 0.40, y 0.80 µg/ml). El ensayo se completó en 6 corridas.

El límite inferior de la cuantificación fue de 0.05 µg/ml. La precisión del ensayo, como se refleja por el CV de las muestras de control de calidad, fue de 4.9%, 5.7% y 5.6% para las muestras de 0.10, 0.40, y 0.80 µg/ml, respectivamente. La exactitud del método, reflejada por las recuperaciones inter-ensayo medias de las muestras de control de calidad, fue de 103%, 103% y 101% para las muestras de 0.10, 0.40, y 0.80 µg/ml, respectivamente. En general, este método exhibió una eficacia adecuada y precisión para análisis

farmacocinético.

El cálculo de los parámetros farmacocinéticos en el suero y la estimación de la dosis comparable de TPI se describe en este ejemplo.

5 **Concentraciones de Tobramicina en El Esputo**

Las muestras de esputo se expectoraron a través de sujetos de una tos profunda y se recolectaron antes de la dosificación del día 1 (pre-dosis) y a 0.5, 1, 2, 4, 8 y 12 horas después del inicio de la primera bocanada durante la
10 inhalación del tratamiento del estudio. Las muestras de esputo se recolectaron tan cercanamente cómo fue posible a tiempos especificados y dentro de las mismas ventanas del tiempo que las recolecciones de suero. Las muestras recolectadas fuera de sus intervalos se consideraron desviaciones del protocolo.

15 Se recolectó una muestra de esputo (mínimo de 100 mg) antes de la dosis individual del tratamiento del estudio para determinar la concentración de tobramicina de la línea base.

Las muestras de esputo se almacenaron a -70°C o por
20 debajo hasta el análisis. La concentración de tobramicina se analizó utilizando un método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés), de fase inversa, validada con detección ultravioleta.

Las muestras del esputo del sujeto primero se
25 licuaron con hidróxido de sodio normal a 1/5 y se diluyeron

con regulador de pH Tris (20.0 g de Trizma base/L). Las muestras estándares de esputo se prepararon fijando esputo agrupado diluido de sujetos CF con tobramicina a concentraciones finales de 0, 20, 40, 100, 200, y 1000 µg/g de esputo. Las muestras de control de calidad en ensayos se prepararon fijando esputo agrupado diluido para contener 40, 300, y 8000 µg/g. La sisomicina estándar interna (100 µl, 0.15 mg/ml en regulador de pH Tris) se agregó a 100 µl de cada muestra estándar, de control y del sujeto, seguido por 400 µl de acetonitrilo y 50 µl de 2,4-dinitrofluorobenceno (0.17 g/ml). Las mezclas de reacción de la muestra se calentaron en un calentador de bloque seco durante 1 hora a 80°C. Después de la adición de 600 µl de 60/40 de acetonitrilo/agua (v/v), se analizaron 50 µl a través de HPLC.

Las muestras se inyectaron sobre columnas Waters Nova-Pak® C-18, 3.9, 3.9 x 150 mm, 4 µm conectadas a HPLC Waters con una bomba 600E, detector ultravioleta 486 o 2487 (λ_{max} = 360 nm) y un automuestreador 717 plus. La fase móvil consistió de ácido acético al 0.2% en acetonitrilo (39/61, v/v), bombeado a una velocidad de 1.5 ml/minuto durante 5 minutos, 2.0 ml/minuto durante 9 o 10 minutos adicionales, dependiendo de la longitud de la corrida. El software Waters Millennium-32 C/S LC (versión 3.20), se utilizó para operar los instrumentos HPLC Waters así como adquirir datos brutos, procesar, calcular, y reportar los resultados analíticos. La

proporción de la altura pico de tobramicina para la sisomicina estándar interna (PHR) se calculó. El ensayo se completó en 17 corridas.

Se observaron los intervalos de tiempo de retención de 3.8 a 4.1 minutos y de 10.0 a 10.6 minutos para tobramicina y sisomicina, respectivamente. Existió una relación lineal entre PHR y la concentración de 20 a 1000 µg/g para esputo. El modelo de regresión fue $PHR=Bx + A$ (x = concentración de tobramicina), ponderada $1/x$. El límite inferior de la cuantificación fue de 20 µg/g. Las concentraciones de las muestras estándar estuvieron entre 97 a 102% de la concentración nominal, con coeficientes de variación (CV) no mayores de 5.2%. La precisión del ensayo, como se refleja por CV de las muestras de control de calidad, fue de 5.2%, 3.9% y 2.0%, para muestras de 40, 300 y 800 µg/g, respectivamente. La exactitud del método, reflejada por las recuperaciones inter-ensayo de las muestras de calidad de control, fue de 107%, 99% y 97% para muestra de control de calidad de 40, 300, y 800 µg/g, respectivamente. En general, este método exhibió una exactitud y precisión adecuada para análisis farmacocinética.

Tiempo de Administración del Tratamiento

El tiempo de administración del tratamiento se definió como la longitud del tiempo desde el inicio de la primera inhalación del sujeto a la terminación de la administración del tratamiento. La administración del

tratamiento se completó cuando la prueba del inhalador T-326 empezó a hacer ruido y cuando el nebulizador PARI LC PLUS de control inició el rociado. El investigador observó, para cápsulas TPI, que si se escuchó un sonido en la segunda
5 respiración por el sujeto, es una indicación de que la cápsula ha sido vaciada.

Si la administración del tratamiento fue interrumpida por cualquier razón, el tiempo de la interrupción y los tiempos de inicio y detención de la administración
10 continuada fueron registrados. Si la dosificación fue interrumpida, el tiempo de administración de tratamiento total no se incluyó en la duración de la interrupción. Si se interrumpió la dosificación o se perdieron ya sea el tiempo de detención en la interrupción o el tiempo de reinicio de
15 dosificación, el tiempo de administración del tratamiento se consideró como siendo no calculable.

Análisis de Inspección y Tobramicina Residual de Dispositivos Inhaladores T-326 y Capsulas TPI

Aunque no se especificó en el protocolo del estudio,
20 los dispositivos inhaladores T-326 utilizados y las cápsulas TPI utilizadas se analizaron después del uso para la evaluación del rendimiento.

Eventos Adversos

Un evento adversos (AE) se define como cualquier
25 ocurrencia médica molesta en un sujeto de investigación

clínica al cual se le administró un producto farmacéutico, a cualquier dosis, que no necesariamente tiene que tener una relación casual como este tratamiento. Un AE podría por consiguiente ser cualquier signo desfavorable, o no previsto (incluyendo hallazgos de laboratorio anormales), síntoma, o enfermedad temporalmente asociada con el uso de un producto médico, considerado o no considerado como relacionado con el producto médico. Esta definición incluye enfermedades o daños interpuestos y la exacerbación de condiciones preexistentes.

10 Un AE inesperado es un evento de naturaleza o severidad que no es consistente con la información del producto aplicable.

Los AE pueden haber sido voluntarios espontáneamente a través de los sujetos o descubiertos como el resultado de un cuestionamiento general a través del investigador o del coordinador de la investigación.

Los AE se van a monitorear hasta la resolución o, si se determinó el AE como siendo crónico, se identificó una causa. Si un AE permaneció sin resolver a la conclusión del estudio, la evaluación clínica debe ser hecha a través del investigador y el monitor médico si se continuó el seguimiento del AE estuvo garantizado.

La severidad de los eventos reportados sobre el CRF AE se determinó a través del investigador como sigue:

Media: ninguna limitación de las actividades usuales

Moderado: alguna limitación en las actividades usuales

Severo: inhabilidad para llevar a cabo las actividades usuales

5 La relación del tratamiento del estudio con el AE se determino a través del investigador con base en las siguientes definiciones:

 No Relacionado: No ocurrió la exposición del producto de investigación, o la ocurrencia del AE no está
10 razonablemente relacionada con el tiempo, o el AE se considera no probablemente relacionado con el producto de investigación.

 Posiblemente Relacionado: La administración del producto del estudio y el AE estuvieron razonablemente relacionados con el tiempo, y el AE podría ser explicado bien
15 igualmente a través de causas diferentes de la exposición al producto de investigación.

 Probablemente Relacionado: El tratamiento del estudio y el AE estuvieron razonablemente relacionados con el tiempo, y el AE fue más probablemente explicado a través de la
20 exposición del producto del estudio que a través de otras causas, o el producto de investigación fue la causa más probable del AE.

Eventos Adversos Serios (SAE)

No se reportaron SAE en este estudio.

Pruebas De Laboratorio Clínicas

Las pruebas de laboratorio para medir la hematología de la línea de base, química de suero, y proteinuria de varilla graduada se llevaron a cabo en el momento de la clasificación, y la visita del seguimiento en el día 8. En la visita de dosificación en el día 1, se midieron el nitrógeno de urea en la sangre (BUN) y la creatinina en el suero 12 horas después del inicio de la administración del fármaco del estudio. Además, se repitió la prueba de varilla graduada en la orina para proteinuria antes de la dosificación, si se encontró un rastro o uno más en la clasificación; también se repitió la química de suero y la hematología si hubo algo anormal en la clasificación.

Las pruebas de hematología llevadas a cabo por este estudio incluyeron el conteo de glóbulos blancos (WB, por sus siglas en inglés), el conteo de glóbulos rojos (RBC, por sus siglas en inglés), hemoglobina, hematocritos, conteo diferencial y de plaquetas.

Las pruebas de química de suero llevadas a cabo incluyeron sodio, potasio, cloro, bicarbonato, BUN, creatinina, glucosa, calcio, fósforo, transferasa de gama glutamilo (GGT), transaminasa de alanina (ALT o SGPT), transaminasa de aspartato (AST o SGOT), fosfatasa alcalina, deshidrogenasa láctica (LDH), bilirrubina total, bilirrubina directa, bilirrubina indirecta, proteína total, albúmina y

H0
140

gonadotropina coriónica humana en el suero (HCG).

Broncoespasmos y Espirometría

La prueba de espirometría (volumen expiratorio forzado en un segundo [FEV₁ en litros] capacidad vital forzada [FVC en litros], y tasa de flujo expiratorio forzado durante los dos cuartos medios de la capacidad vital forzada [FEF₂₅₋₇₅]) se llevó a cabo antes de la dosis individual del día 1 y a 30 minutos después de la terminación de la dosificación para evaluar la respuesta de las vías aéreas a los tratamientos del estudio. También se llevó a cabo una prueba de espirometría de rutina en el día 8 de la visita de seguimiento.

El protocolo del estudio prospectivamente definió broncoespasmos como una declinación relativa del 20% o más en el porcentaje de FEV₁ pronosticado de la pre-dosis a 30 minutos de la finalización de la dosificación. También se observaron los sujetos con una declinación relativa de 10% o más en el porcentaje de FEV₁ pronosticado.

A 30 minutos después de la dosificación, si la declinación del porcentaje de FEV₁ relativo fue de 20% o más, las mediciones de espirometría (FEV₁, FVC, y FEF₂₅₋₇₅) se repitieron de acuerdo con un programa definido por el investigador hasta que la disminución en FEV₁ fue menor de 10% (esto no fue hecho para el sujeto 12/317, el único sujeto que experimentó un 20%, o mayor de declinación en el porcentaje de FEV₁ pronosticado). Todas las instancias de declinación en el

porcentaje de FEV₁ pronosticado de 20% o más se registraron como AE (Esto no fue hecho para el sujeto 12/317). El tratamiento con medicaciones apropiadas y seguimientos adicionales fue a discreción del investigador.

5 **Signos Vitales**

Los signos vitales se midieron antes de la dosis del día 1 y a 30 minutos y 1, 4, 8, y 12 horas después del inicio de la dosificación y se incluyó la presión sanguínea arterial en estado sentado, el ritmo cardíaco, el ritmo respiratorio
10 tomado después de 10 minutos de reposo, y la temperatura del cuerpo. Los signos vitales también se midieron el día de visita 8 de seguimiento.

Exámenes Físicos

Los exámenes físicos de los sujetos se llevaron a
15 cabo en la visita del día 8 de seguimiento y consistió de la revisión física de la apariencia general del sujeto, piel, nodos linfoides, HEENT, pulmones, cardiovascular, abdomen, extremidades, músculo esquelético, y sistemas del cuerpo neurológico, y genitourinario (opcional).

20 **Adecuación de las Mediciones**

Las mediciones de eficiencia utilizadas en este estudio son estándares, es decir, ampliamente utilizadas y generalmente reconocidas como confiables, prefijas, relevantes, y discriminatorias entre los agentes efectivos y
25 no efectivos. Las mediciones de seguridad utilizadas en este

estudio son procedimientos clínicos y de laboratorio estándares.

Farmacocinéticos

La concentración (C) contra datos de tiempo (t) de los ensayos de tobramicina de esputo y suero se analizaron a través de métodos independientes del modelo para obtener los parámetros farmacocinéticos. La concentración máxima ($C_{\max}$) y el tiempo para la concentración máxima ($t_{\max}$) se obtuvieron a través de inspección. Las constantes del grado terminal (λ_z) se determinaron a través de la regresión log-lineal de la fase terminal. La vida media se calculó como $t_{1/2} = \ln(2) / \lambda_z$. Las concentraciones por debajo del límite de cuantificación se trataron como cero para todos los cálculos. Las áreas por debajo de las curvas de concentración-tiempo del esputo y suero desde el tiempo cero (pre-dosis) a 12 horas, $AUC(0,12)$, se calcularon a través de la regla trapezoidal. El AUC para infinito, $AUC(0,\infty)$, se calculó como $AUC(0,12) + C(12)\lambda_z$ en donde $C(12)$ es la concentración de 12 horas después del inicio de la dosificación.

Todos los parámetros farmacocinéticos se expresaron como la media $\pm$ SD. Se estimó una vida media armónica como

$$t_{1/2} = \ln(2) / \lambda_z,$$

en donde λ_z es la media aritmética de las

constantes de velocidad terminal en cada dosis. La desviación estándar de la vida media armónica) $SD(\overline{t_{1/2}})$, se obtuvo como

$$SD(\overline{t_{1/2}}) = \frac{\ln(2)}{\overline{\lambda_z}} \times \frac{SD(\overline{\lambda_z})}{\overline{\lambda_z}},$$

5

en donde $SD(\overline{\lambda_z})$ es el error estándar de la constante de velocidad terminal media en cada dosis.

Estimación de la Dosis Comparable De TPI con TOBI

Se ajustó un modelo de regresión lineal para log
 10 AUC(0,12) contra log (dosis TPI) de los datos de concentración de suero de TPI de todos los grupos para estimar la dosis comparable de TPI con TOBI. La dosis comparable y el intervalo de confianza del 95% se determinaron tomando la inversa de la línea de regresión ajustada y las bandas de confianza superior
 15 e inferior del 95% en la media AUC(0,12) de los datos TOBI.

Monitoreo

El estudio se condujo de acuerdo con los principios de la buena práctica clínica (GCP).

Manejo de Datos

20 El reporte de los casos de los datos se introdujo por duplicado en una base de datos Clintrial®.

El conteo de la calidad de los datos se llevó a cabo utilizando el Lenguaje del Procedimiento/Lenguaje de Investigación Secuencial (PL/SQL) y software SAS® versión 8.2
 25 o mayor (SAS Institute, Cary, NC). Los análisis se llevaron a

cabo utilizando el software SAS versión 8.2 o mayor, con base en el plano del análisis predefinido. El grado de error de la base de datos global estimado fue de 0.022% con un límite de confianza superior de 95% de 0.157% (redondeado). Este límite
5 de confianza superior está por debajo del estándar seleccionado de 0.5%.

Métodos Estadísticos y Determinación del Tamaño de la Muestra

Los objetivos de este estudio de la fase 1 fueron
10 evaluar la seguridad del TPI de prueba y los tratamientos TOBI de control y para estimar la dosis de TPI que podría producir un perfil farmacocinético comparable con aquel de TOBI 300 mg/5 ml. No hubo objetivos de eficacia definidos para este estudio. Todos los resúmenes y análisis planeados se
15 exploraron en naturaleza. No hubo comparaciones estadísticas planeadas entre los grupos de tratamiento TPI y TOBI y no hubo pruebas de hipótesis estadística planeada para diferencias entre los dos tratamientos. Debido al pequeño número de sujetos disponibles para registro en cada centro, el plan de
20 análisis para el estudio prospectivamente especificó que los datos se van a agrupar a través de los centros para análisis.

Todos los resúmenes y análisis se produjeron para cada uno de los 6 grupos de tratamiento. A menos que se especifique otra cosa, las frecuencias y porcentajes se
25 calcularon para variables categóricas, y el número de valores

145

no faltantes, media, desviación estándar, mínimo, medio, y máximo se calcularon para variables continuas. Todos los datos se registraron en CRF se presentaron en listados de datos de sujeto individual.

5 Se definieron 3 poblaciones de sujetos.

- Población de Todos Alistados: sujetos que se alistaron y se seleccionaron aleatoriamente en el estudio.
- Población Evaluable en Cuanto a Seguridad: sujetos
10 que se seleccionaron al azar y tomaron toda o parte del fármaco del estudio prescrito.
- Población Evaluable en Cuanto a Farmacocinéticos: sujetos que se seleccionaron al azar y tomaron todos los fármacos del estudio prescritos.

15 Las características de la línea de base y demográficas se resumieron para toda la población de sujetos enlistados. Las evaluaciones de los farmacocinéticos de tobramicina se condujeron utilizando la población evaluable en cuanto a farmacocinéticos. La estimación de la dosis de TPI
20 que proveyó la exposición de tobramicina sistémica que fue comparable con el TOBI se realizó en la población evaluable en cuanto a la dosis comparable con TPI. El análisis de todas otras variables se llevó a cabo utilizando a la población evaluable en cuanto a seguridad.

25 Se utilizó SAS versión 8.2 para todos los análisis.

146
146

Se utilizó Microsoft Excel para el despliegue del gráfico de los resultados del estudio.

Análisis de Distribución en Aerosol y Estimación de la Dosis TPI Comparable

5 Todos los sujetos que recibieron el tratamiento de una sola dosis se incluyeron en el análisis de evaluación de las características de distribución de aerosol, las cuales se caracterizaron sobre las bases de las concentraciones de tobramicina en el esputo y el suero, los parámetros de los
10 farmacocinéticos del suero estimado, y el tiempo de administración del tratamiento.

Se utilizó el suero AUC(0,12) para estimar la dosis TPI comparable con TOBI. Se llevó a cabo un análisis de regresión lineal con AUC(0,12), como la variable dependiente y
15 log (TPI dosis), la variable independiente utilizando los datos de todos los grupos TPI. La dosis comparable de TPI se determinó tomando la inversa de la línea de regresión ajustada en la media AUC(0,12) de concentraciones de tobramicina en el suero TOBI de cinco grupos TOBI combinados.

20 **Análisis de Distribución de Aerosol Secundario**

El protocolo del estudio no identificó variables de distribución en aerosol secundarias.

Análisis de Seguridad

25 Todos los sujetos que recibieron una dosis del tratamiento del estudio se evaluaron para seguridad con base

en AE, cambio en la función pulmonar, resultados de laboratorio clínicos, signos vitales, y exámenes físicos.

Evaluación de Eventos Adversos

Los síntomas de la línea de base y los eventos
5 adversos emergentes del tratamiento (AE) se codificaron
utilizando el glosario MedDRA. La incidencia total de AE
emergentes del tratamiento individuales (porcentaje de sujetos
que experimentaron el evento al menos una vez durante o
después del tratamiento del estudio) se evaluaron
10 descriptivamente para cualquier diferencia notable entre los
tratamientos TPI y TOBI. No se planearon pruebas estadísticas.
Los AE también se resumieron a través de severidad (media,
moderada, severa) y relación de fármaco (no relacionada,
posiblemente relacionada) para los tratamientos de prueba y de
15 control. Para las evaluaciones de la relación del fármaco, la
clasificación, "posiblemente relacionada", incluyó los AE
individuales que fueron juzgados como siendo probablemente
relacionados, posiblemente relacionados, y de relación
desconocida para el tratamiento de estudio por el
20 investigador.

Cambio en la Función Pulmonar

Los valores normales han sido desarrollados por
FEV₁, FVC, y FEF₂₅₋₇₅ (mediciones de espirometría) si los
sujetos están libres de enfermedad pulmonar. Estas normas son
25 comúnmente utilizadas en estudios de sujetos con enfermedad

pulmonar. Las mediciones de espirometría brutas se convirtieron en valores pronosticados de porcentaje normativo utilizando las ecuaciones Knudson, como se describe a continuación. Para sujeto, el valor normativo Knudson para
5 FEV₁, FVC, o FEF₂₅₋₇₅ es una combinación lineal de la edad del sujeto (años) y la altura (cm) utilizando la siguiente fórmula:

Valor Normativo Knudson = $C_0 + C_1 \times \text{Altura} + C_2 \times \text{edad}$

10 en donde los coeficientes C₀, C₁, y C₂ se determinaron con base en el género del sujeto y el grupo de edad.

Dado un valor observado bruto de las mediciones de espirometría y el valor normativo Knudson, el valor
15 pronosticado en porcentaje (%) se calculó a través de:

$\% \text{ de valor pronosticado} = (\text{Valor Observado Bruto} \div \text{Valor Normativo Knudson}) \times 100$

20 El cambio y el cambio relativo en el porcentaje FEV₁ pronosticado (FEV₁%) de la pre-dosis durante 30 minutos de post-dosis después de la terminación de la dosificación se calculó utilizando la siguiente fórmula:

25 Cambio = Post-dosis de % FEV₁ - % de FEV₁ de pre-

dosis

Cambio relativo = $[(\text{post-dosis de } \% \text{ FEV}_1 - \text{pre-dosis de porcentaje FEV}_1) \div \text{pre-dosis de } \% \text{ de FEV}_1] \times 100$

5

Un sujeto se definió como experimentando broncoespasmo cuando el cambio relativo de la línea de base fue una declinación de $\geq 20\%$.

El cambio y el cambio relativo, y la incidencia del
10 broncoespasmo, se compararon descriptivamente entre los grupos de tratamiento. Adicionalmente, se derivaron las siguientes variables y se resumieron similarmente:

- la incidencia de sujetos con una declinación
relativa de 10% o más en $\%$ de FEV_1 pronosticado de
15 la pre-dosis a 30 minutos después de la terminación de la dosificación.
- cambios y cambios relativos en el $\%$ FVC pronosticado y el $\%$ FEF_{25-75} pronosticado de la pre-dosis a 30 minutos después de la finalización de la
20 dosificación.
- cambios y cambios relativos en el $\%$ FEV_1 pronosticado, $\%$ FVC pronosticado y $\%$ FEF_{25-75} pronosticado de pre-dosis en el día 8 de la visita de seguimiento.

150

Otras Variables de Seguridad

Las otras variables de seguridad que incluyen resultados de laboratorio clínico, signos vitales, medicamentos concomitantes, procedimientos médicos, exámenes
5 físicos se resumieron descriptivamente. Adicionalmente, los cambios de la línea de base a la terminación del estudio se calcularon y se resumieron para datos de laboratorio, signos vitales y mediciones de espirometría; en estos cálculos, el valor de la línea de base fue la última evaluación disponible
10 antes de la dosificación del estudio. Los cambios en la incidencia de los resultados de laboratorio que estuvieron por debajo y por arriba de los intervalos normales respectivos también se evaluaron.

Determinación del Tamaño de la Muestra

15 El tamaño de la muestra y la selección del diseño paralelo se determinaron sobre las bases de consideraciones de poder clínicas y prácticas en lugar de estadísticas. Todos los análisis se consideraron exploratorios y se llevaron a cabo utilizando métodos descriptivos. No se planearon análisis
20 estadísticos inferenciales para este estudio.

Análisis Provisionales

Al final de cada grupo de estudio, se produjeron los resúmenes de las variables de seguridad clave y se proveyeron al comité de monitoreo de datos (DMC) para revisar y decidir
25 sobre la escalación de la dosis. Los siguientes resultados se

151

enumeran a través del sujeto y se resumen por el tratamiento después de la finalización de cada grupo para dar soporte a las deliberaciones de DMC:

- demografía del sujeto;
- 5 • porcentaje FEV₁ pronosticado antes y después de la dosificación cambio de porcentaje;
- eventos adversos serios;
- AE emergente de tratamiento;
- tratamiento del sistema respiratorio-AE emergente.

10 Este procedimiento del análisis provisional se diseñó solamente para dar soporte a la revisión de seguridad y la decisión acerca de la escalación de la dosis a través DMC. No se planearon estudios estadísticos de los datos de estudio, y ajustes de nivel alfa estadísticos se requirieron como un
15 resultado de la seguridad provisional y las revisiones de la escalación de dosis.

Clasificación, Alistamiento, y Selección Aleatoria de Sujetos

Se clasificaron un total de 97 sujetos para el
20 estudio a través de 15 investigadores. Noventa de los 97 sujetos clasificados reunieron los criterios de entrada y fueron enlistados (Tabla 2) y seleccionados al azar para uno de los seis tratamientos. Siete de los 97 sujetos clasificados no reunieron los criterios de entrada del estudio y no fueron
25 enlistados.

TABLA 2
Alistamiento y Selección Aleatoria por Sitio y Tratamiento

Sitio	Régimenes de dosificación TPI					TOBI 300 mg	Sujetos totales por sitio
	2x14 mg	4x14 mg	2x28 mg	3x28 mg	4x28 mg		
01	3	1		2	1		10
02	3	2m	1	1			8
03	3		2				6
04		2		3	1		9
05		2	1	2	2		8
06		2	2	1	1		6
07			1	1	2		5
08					2		3
09		1	1	1	2		8
10		1		1			3
11			1	1	2		4
12	1		1	1			4
13			2				5
16	2	3	2	1	1		10
17			1				1
Total enlistado y seleccionado al azar	12	14	15	15	14		90

Retiro de Sujetos Antes del Tratamiento

Tres de los 90 sujetos enlistados se retiraron antes del tratamiento debido a las AE de pre-dosis y no recibieron la dosis individual del tratamiento del estudio (Tabla 2). Ochenta y siete de los 90 sujetos se dosificaron con el tratamiento de estudio.

153

TABLA 3

Sujetos Enlistados pero Retirados Antes del Tratamiento del Estudio

	<u>Tratamiento</u>	<u>Disposición</u>	<u>Razón por la que el sujeto no recibió el tratamiento del estudio</u>
5	4 x 14 mg	Retiro antes de la dosis	AE pre-dosis. silbido asmático
	2 x 28 mg	Retiro antes de la dosis	AE pre-dosis: tos agravada
	4 x 28 mg	Retiro antes de la dosis	AE pre-dosis: tos agravada, laringitis NOS, pirexia

Terminación del Estudio

10 Ochenta y seis de los 87 sujetos que fueron dosificados con el tratamiento del estudio completaron el estudio. Uno de los 87 sujetos dosificados se retiró del estudio debido a AE emergente del tratamiento.

 Uno de los 86 sujetos que completaron el estudio se
15 dosificaron, pero la evaluación de las cápsulas devueltas después del estudio reveló que las cápsulas no habían sido perforadas por el inhalador T-326. Las concentraciones de tobramicina en el suero en este sujeto estuvieron por debajo de los límites cuantificables (BQL), confirmando que el sujeto
20 no recibió el tratamiento del estudio.

Grupos de Datos Analizados para Evaluación de Distribución en Aerosol

 Ochenta y seis de los 90 sujetos enlistados se seleccionaron al azar, se administraron con una sola dosis del
25 tratamiento de estudio, y se evaluaron para objetivos de

154

seguridad del protocolo. Tres de los 90 sujetos fueron retirados del estudio debido a AE antes de recibir el tratamiento del estudio y se excluyeron de las evaluaciones de seguridad. Un sujeto adicional no recibió ningún tratamiento de estudio debido a una falla del inhalador T-326 para perforar las cápsulas de tratamiento y se excluyó de las evaluaciones de seguridad.

TABLA 4
Sujetos No Evaluables para Evaluaciones de Seguridad

10

	<u>Tratamiento</u>	<u>Disposición del Sujeto</u>	<u>Razón del Sujeto</u> <u>No Evaluable para Objetivos de</u> <u>Seguridad</u>
15	4 x 14 mg	Completado	El sujeto no recibió tratamiento de estudio. la cápsula no se perforó, y la tobramicina no se detectó en el suero
	4 X 14 mg	Retiro antes de la dosis	AE predosis: silbido asmático
	2 x 28 mg	Retiro antes de la dosis	AE pre-dosis. tos agravada
	4 x 28 mg	Retiro antes de la dosis	AE pre-dosis. tos agravada, laringitis NOS, pirexia

Ochenta y cuatro de los 86 sujetos que recibieron el tratamiento del estudio fueron evaluables para objetivos farmacocinéticos y la estimación de la dosis TPI considerada como siendo farmacocinéticamente comparable con la dosis de TOBI. Dos de los sujetos tratados se excluyeron de las evaluaciones farmacocinéticas y la dosis comparable.

25

155

TABLA 5
Sujetos Dosificados No Evaluables para Evaluaciones
Farmacocinéticas

	<u>Tratamiento</u>	<u>Disposición del Sujeto</u>	<u>Razón del Sujeto</u>
			<u>No Evaluable para Objetivos</u> <u>Farmacocinéticos</u>
5		1	
	2 x 28 mg	Completado	No recibió la dosis completa debido a complicaciones técnicas con el inhalador T-326, una cápsula completa se devolvió al patrocinador
10	4 X 28 mg	Retirado	No recibió dosis completa debido a un AE a la mitad a través de la dosificación, que condujo a retiro de consentimiento y el retiro del estudio, número de muestras de suero insuficientes

Los sujetos que no recibieron tratamiento de estudio tampoco fueron evaluables para evaluaciones farmacocinéticas.

15 **Características Demográficas**

Cuarenta y tres sujetos masculinos y 47 femeninos, de 7 a 50 años de edad diagnosticados con fibrosis quística, se enlistaron en el estudio. Las edades medias fueron similares entre los grupos de tratamiento, en la en la escala de 19.5 años en el grupo TOBI a 24.1 años en el grupo de TPI 2 x 14 mg. Quince sujetos de entre 7 y 12 años de edad, 27 sujetos fueron de 13 a 17 años y 53 sujetos fueron de 18 a 50 años de edad.

25 Setenta y nueve sujetos fueron Caucásicos, 5 sujetos fueron Hispánicos, 3 sujetos eran negros, y 3 sujetos eran de

otros orígenes. Las distribuciones de género y raza fueron similares entre los grupos de tratamiento TPI y TOBI, aunque se notó una pequeña disparidad en géneros entre los grupos TPI 4 x 14 mg y TOBI (TPI: 11 sujetos mujeres, 3 sujetos hombres; 5 TOBI: 8 sujetos mujeres, 2 sujetos hombres). El efecto de este desequilibrio en el estudio da como resultado una incertidumbre.

En promedio, los sujetos TPI y TOBI fueron comparables en altura y peso en la clasificación.

10 Otras Características de la Línea De Base

Los sujetos enlistados tuvieron evidencia de laboratorio documentada (cloro en el sudor ≥ 60 mEq/l por la prueba de iontoforesis de pilocarpina cuantitativa (QPIT) y/o el genotipo con dos mutaciones identificables) y clínica 15 consistente con una diagnosis de la fibrosis cística clínicamente estable. Los hallazgos en el historial médico y los signos y síntomas presentes antes del inicio del estudio fueron similares entre los grupos de tratamiento.

Otro criterio de inclusión y exclusión se satisfizo.

20 Es de notarse, que 4 sujetos experimentaron hemoptisis de media a moderada, persistente que estuvo presente antes de la dosificación del día 1. Todos los sujetos reunieron el criterio de inclusión de clasificación FEV₁ siendo 40% o mayor del valor pronosticado con base en el sexo, edad, y altura. El 25 porcentaje de FEV₁ medio pronosticado fue similar para sujetos

157

en los 6 grupos de tratamiento (de 58.51% en el grupo TPI 2 x 14 mg a 82.40% en el grupo TPI 3x28 y 67.95% en el grupo TOBI). Todos excepto tres sujetos reunieron los requerimientos de entrada para tener un resultado de proteína en la orina de
5 varilla profunda de menos de 2+; 3 sujetos no proveyeron una muestra de orina en la clasificación.

Treinta y nueve de los 90 sujetos enlistados recibieron polvo seco a través de inhalación dentro de los 6 meses antes de la clasificación, estando en la escala de 25% a
10 60% de los sujetos por grupo de tratamiento. Sesenta y nueve de los 90 sujetos recibieron TOBI (entre 40% y 100% de los sujetos por grupo de tratamiento), ninguno de los sujetos recibió otro aminoglicósido inhalado, y 10 de los 90 sujetos recibieron otros antibióticos inhalados dentro de los 6 meses previos.

15 Treinta y seis de los 90 sujetos enlistados (es decir, tanto sujetos TPI como TOBI) utilizaron un broncodilatador de corta acción como parte de su tratamiento CF estándar dentro de los 15 a 60 minutos antes del tratamiento del estudio. En dos instancias, el uso del
20 broncodilatador fue más de 60 minutos antes de la administración del tratamiento del estudio.

Mediciones de la Aceptación del Tratamiento

La aceptación con los requerimientos de administración del tratamiento de una sola dosis del protocolo
25 fue aceptable, como 86 de los 90 sujetos enlistados recibieron

158

tratamiento de estudio (3 sujetos se retiraron antes de la dosificación debido a los síntomas de la línea de base, y un sujeto fue dosificado pero no recibió tratamiento debido a que el dispositivo T-326 no perforó las cápsulas de tratamiento).

5 Cuatro sujetos adicionales no tuvieron eventos de aceptación de dosificación como enlistan en la Tabla 6.

TABLA 6

Sujetos con Eventos de No Aceptación de la dosificación

	<u>Tratamiento</u>	<u>Disposición</u>	<u>Eventos No de Aceptación de la Dosificación</u>
10	2 x 28 mg	Completado	Cápsula omitida; el sujeto no tomó las inhalaciones de la primera cápsula
	4 X 28 mg	Completado	El sitio utilizó un inhalador T-326 en vez de dos inhaladores, para cápsulas de 4 x 28 mg. Nivel alto (>45%) de TPI residual encontrado en el inhalador T-326 debido a una dosificación mapropiada
15		Completado	El sitio utilizó un inhalador T-326, en lugar de 2 inhaladores, para cápsulas de 4 x 28 mg
		Completado	El sujeto fue instruido de tomar un aliento completo de la primera cápsula TPI, en lugar de 2 aspiraciones

20 **Concentraciones de Tobramicina en el Suero y**
Parámetros Farmacocinéticos

Como se muestra en la Figura 1, los perfiles de concentración-tiempo en el suero medio de tobramicina después de la administración de TPI y TOBI indican que el fármaco se absorbe rápidamente: t_{max} medio fue de 1 hora en todos los

25

159

tratamientos. La distribución del fármaco parece que es muy rápida, y los niveles declinan en la forma monoexponencial, con una vida media terminal promedio en la escala de 2.8 y 3.5 horas. Los valores de los parámetros farmacocinéticos de tobramicina después de la administración de TOBI son consistentes con los estudios previos.

Los incrementos en la dosis de TPI conducen a incrementos en la exposición a tobramicina, como se demuestra por los valores incrementados de $AUC(0, \infty)$, $AUC(0, 12)$, y C_{max} (Tabla 8). Estos incrementos fueron ligeramente menores que la proporción con la dosis).

Cuatro sujetos experimentaron tos, lo cual causó una interrupción en la dosificación. Las interrupciones fueron vistas en dosis TPI de 4x14 mg, 3x28 mg, y 4x28 mg. En todos los sujetos evaluables con tos, los valores de $AUC(0, \infty)$, $AUC(0, 12)$, y C_{max} estuvieron dentro de la escala de otros sujetos en su grupo de dosificación que completaron la dosificación sin interrupción.

No se detectaron diferencias en exposición a tobramicina, como se midió por AUC y C_{max} , entre sujetos que recibieron cápsulas de relleno manual de 4x14 mg contra cápsulas de relleno automático 2x28 mg ($P > .5$). Por lo siguiente, la biodisponibilidad de las cápsulas rellenas a mano y automáticas fue comparable, y estos dos grupos fueron consolidados.

En general, hubo una correlación negativa débil entre

160:

el porcentaje de polvo dejado en el dispositivo y $AUC(0,\infty)$ ($r=-0.22$, $P=.0771$), $AUC(0,12)$ ($r=-0.23$, $P=.0707$), y C_{max} ($r=-0.22$, $P=.0838$). Las disposiciones inferiores estuvieron asociadas con cantidades residuales mayores de TPI en el dispositivo. Uno de los sujetos en el grupo de dosificación TPI de 4x28 mg (sujeto 04/409) tuvo más de 45% de polvo residual en el dispositivo y tuvo exposiciones a tobramicina que estuvieron entre el límite inferior en este grupo de tratamiento.

No hubo correlaciones significativas entre los cambios de la línea de base en FEV_1 y AUC en el suero y C_{max} para sujetos TPI: $AUC(0,\infty)$ ($P=.9838$), $AUC(0,12)$ ($P=.9990$), y C_{max} ($P=.9110$); para sujetos TOBI: $AUC(0,\infty)$ ($P=.5216$), $AUC(0,12)$ ($P=.4337$), y C_{max} ($P=.3878$).

TABLA 7

Parámetros Farmacocinéticos Seleccionados de Tobramicina en Suero Después de la Administración de TOBI (300 mg) y TPI (28 mg, 56 mg, 84 mg, y 112 mg)

Parámetro	TOBI 300 mg	TPI 2x14 mg	TPI 4x14 mg	TPI 2x28 mg	TPI 3x28 mg	TPI 4x28 mg
$AUC(0,\infty)$ ($\mu\text{g h/ml}$)	5.3 $\pm$ 2.6	1.7 $\pm$ 0.6	3.1 $\pm$ 0.8	2.9 $\pm$ 1.2	4.1 $\pm$ 1.5	5.1 $\pm$ 2.0
$AUC(0,12)$ ($\mu\text{g h/ml}$)	4.8 $\pm$ 2.5	1.3 $\pm$ 0.6	2.8 $\pm$ 0.9	2.5 $\pm$ 1.2	3.5 $\pm$ 1.3	4.6 $\pm$ 2.0
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	1.04 $\pm$ 0.58	0.33 $\pm$ 0.09	0.56 $\pm$ 0.23	0.50 $\pm$ 0.21	0.70 $\pm$ 0.33	1.02 $\pm$ 0.53
T_{max}^a (h)	1 (0.5-2)	1 (0.5-2)	1 (0.5-1)	1 (0.5-2)	1 (1-2)	1 (0.5-2)
$T_{1/2}$ (h)	3.0 $\pm$ 0.8	2.8 $\pm$ 1.1	3.5 $\pm$ 0.8	3.3 $\pm$ 0.8	3.4 $\pm$ 1.0	3.1 $\pm$ 0.4
n PK	20	11	13	13	15	12
n total	20	12	13	14	15	13

161
161

^a medio (escala). Excepto para el número de sujetos en las últimas dos filas, las otras entradas son media $\pm$ desviación estándar.

Análisis de Dosis Comparable de TPI Y TOBI

5 Las exposiciones logradas después de la administración de 300 mg de TOBI fueron muy similares a las vistas después de la administración de cápsulas de 4 x 28 mg de TPI (Figuras 2 y 3). Cuando los datos AUC(0,12) de todos los grupos se examinó como una función de
10 la dosis (Figura 2, el resultado indica que una dosis de 115 mg de TPI podría producir un AUC(0,12) medio, similar a TOBI. Cuando se consideró AUC(0, ∞), (Figura 3), una dosis de 112 mg podría esperarse para lograr un AUC(0, ∞) similar a TOBI. Con base en estos resultados, parece que las 4 cápsulas de 28 mg
15 de TPI (dosis total de 112 mg) podría producir una exposición sistémica muy cercana a la de TOBI.

Concentraciones de Tobramicina en el Esputo y Parametros Farmacocinéticos

Después de la administración de TPI y TOBI, las
20 concentraciones máximas en el esputo se lograron en promedio a 30 minutos (Figura 4), declinando por lo tanto con una vida media promedio de 0.8 a 2.2 horas (Tabla 8).

La variabilidad en los parámetros farmacocinéticos fue mayor en el esputo, según comparado con el suero. Además
25 de la variabilidad inherente en los parámetros

162

farmacocinéticos derivados del esputo, algunos sujetos fueron incapaces de producir esputo sobre demanda (no más de 3 sujetos por grupo con una muestra de esputo faltante en cualquier momento). Esto podría tener un impacto sobre el cálculo de las mediciones de exposición: $AUC(0,\infty)$, $AUC(0,12)$ y $C_{\max}$ AS como una consecuencia, mientras existe una tendencia a un incremento en la exposición en el esputo con incrementos en la dosis, proporcionalidad de dosis con base en los niveles de esputo podrían no confirmarse.

10

TABLA 8

Parámetros Farmacocinéticos Seleccionados de Tobramicina en Esputo Después de la administración de (28 mg, 56, y 112 mg)

15

20

Parámetro	TOBI 300 mg	TPI 2x14 mg	TPI 4x14 mg	TPI 2x28 mg	TPI 3x28 mg	TPI 4x28 mg
$AUC(0,\infty)$ ($\mu\text{g h/g}$)	1302 $\pm$ 1127	390 $\pm$ 139	1714 $\pm$ 1173	855 $\pm$ 469	2044 $\pm$ 1334	1740 $\pm$ 809
$AUC(0,12)$ ($\mu\text{g h/g}$)	974 $\pm$ 1143	261 $\pm$ 168	1195 $\pm$ 1224	652 $\pm$ 421	1340 $\pm$ 1320	1307 $\pm$ 978
$C_{\max}$ ($\mu\text{g/g}$)	737 $\pm$ 1028	258 $\pm$ 194	515 $\pm$ 421	574 $\pm$ 527	1092 $\pm$ 1052	1048 $\pm$ 1080
$t_{\max}^a$ (h)	0.5 (0.5- 2.0)	0.5 (0.5- 0.5)	0.5 (0.5- 1.0)	0.5 (0.5- 4.0)	0.5 (0.5- 2.0)	0.5 (0.5- 1.0)
$t_{1/2}$ (h)	1.7 $\pm$ 1.6	0.9 $\pm$ 0.8	1.8 $\pm$ 0.9	1.3 $\pm$ 1.5	0.8 $\pm$ 0.8	2.2 $\pm$ 1.7
n PK ^b	20	11	12	13	15	11
n total	20	12	13	14	15	13

^a medio (intervalo). Excepto para el número de sujetos en las últimas 2 filas, las otras entradas son la media $\pm$ de edición estándar.

n puede ser diferente para los diferentes parámetros. El número máximo de sujetos utilizados en cualquier análisis individual se enumera.

Tiempo de administración de Fármaco de Estudio

5 El tiempo de administración del fármaco promedió cerca de 16 minutos en sujetos TOBI (Tabla 9). Por comparación, el tiempo de administración para dos cápsulas de TPI promedió 1.7 y 2.5 minutos para las dosis de 2x14 mg y 2x28 mg, respectivamente. Los tiempos de administración
10 promediaron 4.2, 4.5 y 4.9 minutos para dosificaciones 4x14 mg, 3x28 mg, y 4x28 mg de TPI, pero en estos grupos se desempacó un segundo dispositivo y se utilizó para la dosificación de la tercera y cuarta cápsulas, respectivamente. De esta forma el tiempo de administración de TPI se incrementó
15 principalmente como el número de cápsulas se incrementó, y en segundo lugar, la resistencia a la dosificación incrementada.

TABLA 9

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACO DEL ESTUDIO

20	Parámetro	TOBI 300 mg (N=20)	TPI 2x14 mg (N=11)	TPI 4x14 mg (N=13)	TPI 2x28 mg (N=14)	TPI 3x28 mg (N=15)	TPI 4x28 mg (N=13)
	Tiempo de inhalación (minutos): Media ± SD	15.8 ± 4.0	1.7 ± 0.6	4.2 ± 1.4	2.5 ± 1.1	4.5 ± 1.1	4.9 ± 1.8

Evaluación del Inhalador T-326 y el Funcionamiento de la Cápsula TPI

Todas excepto dos cápsulas TPI se administraron según lo requerido (excepción: 3^{ra} y 4^{ta} cápsulas para un
5 sujeto en el grupo de 2x28 mg TPI). Se escuchó el ruido de repiqueteo en la segunda respiración en 85% o más de las cápsulas.

No se reportaron fallas en el dispositivo a través de los sitios o después de la inspección por el analista
10 Nektar. La suma de la tobramicina residual en el (los) inhalador(es) del sujeto y las cápsulas promediaron 10.5% de la dosis nominal. Este análisis incluyó al sujeto 04/409, que tuvo más de 45% de polvo residual en el dispositivo debido a una dosificación inapropiada, por lo que más que
15 probablemente la cantidad actual de polvo residual en el dispositivo fue menor.

Manejo de Abandonos o Datos Perdidos

Durante el estudio, tres sujetos seleccionados al azar se retiraron antes de recibir el tratamiento del estudio
20 debido a AE de predosis. Otro sujeto seleccionado al azar completó el estudio pero más tarde se encontró que no había inhalado el tratamiento del estudio debido a que ambas cápsulas TPI no fueron perforadas. La clasificación y el enlistamiento continuó hasta que estos sujetos fueron
25 reemplazados; los sujetos de reemplazo fueron asignados al

p 65

siguiente número de sujeto disponible en el código aleatorio.

Un sujeto se retiró prematuramente del estudio. No se utilizó la estrategia de último estudio llevado a cabo hacia delante (LRCF, por sus siglas en inglés) en el análisis
5 para tomar en cuenta el último retiro.

Las concentraciones de tobramicina por debajo del límite inferior de cuantificación se trataron como cero para todos los cálculos.

10 **Uso de un "Subgrupo de Distribución en Aerosol" de Sujetos**

El protocolo indicó que los sujetos que fueron seleccionados al azar y que tomaron la dosis completa del tratamiento de estudio fueron evaluables para farmacocinéticos. Como el estudio continuó, la dosificación no
15 anticipada y los aspectos del estado de la cápsula TPI condujeron a la revisión de un criterio de evaluación para farmacocinéticas. Un total de seis sujetos fueron excluidos de los análisis farmacocinéticos y de dosis comparables (cuatro sujetos no recibieron tratamiento de estudio, y dos sujetos no
20 recibieron la dosis completa del tratamiento de estudio). Ochenta y cuatro sujetos fueron evaluables para evaluaciones farmacocinéticas y de dosis comparables.

Los ochenta y seis sujetos enlistados a los cuales se les administró tratamiento de estudio a través de
25 inhalación fueron incluidos en la evaluación del tiempo de

administración del tratamiento del estudio y en la evaluación de tobramicina residual en cápsulas e inhaladores T-326.

Estudios de Control Activos Que Pretenden Mostrar Equivalencia

5 El estudio no fue diseñado o energizado para mostrar equivalencia clínica o farmacocinética entre el producto de prueba y el de control.

Examen de Subgrupos

10 Los siguientes análisis de subgrupos se llevaron a cabo en exposición de suero normalizado en dosis ($AUC(0,12)$, $AUC(0,\infty)$, y $C_{\text{máx}}$) de tobramicina después de la administración de TPI:

- Sujetos menores de 12 años de edad contra sujetos de 12 años de edad y mayores ($P > .4$);
- 15 • Usuarios de polvo seco previos contra no usuarios ($P > .8$);
- Hombres y mujeres ($P > .1$);
- Peso corporal ($P > .2$).

20 Ninguna de estas variables parece que tiene influencia en exposición de tobramicina.

La exposición de tobramicina como se mide por AUC y $C_{\text{máx}}$, en sujetos TPI ($N = 27$) utilizando broncodilatadores de 15 a 60 minutos después de la dosificación fueron ligeramente más altos que en sujetos que no los utilizaron ($N = 37$). Los
25 valores $AUC(0,\infty)$, $AUC(0,12)$, y $C_{\text{máx}}$ fueron de 19% ($P = .0685$),

27% ($P = .0240$), y 38% ($P = .0038$) mayores. El uso del broncodilatador puede incrementar la cantidad de tobramicina que eventualmente alcanza la circulación sistémica, quizás a través de un incremento en la cantidad depositada en los pulmones.

Resumen de la Distribución por Aerosol

Los perfiles de concentración-tiempo en el suero medio de tobramicina después de la administración de TPI indican que el fármaco se absorbe rápidamente: $t_{\max}$ fue de 1 hora en todos los tratamientos. La distribución del fármaco parece que es muy rápida, y los niveles declinados en una forma monoexponencial, con una vida media terminal promedio en la escala de entre 2.8 y 3.5 horas. Los valores de los parámetros farmacocinéticos de tobramicina después de la administración de TOBI fueron consistentes con estudios previos.

Los incrementos en la dosificación de TPI conducen a un incremento en la exposición de tobramicina, como es evidenciado a través de los valores en incremento de $AUC(0, \infty)$, $AUC(0, 12)$, y $C_{\max}$. Estos incrementos fueron ligeramente menores que la proporción de la dosis. No se detectaron diferencias en exposición a tobramicina entre los sujetos que recibieron cápsulas rellenas manuales de 4x14 mg contra cápsulas rellenas automáticas de 2x28 mg. Por consiguiente, estos dos grupos fueron consolidados para el análisis de dosis

comparable. En general, hubo una correlación negativa débil entre el porcentaje de polvo dejado en el dispositivo y $AUC(0,\infty)$ ($P = .0707$), $AUC(0,12)$ ($P = .0771$), y $C_{\max}$ ($P = .0838$). No hubo una correlación significativa entre los cambios en FEV_1 de la línea de base y $AUC(0,\infty)$ ($P = .9838$), $AUC(0,12)$ ($P = .9990$), y $C_{\max}$ ($P = .9110$).

Las exposiciones logradas después de la administración de 300 mg de TOBI estuvieron entre las exposiciones vistas después de la administración de cápsulas 3x28 mg y 4x28 mg de TPI. Con base en los resultados, parece que cuatro cápsulas de 28 mg de TPI (dosis total de 112mg) producen la exposición sistémica más cercana a TOBI.

Los análisis de subgrupo en sujetos TPI mostraron que la edad, el uso de polvo seco previo, el sexo, y el peso corporal no tienen influencia en la exposición de tobramicina en TPI, indicando que los farmacocinéticos de tobramicina son similar en estos grupos TPI. La exposición a tobramicina en sujetos TPI utilizando broncodilatadores ($N = 27$) fue ligeramente más alta en promedio que en los sujetos TPI que no recibieron broncodilatadores ($N = 37$).

Después de la administración de TPI y TOBI las concentraciones máximas en el esputo se lograron en un promedio de 30 minutos, y los estimados del promedio de la vida media están en la escala de 0.8 a 2.2 horas.

La variabilidad en los parámetros farmacocinéticos

fue más alta en el esputo que en el suero.

El tiempo de administración de fármaco promedió casi cerca de 16 minutos en sujetos TOBI. En comparación, el tiempo de administración para dos cápsulas de TPI promedió 1.7 y 2.5 minutos para dosis de 2x14 mg y 2x28 mg, respectivamente; los tiempos de administración promediaron 4.2, 4.5 y 4.9 minutos para dosis de TPI de 4x14 mg, 3x28 mg, y 4x28 mg. De esta forma, el tiempo de administración TPI se incrementó principalmente como el número de cápsulas se incrementó y, en segundo lugar como se incrementó la resistencia a la dosificación.

Extensión de la Exposición

Ochenta y seis de 90 sujetos enlistados recibieron una sola dosis de tratamientos de estudio, como se resume a continuación.

- 12 sujetos recibieron hasta 28 mg de TPI en una sola dosis de 2x14 mg
- 13 sujetos recibieron hasta 56 mg de TPI en una sola dosis de 4x14 mg
- 14 sujetos recibieron hasta 56 mg de TPI en una sola dosis 2x28 mg
- 15 sujetos recibieron hasta 84 mg de TPI en una sola dosis de 3x28 mg
- 13 sujetos recibieron hasta 112 mg de TPI en una sola dosis de 4x28 mg

- 20 sujetos recibieron hasta 300 mg de TOBI en una dosis individual de 5mL de una solución de 60 mg/ml

Breve Descripción de los Eventos Adversos

5 Más sujetos TPI (40 de 66 sujetos, 60.6%) que
sujetos TOBI (6 de 20, 30%) experimentaron AE emergentes de
tratamiento durante o después de la administración de una sola
dosis de tratamientos de estudio. El porcentaje de sujetos con
cualquier AE fue similar entre los niveles de dosis TPI (TPI
10 2x14 mg = 45%; 4x14 mg = 54%, 2x28 mg = 64%, 3x28 mg = 67%,
4x28 mg = 69%); los tamaños de muestra fueron demasiado
pequeños para determinar si estuvo presente una tendencia a
incrementar cualquier incidencia AE con una dosis TPI en
incremento. Todos los AE emergentes de tratamiento fueron de
15 medio a moderado en intensidad.

Un sujeto TPI de 4x28 experimentó una tos moderada y
un esputo incrementado en el día 2 que persistió y condujo a
la hospitalización en el día ocho después de que se administró
una sola dosis del tratamiento de estudio. Por consiguiente,
20 en el día 8 después de que el sujeto completó el estudio,
estos AE se determinaron como siendo SAE. Ninguno de estos
SAE, que ocurrió en el mismo sujeto se consideró relacionado
con el tratamiento TPI. Otro sujeto TPI 4x28 mg experimentó AE
no serios de tos agravada probablemente relacionada, moderada,
25 disgeusia, y lacrimación incrementada que causó que la

administración del fármaco del estudio fuera interrumpida y después detenida; el sujeto después retiró su consentimiento y se retiró del estudio. Cuatro sujetos experimentaron AE no serios de tos durante la inhalación de TPI que condujo a una modificación, interrupción o retraso en la dosificación (un
5 sujeto TPI en cada 4x14 mg y 4x28 mg y dos sujetos en 3x28 mg); cada AE fue considerado como estando probablemente relacionado con el tratamiento TPI por el investigador.

Los AE experimentados por el mayor número de sujetos
10 TPI fue tos o tos agravada (13 de 66 sujetos = 19.7%; 12 de 13 sujetos TPI previamente reportaron tos con un síntoma de línea de base antes del inicio del tratamiento del estudio); disgeusia (11 sujetos, 16.7%); faringitis, hemoptisis, y catarro / 4 sujetos, 6.1% cada uno); esputo incrementado,
15 crujido de pulmón, lacrimación incrementada, dolor en el abdomen superior, mareos, NOS de dolor de cabeza, irritación de garganta (3 sujetos, 4.5% cada uno). La incidencia de tos, tos agravada, y disgeusia se incrementó ligeramente con el incremento de la dosis TPI pero no se observó ninguna
20 tendencia conclusiva en la incidencia de cualquier AE individual en los datos. En comparación, no más de un sujeto TOBI experimentó ningún AE. Los sujetos TOBI no experimentaron tos, tos agravada o disgeusia. Sin embargo, la mayor parte de los sujetos dosificados con TOBI (17 de 20, 85%) recibieron
25 TOBI como parte de su terapia usual.

172

Los investigadores consideraron más instancias de tos y tos agravada, todas las instancias de disgeusia, y la mayor parte de las instancias de hemoptisis e irritación de garganta como estando posiblemente o probablemente relacionadas con el tratamiento TPI. En comparación, las instancias individuales de tensión en el pecho, herpes simple, conteo incrementado de eosinófilos, garganta seca, faringitis, esputo incrementado, y viscosidad de esputo incrementada se consideraron relacionados con el tratamiento TOBI.

10 **Eventos Adversos Emergentes de Tratamiento: Todas las Causas**

Cuarenta de los 66 sujetos TPI y seis de los 20 sujetos TOBI experimentaron AE emergentes de tratamiento durante o después del tratamiento. El porcentaje de sujetos con cualquier AE fue similar entre los niveles de dosis TPI. Todos los AE emergentes de tratamiento fueron de medios a moderados en intensidad.

Los AE experimentados por el mayor número de sujetos TPI fueron tos o tos agravada (13 de 66 sujetos= 19.7%); disgeusia (11 sujetos, 16.7%); faringitis, hemoptisis, y catarro (4 sujetos, 6.1% cada uno); esputo incrementado, crujiidos del pulmón, lacrimación incrementada, dolor en el abdomen superior, mareos, NOS de dolor de cabeza, irritación de garganta (3 sujetos, 4.5% cada uno).

25 No más de un sujeto TOBI experimentó cualquier AE. Los

sujetos TOBI no experimentaron tos, tos agravada, o disgeusia.

Eventos Adversos Emergentes de Tratamiento

Considerados Relacionados Con los Tratamientos

5 Veinticuatro de los 66 sujetos TPI (36.4%) y 2 de 20
sujetos TOBI (10%) tuvieron AE que fueron considerados o
probablemente relacionados con los tratamientos a través de
los investigadores (Tabla 12). Los investigadores consideraron
la mayor parte de las instancias de tos y tos agravada (10 de
66 sujetos TPI = 15.2%) y todas las instancias de disgeusia
10 (16.7%) como posiblemente o probablemente relacionados con el
tratamiento TPI (Tabla 11). La hemoptisis y la irritación de
garganta (ambas 4.5%) y la lacrimación incrementada (3.0%)
también se consideraron relacionadas con el tratamiento TPI.
En comparación, las instancias individuales de tensión en el
15 pecho, herpes simple, conteo incrementado de eosinófilos,
garganta seca, faringitis, esputo incrementado, y viscosidad
en el esputo incrementada se consideró relacionada con el
tratamiento TOBI.

Eventos Adversos Serios

20 Un sujeto con TPI 4x28 mg experimentó SAE en el día
2 (tos moderada y esputo incrementado) que condujo a la
hospitalización por exacerbación de enfermedad de pulmón CF en
el octavo día después del tratamiento de estudio de la dosis
individual. Ninguno de estos SAE, que ocurrieron en el mismo
25 sujeto, se consideró relacionado con el tratamiento TPI.

Retiro de Sujetos del Estudio debido a Eventos Adversos Relacionados con el Tratamiento

Un sujeto con TPI 4x28 mg experimentó tos agravada moderada, disgeusia, y lacrimación incrementada que causó que se interrumpiera la administración del fármaco del estudio y después se detuviera, y el sujeto se retiro del estudio. Cada AE se consideró como estando probablemente relacionado con el tratamiento TPI por el investigador.

Intervenciones de Dosis debidas a Eventos Adversos Relacionados con el Tratamiento

Cuatro sujetos experimentaron tos que codujo a una modificación, interrupción o retraso en la dosificación (un sujeto en cada TPI de 4x14 mg y 4x28 mg de y dos sujetos a 3x28 mg. Cada EA fue considerado como estando probablemente relacionado con el tratamiento TPI por el investigador.

20

<u>Tratamiento</u> (Sexo/Edad) ^b	Día del Estudio de AE ^a	Evento adverso ^a	Interrupción de dosis ^a	SAE ^a	Sujeto retirado ^c	Fármaco relacionado ^a
<u>TPI 4X14 mg</u> (F/11)	1	Tos agravada	Modificada	No	No	Probable
<u>TPI 3X28 mg</u> (F/13)	1	Tos	Modificada	No	No	Probable
<u>(F/25)</u>	1	Tos	Modificada	No	No	Probable
<u>TPI 4X28 mg</u> (F/22)	1	Tos agravada, irritación de garganta	Modificada	No	No	Probable

25

175

**Análisis y Discusión de Muertes, Otros Eventos
Adversos Serios, y Otros Eventos Adversos Significativos**

No se reportaron muertes en este estudio. Los únicos SAE fueron tos moderada y esputo incrementado reportado por un solo sujeto en el día 2, condujeron a hospitalización en el día 8 después de que el sujeto completó el estudio; estos eventos fueron considerados no relacionados con el tratamiento del estudio. Los cinco sujetos TPI desarrollaron tos moderada o tos agravada dentro de minutos después de la inhalación con TPI, lo que condujo un sujeto (que también tuvo disgeusia y lacrimación incrementada) a retirarse del estudio y cuatro sujetos interrumpir la dosificación. Todos los sujetos reportaron síntomas respiratorios de la línea de base, y, de los que reportaron tos como un AE, todos excepto uno también fueron observados como un síntoma de línea de base. Estos AE se resolvieron dentro de los 5 minutos a 35 minutos sin intervención o intervención mínima. Los cuatro últimos sujetos reiniciaron y exitosamente completaron la dosificación dentro de minutos de las interrupciones originales. Estos AE estuvieron probablemente relacionados con la irritabilidad bronquial subyacente que por lo general acompaña fibrosis cística, aunque el investigador consideró cada evento como estando probablemente relacionado con la administración del fármaco del estudio. De esta forma, en este estudio, TPI a cada nivel de dosis y 300 mg/5 ml de TOBI son bien tolerados.

176

Hematología

No se observaron cambios medios notables de la línea de base para los resultados de hematología de seguimiento en grupos de tratamiento TPI o TOBI. No hubo diferencias importantes entre los grupos TPI O TOBI en el cambio medio de la línea de base y ningún patrón de incremento en el cambio medio con una dosis en incremento de TPI para ninguna prueba de hematología.

No se observaron incrementos notables de la línea de base para grupos TOBI o TPI en las frecuencias de resultados hematológicos por debajo de los normales o por arriba de los normales. No hubo diferencias importantes entre los grupos TPI y TOBI y no hubo patrones de frecuencias en incremento de resultados hematológicos periféricos con una dosis en incremento de TPI.

Un sujeto TOBI tuvo un conteo de seguimiento de eosinófilos clínicamente significativo que fue registrado como un AE.

Química del Suero

No se observaron cambios medios notables de la línea de base de los resultados de la química del suero de seguimiento en grupos de tratamiento TOBI o TPI. No hubo diferencias importantes entre los grupos TOBI o TPI en el cambio medio de la línea de base y no hubo patrones de cambio medio en incremento con dosis en incremento de TPI para

177

ninguna prueba química.

No se observaron incrementos notables en la línea de base del seguimiento para grupos TOBI o TPI en las frecuencias de los resultados de química en el suero por arriba de lo normal o por debajo de lo normal. No hubo diferencias importantes entre los grupos TOBI y TPI y no hubo patrones de frecuencias en incremento de resultados de química periféricos con dosis en incremento de TPI.

Un sujeto tuvo un resultado de seguimiento de glucosa clínicamente significativo; este resultado se atribuyó a diabetes relacionada con CF, no se registró como un AE, y no se atribuyó al tratamiento TPI.

Proteína de la Orina de Varilla Graduada

Los cambios cuantitativos de la línea de base de resultados de seguimiento no se calcularon ya que la prueba de proteína en la orina de varilla graduada es una prueba cualitativa. No se observaron incrementos notables de la línea de base para el seguimiento para grupos TOBI o TPI en la frecuencia de los resultados de proteína en la orina de varilla graduada de 2+ positivo o mayor.

Se observó un solo resultado 3+ positivo individual en un sujeto que recibió una dosis de 4x28 mg de TPI.

Anormalidades en Hematología Individual

Con una excepción, no se observaron resultados hematológicos clínicamente significativos durante el estudio.

El sujeto TOBI 12/405 tuvo una resultado de eosinófilos de seguimiento clínicamente significativo de 9.0% (escala normal, 0 a 6%) que se registró como un AE y se consideró posiblemente relacionado con el tratamiento TOBI por el investigador. El
5 resultado de eosinófilos de la línea base del sujeto estuvo en el límite superior de normal (5.9%), pero el sujeto tuvo eosinófilos elevados 8 días antes del resultado de la línea base. La importancia clínica del resultado de eosinófilos final de 9.0% es incierta.

10 **Química de Suero**

Con una excepción, no se observaron resultados químicos en el suero clínicamente significativos durante el estudio. Un sujeto (TPI 3x28 mg) tuvo un resultado de glucosa de seguimiento clínicamente significativo; este resultado se
15 atribuyó a diabetes relacionada con CF.

Proteína en la Orina de Varilla Graduada

Con una excepción, no se observaron resultados químicos en el suero clínicamente significativos durante el estudio. Un sujeto (TPI 4x28 mg) tuvo un resultado 3+ positivo
20 en el día 6 del seguimiento; el sujeto tuvo un resultado 1+ positivo en la clasificación y en una prueba de repetición de clasificación en el día de la dosificación. El coordinador del estudio sintió que el resultado de proteína 3+ positivo fue consistente con SAE (tos y esputo incrementado) iniciando en
25 el día 2 que condujo a hospitalización del sujeto.

Broncoespasmo y Disminución Aguda en FunciónPulmonar

Se observó una sola instancia de broncoespasmo asintomático (20.9% de reducción en el porcentaje de FEV₁ pronosticado dentro de los 30 minutos después de que el sujeto inhaló una sola dosis de TPI 2x28 mg; (Tabla 11) durante el procedimiento de espirometría que no se llevó de acuerdo con las especificaciones de la Sociedad Torácica Americana (ATS por sus siglas en inglés). Si el procedimiento se hubiera llevado a cabo de acuerdo con la especificación, la reducción de FEV₁ podría haber sido menor (11%). También se observó una reducción asintomática similar en el porcentaje de FEV₁ en un sujeto TOBI (19.1% de disminución).

Otro sujeto TOBI y seis otros sujetos TPI experimentaron una disminución de más del 10% pero menos del 20% en el porcentaje de FEV₁ pronosticado (Tabla 11). Tres de los seis sujetos TPI (sujeto 02/507 en la dosis de 3x28 mg de TPI y los sujetos 01/415 y 08/406 en la dosis de 4x28 mg de TPI) experimentaron tos o tos agravada dentro de minutos después de la dosificación.

186

5

10

15

Tratamiento	% de FEV ₁ de predosis pronosticado	% de FEV ₁ de postdosis de 30 minutos pronosticada	Cambio en el porcentaje en el % de FEV ₁ pronosticado	¿AE asociado (especialmente tos, jadeo, o disnea) antes/durante la espirometría?
TPI 4x14 mg	52.3	44.3	-15.3a	No
TPI 2x28 mg	69.9	55.3	-20.9 ^b	No
TPI 3x28 mg	54.3	47.6	-12.3 ^a	No
	87.4	77.1	-11.8 ^a	Tos en el momento de la espirometría
TPI 4x28 mg	73.3	64.0	-12.7 ^a	Tos agravada, lacrimación incrementada en el momento de la espirometría
	77.2	67.8	-12.1 ^a	Tos agravada, mareo terminando alrededor de 30 minutos antes de la espirometría
	67.8	60.0	-11.4 ^a	
TOBI 300 mg	39.3	34.1	-13.2 ^a	
	104.3	84.3	-19.1 ^a	

^a La disminución en el % FEV₁ pronosticado es de 10%
20 o más pero menos de 20%.

^b La disminución del % FEV₁ pronosticada es de 20% o
más.

Cambios Cuantitativos en Función Pulmonar

Los cambios medios en el porcentaje de FEV₁ medios,
25 el porcentaje de FVC pronosticado, y el porcentaje FEF₂₅₋₇₅

181

pronosticado en grupos TOBI y TPI fueron relativamente estables a partir de la clasificación un día antes de la dosificación y del día 1 de la predosis, no hubo diferencias aparentes relacionadas con la dosis entre grupos TPI, en
5 cambios medios en el porcentaje FEV₁, FEV, o FEF₂₅₋₇₅ pronosticados de antes de 30 minutos después de la dosificación.

Signos Vitales

No hubo grandes o consistentes diferencias entre los
10 grupos TOBI y TPI en signos vitales o cambios en signos vitales a lo largo del estudio.

Medicamentos concomitantes

Treinta y ocho de los 90 sujetos tomaron medicamentos concomitantes y terapias después de la
15 dosificación. No hubo diferencias aparentes en las frecuencias o tipos de medicamentos concomitantes y terapias.

Conclusiones de Seguridad

Más sujetos TPI (60.6%) que sujetos TOBI (30.0%) experimentaron AE emergentes del tratamiento durante o después
20 del tratamiento. El porcentaje de sujetos con cualquier AE fue similar entre los niveles de dosis TPI (45% a 69%); los tamaños de muestra fueron demasiado pequeños para determinar si estuvo presente una tendencia para incrementar cualquier incidencia AE con una dosis TPI en incremento. Todos los AE
25 emergentes del tratamiento fueron de medios leves o moderados

182

en intensidad.

Un sujeto TPI 4x28 mg experimentó dos SAE (tos moderada y esputo incrementado indicativo de una exacerbación de la enfermedad del pulmón CF) que condujo a la hospitalización en el día ocho después de que se administró la dosis individual del tratamiento del estudio; ningún de estos SAE se consideró relacionado con el tratamiento TPI. Otro sujeto TPI 4x28 mg experimentó tos agravada probablemente relacionada, moderada, disgeusia, y lacrimación incrementada que causó que se interrumpiera la administración del fármaco del estudio y después detenerse; el sujeto después retiró su consentimiento y se retiró del estudio. Cuatro sujetos experimentaron tos durante la inhalación de TPI que condujo a una modificación, interrupción o retraso de la dosificación (un sujeto en cada 4x14 mg y 4x28 mg TPI y dos sujetos a 3x28 mg); cada AE fue considerado como estando probablemente relacionado con el tratamiento TPI por el investigador. Sin embargo, en los cuatro casos, la dosificación solamente se interrumpió brevemente, y los sujetos resumieron y completaron la dosificación sin percances. Todos los sujetos en este estudio reportaron síntomas de la línea de base respiratoria, con aproximadamente 90% en cada grupo reportó tos.

Además el reporte de tos ligera no fue inesperado de la primera administración del inhalador de polvo seco, especialmente cuando la irritabilidad en las vías aéreas ya

está presente.

Los AE experimentados por el número más grande
sujetos TPI fueron tos o tos agravada (13 de 66 sujetos =
19.7%); disgeusia (11 sujetos, 16.7%); faringitis, hemoptisis,
5 y catarro (4 sujetos, 6.1% cada uno); esputo incrementado,
crujidos en el pulmón, lacrimación incrementada, dolor en el
abdomen superior, mareos, NOS de dolor de cabeza, e irritación
de garganta (3 sujetos, 4.5% cada uno). La incidencia de tos,
tos agravada, y disgeusia se incrementaron ligeramente con la
10 dosis TPI en incremento. No más de un sujeto TOBI experimentó
algún AE. Los sujetos TOBI no experimentaron tos, tos agravada
o disgeusia, pero 85% de los receptores TOBI fueron usuarios
TOBI crónicos.

Los investigadores consideraron más instancias de
15 tos y tos agravada, todas las instancias de disgeusia, y la
mayor parte de las instancias de hemoptisis e irritación de
garganta como siendo posiblemente o estando probablemente
relacionada con el tratamiento TPI. En comparación, las
instancias individuales de tensión en el pecho, herpes simple,
20 conteo de eosinófilos incrementado, garganta seca, faringitis,
esputo incrementado, y viscosidad de esputo incrementada como
relacionadas con el tratamiento TOBI.

Un solo ejemplo de broncoespasmo asintomático (20.9%
de reducción en FEV₁) se registró, similar a una reducción del
25 19.1% asintomático en un sujeto TOBI.

No hubo cambios notables a partir de la línea base en resultados de laboratorio clínicos, no patrones de cambios en incremento con una dosis incrementada de TPI, ni incrementos en la frecuencia de los resultados por arriba de lo normal o por debajo de lo normal, ni diferencias aparentes de TPI contra TOBI. En un solo sujeto TOBI, se registró un conteo elevado de eosinófilos como un AE.

Discusión y Conclusiones Globales

La administración de una sola dosis de TPI dio como resultado una distribución más eficiente de tobramicina que la Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI®, mientras de mantuvieron farmacocinéticos de tobramicina similares. Las exposiciones sistémicas logradas después de la administración de la Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI® fueron muy similares a aquellas vistas después de la administración 4x28 mg cápsulas de TPI, con un cálculo de dosis equivalente de 115 mg de TPI. Por lo tanto, cuatro cápsulas de 28 mg de TPI (112 mg total) deberán producir exposiciones sistémicas que son comparables con 300 mg de Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI®.

Se observaron interrupciones de dosificación mínimas (temporales en todos, excepto un caso) debido a la tos y no parece que alteran los farmacocinéticos de la dosis individual de tobramicina en el suero después de la administración de TPI.

185

Aproximadamente 20% de los sujetos reportaron tos con TPI, y en la mayor parte de los casos ligera, ocasionalmente causando una breve interrupción de la dosis, y generalmente asentándose rápidamente. La tos es un AE esperado con todas las terapias de polvo seco inhalado y estuvo presente en la mayor parte de los sujetos de la línea base. Mientras la incidencia de AE es mayor en sujetos tratados con TPI que en sujetos tratados con TOBI, la mayor parte de los sujetos en la mayoría de los grupos recibió Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI® con ciclo crónico.

En un caso, un sujeto joven olvidó tomar su medicamento usual (consistiendo de un broncodilatador de larga duración) y experimentó una tos moderada después de la dosificación, lo que condujo a su retiro. La pérdida de broncoprotección usual es probablemente la causa de esta reacción.

La administración de dosis individuales de TPI en dosis totales de 28 mg a 112 mg fue bien tolerada por sujetos CF durante el estudio. Ciento doce miligramos de polvo de TPI dan una exposición sistémica cercana a tobramicina que aquella de Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI®.

Este estudio demostró que la inhalación que utiliza los métodos de la invención con un dispositivo inhalador simple es mucho más rápida y eficiente que la dosis estándar de Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI® a través de

nebulización. Los efectos secundarios de tos incrementada e irritación de garganta después de la inhalación de TPI no fueron inesperados, dada la cantidad de polvo contenido en cada dosis. Sin embargo, en la mayor parte de los casos los efectos fueron leves, y los sujetos expresaron una apreciación de que tan rápida y simple fue la dosificación para TPI. La falta de reclamaciones acerca de la tos y el mal sabor del grupo de la Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI® puede estar relacionada con el hecho de que el 85% de los sujetos han estado tomando la Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI® en bases rutinarias antes del estudio. Estos sujetos pueden haberse aclimatado a los efectos de la forma en aerosol húmeda de tobramicina.

De esta forma, la administración de una sola dosis de tobramicina en polvo seco dio como resultado una distribución más eficiente de tobramicina que la Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI®, mientras se mantienen farmacocinéticos de tobramicina similares. Las exposiciones sistémicas logradas después de la administración de la Solución de Tobramicina para Inhalación TOBI® fueron muy similares a aquellas vistas después de la administración de 4x28 mg cápsulas de TIP, con un cálculo de dosis equivalente de 115 mg de TIP. Por lo tanto, cuatro cápsulas de 28 mg de TPI (112 mg en total) deberán producir las exposiciones sistémicas que son comparables con 300 mg de la Solución de

187

Tobramicina para Inhalación TOBI®.

Ya que la modalidad preferida de la invención ha sido ilustrada y descrita, se apreciará que se pueden hacer varios cambios ahí sin apartarse del espíritu y alcance de la
5 invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método para el tratamiento de una infección endobronquial en un paciente, caracterizado porque comprende
5 la administración al sistema endobronquial del paciente de una composición en aerosol de polvo seco que comprende de 90 a 130 mg de un antibiótico de aminoglicósido de una a tres veces por día durante un primer período de tratamiento de 20 a 36 días.

2. El método de conformidad con la reivindicación 1,
10 caracterizado porque el primer período de tratamiento es seguido por un segundo período no de tratamiento, en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente.

3. El método de conformidad con la reivindicación 1,
15 caracterizado porque el antibiótico de aminoglicósido se selecciona del grupo que consiste de gentamicina, ampicacina, canamicina, estreptomina, neomicina, netilmicina, y tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El método de conformidad con la reivindicación 3,
20 caracterizado porque el antibiótico de aminoglicósido es tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. El método de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque la composición de polvo en aerosol comprende de 100 a 120 mg de tobramicina.

25 6. El método de conformidad con la reivindicación 5,

189

caracterizado porque la composición de polvo en aerosol comprende de 110 a 115 mg de tobramicina.

7. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la composición de polvo en aerosol
5 administrada al paciente se divide en de dos a seis dosis unitarias.

8. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque la composición de polvo en aerosol administrada al paciente se divide en de tres a cinco dosis
10 unitarias.

9. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque la composición de polvo en aerosol se divide en cuatro dosis unitarias.

10. El método de conformidad con la reivindicación
15 2, caracterizado porque el segundo período no de tratamiento es de 20 a 36 días.

11. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el primer período de tratamiento es de 26 a 30 días.

20 12. El método de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado porque el segundo período de tratamiento es de 26 a 30 días.

13. El método de conformidad con la reivindicación 2 caracterizado porque el primer período de tratamiento es de 28
25 días.

14. El método de conformidad con la reivindicación 13, caracterizado porque el segundo período no de tratamiento es de 26 a 30 días.

15 15. El método de conformidad con la reivindicación 2 caracterizado porque el régimen de tratamiento del primer período de tratamiento seguido por el segundo período de tratamiento se repite una multiplicidad de veces.

16. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el polvo comprende partículas al menos 10 50% de las cuales tienen un diámetro aerodinámico en la escala de 1 μm a 5 μm .

17. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el paciente es un paciente con fibrosis quística.

15 18. El método de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque el paciente con fibrosis quística sufre de una infección endobronquial por *Pseudomonas*.

19. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el polvo en aerosol se administra al 20 paciente utilizando un inhalador de polvo seco.

20. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el polvo en aerosol se dispone dentro de solo contenedor dentro del inhalador de polvo seco, y el polvo en aerosol se distribuye desde el contenedor a los 25 pulmones del sujeto ser humano o animal a través del

191

inhalador.

21. El método de conformidad con la reivindicación 20, caracterizado porque el polvo en aerosol se dispone dentro de múltiples recipientes dentro del inhalador de polvo seco, y
5 el polvo en aerosol se distribuye desde los recipientes a los pulmones del sujeto ser humano o animal a través del inhalador.

22. Un método de tratamiento de un paciente con fibrosis cística caracterizado porque sufre de una infección
10 endobronquial, que comprende la administración al sistema endobronquial del paciente de una composición en aerosol de polvo seco que comprende de 110 a 115 mg de un antibiótico de tobramicina dos veces al día durante un primer período de tratamiento de 28 días, proveyendo un segundo período no de
15 tratamiento de 26 a 30 días, en donde no se administra ningún antibiótico de tobramicina al sistema endobronquial del paciente, y después se repite el primero y segundo períodos de tratamiento.

23. El método de conformidad con la reivindicación
20 22, caracterizado porque la composición del polvo en aerosol administrada al paciente se divide en de tres a cinco dosis unitarias.

24. El método de conformidad con la reivindicación 23, caracterizado porque la composición de polvo en aerosol
25 administrada al paciente se divide en de tres a cinco dosis

unitarias.

25. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el paciente con fibrosis cística sufre de infección endobronquial por *Pseudomonas*.

5 26. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el primero y el segundo períodos de tratamiento se repiten una multiplicidad de veces.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención provee métodos para el tratamiento de una infección endobronquial en un paciente a través de la administración al sistema endobronquial del paciente de una composición en aerosol de polvo seco que comprende de 90 a 130 mg de un antibiótico de aminoglicósido de una a tres veces al día durante un primer período de tratamiento de 20 a 36 días.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To
DENNIS K. SHELTON
CHRISTENSEN O'CONNOR JOHNSON KINDNESS PLLC
1420 FIFTH AVENUE, SUITE 2800
SEATTLE, WA 98101

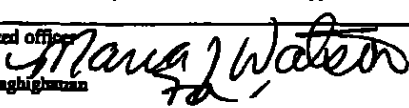
PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Applicant's or agent's file reference CHIR125578	Date of mailing (day/month/year) 23 SEP 2005 DOCKETED
International application No PCT/US05/21952	International filing date (day/month/year) 20 June 2005 (20.06 2005)
Applicant CHIRON CORPORATION	

- 1 ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.
 Filing of amendments and statement under Article 19:
 The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46).
 When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.
 Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No (41-22) 338.82 70.
 For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.
- 2 ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
- 3 ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:
 - ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
 - ☐ no decision has been made yet on the protest, the applicant will be notified as soon as a decision is made.
- 4 **Reminders**
 Shortly after the expiration of 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.
 The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.
 Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed. If the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later), otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.
 In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.
 See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the ISA/ US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No (703) 305-3230	Authorized officer  Muna Haghighian Telephone No 571-272-0600
---	--

Form PCT/ISA/220 (January 2004)

(See notes on accompanying sheet)

194

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference CHIR125578	FOR FURTHER ACTION	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below
International application No PCT/US05/21952	International filing date (day/month/year) 20 June 2005 (20 06 2005)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 18 June 2004 (18 06 2004)
Applicant CHIRON CORPORATION		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau

This international search report consists of a total of 2 sheets

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1 Basis of the Report

a With regard to the language, the international search was carried out on the basis of

☒ the international application in the language in which it was filed.

☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2 ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3 ☐ Unity of invention is lacking (See Box No. III)

4 With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant

☐ the text has been established by this Authority to read as follows

5 With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant

☐ the text has been established, according to Rule 38 2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6 With regard to the drawings,

a the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____

☐ as suggested by the applicant

☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US05/21952

A CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) A61K 9/12, 31/70, 31/73, 47/36
US CL 424/45, 514/38, 851, 958, 956

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. - 424/45; 514/38, 851, 958, 956

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
WEST, NPL (SCIRUS, PDR, EBSCO), RELATED APPLICATIONS, PALM

C DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
Y	US 5,508,269 (SMITH et al) 16 April 1996 (16 04.1996), entire document, especially abstract, col. 1-3, 6-8	1-26
Y	WO 0035461 (MONTGOMERY et al), 22 June 2000 (22 06.00), see abstract and pages 1-7	1-26

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C

☐ See patent family annex.

Special categories of cited documents	
"A" documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" documents which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"A" document member of the same patent family
"P" documents published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

06 September 2005 (06 09 2005)

23 SEP 2005

Name and mailing address of the ISA/US

Authorized officer

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P O Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Mina Haghighatman

Facsimile No (703) 305-3230

Telephone No. 571-272-0600

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To
DENNIS K SHELTON
CHRISTENSEN O'CONNOR JOHNSON KINDNESS PLLC
1420 FIFTH AVENUE, SUITE 2800
SEATTLE, WA 98101

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

Applicant's or agent's file reference CHIR125578		Date of mailing (day/month/year) 23 SEP 2005	DOCKETED
FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below			
International application No PCT/US05/21952	International filing date (day/month/year) 20 June 2005 (20 06 2005)	Priority date (day/month/year) 18 June 2004 (18 06 2004)	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC IPC(7): A61K 9/12, 31/70, 31/73, 47/36 and US Cl 424/45, 514/38, 851, 958, 956			
Applicant CHIRON CORPORATION			

**PROCESSED
DOCKETING**

SEP 27 2005

**CHRISTENSEN, O'CONNOR
JOHNSON & KINDNESS**

DCM

1. This opinion contains indications relating to the following items

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis 1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability, citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66 1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later

For further options, see Form PCT/ISA/220

3 For further details, see notes to Form PCT/ISA/220

Name and mailing address of the ISA/ US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P O Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230	Date of completion of this opinion 06 September 2005 (06 09 2005)	Authorized officer <i>Maria J Watson</i> Mina Hagnishian Telephone No 571-272-0600
---	--	--

Form PCT/ISA/237 (cover sheet) (April 2005)

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US05/21952

1980

Box No. 1 Basis of this opinion

1 With regard to the language, this opinion has been established on the basis of.

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23 1(b)).

2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

a. type of material

- ☐ a sequence listing
☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

- ☐ on paper
☐ in electronic form

c. time of filing/furnishing

- ☐ contained in the international application as filed
☐ filed together with the international application in electronic form
☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

3 ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

4. Additional comments

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No
PCT/US05/21952

199

Box No. V Reasoned statement under Rule 43 bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims 1-26	YES
	Claims NONE	NO
Inventive step (IS)	Claims NONE	YES
	Claims 1-26	NO
Industrial applicability (IA)	Claims 1-26	YES
	Claims NONE	NO

2. Citations and explanations.

Claims 1-26 meet the criteria set out in PCT Article 33(2), because the prior art does not teach or fairly suggest a method of treating an endobronchial infection by administering a dry powder composition of an aminoglycoside in an amount of 90 to 130 mg

Claims 1-26 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Smith et al (5,508,269) in view of Montgomery et al (WO 0035461). Smith teaches delivery of aminoglycosides, especially tobramycin via nebulization to a patient to treat endobronchial infections. Smith teaches that about 200-500 mg of tobramycin are dissolved in a saline solution and administered to the patient via nebulization. Smith lacks specific disclosure of powdered aminoglycosides, such as tobramycin. Montgomery et al teach dry powder formulations of aminoglycosides such as tobramycin with a particle size of between 1 to 5 microns for endobronchial administration. It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to have modified the method of Smith of treating endobronchial infections by administration of tobramycin solutions with the powder formulations of tobramycin for endobronchial administration as taught by Montgomery with the reasonable expectation of successfully treating patients with dry powder formulations which are stable for longer period, easier to handle and administer with faster and better results.

Claims 1-26 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus have industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in industry.

PATENT COOPERATION TREATY
IN THE INTERNATIONAL BUREAU AT WIP

200

Certificate of Transmission

Total Pages 3

International Bureau of WIPO
Facsimile No. 011-41-22-740-14-35

Date. 17 November 2006

Sirs:

I hereby certify that the attached Change of Name Communication is being sent via facsimile to the International Bureau at WIPO on the date indicated above.

Date 17 November 2006


Melodi K. Dice

Novartis Vaccines and Diagnostics Inc
4560 Horton Street
Emeryville, California 94608
United States of America

**PATENT COOPERATION TREATY
IN THE INTERNATIONAL BUREAU AT WIPO**

201.

CHANGE OF NAME COMMUNICATION

International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20
Switzerland

Sirs:

Following a recent name change for Applicant **CHIRON CORPORATION**, applicant wish to request, pursuant to Rule 92^{bis}, that the International Bureau at WIPO record the change of name for applicant, **CHIRON CORPORATION** to **NOVARTIS VACCINES AND DIAGNOSTICS INC.** for the following International Patent Applications listed on Annex I:

No other details of the applications are affected.

Respectfully submitted,

Date. 17 November 2006

By. 
Helen Lee
Assistant Secretary
NOVARTIS VACCINES AND
DIAGNOSTICS, INC.

Novartis Vaccines and Diagnostics Inc.
4560 Horton Street
Emeryville, California 94608
United States of America

202

ANNEX I

Our reference	Application number	Our reference	Application number
PP022047 0001	PCT/US2004/026569	PP028037 0002	PCT/US2006/005912
PP023739.0002	PCT/US2004/036020	PP028127.0002	PCT/US2006/005913
PP020724 0002	PCT/US2005/005401	PP020579 0004	PCT/US2006/007049
PP021958 0003	PCT/US2005/011642	PP020756.0003	PCT/US2006/007337
PP021810 0002	PCT/US2005/014359	PP020580 0004	PCT/US2006/007021
PP023351.0002	PCT/US2005/015467	PP028040.0002	PCT/US2006/011761
PP023350 0003	PCT/US2005/014965	PP023506 0003	PCT/US2006/012606
PP021728 0003	PCT/US2005/015884	PP028178.0002	PCT/US2006/012863
PP021726.0004	PCT/US2005/016006	PP028078.0002	PCT/US2006/013153
PP021731 0003	PCT/US2005/016104	PP028073.0002	PCT/US2006/013156
PP022375.0003	PCT/US2005/017961	PP028245 0001	PCT/US2006/013160
PP021725 0002	PCT/US2005/017890	PP028075.0002	PCT/US2006/013162
PP022745.0003	PCT/US2005/018225	PP028077 0002	PCT/US2006/013174
PP022009 0002	PCT/US2005/018066	PP028074 0002	PCT/US2006/013182
PP022665 0004	PCT/US2005/020254	PP028081.0002	PCT/US2006/013890
PP022792.0002	PCT/US2005/022801	PP028057 0004	PCT/US2006/014194
PP022666 0002	PCT/US2005/022808	PP028084 0002	PCT/US2006/014240
PP020887.0002	PCT/US2005/020418		
PP022844 0003	PCT/US2005/021952		
PP022590.0003	PCT/US2005/022062		
PP022528.0003	PCT/US2005/022520		
PP022783.0002	PCT/US2005/022769		
PP023349 0002	PCT/US2005/023518		
PP023346.0002	PCT/US2005/025835		
PP022811 0012	PCT/US2005/027239		
PP023012 0002	PCT/US2005/027715		
PP023466.0003	PCT/US2005/030324		
PP022731.0004	PCT/US2005/030325		
PP023585 0004	PCT/US2005/032721		
PP023382.0003	PCT/US2005/034026		
PP023748 0002	PCT/US2005/035493		
PP022773.0003	PCT/US2005/036009		
PP021959 0003	PCT/US2005/036803		
PP023744 0002	PCT/US2005/039558		
PP023342.0002	PCT/US2005/039982		
PP022950.0003	PCT/US2005/040758		
PP023347 0002	PCT/US2005/041107		
PP028007.0003	PCT/US2005/046491		
PP028001 0002	PCT/US2006/001090		
PP028002.0002	PCT/US2006/001433		
PP028003 0002	PCT/US2006/001437		
PP028024 0003	PCT/US2006/002949		
PP028023 0005	PCT/US2006/002979		
PP023880 0003	PCT/US2006/003116		
PP023041.0002	PCT/US2006/003935		
PP021026 0007	PCT/US2006/007001		
PP023063 0004	PCT/US2006/005536		
PP023836 0002	PCT/US2006/005720		

Confirmation Report - Memory Send

203

Page : 001
Date & Time: Nov-17-06 06:37pm
Line 1 : 510-655-3542
Line 2 : 510-654-4873
Machine ID : Intellectual Property Department

Job number : 482
Date : Nov-17 06:35pm
To : 201141227401435
Number of pages : 003
Start time : Nov-17 06:35pm
End time : Nov-17 06:37pm
Pages sent : 003
Status : OK

Job number : 482
PM015784.0832

*** SEND SUCCESSFUL ***

PATENT COOPERATION TREATY
IN THE INTERNATIONAL BUREAU AT WIPO

Certificate of Transmission

Total Pages 3

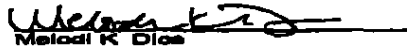
International Bureau of WIPO
Facsimile No. 011-41-22-740-14-35

Date ☒ November 2006

Sirs

I hereby certify that the attached Change of Name Communication is being sent via facsimile to the International Bureau at WIPO on the date indicated above.

Date ☒ November 2006


Melodi K. Dica

Novartis Vaccines and Diagnostics Inc.
4560 Horton Street
Emeryville, California 94608
United States of America

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty

For receiving Office use only

International Application No

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference (if desired) (12 characters maximum) CHIR125578

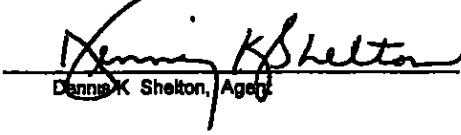
Box No. I TITLE OF INVENTION METHODS OF TREATMENT OF ENDOBRONCHIAL INFECTIONS	
Box No. II APPLICANT ☐ This person is also inventor	
Name and address (Family name followed by given name, for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.) CHIRON CORPORATION 4560 Horton Street Emeryville, CA 94608-2916 US	Telephone No 510 655 8730 Facsimile No 510 655 3542 Teleprinter No Applicant's registration No with the Office
State (that is, country) of nationality. US	State (that is, country) of residence US
This person is applicant for the purposes of ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)	
Name and address (Family name followed by given name, for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.) NEKTAR THERAPEUTICS 150 Industrial Road San Carlos, CA 94070 US	This person is ☒ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.) Applicant's registration No with the Office
State (that is, country) of nationality US	State (that is, country) of residence US
This person is applicant for the purposes of ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet	
Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE	
The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as ☒ agent ☐ common representative	
Name and address (Family name followed by given name, for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) SHELTON, Dennis K Christensen O'Connor Johnson Kindness PLLC 1420 Fifth Avenue, Suite 2800 Seattle, WA 98101 US	Telephone No 206 682 8100 Facsimile No 206 224 0779 Teleprinter No Agent's registration No with the Office 26,997
☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent	

205

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S) <i>If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request</i>	
Name and address <i>(Family name followed by given name, for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> CHALLONER, Peter 4560 Horton Street Emeryville, CA 94608-2816 US	This person is ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below)</i> Applicant's registration No with the Office
State (that is, country) of nationality US	State (that is, country) of residence US
This person is applicant ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental	
Name and address <i>(Family name followed by given name, for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> RODRIGUEZ, Carlos 4560 Horton Street Emeryville, CA 94608-2816 US	This person is ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below)</i> Applicant's registration No with the Office
State (that is, country) of nationality US	State (that is, country) of residence US
This person is applicant for the ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental	
Name and address <i>(Family name followed by given name, for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> TARARA, Thomas E 1233 Paloma Avenue Burlingame, CA 94010 US	This person is ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below)</i> Applicant's registration No with the Office
State (that is, country) of nationality. US	State (that is, country) of residence US
This person is applicant for the ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental	
Name and address <i>(Family name followed by given name, for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> LORD, John D 328 Belmont Avenue Redwood Crty, CA 94051 US	This person is ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below)</i> Applicant's registration No with the Office
State (that is, country) of nationality UK	State (that is, country) of residence US
This person is applicant for the ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental	
☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet	

206

Box No.V DESIGNATIONS				
The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents. However, ☐ DE Germany is not designated for any kind of national protection ☐ KR Republic of Korea is not designated for any kind of national protection ☐ RU Russian Federation is not designated for any kind of national protection <i>(The check-boxes above may be used to exclude (irrevocably) the designations concerned in order to avoid the ceasing of the effect, under the national law, of an earlier national application from which priority is claimed. See the Notes to Box No V as to the consequences of such national law provisions in these and certain other States)</i>				
Box No. VI PRIORITY CLAIM				
The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:				
Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is.		
		national application country or Member	regional application * regional Office	international application receiving Office
item (1) 18 June 2004 18 06 2004	60/580,848	US		
item (2)				
item (3)				
☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.				
The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office) identified above as: ☒ all items ☐ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ other, see Supplemental Box * Where the earlier application is an ARIPO application, indicate at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property or one Member of the World Trade Organization for which that earlier application was filed (Rule 4 10(b)(ii))				
Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY				
Choice of International Searching Authority (ISA) (if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen, the two-letter code may be used) ISA/ US Request to use results of earlier search; reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority) Date (day/month/year) Number Country (or regional Office)				
Box No. VIII DECLARATIONS				
The following declarations are contained in Boxes Nos. VIII (i) to (v) (mark the applicable check-boxes below and indicate in the right column the number of each type of declaration)*				Number of declarations
☐ Box No. VIII (i)	Declaration as to the identity of the inventor			
☐ Box No VIII (ii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent			
☐ Box No. VIII (iii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application			
☐ Box No VIII (iv)	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)			
☐ Box No VIII (v)	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty			

Box No. IX CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING		
This international application contains: (a) on paper, the following number of sheets request (including declaration sheets) 4 description (excluding sequence listing and/or tables related thereto) 59 claims 3 abstract 1 drawings 4 Sub-total number of sheets 71 sequence listing tables related thereto (for both, actual number of sheets if filed on paper, whether or not also filed in electronic form, see (c) below) Total number of sheets 71 (b) ☐ only in electronic form (Section 801(a)(i)) (i) ☐ sequence listing (ii) ☐ tables related thereto (c) ☐ also in electronic form (Section 801(a)(ii)) (i) ☐ sequence listing (ii) ☐ tables related thereto Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which are contained the ☐ sequence listing ☐ tables related thereto. (additional copies to be indicated under items 9(ii) and/or 10(ii), in right column)	This international application is accompanied by the following item(s) (mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item) 1 ☒ fee calculation sheet 1 2 ☐ original separate power of attorney 3 ☐ original general power of attorney 4 ☐ copy of general power of attorney, reference number, if any 5 ☐ statement explaining lack of signature 6 ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s) 7 ☐ translation of international application into (language) 8 ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material 9 ☐ sequence listing in electronic form (indicate type and number of carriers) (i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application) (ii) ☐ (only where check-box (b)(i) or (c)(i) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter (iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing mentioned in left column 10 ☐ tables in electronic form related to sequence listing (indicate type and number of carriers) (i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-quater) only (and not as part of the international application) (ii) ☐ (only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802(b-quater) (iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column 11. ☒ other (specify) Transmittal, check and postcard 3	Number of items
Figure of the drawings which should accompany the abstract. Fig 1	Language of filing of the international application English	
Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request)  Dennis K. Shelton, Agent		

For receiving Office use only	
1. Date of actual receipt of the purported international application:	2 Drawings ☐ received ☐ not received
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:	
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
5 International Searching Authority (if two or more are competent) ISA/	6 ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid

For International Bureau use only
Date of receipt of the record copy by the International Bureau

LKP

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day/month/year) 19 September 2005 (19 09 2005)	To SHELTON, Dennis, K. Chrstensen O'Connor Johnson Kindness PLLC 1420 Fifth Avenue, Suite 2800 Seattle, WA 98101 ETATS-UNIS D'AMERIQUE
Applicant's or agent's file reference CHIR125578	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2005/021952	International filing date (day/month/year) 20 June 2005 (20 06 2005)
International publication date (day/month/year)	Priority date (day/month/year) 18 June 2004 (18 06 2004)
Applicant CHIRON CORPORATION et al	

- 1 By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- 2 (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- 3 (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
18 June 2004 (18 06 2004)	60/560,848	US	02 August 2005 (02 08 2005)

ALE

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

M. CHEVALLAY WORLEY (Fax 338.7010)

Facsimile No +41 22 338 82 70

Facsimile No (41-22) 338.70.10

Telephone No +41 22 338 8859

Form PCT/IB/304 (January 2004)

CK6H6TH0

LKP

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

209

1) SOLICITUD DE:			
☒ Patente de invención		☐ Patente de Modelo de Utilidad	
☒ Capítulo I.		☐ Capítulo II.	
2) SOLICITANTE (71)	Nombre: 1. NOVARTIS VACCINES AND DIAGNOSTICS, INC. 2. NEKTAR THERAPEUTICS Dirección: 1. 4560 Horton Street Emeryville, California 94608-2916 USA 2. 150 Industrial Road San Carlos, California 94070 USA Nacionalidad o domicilio: 1. California, USA; 2. California, USA Lugar de constitución: 1. y 2. California USA		IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT: ☒ C.E. ☐ OTRO ☐ Cual _____ NÚMERO _____
	Teléfono: _____ Fax: _____ E. Mail: _____		
3) REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN Dirección: Carrera 11 N°. 86-53 Piso 6 Bogotá D.C. Teléfono: 6181088 Fax: 6350824 E. Mail: info@clarkemodet.com.co		IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT: ☐ C.E. ☐ OTRO ☐ NÚMERO: 41.654.882 TP: 20824 CSJ
4) INVENTOR (ES) (72)	Nombre: 1. Peter Challoner; 2. Carlos Rodríguez; 3. Thomas E. Tarara; 4. John D. Lord Dirección: 1. 4560 Horton Street, Emeryville, California 94608-2916 USA; 2. 4560 Horton Street, Emeryville, California 94608-2916 USA; 3. 1233 Paloma Avenue Burlingame, California 94010; 4. 326 Belmont Avenue Redwood City, California 94601 USA Nacionalidad o Domicilio: Todos los anteriores, estadounidenses.		
5) PCT (86) Solicitud Internacional No. PCT/US2005/021952 Fecha: Junio 20, 2005 Publicación Internacional No. WO2006/002178 A1 Fecha: Enero 5, 2006			
6) Título (54) MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES ENDOBRONQUIALES			
7) Clasificación Internacional: A61K 9/12 31/70, 31/73, 47/36			
8) PRIORIDAD		33) País de Origen	(32) Fecha
Si ☒ NO ☐		Estados Unidos	Junio 18, 2004
			(31) Número de Solicitud 60/580,848
9) Comprobante de pago N°. 06-84.254 Fecha: OCT. 31, 2006			
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario. Ver reverso de esta pagina			

REIVINDICACIONES

210

1. Un método para el tratamiento de una infección endobronquial en un paciente, caracterizado porque comprende la administración al sistema endobronquial del paciente de una composición en aerosol de polvo seco que comprende de 90 a 130 mg de un antibiótico de aminoglicósido de una a tres veces por día durante un primer período de tratamiento de 20 a 36 días.

2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el primer período de tratamiento es seguido por un segundo período no de tratamiento, en donde no se administra ningún antibiótico de aminoglicósido al sistema endobronquial del paciente.

3. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el antibiótico de aminoglicósido se selecciona del grupo que consiste de gentamicina, amicacina, canamicina, estreptomina, neomicina, netilmicina, y tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El método de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque el antibiótico de aminoglicósido es tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. El método de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque la composición de polvo en aerosol comprende de 100 a 120 mg de tobramicina.

6. El método de conformidad con la reivindicación 5,

211

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION



MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [x]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [x]
- ◆ Descripción de la invención [x]
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [x]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [x]

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha

21 DIC. 2006

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

212

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ DILIA MARIA

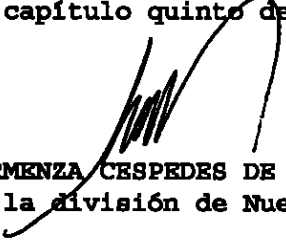
REFERENCIA	Radicación No.	06 128312
	Solicitud internacional	PCT/US2005/021952
	Fecha inicio fase nacional	18/01/2007
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	869

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.
2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.
3. Debe aclarar el nombre del solicitante, por cuanto la publicación internacional difiere del petitorio presentado en fase nacional.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 26 ENE 2007
adpa10