

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 451 527**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 31/4409 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2006 E 06806766 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2013 EP 1926473**

54 Título: **Preparados antimicrobianos que tienen un contenido de dihidrocloruro de octenidina encapsulado en liposomas**

30 Prioridad:

15.09.2005 DE 102005045146

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

27.03.2014

73 Titular/es:

**AIR LIQUIDE SANTE (INTERNATIONAL) (100.0%)
10 rue Cognacq-Jay
75007 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**BEHREND, SABINE;
SIEBERT, JÖRG;
GOLOMBIEWSKI, MONA;
KRAMER, AXEL y
MÜLLER, GERALD**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

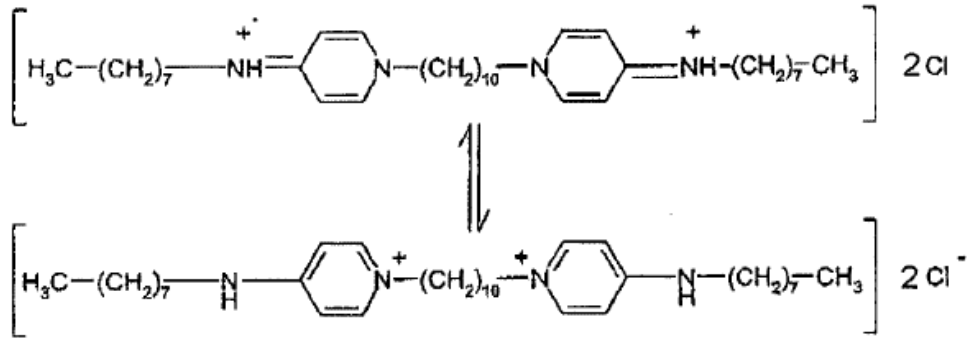
ES 2 451 527 T3

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

Preparados antimicrobianos que tienen un contenido de dihidrocloruro de octenidina encapsulado en liposomas

La invención se refiere al uso de liposomas que comprenden fosfolípido para la fabricación de unos preparados antimicrobianos que comprenden dihidrocloruro de octenidina en liposomas. La invención se refiere adicionalmente a un procedimiento para fabricar los preparados. El ingrediente activo antimicrobiano, dihidrocloruro de octenidina, es un bispiridinioalcano que tiene la fórmula:



y ha tenido éxito durante muchos años como antiséptico de mucosa y heridas en el producto comercial Octenisept®. El Octenisept® comprende además de dihidrocloruro de octenidina y fenoxietanol también glicerol, D-gluconato sódico y acetato de cocamidopropildimetilamonio en disolución acuosa.

La actividad bacteriostática y actividad previsor de la placa dental del dihidrocloruro de octenidina se describe en el documento DE 27 08 331 C2. El documento EP 0 411 315 A1 describe una composición antiséptica acuosa que es adecuada en particular como antiséptico de la mucosa y para el tratamiento de heridas y comprende dihidrocloruro de octenidina más fenoxietanol y/o fenoxipropanol. El documento DE 102 05 883 A1 se refiere a un antiséptico acuoso que puede ajustarse a isotonicidad y comprende dihidrocloruro de octenidina.

La excelente actividad antimicrobiana del dihidrocloruro de octenidina frente a un gran número de microbios se demuestra en numerosos estudios. Un factor de reducción de 5 unidades decimales se alcanza incluso con concentraciones de >0,001% de dihidrocloruro de octenidina (es decir, 1/100 de la concentración del ingrediente activo en Octenisept®) en 1 min. Aunque la citotoxicidad del ingrediente activo en las concentraciones necesaria para la actividad es baja, está presente incluso a concentraciones mayores que 0,001% en peso de dihidrocloruro de octenidina. Así que hay límites en el uso de dihidrocloruro de octenidina, por ejemplo, en heridas crónicas.

Era así un objeto de esta invención desarrollar preparados basados en dihidrocloruro de octenidina que – mientras retienen la actividad – tienen claramente mejor tolerabilidad. Se pretendía específicamente alcanzar una mejora en el intervalo terapéutico, una reducción en el riesgo de los efectos secundarios locales y una aceptación claramente mejorada para el usuario.

Ahora ha surgido sorprendentemente que el objeto se alcanza mediante el uso de liposomas que comprenden fosfolípidos para la fabricación de un preparado antimicrobiano que comprende dihidrocloruro de octenidina encapsulada en liposomas, para reducir la citotoxicidad del preparado.

La invención se basa entre otros, en el descubrimiento de que se alcanza una reducción igual en los microbios – en comparación con una disolución de dihidrocloruro de octenidina – a través de interacciones de dihidrocloruro de octenidina con, por ejemplo, liposomas de fosfolípido, mientras la citotoxicidad se disminuye enormemente en comparación con la disolución. Así que, el dihidrocloruro de octenidina unido a o en liposomas da por resultado preparados muy bien tolerados según la invención.

Preparado

Los preparados preferidos según la invención están en forma de disolución, dispersión, crema (crema Ac/Ag, Ag/Ac, Ac/Ag/Ac, Ag/Ac/Ag o ambifílica), pomada o supositorio. El contenido de dihidrocloruro de octenidina es preferiblemente de 0,001 a 5% en peso, más preferiblemente de 0,003 a 1% en peso, en particular de 0,005 a 0,1% en peso, tal como, por ejemplo, 0,01 a 0,06% en peso, en cada caso en base al preparado completo. Además del dihidrocloruro de octenidina encapsulado en los liposomas, el preparado según la invención puede comprender dihidrocloruro de octenidina adicional, que, por ejemplo, se adsorbe en los liposomas. La cantidad de dihidrocloruro de octenidina encapsulado en liposomas es preferiblemente al menos 20% en peso, más preferiblemente al menos 30% en peso, en particular al menos 50% en peso, es decir, 70% en peso, en base a la cantidad total de dihidrocloruro de octenidina presente en el preparado.

Es posible según la invención para el preparado donde sea apropiado incluir ingredientes activos adicionales que suplementan la actividad de dihidrocloruro de octenidina y pueden emplearse, si se combinan con dihidrocloruro de octenidina, en una concentración claramente más baja que en productos comerciales conocidos.

Formas de dosificación adecuadas son semisólidas:

5 Pomadas (lat. unguenta) son preparados extensibles que están previstas para usar en la piel mediante aplicación o frotándolos. Consisten en una o más bases de pomada (tal como petrolato, grasa de lana, lanolina, etc.) en que se incorpora el ingrediente activo. El ingrediente activo debería disolverse o dispersarse muy finamente. Para aumentar la solubilidad, las pomadas a menudo comprenden agua o aceites. Sin embargo, el contenido de grasa/aceite en una pomada es mayor que el contenido en agua.

10 Cremas son muy parecidas a las pomadas aunque el contenido en agua en ellas es mayor que el contenido de grasa/aceite.

CreSa es una denominación corta para una combinación de crema y pomada.

15 La viscosidad de las pomadas y cremas fabricadas en la invención es generalmente de 500 a 15.000 mPa.s, preferiblemente 1000 a 10.000 mPa.s, medido con un viscosímetro rotacional a 95 s^{-1} y 20°C (por ejemplo, del tipo RV20, System M5, unidad de medida SV1, de Thermo Haake).

Pasta es la denominación para pomadas en que los ingredientes en forma de polvo (por ejemplo, óxido de zinc, talco, etc.) se dispersan en gran cantidad. Las pastas no comprenden agua y, por la gran proporción de polvos, son esencialmente más firmes que las pomadas.

20 Los geles hidroalcohólicos (hidrogeles) se valoran por su transparencia y características no grasas. Los geles lipofílicos (oleogeles) se emplean igualmente por su apariencia estética y sus propiedades que confieren consistencia. Los geles están previstos predominantemente para uso externo y apenas se aplicarían.

Un hidrogel es una composición normalmente traslúcida que se fabrica con la ayuda de gelatina, tragacanto, Carbopol o agentes de hinchado parecidos con la adición de agua y glicerol. Tienen un efecto refrigerante a través de la evaporación del agua.

25 Los geles lipofílicos incluyen una fase lipofílica. Los formadores de la matriz empleados, además de homólogos de mayor peso molecular de la fase de lípido, son además bentonitas órgano-modificadas (Benton[®]) y dióxido de silicio coloidal.

30 Emulsión significa preparados que consisten en líquidos inmiscibles, por ejemplo, aceite y agua. Se hace una distinción entre emulsiones Ag/Ac (agua en aceite) o Ac/Ag (aceite en agua) y emulsiones ambifílicas. Las últimas deben agitarse de forma vigorosa antes del uso. La adición de un emulsificador hace posible para los líquidos distribuirse de forma extremadamente fina el uno en el otro, y las emulsiones son así estables, es decir, el aceite y el agua no se separan de nuevo. Dependiendo del modo de aplicación, las emulsiones están previstas para uso interno o externo. Las emulsiones para uso externo se denominan frecuentemente como lociones. Esta toma la forma de una emulsión de aceite en agua.

35 CreLo significa una combinación de crema y loción.

40 Supositorios (lat. suppositoria) son preparados farmacéuticos de dosis unitaria que tienen diversas formas y están previstos para la introducción en el recto y allí repartir el ingrediente activo después de la fusión o disolución. Consisten en una grasa dura (por ejemplo, Stadimol) o polietilenglicol, en que se incorpora el ingrediente activo con entrada de calor. Esta composición caliente se vierte entonces en moldes. Los supositorios de grasa dura son sensibles al calor y por lo tanto no deberían almacenarse nunca por encima de 25°C . Un tamaño de supositorio normal para adultos es aproximadamente de 2 g y para niños aproximadamente 1 g. Los supositorios deberían introducirse lo mejor después de la defecación y en posición supina. La introducción puede facilitarse mojando previamente el supositorio en agua. El frotamiento en cremas o pomadas debería evitarse porque perjudica la actividad de los supositorios.

45 Los supositorios a introducir en la vagina se diferencian en supositorios vaginales y pesarios vaginales (lat. ovulum). Los supositorios vaginales son parecidos en fabricación y composición básica a los supositorios "normales". Los pesarios vaginales consisten principalmente en gelatina, agua y glicerol y tienen una forma esférica. El peso de ambas formas de dosificación es aproximadamente 3 g. La aplicación tendría lugar cuando sea posible en la tarde y en la posición supina. En este caso también, las cremas deberían obviarse para la introducción. Un auxiliar de introducción se suministra por el fabricante junto con diversos supositorios. El almacenaje por debajo de 25°C también es importante aquí.

50 Ejemplos de formas de dosificación son (datos en % en peso):

I. Crema

3 a 20% contenido en grasa, preferiblemente 3 a 20% de triglicéridos de cadena media

0,5 a 10% humectantes tales como glicerol, propilenglicol, preferiblemente 0,5 a 10% de glicerol,

5 1 a 10% emulsificador, preferiblemente 1 a 10% de monoéster de glicerol, diéster de glicerol, particularmente preferiblemente 1 a 10% de monoestearato de glicerol,

dihidrocloruro de octenidina, fosfatidilcolina con radicales acilo derivados de ácidos grasos saturados;

II. crema Ac/Ag

5 a 20% contenido en grasa, preferiblemente 5 a 20% de octildodecanol

10 0,5 a 10% humectantes tales como glicerol, propilenglicol, 1,2-pentanodiol (pentilenglicol), particularmente preferiblemente 0,5 a 10% de pentilenglicol,

dihidrocloruro de octenidina, fosfatidilcolina con radicales acilo derivados de ácidos grasos saturados;

III. Hidrogel

0,5 a 10% humectantes tales como glicerol, propilenglicol, particularmente preferiblemente 0,5 a 10% de propilenglicol,

15 0,05 a 2% aglutinantes, preferiblemente 0,05 a 2% de carboxilatos, particularmente preferiblemente 0,05 a 2% de polímero de carboxivinilo sódico,

Dihidrocloruro de octenidina, fosfatidilcolina con radicales acilo derivados de ácidos grasos saturados;

IV. Micelas mezcladas

20 5 a 30% emulsificador no iónico, preferiblemente 5 a 30% de éster de sorbitano, particularmente preferiblemente 5 a 30% de monolaurato de polioxietilen-sorbitano tal como, por ejemplo, polisorbato 20

Dihidrocloruro de octenidina, fosfatidilcolina con radicales acilo derivados de ácidos grasos,

Los preparados fabricados en la invención pueden emplearse, por ejemplo, para las siguientes indicaciones:

1. Tratamiento de heridas

25 En una primera realización, el preparado fabricado en la invención se emplea para el tratamiento de heridas. Esto conlleva preferiblemente la elección de una formulación libre de emulsificador que comprende una gran extensión de factores de humedad (por ejemplo, un gel).

2. Dermatítides atópicas y eczemas infectados

30 Una formulación de un preparado que comprende dihidrocloruro de octenidina para usar según la invención para el tratamiento de eczemas infectados es preferiblemente, según el tipo de piel, una emulsión de aceite en agua (Ac/Ag), agua en aceite (Ag/Ac) o ambifilica (cremas).

3. Dermatomicosis

Los geles y cremas se usan preferiblemente como formulación para el preparado semisólido para el tratamiento de micosis.

35 4. Infecciones vaginales

Formas de dosificación adecuadas y preferidas para el tratamiento de infecciones vaginales son cremas y supositorios. El dihidrocloruro de octenidina en preparados de estos tipos presenta un efecto particularmente ventajoso porque es activo tanto frente a los hongos como frente a las bacterias, y el uso de dos productos diferentes es innecesario.

40 **Liposomas**

Los liposomas son estructuras esféricas (diámetro 25 nm a 1 µm) compuestas de una o más bicapas lipídicas concéntricas con interior acuoso (vesícula de lípido). Las vesículas de este tipo pueden fabricarse mediante dispersión mecánica muy fina, por ejemplo, de fosfolípidos tales como fosfatidilcolina (lecitina) en medios acuosos. Un diámetro preferido de los liposomas en esta conexión es de 50 a 400 nm.

5 La cantidad de sustancia que forma el liposoma, en particular fosfatidilcolina, está preferiblemente en el intervalo de 0,1 a 30% en peso, preferiblemente 0,5 a 20% en peso, en particular 1 a 10% en peso, por ejemplo 3 a 8% en peso, en base al preparado completo. Los preparados preferidos en esta conexión son aquellos donde los liposomas se forman a partir de fosfolípido (glicerol), preferiblemente fosfatidilcolina (lecitina). Los radicales acilo de la fosfatidilcolina pueden derivarse de ácidos grasos saturados o insaturados.

10 Los preparados fabricados en la invención pueden fabricarse mediante procedimientos conocidos en el estado de la técnica. Los liposomas se forman típicamente de forma espontánea a alta cizalladura a partir de una disolución acuosa, por ejemplo de los fosfolípidos, por encima de la temperatura de transición. El procedimiento en esta conexión puede ser, como se muestra en los ejemplos, mezclar agua (o una disolución acuosa de otro ingrediente del preparado) a temperatura elevada (por ejemplo aproximadamente 70°C) con fosfolípido y dihidrocloruro de octenidina, y después homogeneizar esta mezcla.

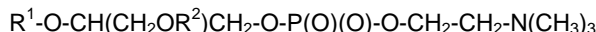
En una realización adicional, la invención se refiere así a dicho procedimiento.

Las ventajas de la invención son evidentes, en particular a partir de los siguientes ejemplos. Todos los datos de porcentaje en este documento están basados en peso.

15 **Ejemplos**

Materiales usados

1,2-Diacil-*sn*-glicero-3-fosfatidilcolinas (lecitinas)



Phospholipon® 90 G

20 $R^1, R^2 =$ radicales acilo de ácidos grasos

Fórmula molecular promedio $C_{43}H_{87}NO_8P$

Peso molecular promedio 775,5 g/mol

Phospholipon® 90 H

$R^1, R^2 =$ radicales acilo de ácidos grasos saturados

25 Fórmula molecular promedio $C_{43}H_{95}NO_8P$

Peso molecular promedio 784,6 g/mol

Preparado "monoproducto de octenidina"

Dihidrocloruro de octenidina 0,10%

Glicerol al 85% 2,85%

30 Agua 97,05%

Preparado 1 según la invención (dispersión)

Dihidrocloruro de octenidina 0,05%

Phospholipon® 90 H 6,00%

Agua 93,95%

35 Las dos concentraciones adicionales (0,025% y 0,0125%) se prepararon por dilución con agua.

Ejemplo 1: Retención de actividad (ensayo de suspensión cuantitativa)

Método

40 La actividad bactericida y fungicida se determinó en el ensayo de suspensión cuantitativa con alta carga de proteína ("condiciones sucias") como se especifica en los métodos estándar del Deutsche Gesellschaft für Hygiene and Mikrobiologie e.V. para el ensayo de métodos de desinfección química (fecha: 1 de septiembre de 2001). Por razones metodológicas, los productos listos para usar pueden ensayarse solo en concentraciones de $\leq 80\%$.

Organismos de ensayo

Staphylococcus aureus ATCC 6538

Escherichia coli ATCC 10538

Resultados:

Producto de ensayo	Concentración de dihidrocloruro de octenidina	1 g de factor de reducción			
		E. coli		S. aureus	
		30 min	60 min	30 min	60 min
Monoproducto de octenidina	0,05%	>6	>6	>6	>6
	0,025%	>6	>6	>6	>6
	0,0125%	>6	>6	>6	>6
Preparado 1	0,05%	>6	>6	>6	>6
	0,025%	>6	>6	>6	>6
	0,0125%	>6	>6	>6	>6

5

Ejemplo 2: Preparados adicionales según la invención con hidrocloreuro de octenidina liposomal.

I. Crema con Phospholipon® 90 H y dihidrocloruro de octenidina

6,00% Phospholipon® 90 H

0,05% dihidrocloruro de octenidina

10 10,00% triglicéridos de cadena media, al menos 95% de ácidos grasos saturados con 8 a 10 átomos de carbono (Miglyol 810)

5,00% glicerol al 100%

0,50% α-DL-tocoferol

5,00% monoestearato de glicerol

15 70,45% agua, desmineralizada

a. Calentar agua a 70°C. Añadir Phospholipon® 90 H y dihidrocloruro de octenidina y agitar. Después homogeneizar a la máxima configuración durante 30 min.

20 b. Mezclar Miglyol 810, glicerol, tocoferol y monoestearato de glicerol y calentar a 40°C. Añadir fase de grasa, homogeneizando con una velocidad intermedia. Entonces emulsionar a la máxima configuración durante 2 min. Agitar la crema hasta que esté fría mientras se homogeneiza brevemente a intervalos a velocidad intermedia.

Esta formulación se preparó en un reactor de laboratorio IKA L 1000 con agitador en ancla (= 100 rpm) y Ultra-Turrax T25 (13 500-24 000 rpm).

II. Crema Ac/Ag con Phospholipon® 90 H y dihidrocloruro de octenidina

6,00% Phospholipon® 90 H

25 0,05% dihidrocloruro de octenidina

15,00% octildodecanol

0,50% α-DL-tocoferol

5,00% pentilenglicol

73,45% agua, desmineralizada

a. Calentar agua a 70°C. Añadir Phospholipon® 90 H y dihidrocloruro de octenidina y agitar. Después homogeneizar a la máxima configuración durante 30 min.

- 5 b. Añadir en mezcla octildodecanol, tocoferol y pentilenglicol, homogeneizando a velocidad intermedia. Posteriormente emulsionar a la máxima disposición durante 10 min. Agitar la crema hasta que esté fría mientras se homogeneiza brevemente a intervalos a velocidad intermedia.

Esta formulación se preparó en un reactor de laboratorio IKA L 1000 con agitador en ancla (= 100 rpm) y Ultra Turrax T25 (13 500- 24 000 rpm).

III. Hidrogel con Phospholipon® 90 H y dihidrocloruro de octenidina.

- 6,00% Phospholipon® 90 H
 10 0,05% dihidrocloruro de octenidina
 5,00% propilenglicol
 0,20% polímero de carboxivinilo de sodio (Pionier® NP37G)
 88,75% agua, desmineralizada

- 15 a. Calentar agua a 70°C. Añadir Phospholipon® 90 H y dihidrocloruro de octenidina y agitar. Después homogeneizar a la máxima disposición durante 30 min.

b. Mezclar propilenglicol y Pionier® NP37G y añadir. Homogeneizar mediante agitación hasta que el gel esté completamente hinchado.

Esta formulación se preparó en un reactor de laboratorio IKA L 1000 con agitador en ancla (= 100 rpm) y Ultra-Turrax T25 (13 500-24 000 rpm).

- 20 IV. Micelas mezcladas con Phospholipon® 90 G y dihidrocloruro de octenidina

- 4,00% Phospholipon® 90 H
 0,05% dihidrocloruro de octenidina
 0,30% cloruro sódico
 20,00% polisorbato 20
 25 2,00% disolución de NaOH al 10% de fortaleza
 73,65% agua, desmineralizada

a. Introducir agua en un vaso de precipitados de cristal y disolver cloruro sódico en él. Añadir Phospholipon® 90 G y polisorbato 20 y dispersar completamente.

- 30 b. Añadir disolución de NaOH al 10% de fortaleza y agitar hasta que resulte una disolución clara. El pH debe ser aproximadamente 10,0. Añadir entonces el dihidrocloruro de octenidina y agitar hasta que la disolución esté completa. Las micelas mezcladas se filtran finalmente (0,2 µm). El pH es aproximadamente 7-8.

Esta formulación puede prepararse en un vaso de precipitados de cristal mediante una simple técnica de agitación.

Ejemplo 3: Baja citotoxicidad de los preparados según la invención

- 35 Las células de ensayo usadas para las investigaciones de citotoxicidad in vitro fueron fibroblastos de ratón de la línea celular L929 (ATCC CCL1). La evaluación tuvo lugar con la ayuda de dos métodos espectrofotométricos distintos. Con la preparación comparativa, el 50% de las células de ensayo no fueron fundamentales después de la exposición a 32,0 µg/ml (método 1) y 41,3 µg/ml (método 2) durante 30 minutos. El preparado según la invención mostró meramente una citotoxicidad de menos que 20% incluso a la mayor concentración posible en el ensayo, de 250 µg/ml de dihidrocloruro de octenidina.

REIVINDICACIONES

1. El uso de liposomas que comprenden fosfolípidos para la fabricación de un preparado antimicrobiano que comprende dihidrocloruro de octenidina encapsulado en liposomas, para reducir la citotoxicidad del preparado.
- 5 2. El uso según la reivindicación 1, caracterizado por que el preparado está en forma de una disolución, dispersión, gel, crema, pomada o supositorio.
3. El uso según la reivindicación 1 o reivindicación 2, caracterizado por que el preparado comprende de 0,001 a 5% en peso, preferiblemente de 0,003 a 1% en peso, más preferiblemente de 0,005 a 0,1% en peso, en particular de 0,01 a 0,06% en peso, de dihidrocloruro de octenidina en base al preparado.
- 10 4. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que los liposomas comprenden fosfatidilcolina.
5. El uso según la reivindicación 4, caracterizado por que la cantidad de fosfolípido es de 0,1 a 30% en peso, preferiblemente de 0,5 a 20% en peso, en particular de 1 a 10% en peso, por ejemplo de 3 a 8% en peso, en base al preparado completo.
- 15 6. El procedimiento para la fabricación del preparado antimicrobiano según la reivindicación 1, en el que se mezcla agua a elevada temperatura con fosfolípido y dihidrocloruro de octenidina, y esta mezcla se homogeneiza después.