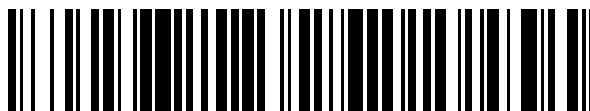


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 279**

51 Int. Cl.:  
**A61K 38/00** (2006.01)  
**A61K 9/08** (2006.01)  
**A61K 47/04** (2006.01)  
**A61K 47/26** (2006.01)  
**A61P 31/04** (2006.01)  
**A61K 47/40** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07767796 .1**  
 96 Fecha de presentación: **28.06.2007**  
 97 Número de publicación de la solicitud: **2047857**  
 97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.04.2009**

54 Título: **Agente destinado a ser utilizado para una inyección que comprende antibiótico, y solución para inyección que comprende el agente**

30 Prioridad:  
**29.06.2006 JP 2006179778**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**10.04.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**10.04.2012**

73 Titular/es:  
**ARIGEN PHARMACEUTICALS, INC.  
PLACE CANADA 3F 3-37, AKASAKA 7-CHOME  
MINATO-KU  
TOKYO 107-0052, JP**

72 Inventor/es:  
**NAKAJIMA, Hirofumi y  
MACHIDA, Haruhiko**

74 Agente/Representante:  
**Curell Aguilá, Mireia**

ES 2 378 279 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Agente destinado a ser utilizado para una inyección que comprende antibiótico, y solución para inyección que comprende el agente.

5

### Campo técnico

La presente invención se refiere a una formulación inyectable de preparación al momento de un antibiótico depsipéptido, el WAP-8294A, que presenta una notable actividad antibacteriana contra el *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), a una solución para la administración intravenosa de la misma y a los métodos para su preparación.

10

### Antecedentes de la técnica

El SARM es un *Staphylococcus aureus* resistente a los fármacos contra el que los antibióticos, incluida la meticilina, se han mostrado ineficaces. La aparición del SARM se documentó por primera vez en Inglaterra en 1961 y a partir de ese momento el SARM se extendió rápidamente por todo el mundo. Actualmente, el SARM constituye el 50-70% de los *Staphylococcus aureus* aislados en dependencias sanitarias y está muy extendido en los hospitales. El personal de atención sanitaria y los pacientes pueden resultar fácilmente infectados por SARM por contacto dentro de las dependencias sanitarias. Generalmente, las personas sanas no pasan de convertirse en portadoras cuando resultan infectadas por SARM, ya que SARM es una variante de *Staphylococcus aureus* y tiene una patogenicidad baja. Sin embargo, cuando las personas de edad avanzada con una inmunidad disminuida, los pacientes inmunodeficientes, los pacientes posoperatorios o los pacientes a los que se ha colocado un catéter de intubación en la tráquea o en un vaso sanguíneo resultan infectados por SARM, éste prolifera dentro del organismo y provoca diversas enfermedades infecciosas como neumonía, enteritis, septicemia, endocarditis o meningitis. En el mundo occidental y en Japón, donde la atención sanitaria está muy desarrollada, la infección por SARM se considera una de las más graves entre las que se producen en las dependencias sanitarias y la misma exige diversas medidas para su prevención.

15

20

25

30

35

40

Dado que no se aprecian diferencias en los síntomas y la evolución entre las infecciones por SARM y otras infecciones bacterianas, las infecciones por SARM son muy difíciles de distinguir mediante los datos clínicos generales y las pruebas de laboratorio. El diagnóstico se confirma mediante la identificación del SARM a través de un examen microbiológico. Para el tratamiento de las infecciones por SARM, resulta eficaz la administración de agentes antibacterianos junto con tratamiento sintomático. Sin embargo, se hace necesario utilizar agentes antibacterianos especiales como la vancomicina y la teicoplanina, que son eficaces contra el SARM, porque el SARM es resistente a los agentes antibacterianos comunes. Cuando se utilizan estos agentes, la dosis y el período de administración deben limitarse al mínimo necesario a fin de evitar la aparición de nuevas cepas resistentes. Actualmente, los agentes antibacterianos utilizados en las infecciones por SARM requieren un período terapéutico bastante prolongado hasta mostrar el efecto deseado y, por consiguiente, no se puede esperar una rápida recuperación de los pacientes.

En contraste con la situación descrita anteriormente, se ha desarrollado un antibiótico depsipéptido denominado WAP-8294A<sub>2</sub> que constituye un prometedor agente antibacteriano (documento de patente 1). Dicho WAP-8294A<sub>2</sub> tiene un espectro antibacteriano relativamente estrecho y presenta una actividad antimicrobiana significativamente intensa contra el SARM, pudiéndolo eliminar en un período breve en términos de actividad bactericida. Por consiguiente, el WAP-8294A<sub>2</sub> se considera eficaz especialmente contra la exacerbación aguda de las infecciones por SARM gracias a su intensa acción antibacteriana y se espera que se convierta en un agente terapéutico capaz de contribuir a una rápida recuperación de los pacientes que entran en estado crítico debido a infecciones por SARM.

45

50

Documento de patente 1: patente japonesa 3339235

Por otro lado, el documento US nº 5.648.455 da a conocer la preparación de una formulación inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub>.

55

Además, el documento US2005/0239692A1 da a conocer una preparación farmacéutica acuosa de oligopéptidos que comprende un oligopéptido de cinco aminoácidos y una betaciclodextrina parcialmente eterificada.

### Descripción de la invención

60

#### PROBLEMA QUE PRETENDE RESOLVER LA INVENCION

Tal como se ha mencionado anteriormente, se propone un antibiótico depsipéptido, el WAP-8294A<sub>2</sub>, como agente terapéutico contra las infecciones por SARM, que constituyen un grave problema en los hospitales. Aunque dicho agente tiene una fuerte actividad antibacteriana, presenta el inconveniente de que resulta difícil preparar una formulación inyectable y una solución para su administración intravenosa que sean estables a las concentraciones

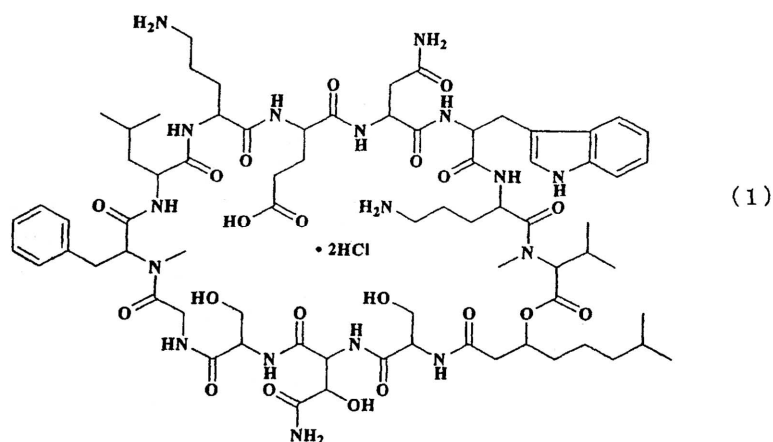
65

elevadas que resultan adecuadas para su uso práctico, lo que ha hecho imposible su realización práctica.

El objetivo de la presente invención consiste en proporcionar una formulación inyectable para su preparación al momento y una solución para la administración de WAP-8294A<sub>2</sub> que sean estables a concentraciones elevadas. La posibilidad de preparar una formulación inyectable práctica de este antibiótico resultaría muy útil para el tratamiento de las infecciones por SARM, para las cuales existen quimioterapias limitadas.

### Medios para resolver el problema

El WAP-8294A<sub>2</sub> es un antibiótico depsipéptido que presenta la fórmula estructural (I) indicada a continuación. Ejerce una fuerte acción antibacteriana sobre el SARM. El WAP-8294A<sub>2</sub> se obtiene en forma de clorhidrato y su solución es fuertemente ácida. La estabilidad de una solución acuosa de WAP-8294A<sub>2</sub> depende del pH y la concentración. Es estable en condiciones ácidas, con un pH bajo. Sin embargo, a un pH neutro es viscosa y tiende a gelificarse, y su estabilidad disminuye con el aumento de la concentración. Además, cuando se encuentran iones en una solución acuosa, tal como iones de sodio, ésta tiende a gelificarse incluso a un pH bajo y a formar precipitados a pH neutro.

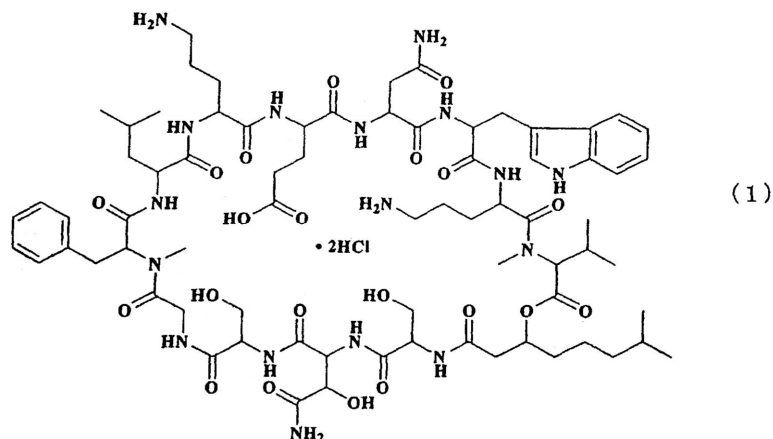


Se han aplicado estrategias farmacéuticas con el fin de obtener una solución inyectable práctica de WAP-8294A<sub>2</sub> con las características físicas y químicas mencionadas anteriormente, pero ha sido difícil preparar una solución inyectable estable de WAP-8294A<sub>2</sub> de concentración elevada. Cuando se prepara por un método convencional, una solución inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> es una solución acuosa con una concentración baja. La solución es estable, pero, debido al aumento de la cantidad necesaria de solución para su administración, las molestias para los pacientes son notables cuando la solución se inyecta. Además, la solución es inestable a medida que cambia su pH. Incluso si se ajusta el pH antes de la administración, la solución debe utilizarse rápido, como mucho al cabo de 2-3 horas tras dicho ajuste, debido a su inestabilidad. Además, el método convencional tiene el inconveniente de que se pueden formar microprecipitados en la solución a un pH próximo al neutro y, por consiguiente, resulta esencial utilizar un filtro para evitar que dichos precipitados penetren en los vasos sanguíneos. Además, tras la administración intravenosa puede existir el peligro de que la interacción con los iones de sodio y/o las proteínas séricas de la sangre dé lugar a una agregación molecular y provoque alteraciones hematológicas.

En el contexto de la presente invención se ha investigado la estabilidad de una solución de WAP-8294A<sub>2</sub>. Tal como se describe a continuación, se ha descubierto que, entre los solubilizantes para uso inyectable, son particularmente superiores para la estabilización del WAP-8294A<sub>2</sub> una solución de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina y una solución de β-ciclodextrina. Otros estudios han puesto de manifiesto que se puede obtener una solución inyectable estable de WAP-8294A<sub>2</sub> con una concentración elevada utilizando estos solubilizantes o estabilizantes y sin ajustar el pH, a diferencia de los métodos convencionales, a fin de obtener una formulación inyectable para su preparación al momento.

También se ha puesto de manifiesto que, cuando se obtiene una solución para su administración mediante dilución y ajuste del pH utilizando esta formulación, la solución se puede preparar en una concentración elevada y con un pequeño volumen, y es más estable que una solución preparada por un método convencional. Además, la presente solución inyectable muestra notables efectos terapéuticos contra la infección por SARM sin provocar alteraciones hematológicas después de la administración, tal como se pone de manifiesto en los experimentos farmacológicos llevados a cabo en modelos animales y descritos a continuación.

De este modo, la presente invención se refiere a una formulación inyectable para preparación al momento que comprende un antibiótico, el WAP-8294A<sub>2</sub>, con la siguiente fórmula estructural (1), como principio activo, caracterizada porque dicha formulación contiene 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina o β-ciclodextrina como solubilizante y porque el pH de la formulación no se ajusta.



5 En el momento de su utilización, esta formulación inyectable se mezcla con un líquido de infusión o diluyente y con un agente de ajuste del pH. Preferentemente, el pH de la formulación está comprendido entre 2 y 4. Preferentemente, la concentración del antibiótico WAP-8294A<sub>2</sub> en la formulación es de 5-20 mg/ml. Preferentemente, la concentración de 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina en la formulación es del 2-50% y la de β-ciclodextrina es del 0,5-2,5%.

10 La presente invención se refiere asimismo a un método para preparar una formulación inyectable para preparación al momento, comprendiendo dicha formulación el antibiótico WAP-8294A<sub>2</sub> con la siguiente fórmula estructural (1) como principio activo, caracterizado porque se utiliza en 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina o β-ciclodextrina como solubilizante y el pH no se ajusta en el momento de la preparación de la formulación.

15 La presente invención se refiere además a una solución para la administración intravenosa de un antibiótico, el WAP-8294A<sub>2</sub>, que comprende la formulación inyectable mencionada anteriormente para la preparación al momento mezclada con un líquido de infusión o diluyente y con un agente de ajuste del pH. Un agente de ajuste del pH preferido para la solución de administración es una solución de hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato de sodio e hidróxido de sodio. Preferentemente, el líquido de infusión o diluyente es la dextrosa.

20 La presente invención se refiere además a un método para preparar una solución para la administración intravenosa de un antibiótico, el WAP-8294A<sub>2</sub>, que comprende mezclar la formulación inyectable mencionada anteriormente para la preparación al momento con un líquido de infusión o diluyente y con un agente de ajuste del pH.

## 25 EFECTOS DE LA INVENCION

La formulación inyectable para preparación al momento según la presente invención muestra los efectos beneficiosos de poder contener una concentración elevada de WAP-8294A<sub>2</sub> y de ser estable durante un período prolongado mediante la utilización de 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina o β-ciclodextrina como solubilizante sin ajustar el pH, de modo que se superan las desventajas derivadas del hecho de que una solución acuosa de WAP-8294A<sub>2</sub> es proclive a la gelificación y no es estable.

Adicionalmente, una solución para administración intravenosa según la presente invención obtenida mediante la mezcla de la formulación inyectable mencionada anteriormente con un líquido de infusión o diluyente y un agente de ajuste del pH en el momento de su utilización es estable a concentración elevada y muestra una actividad antibacteriana significativa contra el SARM sin provocar alteraciones hematológicas tras su administración.

Además, dado que la formulación inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> según la presente invención puede contener una concentración elevada de WAP-8294A<sub>2</sub>, el volumen de solución necesario para la administración intravenosa al paciente puede ser pequeño, lo que permite reducir las molestias provocadas.

## Mejor modo de poner en práctica la invención

La formulación inyectable según la presente invención se prepara mediante la disolución de un antibiótico, el WAP-8294A<sub>2</sub>, que tiene la anterior fórmula estructural (1), en una solución de 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina o β-ciclodextrina como solubilizante o estabilizante sin ajuste de pH.

El antibiótico WAP-8294A<sub>2</sub> como principio activo presenta la estructura representada por la fórmula (1) anterior y se aísla en forma de clorhidrato. Los métodos de preparación de dicho antibiótico comprenden, por ejemplo, un método tal como se describe en la especificación de patente japonesa 3339235. Dicho método comprende el cultivo de

bacterias productoras del antibiótico WAP-8294A<sub>2</sub> pertenecientes al género *Lysobacter*, como *Lysobacter sp.* cepa WAP-8294A (FERM BP-4990), la separación del antibiótico WAP-8294A<sub>2</sub> del caldo de cultivo y la separación y purificación adicional para obtener el antibiótico, WAP-8294A<sub>2</sub>.

5 Dado que el WAP-8294A<sub>2</sub> se aísla en forma de clorhidrato, el mismo se disuelve en una solución de 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina o β-ciclodextrina sin ajustar el pH, lo que da lugar a una solución inyectable con un pH comprendido entre 2 y 4.

10 La tabla 1 siguiente muestra que la 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina o la β-ciclodextrina son superiores como solubilizantes o estabilizantes para estabilizar el WAP-8294A<sub>2</sub>.

Tabla 1

Estabilidad de la solución de WAP-8294A<sub>2</sub> (conservada a temperatura ambiente)

15

*preparación de la solución	resultados de la observación visual de la solución		
	día 0	día 10	día 80
Control (sin aditivos; pH 2,8)	O	O	Δ
Control (pH 2,8) + 20% de etanol	O	Δ	Δ
0,9% de cloruro de sodio	Δ	Δ	X
Ajuste del pH (utilizando carbonato de sodio)	pH 3,8	X	
	pH 7,1	X	
	pH 3,8 + 20% de etanol	X	
	pH 7,1 + 20% de etanol	X	
Tampón	acetato de sodio 0,05 M	Δ	X
	fosfato de sodio 0,05 M	Δ	X
Azúcar	5% de lactosa	O	O
	5% de manitol	O	O
	5% de sorbitol	O	O
Ciclodextrina	5% de 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina	O	O
	2% de β-ciclodextrina	O	O
Cation	0,3% de sulfato de protamina	O	X
	5% de glucosamina	X	
	0,3% de sulfato de protamina + 20% de etanol	Δ	X
	5% de glucosamina + 20% de etanol	X	
Aminoácido	5% de glicina	Δ	Δ
	1% de ácido aspártico	O	O
	1% de ácido glutámico	O	O

\*se disuelven 100 mg de WAP-8294A<sub>2</sub> en 10 ml de cada solubilizante.  
O: transparente, fluido; Δ: transparente, viscoso; X: turbio, precipitación o agregación

20 La 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina contenida en la formulación inyectable según la presente invención se utiliza preferentemente en una cantidad comprendida entre 1% y 50%, y más preferentemente entre 5% y 20%. La concentración de β-ciclodextrina utilizada está comprendida preferentemente entre 0,5% y 2,5%, y más preferentemente entre 1% y 2%.

25 El WAP-8294A<sub>2</sub> se puede disolver en una concentración comprendida entre 5 mg/ml y 20 mg/ml en la formulación inyectable según la presente invención. Más preferentemente, está contenido en una concentración comprendida entre 5 mg/ml y 15 mg/ml. De este modo, a diferencia de un método según la técnica anterior en el que se utiliza un solubilizante que no sea 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina ni β-ciclodextrina y se ajusta el pH con un agente de ajuste del pH, se puede obtener una formulación inyectable con una concentración elevada de WAP-8294A<sub>2</sub> y estable.

30 La solución para la administración intravenosa según la presente invención se puede preparar mezclando la formulación inyectable mencionada anteriormente con un líquido de infusión o diluyente y añadiendo un agente de ajuste del pH. Esta solución se ajusta preferentemente a un pH comprendido entre 6 y 8. La cantidad de líquido de infusión o diluyente que es añado se puede determinar adecuadamente sobre la base de la concentración de WAP-8294A<sub>2</sub> en la formulación inyectable, el volumen adecuado para la administración, la dosis de WAP-8294A<sub>2</sub>, etc. La solución para administración se puede preparar con una concentración relativamente elevada, tal como de 7,5 mg/ml, y preferentemente se prepara con una concentración comprendida entre 0,1 mg/ml y 5 mg/ml, y más preferentemente entre 0,1 mg/ml y 3 mg/ml. La solución para administración obtenida a través de un método según la técnica anterior tiende a presentar precipitación y no es estable ni siquiera a una concentración de 0,1 mg/ml.

35

Además, se pueden producir alteraciones hematológicas tras la administración.

Se puede utilizar cualquier líquido de infusión o diluyente de uso habitual, pero desde el punto de vista de la estabilidad se utiliza preferentemente dextrosa. Como agente de ajuste del pH se utiliza preferentemente una solución de hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato de sodio e hidróxido de sodio. La solución para administración según la presente invención también puede contener aditivos farmacéuticamente convencionales, tales como conservantes.

La solución para administración según la presente invención se puede administrar como infusión gota a gota y resulta útil como agente para tratar infecciones bacterianas, particularmente las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina.

La dosis de la presente preparación varía según el tipo de enfermedad que se pretende tratar, la vía de administración, la frecuencia de administración, el estado del paciente, etc. Por ejemplo, a un adulto se le administran preferentemente 0,5-30 mg/kg al día de WAP-8294A<sub>2</sub>.

A fin de ilustrar adicionalmente la presente invención, a continuación se describen ejemplos y experimentos farmacológicos, aunque dichos ejemplos no limitan la presente invención en ningún aspecto.

### **Ejemplo 1**

Formulación inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> preparada en una solución al 16% de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina

Se disolvió 1,0 g de materia prima de WAP-8294A<sub>2</sub> en 200 ml de una solución al 16% de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina preparada con agua destilada para inyección a fin de obtener una formulación inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> sin ajustar el pH. La formulación resultante se mantuvo estable a temperatura ambiente durante 6 meses.

### **Ejemplo 2**

Formulación inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> preparada en una solución al 5% de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina

Se disolvió 1,0 g de materia prima de WAP-8294A<sub>2</sub> en 100 ml de una solución al 5% de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina preparada con agua destilada para inyección a fin de obtener una formulación inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> sin ajustar el pH. La formulación resultante se mantuvo estable a temperatura ambiente durante 6 meses.

### **Ejemplo 3**

Formulación inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> preparada en una solución al 2% de β-ciclodextrina

Se disolvió 1,0 g de materia prima de WAP-8294A<sub>2</sub> en 100 ml de una solución al 2% de β-ciclodextrina preparada con agua destilada para inyección a fin de obtener una formulación inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> sin ajustar el pH. La formulación resultante se mantuvo estable a temperatura ambiente durante 6 meses.

### **Ejemplo 4**

Preparación de una solución para la administración intravenosa de WAP-8294A<sub>2</sub>

Se neutralizaron 20 ml de la formulación inyectable preparada en el ejemplo 1 que contenía 5 mg/ml de WAP-8294A<sub>2</sub> en una solución al 16% de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina mediante la adición de 2 ml de un agente de ajuste del pH que se obtuvo mediante la adición de hidróxido de sodio 0,1 N a una solución tampón de fosfato formada por 39 volúmenes de hidrogenofosfato disódico 100 mM y 61 volúmenes de dihidrogenofosfato de sodio 100 mM a fin de obtener una concentración final de hidróxido de sodio de 0,02 N. A esta solución se añadieron 78 ml de una solución de dextrosa al 5% para inyección hasta que se alcanzó un volumen total de 100 ml. La solución preparada para la administración tenía un pH de 6,9 y una osmolalidad de 230 mOsm/kg. La solución resultante se mantuvo estable a temperatura ambiente durante 24 horas.

### **[Ejemplo experimental 1]**

Estudio de toxicidad para dosis repetidas durante 4 días en ratones

Se llevó a cabo una administración prolongada durante cuatro días en ratones y se compararon los resultados de toxicidad entre la solución para administración intravenosa según la presente invención y la solución convencional para tres dosis diferentes de 50 mg/kg/día, 10 mg/kg/día y 2 mg/kg/día. La solución inyectable de WAP-8294A<sub>2</sub> según la presente invención se preparó por el método descrito en el ejemplo 4 (con 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina) y la solución según la técnica anterior era una solución de WAP-8294A<sub>2</sub> preparada en una solución de dextrosa al 5% y cloruro de sodio al 0,45%. Estas dosis corresponden a 7,5 mg/ml, 1,5 mg/ml y 0,3 mg/ml, respectivamente, como

WAP-8294A<sub>2</sub>.

Como resultado, tal como se indica en la tabla 2, en el grupo que recibió 50 mg/kg/día (7,5 mg/ml como WAP-8294A<sub>2</sub>) de la solución según la técnica anterior, todos los ratones murieron durante el desarrollo de convulsiones clónicas inmediatamente después de la administración en el día 1. En cambio, en el grupo que recibió 50 mg/kg/día de la presente solución, no se produjeron muertes ni alteraciones en los signos clínicos. En cuanto a los trastornos hematológicos, en el grupo que recibió 10 mg/kg/día (1,5 mg/ml) de la solución según la técnica anterior, se observó cierta tendencia a mostrar unos valores bajos de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito, así como una disminución de los valores de plaquetas. Por otro lado, en el grupo que recibió 2 mg/kg/día (0,3 mg/ml) y 10 mg/kg/día (1,5 mg/ml) de la presente solución no se produjeron alteraciones. Se observó una clara diferencia entre la solución según la técnica anterior y la presente solución en cuanto a la mortalidad y las alteraciones hematológicas. Por lo tanto, la presente solución de WAP-8294A<sub>2</sub> demostró una notable mejora en cuanto a la toxicología traducida en un aumento de la dosis letal y una toxicidad sanguínea reducida.

Tabla 2

Resultados del estudio de toxicidad para dosis repetidas durante 4 días en ratones (estado general y alteraciones hematológicas)

	dosis (concentración de WAP-8294A <sub>2</sub> )	mortalidad y estado general	alteración hematológica
solución convencional	2 mg/kg/día (0,3 mg/ml) 10 mg/kg/día (1,5 mg/ml) 50 mg/kg/día (7,5 mg/ml)	ninguna alteración ninguna alteración todos los ratones murieron	ninguna alteración alteración
solución según la presente invención	2 mg/kg/día (0,3 mg/ml) 10 mg/kg/día (1,5 mg/ml) 50 mg/kg/día (7,5 mg/ml)	ninguna alteración ninguna alteración ninguna alteración	ninguna alteración ninguna alteración ligera alteración

**[Ejemplo experimental 2]**

Estudio de la eficacia *in vivo* en un modelo de infección por SARM

Se comparó la eficacia entre la presente solución de WAP-8294A<sub>2</sub> preparada del modo descrito en el ejemplo 4 y la inyección de vancomicina (solución de dextrosa al 5%) utilizando un modelo de infección por SARM en ratones. Una hora después de la inoculación intravenosa de SARM (cepa ATCC 33591), se administró por vía intravenosa cada dosis individual de solución de ensayo y se observó la mortalidad de los ratones durante una semana.

La dosis efectiva al 50% (mg/kg) se calculó a partir de la tasa de supervivencia para cada dosis. Tal como se muestra en la tabla 3, la dosis efectiva al 50% de la presente solución de WAP-8294A<sub>2</sub> fue 52 veces menor que la de vancomicina. Se confirmó que la presente solución para la administración de WAP-8294A<sub>2</sub> muestra una eficacia significativa contra los ratones infectados por SARM.

Tabla 3

Comparación de la eficacia en el modelo de infección por SARM en ratones entre la presente solución de WAP-8294A<sub>2</sub> y la inyección de vancomicina

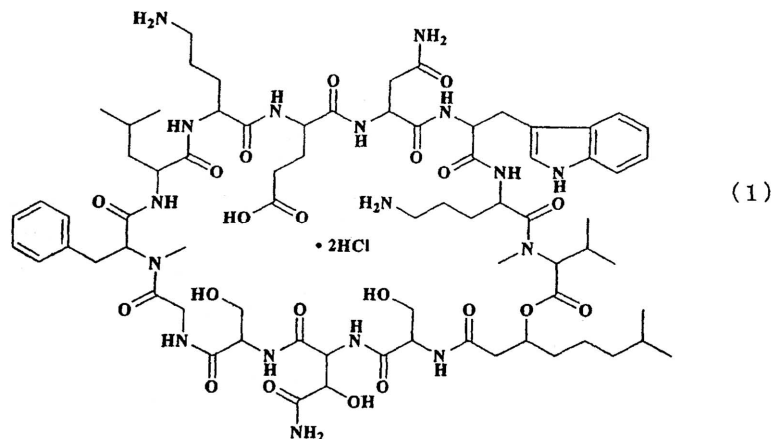
objeto de ensayo	supervivencia (%) para cada dosis (mg/kg)							dosis efectiva 50%
	10	3,0	1,0	0,3	0,1	0,03	0,01	
WAP-8294A <sub>2</sub>	-	100	100	100	60	30	10	0,06 mg/kg
vancomicina	100	30	0	-	-	-	-	3,12 mg/kg

**Aplicabilidad industrial**

La presente memoria da a conocer una formulación inyectable estable que contiene una concentración elevada de un antibiótico depsipéptido, WAP-8294A<sub>2</sub>, para su preparación en el momento de utilización. Esta formulación inyectable se mezcla con un líquido de infusión o diluyente y un agente de ajuste del pH en el momento de su utilización a fin de obtener una solución para administración por inyección. La solución resultante es estable a una concentración elevada y contribuye a la disminución de la toxicidad letal y a la mejora del perfil de toxicidad hematológica, como una disminución de los eritrocitos, de las plaquetas, etc. Por lo tanto, en la presente descripción se da a conocer una formulación práctica que muestra la excelente actividad antibacteriana de un antibiótico, el WAP-8294A<sub>2</sub>, y un método terapéutico altamente seguro y muy eficaz, particularmente contra las infecciones por SARM.

## REIVINDICACIONES

1. Formulación inyectable para la preparación al momento que comprende el antibiótico WAP-8294A<sub>2</sub> con la fórmula estructural (1) siguiente:



10 como principio activo y que comprende además una ciclodextrina seleccionada de entre el grupo constituido por 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina y β-ciclodextrina, en un medio acuoso adecuado para la inyección, encontrándose dicha formulación en forma de una solución acuosa concentrada estable sin ajuste del pH.

2. Formulación inyectable según la reivindicación 1, en la que el pH de la formulación está comprendido entre 2 y 4.

15 3. Formulación inyectable según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en la que el WAP-8294A<sub>2</sub> está presente en una concentración de 5-20 mg/ml.

4. Formulación inyectable según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el WAP-8294A<sub>2</sub> está presente en una concentración de 5-15 mg/ml.

20 5. Formulación inyectable según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina está presente en una concentración de 2-50%.

6. Formulación inyectable según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina está presente en una concentración de 5-20%.

25 7. Formulación inyectable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la β-ciclodextrina está presente en una concentración de 0,5-2,5%.

30 8. Formulación inyectable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la β-ciclodextrina está presente en una concentración de 1-2%.

9. Solución intravenosa que comprende una mezcla de

- 35 (a) una formulación inyectable según la reivindicación 1;  
 (b) un agente de ajuste del pH; y  
 (c) un líquido o diluyente de infusión intravenosa;

40 en la que el líquido o diluyente de infusión intravenosa y el agente de ajuste del pH están presentes en unas cantidades suficientes para proporcionar una concentración de 0,1 mg/ml a 7,5 mg/ml de WAP-8294A<sub>2</sub> y un pH de 6 a 8.

10. Solución intravenosa según la reivindicación 9, que presenta una concentración de WAP-8294A<sub>2</sub> de 0,1 mg/ml a 5 mg/ml.

45 11. Solución intravenosa según la reivindicación 9 ó 10, que presenta una concentración de WAP-8294A<sub>2</sub> de 0,1 mg/ml a 3 mg/ml.

50 12. Solución intravenosa según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en la que el líquido o diluyente de infusión intravenosa (c) es una solución de dextrosa.



13. Solución intravenosa según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en la que el agente de ajuste del pH es una solución acuosa de hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato de sodio e hidróxido de sodio.

5 14. Método para preparar una formulación inyectable según la reivindicación 1, en el que dicho método comprende disolver clorhidrato de WAP-8294A<sub>2</sub> en una solución de dicha ciclodextrina en dicho medio acuoso adecuado para la inyección sin ajustar el pH.

15. Método para la preparación de una solución intravenosa que comprende el mezclado de:

- 10 (a) una formulación inyectable según la reivindicación 1;  
(b) un agente de ajuste del pH; y  
(c) un líquido o diluyente de infusión intravenosa;

15 en el que el líquido o diluyente de infusión intravenosa y el agente de ajuste del pH se añaden a (a) en una cantidad suficiente para proporcionar una concentración de 0,1 mg/ml a 7,5 mg/ml de WAP-8294A<sub>2</sub> y un pH de 6 a 8 en la solución intravenosa resultante.