

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 566 932**

51 Int. Cl.:

**A01N 25/04** (2006.01)  
**A61K 9/107** (2006.01)  
**A61K 9/70** (2006.01)  
**A61K 47/24** (2006.01)  
**A61K 47/44** (2006.01)  
**A01N 47/44** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.03.2011 E 11710784 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2552195**

54 Título: **Emulsión de aceite en agua antimicrobiana**

30 Prioridad:

**26.03.2010 DE 102010013081**

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

**18.04.2016**

73 Titular/es:

**B. BRAUN MELSUNGEN AG (100.0%)**  
**Carl-Braun-Strasse 1**  
**34212 Melsungen, DE**

72 Inventor/es:

**SCHMITT, JÜRGEN;**  
**HENRICH, YANG;**  
**ARNDT, ANDREAS;**  
**BRILL, FLORIAN, H.H.;**  
**KRAMER, AXEL;**  
**MÜLLER, GERALD;**  
**LADEMANN, OLAF;**  
**SIPPEL, MARTIN;**  
**RIEMANN, THOMAS y**  
**WEISS, ANDRÉ**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 566 932 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**

Emulsión de aceite en agua antimicrobiana

La invención se refiere a una emulsión de aceite en agua antimicrobiana, a una preparación farmacéutica así como a un antiséptico. Además, la invención se refiere al uso de la emulsión de aceite en agua antimicrobiana en productos para el tratamiento de heridas.

El clorhidrato de polihexametilenbiguanidinio (citado a continuación como polihexanida o también PHMB) es aplicable como antiséptico local que presenta un amplio espectro de actividad y una buena tolerabilidad. Son obtenibles comercialmente soluciones de PHMB listas para aplicación para el tratamiento de heridas con los nombres Lavasept® (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania), Lavanid® (Serag-Wiessner KG, Naila, Alemania) y Prontosan® (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania). Se hace referencia al principio activo PHMB contenido en preparados listos para usar en forma de solución acuosa al 20 % como Cosmocil® a distintos grados de calidad en ARCH Chemicals, Inc. (EE.UU.).

Se lleva a cabo la antisepsia cutánea preoperatoria según el estado de la técnica con soluciones alcohólicas puras, con soluciones alcohólicas con adición de principios activos residuales como diclorhidrato de octenidina o también con soluciones acuosas de povidona-yodo. Los análisis de la distribución bacteriana en la piel humana han mostrado que la mayoría de las bacterias reside en los folículos pilosos. Justo aquí, la antisepsia cutánea preoperatoria resulta insuficiente según el estado de la técnica, puesto que los antisépticos cutáneos utilizados penetran solo levemente en los folículos pilosos y se llega por tanto a una rápida recolonización de la piel en la zona de operación.

El PHMB es un principio activo polimérico catiónico antimicrobiano que se une a la superficie de la membrana citoplasmática de microorganismos y conecta los grupos de cabeza fosfolipídicos adyacentes por un puente, realizándose la unión preferiblemente en fosfolípidos ácidos/aniónicos. Así, se eleva la permeabilidad de la membrana celular y se causa la muerte celular de los microorganismos mediante la elevada pérdida ligada a ello de iones de potasio e hidrógeno, así como de componentes citoplasmáticos.

Sin embargo, es desventajoso en el uso de soluciones de PHMB para antiséptico de mucosa y heridas que, además del efecto microbicida deseado, tiene lugar una interacción comparable con los fosfolípidos de las células de hombres y animales, que causa entonces una reacción citotóxica indeseada.

Una posibilidad de minimizar los efectos citotóxicos indeseados consiste en general en encapsular el principio activo antimicrobiano en liposomas.

Una posibilidad de reducir este efecto indeseado consiste además en elegir la composición de la membrana liposómica de modo que se logre una interacción específica con la membrana citoplasmática o con constituyentes de los microorganismos, para que el principio activo liposómico encapsulado se transfiera directamente a los microorganismos.

Los documentos DE 10 2005 045 146 A1 y DE 10 2005 063 375 A1 describen preparaciones en las que el diclorhidrato de octenidina se presenta encapsulado en liposomas. Ya que los liposomas contienen en general fosfolípidos y lípidos con los que interaccionan las biguanidas como PHMB, puede suponerse que los liposomas cargados con PHMB ya no son activos antimicrobianos. Así, en el documento DE 10 2006 015 271 A1 se proporcionan evidencias de que los liposomas cargados con PHMB se desestabilizan, y además se realiza una rápida inactivación del PHMB en presencia de fosfolípidos con grupos de cabeza aniónicos y otras sustancias aniónicas.

El documento DE 10 2006 015 271 intenta resolver este problema describiendo preparaciones antisépticas basadas en un principio activo incluido (encapsulado) en liposomas en las que los liposomas no contienen fosfolípidos con grupos de cabeza aniónicos, presentan en su interior un medio acuoso y contienen en el medio acuoso al menos un principio activo antimicrobiano del grupo de las biguanidas. Además de la costosa fabricación en varias etapas de los liposomas con presencia simultánea del principio activo, estas formulaciones muestran otro problema, a saber, que los liposomas con el principio activo encapsulado se degradan después de su aplicación, y que el PHMB encapsulado en los liposomas se libera y actúa entonces de forma análoga al PHMB no encapsulado en liposomas.

El documento DE 10 2007 030 931 describe el empleo de fosfolípidos como principio activo nutritivo en preparaciones para el tratamiento de heridas, que contienen simultáneamente sustancias activas antimicrobianas. Sin embargo, estas formulaciones no se presentan como emulsión de aceite en agua y no proporcionan tampoco evidencias de cómo puede reducirse la citotoxicidad inmanente del principio activo antimicrobiano.

El documento WO02/055055 describe formulaciones cosméticas que pueden presentarse como emulsiones de aceite en agua. Se da a conocer la clorhexidina como agente antibacteriano aromático en los ejemplos.

Las biguanidas aromáticas, como por ejemplo clorhexidina, se diferencian de las biguanidas alifáticas, como por ejemplo PHMB, por sus mecanismos de acción, que se originan entre otros por distintas interacciones con los fosfolípidos de la membrana plasmática de microorganismos (Gilbert P y Moore LE., "Cationic antiseptics: diversity of

action under a common epithet". *J. Appl. Microbiol.* 99 (2005) 703-715). La consecuencia es que los principios activos se comportan en principio diferentemente.

5 Se ha encontrado ahora sorprendentemente que los fosfolípidos que emulsionan en gotitas de aceite y forman por tanto una monocapa (los liposomas forman bicapas) se unen tanto a clorhexidina como a PHMB. Dicha unión se había excluido hasta ahora (Ikeda T, Ledwith A, Bamford CH, Hann RA, "Interaction of polymeric biguanide biocide with phospholipid membranes. 1. Fluorescence depolarization studies on the effect of polymeric biocide bearing groups in the main chain". *Biochim. Biophys. Acta* 769 (1984), 57-66). A diferencia de la clorhexidina, el PHMB unido permanece como antimicrobiano activo y la clorhexidina se inactiva por esta unión.

10 Era objetivo de la presente invención poner a disposición preparaciones basadas en guanidas y biguanidas que, conservando la actividad microbicida, posean una tolerabilidad claramente mejorada, es decir, una citotoxicidad baja o nula. Además, era objetivo de la presente invención poner a disposición una preparación antimicrobiana que sea capaz de transportar el principio activo antimicrobiano a los folículos pilosos de la piel humana, para desplegar allí su efecto.

15 Sorprendentemente, se han conseguido los objetivos anteriormente citados mediante una emulsión antimicrobiana de aceite en que presenta

- a) de 0,005 a 0,2 % en peso de al menos un componente alifático que presenta uno o varios grupos guanida y/o biguanida,
- b) al menos un fosfolípido y
- 20 c) al menos un componente oleoso, en la que la relación en peso de componente a) a componente b) es de 1:4 a 1:40.

25 La emulsión de aceite en agua según la invención posee un efecto microbicida notable, pero muestra simultáneamente solo una citotoxicidad muy baja. Las emulsiones de aceite en agua antimicrobianas según la invención son adecuadas por tanto para la terapia y profilaxis de infecciones en el campo de la medicina humana y veterinaria y particularmente para aplicación en regiones del cuerpo conocidamente sensibles, p.ej., para la profilaxis y terapia de peritonitis y/o el lavado de otras cavidades corporales, incluyendo vejiga así como las cavidades bucal y nasal.

Las emulsiones de aceite en agua sirven como sustancias portadoras que mantienen unido el principio activo, como el componente de guanida y/o biguanida, y por ello neutralizan la interacción del principio activo antimicrobiano con células de mamífero y humanas.

30 Las nanopartículas de la emulsión de aceite en agua simulan sorprendentemente células de mamífero y humanas "fantasma", que por ello se convierten en diana de los componentes de guanida y/o biguanida y reducen por tanto la interacción del principio activo antimicrobiano con células de mamífero y humanas. Así, se consigue la interacción preferida del componente de guanida y/o biguanida con los fosfolípidos de las membranas citoplasmáticas de los microorganismos. Sorprendentemente, se llega como resultado a un efecto microbicida selectivo.

35 Es un constituyente esencial de la emulsión de aceite en agua antimicrobiana según la presente invención un componente oleoso (componente c)).

#### Componente c)

40 En principio, es adecuado para las emulsiones de aceite en agua antimicrobianas cualquier componente oleoso, pero se prefieren componentes oleosos de origen natural. Son componentes oleosos especialmente preferidos los triglicéridos que portan restos de ácido graso. Se probado especialmente ventajoso, particularmente respecto a la tolerabilidad fisiológica, cuando el componente oleoso comprende un triglicérido de cadena media (TCM). Preferiblemente, el triglicérido de cadena media presenta una estructura que es glicerina que está esterificada con ácidos grasos que presentan de 6 a 14 átomos de carbono. Se prefiere especialmente un triglicérido de cadena media, una glicerina, que está esterificado con ácidos grasos compuestos por al menos un 90 % en moles de ácido caprílico (C<sub>8</sub>) y ácido cáprico (C<sub>10</sub>).

Además, se prefiere utilizar como componentes oleosos aceites vegetales. Son especialmente adecuados para las emulsiones de aceite en agua antimicrobianas de la presente invención los aceites vegetales seleccionados del grupo compuesto por aceite de soja y aceite de cártamo o mezclas de los mismos.

50 Se ha mostrado también que las mezclas de distintos aceites muestran ventajas. Así, por ejemplo, la mezcla de triglicérido de cadena media y aceite vegetal adicional, particularmente aceite de soja y/o aceite de cártamo, es especialmente tolerable fisiológicamente y muestra un espectro de actividad óptimo. En una forma de realización preferida, la relación en peso de triglicérido de cadena media a aceite vegetal se encuentra de 1:10 a 10:1, preferiblemente de 5:1 a 1:5, más preferiblemente de 2:1 a 1:2, con especial preferencia de 1,5:1 a 1:1,5 y especialmente a 1:1.

La emulsión de aceite en agua antimicrobiana comprende el componente oleoso habitualmente en una cantidad de 1 a 30 % en peso, preferiblemente de 2 a 20 % en peso, particularmente de 4 a 15 % en peso y especialmente de 5 a 10 % en peso, referida respectivamente al peso total de la emulsión.

5 Como otros componentes esenciales, las emulsiones de aceite en agua comprenden al menos un fosfolípido (componente b)).

**Componente b)**

Los fosfolípidos son lípidos anfífilos que contienen fósforo. Participan en el organismo como lípidos de membrana en la síntesis de la doble capa lipídica de una biomembrana, Constan de una cabeza hidrófila y dos colas hidrocarbonadas hidrófobas.

10 Según la invención, el componente b) es un fosfolípido que se selecciona habitualmente del grupo compuesto por fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol y esfingomiolina, así como cualquier mezcla de las mismas.

Con especial preferencia, el componente b) es una lecitina que procede particularmente de soja y/o huevos.

15 Lecitina es el nombre clásico para un grupo de compuestos químicos, las denominadas fosfatidilcolinas. A este respecto, se trata de lípidos, más exactamente de fosfolípidos, que constan de ácidos grasos, glicerina, ácido fosfórico y colina. Las lecitinas son constituyentes de la membrana celular de los seres vivos animales y vegetales.

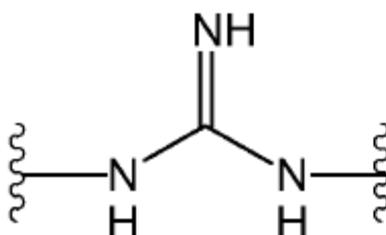
En una forma de realización especialmente preferida, el componente b) utilizado según la invención presenta lecitina que está esterificada con ácidos grasos naturales.

20 Según la invención, las emulsiones de aceite en agua contienen el componente b) habitualmente en una cantidad de 0,1 a 5 % en peso, preferiblemente de 0,2 a 2,5 % en peso, más preferiblemente de 0,3 a 1,5 % en peso y particularmente de 0,4 a 1,2 % en peso, referida respectivamente al peso total de la emulsión.

25 Es otro constituyente esencial de la emulsión de aceite en agua antimicrobiana según la invención el componente que presenta uno o varios grupos guanida o biguanida (componente a)). En el componente a), se trata de un componente alifático, es decir los componentes no presentan un sistema de anillo aromático. "Alifático" en el marco de la presente invención comprende también sistemas cicloalifáticos o también heterocíclicos, siempre que estos no presenten sistemas de anillo aromático.

**Componente a)**

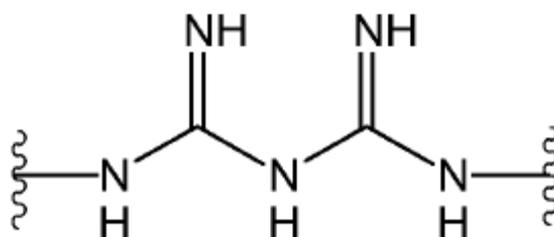
En el marco de la presente invención, se trata de un componente que presenta un grupo guanida, cuando el componente presenta en su estructura química el siguiente elemento estructural:



30

A continuación, se designan estos componentes simplifadamente como "guanida" o "guanidas".

Ha de entenderse por componentes que presentan un grupo biguanida aquellos compuestos químicos que presentan el siguiente elemento estructural:



35 A continuación, se designan estos componentes simplifadamente como "biguanida" o "biguanidas".

5 Las guanidas y biguanidas son conocidas como principios activos antimicrobianos en el estado de la técnica. Las guanidas y biguanidas pueden utilizarse como monómeros o preferiblemente como polímeros, o sea como poliguanida y/o polibiguanida. Las guanidas y/o biguanidas se presentan en una forma de realización preferida como sales hidrosolubles fisiológicamente aceptables. Con especial preferencia, las guanidas y biguanidas se presentan como halogenohidratos, por ejemplo clorhidrato o bromhidrato. Se prefieren también los hidróxidos, que son obtenibles por ejemplo mediante intercambio aniónico básico con los correspondientes halogenohidratos.

En una forma de realización especialmente preferida, la biguanida utilizada según la invención es una biguanida polimérica, que presenta con especial preferencia un peso molecular medio de 500 a 20.000 g/mol, más preferiblemente de 1.000 a 15.000 g/mol y particularmente de 1.600 a 10.000 g/mol.

10 En el marco de la presente invención, es especialmente preferido como componente a) la polihexametilenbiguanida y particularmente el clorhidrato, a saber clorhidrato de polihexametilenbiguanidinio (PHMB). Pero pueden utilizarse preferiblemente también mezclas de polihexametilenbiguanida y clorhidrato de polihexametilenbiguanidinio.

15 Sorprendentemente, se ha mostrado también que son especialmente adecuados los componentes a) (principios activos antimicrobianos) que son obtenibles mediante policondensación de una sal de adición de ácido de guanidina con una mezcla de aminas que contiene al menos una diamina y/o una triamina, seleccionándose preferiblemente al menos una amina del grupo compuesto por

- i) una diamina que presenta al menos un resto cicloalifático, y
- ii) una dialquilentriamina.

20 La policondensación puede llevarse a cabo así por ejemplo a temperaturas de 100 a 180 °C, preferiblemente de 130 a 160 °C, durante un periodo de preferiblemente 30 minutos a 6 horas.

Los principios activos antimicrobianos poliméricos u oligoméricos así obtenidos pueden presentarse tanto como homopolímeros como copolímeros. Es ventajoso a este respecto cuando la sal de adición de ácido de guanidina es clorhidrato de guanidinio. Pero son igualmente adecuadas otras sales de adición de ácido de guanidina basadas en ácidos inorgánicos u orgánicos. Son ejemplos hidróxidos, hidrogenosulfatos así como acetatos.

25 Estos principios activos antimicrobianos se caracterizan por una capacidad biocida especialmente alta y son por tanto especialmente adecuados para las emulsiones de aceite en agua según la invención.

Se prefieren los principios activos antimicrobianos obtenibles mediante policondensación de una sal de adición de ácido de guanidina con una mezcla de aminas que contiene al menos una diamina y/o una triamina, seleccionándose al menos una amina del grupo compuesto por

- 30 i) una diamina que presenta al menos un resto cicloalifático, y
- ii) una dialquilentriamina.

Los principios activos poliméricos u oligoméricos obtenibles mediante policondensación presentan en este sentido preferiblemente una estructura de poliguanidina o, particularmente en el caso de empleo de dialquilentriaminas, por ejemplo dietilentriamina, una estructura de poli(iminomidazolidina).

35 En una configuración preferida de la presente invención, la mezcla de aminas comprende el componente i) (diamina que presenta al menos un resto cicloalifático) y/o el componente ii) (dialquilentriamina) en una cantidad de al menos 10 % en moles, preferiblemente de al menos 25 % en moles, más preferiblemente de al menos 45 % en moles, particularmente de al menos 85 % en moles, especialmente de al menos 95 % en moles, referida respectivamente a la mezcla de aminas total.

40 Preferiblemente, la mezcla de aminas comprende adicionalmente una alquilendiamina que es con especial preferencia un compuesto de fórmula general



45 en que n es un número entero entre 2 y 10, preferiblemente 4 o 6. Las alquilendiaminas utilizadas preferiblemente portan grupos amino terminales. Se prefiere especialmente la hexametildiamina (hexano-1,6-diamina). La alquilendiamina puede utilizarse en la reacción de policondensación en mezcla con otras diaminas o triaminas, seleccionándose al menos una amina del grupo compuesto por

- i) una diamina que presenta al menos un resto cicloalifático, y
- ii) una dialquilentriamina,

50 preferiblemente seleccionada del grupo compuesto por 4,4'-metilenbis(ciclohexilamina) y/o dietilentriamina con formación de copolímeros.

Preferiblemente, la mezcla de aminas puede comprender además oxialquilendiaminas.

Son adecuadas como oxialquilendiaminas particularmente aquellas oxialquilendiaminas que presentan grupos amino terminales. Es una oxialquilendiamina preferida un compuesto de fórmula general



5 en que n es un número entero entre 2 y 6, preferiblemente entre 2 y 5, más preferiblemente entre 2 y 4 y particularmente 2. Se prefieren polioxietilendiaminas, en especial trietilenglicoldiamina. Más preferiblemente, pueden utilizarse polioxipropilendiaminas, particularmente dipropilenglicoldiamina o tripropilenglicoldiamina.

10 En una forma de realización preferida, el principio activo polimérico u oligomérico se presenta como homopolímero. En estos casos, la mezcla de aminas está compuesta por una diamina que presenta al menos un resto cicloalifático, o por una dialquilentriamina.

En otra forma de realización preferida, la mezcla de aminas está compuesta por la triamina dietilentriamina. En esta variante, el principio activo polimérico u oligomérico se presenta por tanto como homopolímero, por ejemplo como poli(iminoimidazol).

15 En otra forma de realización preferida, la mezcla de aminas está compuesta por la diamina 4,4'-metilénbis(ciclohexilamina). Mediante la policondensación de una sal de adición de guanidina, se genera así por ejemplo el homopolímero poli(4,4'-metilénbis(clorhidrato de ciclohexilamina)).

20 Se prefieren especialmente los principios activos poliméricos u oligoméricos que son obtenibles mediante policondensación de una sal de adición de ácido de guanidina con una mezcla de aminas que comprende al menos una diamina que presenta al menos un resto cicloalifático. Las diaminas que presentan al menos un resto cicloalifático son, por ejemplo, diaminas cicloalifáticas, por ejemplo ciclohexanodiamina, ciclopentanodiamina así como derivados de las mismas. Se prefieren especialmente aquellas diaminas en las que al menos un grupo NH<sub>2</sub> está ligado directamente con el resto cicloalifático. Se prefieren especialmente aquellas diaminas en que ambos grupos NH<sub>2</sub> están ligados respectivamente de forma directa con uno y el mismo resto cicloalifático o con restos cicloalifáticos distintos. En una forma de realización especial, la mezcla de aminas comprende 4,4'-metilénbis(ciclohexilamina).

25 En otra forma de realización de la presente invención, la mezcla de aminas comprende al menos una dialquilentriamina. Las dialquilentriaminas pueden presentar a este respecto restos alquileo de distinta longitud de cadena. Se prefieren sin embargo dialquilentriaminas en las que los grupos alquileo presentan la misma longitud. Son restos alquileo preferidos a este respecto etileno, propileno y butileno, así como hexileno. En una forma de realización especialmente preferida, la mezcla de aminas comprende la triamina dietilentriamina.

30 En otra forma de realización preferida, los principios activos poliméricos u oligoméricos usados según la invención (componente a)) se presentan en forma de copolímeros. Estos pueden presentarse a este respecto tanto mezclados aleatoriamente como en copolímeros de bloque. En el caso de copolímeros, la mezcla de aminas contiene al menos dos aminas distintas. La mezcla de aminas contiene a este respecto un primer componente y al menos un segundo componente, siendo preferiblemente el primer componente una diamina o una triamina que se selecciona del grupo compuesto por

- i) una diamina que presenta al menos un resto cicloalifático, y
- ii) una dialquilentriamina, y en el que

el segundo componente es una diamina o triamina que se selecciona del grupo compuesto por

- 40 i) una diamina que presenta al menos un resto cicloalifático,
- ii) una dialquilentriamina
- iii) una alquilendiamina y
- iv) una oxialquilendiamina, y

en el que el primer componente es diferente del segundo componente.

45 Destacan como principios activos copoliméricos o cooligoméricos especialmente adecuados aquellos en los que el primer componente es 4,4'-metilénbis(ciclohexilamina) y el segundo componente se selecciona de dietilentriamina, hexametilendiamina y trietilenglicoldiamina.

50 En otra forma de realización preferida, el derivado de guanidina copolimérico contiene como primer componente dietilentriamina y el segundo componente se selecciona del grupo compuesto por hexametilendiamina y trietilenglicoldiamina.

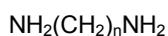
La emulsión de aceite en agua según la invención contiene con especial preferencia una composición que presenta un principio activo antimicrobiano (componente a)) con un peso molecular medio en el intervalo de 500 a 7.000, particularmente de 1.000 a 5.000 Da.

5 En el marco de la presente invención, se usa el término derivado de guanidina polimérico o biguanida para derivados de guanidina o biguanidas en los que aparecen 2 o más unidades repetidas. El término "polímero" incluye por tanto también ya dímeros, trímeros o por ejemplo oligómeros.

Se describe otra clase de derivados de guanidina poliméricos en los documentos WO-A1-01/85676 así como WO-A1-06/047800.

10 Los principios activos antimicrobianos (componente a)) preferidos a este respecto son obtenibles mediante policondensación de una sal de adición de ácido de guanidina con una mezcla de aminas, que contiene al menos una diamina que se selecciona del grupo compuesto por alquilendiamina y oxialquilendiamina.

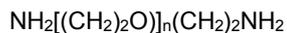
Preferiblemente, la mezcla de aminas comprende en este sentido una alquilendiamina, que es preferiblemente un compuesto de fórmula general



15 en que n es un número entero entre 2 y 10, preferiblemente 4 o 6. Las alquilendiaminas utilizadas preferiblemente portan grupos amino terminales. Se prefiere especialmente la hexametilendiamina (hexano-1,6-diamina). La alquilendiamina puede utilizarse en la reacción de policondensación en mezcla con otras poliaminas, por ejemplo diaminas y/o triaminas, con formación de copolímeros.

Preferiblemente, la mezcla de aminas comprende al menos una oxialquilendiamina.

20 Son adecuadas como oxialquilendiaminas particularmente aquellas oxialquilendiaminas que presentan grupos amino terminales. Es una oxialquilendiamina preferida un compuesto de fórmula general



25 en que n es un número entero entre 2 y 6, preferiblemente entre 2 y 5, más preferiblemente entre 2 y 4 y particularmente 2. Se prefieren oxietilendiaminas, en especial dietilenglicoldiamina o trietilenglicoldiamina. Pueden utilizarse más preferiblemente polioxipropilendiaminas, particularmente dipropilenglicoldiamina o tripilenglicoldiamina.

Preferiblemente, el derivado de guanidina polimérico se presenta como homopolímero. En estos casos, la mezcla de aminas está compuesta por la alquilendiamina o una oxialquilendiamina.

30 En otra forma de realización preferida, la mezcla de aminas está compuesta por la alquilendiamina hexametilendiamina (hexano-1,6-diamina). En esta variante, el derivado de guanidina polimérico está compuesto por tanto por un homopolímero, por ejemplo poli(cloruro de hexametilenguanidinio) (PHMG).

En otra forma de realización preferida, la mezcla de aminas está compuesta por la oxialquilendiamina trietilenglicoldiamina. Mediante policondensación con una sal de adición de ácido de guanidina, se genera así por ejemplo el homopolímero poli-[cloruro de 2-(2-etoxi)etoxietil]guanidinio].

35 En otra forma de realización preferida, los derivados de guanidina poliméricos usados según la invención se presentan en forma de copolímeros. Estos pueden presentarse a este respecto tanto mezclados aleatoriamente como en copolímeros de bloque. En el caso de copolímeros, la mezcla de aminas contiene al menos dos aminas diferentes. La mezcla de aminas contiene a este respecto un primer componente y al menos un segundo componente, en los que

- 40
- el primer componente es una diamina seleccionada del grupo compuesto por alquilendiamina y oxialquilendiamina, y en los que
  - el segundo componente es una diamina que se selecciona del grupo compuesto por alquilendiamina y oxialquilendiamina, y en los que

el primer componente es distinto del segundo componente.

45 Destacan como derivados de guanidina copoliméricos especialmente adecuados aquellos en los que el primer componente es una alquilendiamina y el segundo componente es una oxialquilendiamina. Se prefieren especialmente derivados de guanidina copoliméricos en los que en la mezcla de aminas el primer componente es hexametilendiamina y el segundo componente es trietilenglicoldiamina.

50 En la fabricación de copolímeros, la relación de mezcla de aminas utilizadas puede variar en amplios intervalos. Sin embargo, se prefieren derivados de guanidina copoliméricos en los que los monómeros de la mezcla de aminas, o

sea el primer componente y el segundo componente, se presentan en una relación molar de 4:1 a 1:4, preferiblemente de 2:1 a 1:2.

Los derivados de guanidina poliméricos utilizados según la invención poseen preferiblemente un peso molecular medio (media ponderada) en el intervalo de 500 a 7.000, particularmente de 1.000 a 5.000 Da.

5 En otra forma de realización preferida de la presente invención, el derivado de guanidina polimérico utilizado según la invención se presenta como mezcla de al menos dos derivados de guanidina poliméricos distintos. En una forma de realización especial, la mezcla comprende los derivados de guanidina poliméricos así como un primer homopolímero basado en una alquilendiamina, preferiblemente poli(cloruro de hexametilenguanidinio), así como un  
10 segundo homopolímero basado en una oxialquilendiamina, por ejemplo poli[cloruro de (2-(2-etoxi)etoxietil)guanidinio].

En una forma de realización preferida, el derivado de guanidina polimérico comprende el primer homopolímero y el segundo homopolímero a una relación en peso de 5:1 a 1:5, preferiblemente de 1:1 a 1:4 y particularmente de 1:2 a 1:4. En una forma de realización especialmente preferida, la mezcla de guanidinas poliméricas comprende poli(cloruro de hexametilenguanidinio) (primer homopolímero) y poli[cloruro de ((2-etoxi)etoxietil)guanidinio]  
15 (segundo homopolímero) a una relación en peso (primer homopolímero a segundo homopolímero) de 1:1 a 1:5, preferiblemente de 1:2 a 1:4, particularmente 1:3. Dichas mezclas son particularmente adecuadas para la emulsión de aceite en agua de la presente invención.

Los derivados de guanidina poliméricos y biguanidas usados según la invención pueden presentarse en general tanto como homopolímeros como copolímeros. Es ventajoso a este respecto cuando la sal de adición de ácido de  
20 guanidina es clorhidrato de guanidinio. Pero son igualmente adecuadas también otras sales de adición de ácido de guanidina basadas en ácidos inorgánicos u orgánicos. Por ejemplo, hidróxidos, hidrogenosulfatos así como acetatos. Los derivados de guanidina poliméricos especialmente adecuados y eficaces se presentan en forma de sus sales de hidróxido. Estas pueden obtenerse, por ejemplo, mediante intercambio aniónico con las correspondientes sales de cloruro.

25 El componente a) se presenta en las emulsiones de aceite en agua según la invención habitualmente en una cantidad de 0,005 a 0,2 % en peso, preferiblemente de 0,01 a 0,19 % en peso, particularmente de 0,02 a 0,1 % en peso y en especial de 0,03 a 0,07 % en peso, referida respectivamente al peso total de la emulsión.

Particularmente con respecto a la citotoxicidad reducida, se ha destacado como ventajoso coordinar la relación en peso de componente a) a componente b). En la presente forma de realización, la relación en peso de componente a) a componente b) es de 1:4 a 1:40, preferiblemente de 1:6 a 1:20 y particularmente de 1:8 a 1:12.  
30

Además, es ventajoso, particularmente con respecto a la formación de emulsiones de aceite en agua adecuadas que satisfagan las condiciones de baja citotoxicidad, que la relación en peso de componente a) a componente c) (componente oleoso) se encuentre de 1:80 a 1:1.000, preferiblemente de 1:100 a 1:800, más preferiblemente de 1:50 a 1:600 y particularmente de 1:180 a 1:450.

35 Se ha encontrado además sorprendentemente que el tamaño de partícula de las gotitas de aceite emulsionadas, particularmente en el tratamiento de la piel, se ha de ajustar ventajosamente en el intervalo de escala nanométrica. En una forma de realización preferida de la presente invención, las gotitas de aceite emulsionadas presentan un tamaño medio de partícula de hasta 300 nm, preferiblemente de 30 a 260 nm, más preferiblemente de 50 a 100 nm. Se realiza la determinación del tamaño de partícula con espectroscopia de correlación fotónica (Autosizer II Malvern  
40 Instruments UK) a 20 °C. Particularmente, la emulsión de aceite en agua nanoparticulada parece infiltrarse sorprendentemente en los folículos pilosos. Aquí se ha mostrado sorprendentemente que las nanopartículas rígidas de la presente emulsión de aceite en agua pueden transportarse esencialmente mejor a los folículos pilosos que por ejemplo liposomas.

Sin ligarse a teoría alguna, parece que el mecanismo de acción de las gotitas de aceite rígidas emulsionadas con fosfolípidos aparentemente se basa en que el cabello móvil transporta las sustancias particuladas como una bomba de engranajes al folículo piloso. A este respecto, las escamas capilares son de gran importancia. Si se trata en las nanopartículas de partículas relativamente rígidas, como en la presente invención, las escamas capilares pueden capturar mejor estas partículas y transportarlas más eficazmente a los folículos pilosos. En los liposomas convencionales, que presentan una estructura flexible, este proceso de transporte es difícil. Además, los liposomas  
50 se destruyen al infiltrarse en la piel.

Además, las emulsiones según la invención pueden contener otros aditivos. Preferiblemente, las emulsiones según la invención contienen adicionalmente un agente isotónico, por ejemplo glicerina. El agente isotónico se presenta habitualmente en una cantidad de hasta 3 % en peso, preferiblemente de 0,5 a 2,5 % en peso, más preferiblemente de 1 a 1,5 % en peso, referida respectivamente al peso total de la emulsión.

55 Además, las emulsiones según la invención contienen preferiblemente un agente regulador del valor de pH, por ejemplo oleato de sodio. Los agentes reguladores del valor de pH se presentan preferiblemente en una cantidad de hasta 0,5 % en peso, más preferiblemente en una cantidad de 0,1 a 0,3 % en peso, referida respectivamente al peso

total de la emulsión.

Para una estabilización adicional de la emulsión de aceite en agua, las emulsiones según la invención pueden contener adicionalmente además un antioxidante, por ejemplo  $\alpha$ -tocoferol. Habitualmente, se utilizan los antioxidantes en una cantidad de hasta 0,3 % en peso, preferiblemente de 0,05 a 0,2 % en peso, referida respectivamente al peso total de la emulsión.

Para reforzar el efecto, las emulsiones de aceite en agua según la invención pueden contener adicionalmente además una sustancia lipófila con efecto antimicrobiano sinérgico. Para ello, son particularmente adecuados aceites etéricos.

En una forma de realización especialmente preferida, las emulsiones de aceite en agua según la invención contienen adicionalmente uno o varios alcanodiolos.

Se ha encontrado sorprendentemente que los alcanodiolos promueven la curación de heridas e incluso contribuyen a un reforzamiento de la eficacia contra determinadas cepas, como por ejemplo en levaduras (*Candida*). Además, se ha comprobado que, mediante el empleo de alcanodiolos en las emulsiones de aceite en agua según la invención, puede reducirse la concentración de principios activos antimicrobianos (componente a)) con un efecto antimicrobiano invariable en comparación con emulsiones sin alcanodiolos. Esto conduce adicionalmente a una disminución adicional de la citotoxicidad.

Se han destacado particularmente como alcanodiolos adecuados aquellos que presentan de 3 a 12 átomos de carbono. Se prefieren especialmente los alcanodiolos seleccionados del grupo compuesto por 1,2-propilenglicol, 1,3-butilenglicol, 1,2-pentanodiol, 1,2-hexanodiol, 1,6-hexanodiol y/o 1,2-octanodiol. Se prefieren 1,2-alcanodiolos con 5 a 10 átomos de carbono, particularmente 1,2-octanodiol.

Los alcanodiolos se utilizan preferiblemente en cantidades de 0,01 a 10 % en peso, particularmente de 0,05 a 5 % en peso, referidas respectivamente al peso total de la emulsión de aceite en agua.

Las emulsiones según la invención pueden utilizarse preferiblemente como antiséptico, particularmente para heridas y lavados de cavidades corporales. Es por tanto ventajoso ajustar el valor de pH de la emulsión según la invención en el intervalo de 5 a 9, preferiblemente de 5,5 a 7, y particularmente entre 6 y 7.

Es otro objeto de la presente invención una preparación farmacéutica que comprende la emulsión de aceite en agua antimicrobiana según la invención o está compuesta por ella.

Es otro objeto de la presente invención un antiséptico que comprende la emulsión de aceite en agua según la invención.

En una forma de realización preferida de la presente invención, se utiliza el antiséptico según la invención para la profilaxis o el tratamiento de piel, mucosa, zona genital, ojos así como heridas. Es por tanto un objeto preferido el antiséptico según la invención para uso en la profilaxis o el tratamiento de infecciones de piel, mucosa, zona genital, ojos así como heridas.

Son particularmente adecuados los antisépticos de la presente invención para lavados de cavidades corporales, lavados articulares, como antiséptico ocular, como constituyente de apósitos, como antiséptico de heridas, para antiséptico de la cavidad nasal, particularmente por colonización de SARM, para antiséptico de las cavidades genital y bucal así como para antiséptico cutáneo.

La preparación farmacéutica de la presente invención es especialmente adecuada para la profilaxis y terapia de infecciones, particularmente de infecciones de regiones del cuerpo sensibles como por ejemplo peritoneo, cavidad abdominal, vejiga, uréter, sistema nervioso central y cartílago articular hialino.

Además, las preparaciones farmacéuticas según la invención se utilizan para la profilaxis o terapia de dermatitis atópicas, eccemas infectados y dermatomicosis. Es por tanto un objeto preferido la preparación farmacéutica según la invención para uso en la profilaxis o terapia de dermatitis atópicas, eccemas infectados y dermatomicosis.

Es otro objeto de la presente invención el uso de la emulsión según la invención para el tratamiento de heridas, por ejemplo para la fabricación de un apósito, que es particularmente sólido o de tipo gel. En una forma de realización especial, se riega, pulveriza o impregna para ello el material portador de apósito con la emulsión según la invención o se incorpora a un apósito de tipo gel.

Es otro objeto de la presente invención un apósito que comprende la emulsión de aceite en agua antimicrobiana según la invención. Se tienen en consideración como materiales portadores para la fabricación de apósitos todos los materiales usuales para ello y usuales para el especialista, p.ej., colágeno, celulosas y derivados de celulosa, poliuretanos y alginatos, solos o en combinación con polisacáridos del grupo de alginatos, glicosaminoglicanos y sus sales, pectinas, carragenanos, xantanos, dextranos sulfatados, derivados de celulosa, celulosa oxidada así como celulosa oxidada regenerada, derivados de almidón y sus mezclas.

En una forma de realización preferida, se aplica la emulsión según la invención a una sustancia portadora de tipo esponja.

5 La presente invención se refiere por tanto también a apósitos que comprenden la emulsión según la invención y están basados por ejemplo en celulosa, un derivado de celulosa como carboximetilcelulosas, alginatos, quitosano, almidón o derivados de almidón, colágeno, poliacrilatos, poliuretano o mezclas de los compuestos anteriormente citados como material portador.

Son formas de realización preferidas de los apósitos según la invención hidrogeles, hidrocoloides, esponjas, láminas, membranas, placas, tejidos, tejidos de punto, otros materiales textiles, cinta de carda, taponadores y similares.

10 Es otro objeto de la presente invención un procedimiento para la fabricación de la emulsión según la invención que comprende las etapas de:

α) fabricación de una emulsión de aceite en agua que comprende

a) al menos un fosfolípido y

b) al menos un componente oleoso y

15 β) mezclado de la emulsión fabricada en la etapa α) con una solución acuosa que comprende

a) al menos un componente alifático que presenta uno o varios grupos guanida y/o biguanida,

en el que la relación en peso de componente a) a fosfolípido asciende de 1:4 a 1:40 y el componente a) se presenta en la emulsión en una cantidad de 0,005 a 0,2 % en peso, referida al peso total de la emulsión.

20 Con respecto al procedimiento según la invención y al empleo de los componentes respectivos, se hace referencia completamente a las formas de realización anteriormente citadas de emulsión según la invención. Las formas de realización preferidas allí citadas se aplican también para el procedimiento según la invención.

25 En una forma de realización preferida del procedimiento según la invención, se incluye en la etapa a) o etapa b) otra etapa, a saber homogeneización a alta presión. Mediante la homogeneización a alta presión, pueden fabricarse fácilmente emulsiones de aceite en agua según la invención que presentan tamaños de partícula con un tamaño medio de partícula inferior a 300 nm.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

### Ejemplo 1

Fabricación de una emulsión de aceite en agua según la invención

30 Se procura en primer lugar una emulsión de aceite en agua mediante homogeneización de los siguientes componentes especificados en la Tabla 1:

Tabla 1

Cantidad en porcentaje en peso (% en peso)	Componente
10 % en peso	Triglicérido de cadena media <sup>1)</sup>
10 % en peso	Aceite de soja
2,25 % en peso	Glicerina
1,2 % en peso	Lecitina de huevo
0,25 % en peso	Oleato de sodio
0,2 % en peso	α-tocoferol
Hasta 100	Agua

<sup>1)</sup> Glicerina que está esterificada con ácidos grasos compuesta hasta un 98 % en moles por ácido caprílico (C<sub>8</sub>) y ácido cáprico (C<sub>10</sub>).

35 La emulsión de aceite en agua especificada la Tabla 1 se mezcla con el mismo volumen de una solución que presenta un 0,1 % en peso de clorhidrato de polihexametilenbiguanidinio en agua.

La emulsión de aceite en agua según la invención así resultante es inmediatamente utilizable.

**Ejemplo 2**

Fabricación de una emulsión de aceite en agua según la invención

- 5 Se procura en primer lugar una emulsión de aceite en agua mediante la homogeneización de los siguientes componentes especificados en la Tabla 2:

Tabla 2

Cantidad en porcentaje en peso (% en peso)	Componente
5 % en peso	Triglicérido de cadena media <sup>1)</sup>
5 % en peso	Aceite de soja
2,25 % en peso	Glicerina
1,2 % en peso	Lecitina de huevo
0,25 % en peso	Oleato de sodio
0,2 % en peso	$\alpha$ -tocoferol
Hasta 100	Agua

<sup>1)</sup> Glicerina que está esterificada con ácidos grasos, compuesta hasta un 98 % en moles por ácido caprílico (C<sub>8</sub>) y ácido cáprico (C<sub>10</sub>).

- 10 La emulsión de aceite en agua especificada en la Tabla 2 se mezcla con el mismo volumen de una solución que presenta un 0,1 % en peso de clorhidrato de polihexametilenbiguanidinio en agua.

La emulsión de aceite en agua según la invención así resultante es inmediatamente utilizable.

La concentración de polihexanida en el ejemplo 1 y el ejemplo 2 asciende por tanto al 0,05 %.

Se usa como ejemplo comparativo para los siguientes análisis una solución acuosa que contiene un 0,05 % de polihexanida.

- 15 I. Resultados *in vitro* del efecto antimicrobiano y la citotoxicidad de los ejemplos de realización 1) y 2)

20 Se realizó la prueba de capacidad microbicida con un ensayo en suspensión cuantitativo según la norma DIN EN 1040 (2006) a temperatura ambiente, en el que se embebieron tanto el preparado de prueba como los microorganismos de prueba en medio de cultivo celular MEM con 10 % de suero fetal bovino (FBS), para presentar así las mismas condiciones tanto para la prueba de capacidad microbicida como para la determinación de la citotoxicidad. Para ello, se mezclaron volúmenes iguales de preparado de prueba y medio de cultivo celular doblemente concentrado. Por razones metodológicas, los preparados de prueba embebidos en medio de cultivo celular pueden ensayarse solo a concentraciones  $\leq 50$  %

Microorganismos de prueba

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

- 25 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Tabla 3: Resultados de la capacidad microbicida:

Preparación	Concentración final de PHMB ( $\mu\text{g/ml}$ )	Factor de reducción de Ig			
		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>	
		30 min	60 min	30 min	60 min
Ejemplo comparativo	225	> 3	> 3	> 3	> 3
Ejemplo 2	225	> 3	> 3	> 3	> 3
Ejemplo 1	225	> 3	> 3	> 3	> 3

Los resultados de la prueba del ensayo en suspensión cuantitativo alcanzados inmediatamente después de la fabricación de los preparados son reproducibles después de 6-8 meses de almacenamiento.

5 II. Para los análisis de citotoxicidad, se usaron fibroblastos de ratón de la línea celular L929 (ATCC CCL 1) como células de ensayo. Se realizaron las pruebas según la norma DIN EN ISO 10993-5 (1999) a 20 °C, embebiendo los preparados de prueba en medio de cultivo celular MEM con 10 % de FBS para presentar las mismas condiciones tanto para la prueba de capacidad microbicida como para la determinación de la citotoxicidad. Para ello, se mezclaron volúmenes iguales de preparado de prueba y medio de cultivo celular doblemente concentrado. Se realizó la valoración con la ayuda de dos pruebas de vitalidad diferentes, el procedimiento de rojo neutro (RN) y el ensayo de MTT.

10 A una concentración final de 250 µg/ml de PHMB en la preparación comparativa, estaban vivos después de 30 min de acción solo un 10 % de los fibroblastos de ratón, por el contrario, concentraciones de PHMB totalmente comparables de las preparaciones según la invención no presentaban citotoxicidad.

Células de prueba

Fibroblastos de ratón (células L929) ATCC CCL 1

15 Tabla 4: Resultados de citotoxicidad:

Preparación	Concentración final de PHMB (µg/ml)	Vitalidad de las células L929 (%)			
		Prueba de MTT		Prueba de RN	
		30 min	60 min	30 min	60 min
Ejemplo comparativo	250	13	11	8	6
Ejemplo 2	250	115	110	94	88
Ejemplo 1	250	110	120	95	95

Los resultados de la prueba de los análisis de citotoxicidad *in vitro* alcanzados inmediatamente después de la fabricación de las preparaciones son reproducibles después de 6-8 meses de almacenamiento.

20 Los resultados de ambas Tablas 3 y 4 muestran que el efecto microbicida contra ambos microorganismos en ambos ejemplos de realización es igualmente bueno que para la solución de PHMB puro (véase la Tabla 3). Por tanto, satisfacen los requisitos operativos para antisépticos bajo cargas. La citotoxicidad medida en la solución de PHMB en cambio ha desaparecido casi completamente en los ejemplos de realización 1 y 2 (véase la Tabla 4).

25 III. Se analizaron además la capacidad microbicida y la citotoxicidad en un ensayo de combinación. Para ello, se usaron fibroblastos de ratón de la línea celular L929 (ATCC CCL 1) como células de ensayo y se infectaron con 9 unidades volumétricas de 10<sup>6</sup> ufc de microorganismos de prueba (MO de prueba) *Pseudomonas aeruginosa* o *Staphylococcus aureus*, que se habían embebido en medio de cultivo celular MEM con 10 % de FBS. A continuación, se realizó la adición de 1 unidad volumétrica de la preparación. Después de 30 min de contacto de la preparación tanto solo con las células de prueba como con las combinaciones de células de prueba y MO de prueba a temperatura ambiente, se realizó la determinación del factor de reducción mediante el ensayo de suspensión  
30 cuantitativo y la reacción de detección de vitalidad de las células L929 mediante el ensayo de RN.

Células de prueba

Fibroblastos de ratón (células L929) ATCC CCL1

Microorganismos de prueba

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

35 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Tabla 5: Resultados de capacidad microbicida/citotoxicidad:

Preparación	Conc. de PHMB (µg/ml)	Capacidad microbicida		Citotoxicidad (ensayo de RN)	
		Reducción del factor de Ig		Vitalidad de células L929 (%)	
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	Con MO de prueba	Sin MO de prueba
Ejemplo comparativo	50	> 3	> 3	18	16
Ejemplo 2	50	> 3	> 3	97	97
Ejemplo 1	50	> 3	> 3	99	97

5 Los resultados de la Tabla 5 muestran que el efecto microbicida de PHMB en las preparaciones es idéntico a la preparación comparativa en agua. El efecto citotóxico sobre las células L929 es solo detectable para la preparación comparativa, pero no para la preparación de PHMB en forma de emulsión de aceite en agua.

#### IV. Resultados *in vivo* del ejemplo de realización 2)

10 En el marco de un estudio clínico, se comparó el efecto de la preparación de PHMB según la invención en forma de emulsión de aceite en agua con una solución acuosa de PHMB. Se realizaron los análisis en el antebrazo de sujetos sanos. Antes y después del antiséptico cutáneo, se extrajeron frotis de las respectivas zonas cutáneas y se analizaron estas bacteriológicamente. Con la toma de iguales cantidades de PHMB, se mostró que la aplicación de la emulsión de aceite en agua podía alcanzar un efecto antiséptico significativamente mejor (factor 2) que después de antiséptico con la solución acuosa de polihexanida (ejemplo comparativo).

15 Después de 1 h, pudo reducirse la colonización bacteriana con el empleo del antiséptico en forma de emulsión de aceite en agua al 20 %, mientras que con la solución acuosa de PHMB solo se consiguió una reducción al 40 % de la colonización original. Después de 3 h, la colonización bacteriana con la forma particulada ascendía al 60 %, mientras que la forma no particulada conducía a una colonización de un 80 % en comparación con la piel no tratada.

Este resultado ha de atribuirse aparentemente a que las partículas oleosas emulsionadas se infiltran mejor en los folículos pilosos en comparación con el PHMB disuelto. El cabello móvil parece inducir a este respecto una especie de efecto de bombeo que transporta las gotitas de aceite al folículo piloso.

20 V. Análisis de la emulsión de aceite en agua según la invención con respecto a un lavado peritoneal por sepsis abdominal en ratón

Se analizaron 4 formulaciones:

- 25 i) emulsión de aceite en agua según la invención según el ejemplo 2,
- ii) emulsión de aceite en agua según la Tabla 2, en la que la emulsión se diluye con el mismo volumen de agua (emulsión comparativa),
- iii) solución acuosa que contiene un 0,05 % en peso de PHMB [solución comparativa],
- iv) solución acuosa que contiene un 0,9 % en peso de NaCl (solución salina fisiológica) [solución comparativa]

#### Descripción del experimento de lavado peritoneal:

30 Para simular una peritonitis, se indujo una sepsis polimicrobiana en un experimento animal en ratones autorizado por la comisión ética. Para ello, se implantó en los animales experimentales con anestesia general una endoprótesis de diámetro definido en el colon ascendente. Se generó un derrame de tamaño definido que se mantuvo abierto por la endoprótesis. Por las condiciones experimentales, se llegó rápidamente a una infección sistémica y choque séptico. Después de 6 horas, se retiró la endoprótesis, se cerró la pared intestinal y se distribuyeron los ratones en 4 grupos. Se adjudicó a cada grupo una de las formulaciones i), ii), iii) y iv) y se lavaron con ellas las zonas infectadas. Se compararon las tasas de supervivencia de los ratones.

35

Tabla 6. Resultados del lavado peritoneal

Formulación	n (número de animales experimentales)	Tasa de supervivencia
i)	21	70 %
ii)	23	20 %
iii)	21	< 10 %
iv)	20	40 %

El lavado peritoneal con la emulsión de aceite en agua según la invención condujo a una tasa de supervivencia claramente mayor de los animales experimentales que con las formulaciones comparativas ii) a iv).

5 VI. Comparación de la eficacia de PHMB con clorhexidina en emulsiones de aceite en agua

Se fabricaron emulsiones de aceite en agua que presentan distintas cantidades X del principio activo antimicrobiano clorhidrato de polihexametilenbiguanidinio (PHMB) [según la invención] y clorhexidina (CHX) [comparación]. Se reflejan las emulsiones de aceite en agua en la Tabla 7.

Tabla 7

Cantidad en porcentaje en peso (% en peso)	Componente
10 % en peso	Triglicérido de cadena media <sup>1)</sup>
10 % en peso	Aceite de soja
2,5 % en peso	Glicerina
1,2 % en peso	Lecitina de huevo
0,03 % en peso	Oleato de sodio
0,02 % en peso	$\alpha$ -tocoferol
x % en peso	Principio activo antimicrobiano
Hasta 100	Agua

10 <sup>1)</sup> glicerina que está esterificada con ácidos grasos, compuesta hasta un 98 % en moles por ácido caprílico (C<sub>8</sub>) y ácido cáprico (C<sub>10</sub>).

15 Las cantidades x en % en peso y el principio activo utilizado respectivo se reflejan a continuación en la Tabla 8 siguiente, columna izquierda. Para ensayar la eficacia de los principios activos antimicrobianos en un intervalo de concentración determinado en una emulsión de aceite en agua, se llevó a cabo un ensayo de inactivador según la norma prEN13727 (2008) y prEN13624 (2010) ante *Enterococcus hirae* (ATCC 10541), *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) para n = 4. Se reflejan en la Tabla 8 los resultados de medida.

Tabla 8

Concentración final de principio activo antimicrobiano en la emulsión de Ac/Ag	Unidades de formación de colonia			
	<i>E. hirae</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Control (x= 0 %)	103 ± 5	138 ± 10	331 ± 30	169 ± 12
0,02 % de CHX	104 ± 4	132 ± 1	316 ± 50	149 ± 5
0,03 % de CHX	102 ± 5	131 ± 5	315 ± 43	156 ± 13
0,04 % de CHX	106 ± 3	130 ± 9	355 ± 10	160 ± 8
0,05 % de CHX	106 ± 3	130 ± 9	339 ± 37	159 ± 10
Control (x= 0 %)	107 ± 7	132 ± 7	338 ± 36	180 ± 22
0,02 % de PHMB	0	0	0	0
0,03 % de PHMB	0	0	0	0
0,04 % de PHMB	0	0	0	0
0,05 % de PHMB	0	0	0	0

5 Resultado: La emulsión de aceite en agua inactiva totalmente el efecto de la clorhexidina (CHX) en el intervalo de concentraciones analizado de 0,02-0,05 % en peso, en cambio el efecto microbicida de PHMB a concentraciones comparables se mantiene totalmente (ya no es detectable ninguna ufc de microorganismos de prueba).

VII. Emulsiones de aceite en agua con alcanodiol

Ejemplo 3: Emulsión de aceite en agua según la invención con alcanodiol

Cantidad en porcentaje en peso (% en peso)	Componente
10 % en peso	Triglicérido de cadena media <sup>1)</sup>
10 % en peso	Aceite de soja
2,25 % en peso	1,2-octanodiol
1,2 % en peso	Lecitina de huevo
0,25 % en peso	Oleato de sodio
0,2 % en peso	α-tocoferol
0,5 % en peso	PHMB (al 20 %) <sup>2)</sup>
Hasta 100	Agua

<sup>1)</sup> Glicerina que está esterificada con ácidos grasos compuesta hasta un 98 % en moles por ácido caprílico (C<sub>8</sub>) y ácido cáprico (C<sub>10</sub>)

10 <sup>2)</sup> solución acuosa que contiene un 20 % de clorhidrato de polihexametilénbiguanida (PHMB)

Ejemplo 4: Emulsión de aceite en agua según la invención con alcanodiol

Cantidad en porcentaje en peso (% en peso)	Componente
20 % en peso	Triisoestearina
2,25 % en peso	1,2-octanodiol
1,2 % en peso	Lecitina de soja hidrogenada

## ES 2 566 932 T3

0,25 % en peso	Isoestearato de sodio
0,5 % en peso	PHMB (al 20 %) <sup>1)</sup>
Hasta 100	Agua

<sup>1)</sup> solución acuosa que contiene un 20 % en peso de clorhidrato de polihexametilenbiguanida (PHMB)

Se ha mostrado sorprendentemente que el empleo de dioles alifáticos, como por ejemplo el 1,2-octanodiol utilizado en los ejemplos 3 y 4, posibilita una reducción del principio activo antimicrobiano para utilizar con el mismo efecto antimicrobiano. Esto disminuye además la citotoxicidad, ya que para el mismo efecto antimicrobiano es necesaria una menor concentración del principio activo antimicrobiano.

5

**REIVINDICACIONES**

1. Emulsión de aceite en agua antimicrobiana que comprende
  - a) de 0,005 a 0,2 % en peso de al menos un componente alifático que presenta uno más grupos guanida y/o biguanida,
  - 5 b) al menos un fosfolípido y
  - c) al menos un componente oleoso, en la que la relación en peso de componente a) a componente b) es de 1:4 a 1:40.
2. Emulsión según la reivindicación 1, caracterizada porque el componente oleoso comprende un triglicérido de cadena media (TCM), en donde el triglicérido de cadena media es glicerina que está esterificada con ácidos grasos que están compuestos al menos al 90 % por ácido caprílico (C<sub>8</sub>) y ácido cáprico (C<sub>10</sub>), y porque el componente c) comprende al menos un aceite vegetal.
3. Emulsión según la reivindicación 2, caracterizada porque la relación en peso del triglicérido de cadena media al aceite vegetal es de 1:10 a 10:1.
4. Emulsión según al menos una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque el componente a) contiene polihexametilenbiguanida o clorhidrato de polihexametilenbiguanidinio o mezclas de polihexametilenbiguanida y clorhidrato de polihexametilenbiguanidinio.
5. Emulsión según al menos una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque el componente a) es obtenible mediante policondensación de una sal de adición de ácido de guanidina con una mezcla de aminas que contiene al menos una diamina y/o una triamina, en la que preferiblemente al menos una amina se selecciona del grupo compuesto por
  - i) una diamina que presenta al menos un resto cicloalifático, y
  - ii) una dialquiltriamina.
6. Emulsión según al menos una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada porque la relación en peso de componente a) a componente b) es de 1:6 a 1:20.
7. Emulsión según al menos una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada porque la emulsión presenta adicionalmente uno o varios alcanodiolos.
8. Preparación farmacéutica que comprende una emulsión según al menos una de las reivindicaciones 1 a 7.
9. Preparación farmacéutica según la reivindicación 8 para su uso en la profilaxis y terapia de infecciones, particularmente de infecciones en regiones corporales sensibles, por ejemplo peritoneo, cavidad abdominal, vejiga, uréter, sistema nervioso central y cartílago articular hialino.
10. Preparación farmacéutica según la reivindicación 8 para su uso en la profilaxis y terapia de dermatitis atópicas, eccemas infectados o dermatomicosis.
11. Antiséptico que comprende una emulsión según al menos una de las reivindicaciones 1 a 7.
12. Antiséptico según la reivindicación 11 para su uso en la profilaxis y el tratamiento de infecciones de piel, mucosa, zona genital, ojos, cavidad nasal, particularmente por colonización por SARM, cavidad bucal así como heridas.
13. Uso de la emulsión según al menos una de las reivindicaciones 1 a 7 para la fabricación de un apósito sólido o de tipo gel.
14. Apósito que comprende una emulsión de aceite en agua antimicrobiana según al menos una de las reivindicaciones 1 a 7.
15. Procedimiento para la fabricación de una emulsión según al menos una de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende las etapas de:
  - α) fabricación de una emulsión de aceite en agua que comprende
    - b) al menos un fosfolípido y
    - 45 c) al menos un componente oleoso y
  - β) mezclado de la emulsión fabricada en la etapa α) con una solución acuosa que comprende

## ES 2 566 932 T3

a) al menos un componente alifático que presenta uno o varios grupos guanida y/o biguanida, en el que la relación en peso de componente a) a fosfolípido es de 1:4 a 1:40 y el componente a) se presenta en la emulsión en una cantidad de 0,005 a 0,2 % en peso, referida al peso total de la emulsión.