

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 599 395**

51 Int. Cl.:

A61K 38/08 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A01N 37/46 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.06.2013 PCT/US2013/044957**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.12.2013 WO13188286**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2013 E 13803656 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.08.2016 EP 2858721**

54 Título: **Formulación estable de pexiganano**

30 Prioridad:

12.06.2012 US 201213494295

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.02.2017

73 Titular/es:

**DIPEXIIUM PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
22 Camelot Court
White Plains, NY 10603, US**

72 Inventor/es:

DESAI, NAYAN

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 599 395 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

Formulación estable de pexiganano

5 Campo de la invención

La invención proporciona formulaciones tópicas de pexiganano que permanecen física y químicamente estables a pesar de un almacenamiento a largo plazo, y a los métodos de preparación de las mismas.

10 Antecedentes de la invención

Una de las preocupaciones más significativas con el tratamiento de heridas es la infección. Las heridas infectadas retrasan el proceso de cicatrización de heridas y aumentan el tiempo de hospitalización. Las infecciones de la herida a menudo conducen a infecciones secundarias, amputaciones e incluso la muerte. La prevalencia de bacterias resistentes a antibióticos es un problema especialmente grave para el tratamiento de la infección de la herida. De hecho, con el uso generalizado a largo plazo, la mayoría de los antibióticos en realidad generan bacterias resistentes.

Un tipo de herida propensa a la infección es la asociada a la diabetes, incluyendo úlceras del pie diabético, las heridas crónicas que a menudo se desarrollan en pacientes diabéticos. Las heridas que resultan de las complicaciones diabéticas son frecuentes. La diabetes puede implicar neuropatía periférica, y aumentar la probabilidad de que heridas infectadas no se puedan tratar con antibióticos sistémicos. Para que una úlcera se cure pueden ser necesarios varios meses, poniendo al paciente en riesgo de reinfección y de nuevas infecciones, incluyendo el riesgo de infección ósea (osteomielitis) y/o gangrena progresiva. La diabetes, en general, y la infección del pie diabético, en concreto, son las principales causas de las amputaciones de pierna no traumáticas en el mundo desarrollado, y las úlceras del pie son la causa más frecuente de las hospitalizaciones relacionadas con la diabetes. Así, la infección de la herida es una carga importante para el paciente y el sistema sanitario.

A menudo se utilizan tratamientos con antibióticos sistémicos para tratar la infección de la herida. Sin embargo, la terapia sistémica a menudo da lugar a varios efectos secundarios, particularmente en pacientes diabéticos que en general tienen comprometidas la función renal y hepática. Además, la terapia sistémica a menudo da lugar a riesgo de penetración insuficiente en el tejido, debido a la alteración del suministro de sangre en el sitio de la herida. La mayoría de los antibióticos sistémicos disponibles generan bacterias resistentes por un uso prolongado. Por lo tanto, a menudo se prefiere un tratamiento tópico eficaz como vía de administración para la liberación de un agente antibiótico a una herida.

El pexiganano es un péptido antimicrobiano de amplio espectro para administración tópica. Tiene actividad antimicrobiana contra organismos Gram-positivos y Gram-negativos que habitualmente infectan la piel y los tejidos blandos. El pexiganano tiene la ventaja de un bajo potencial para la inducción de resistencia y sin resistencia cruzada con los antibióticos terapéuticos existentes, como consecuencia de su mecanismo de acción. Sin embargo, ha sido muy difícil de formular una composición tópica estable de pexiganano y actualmente no está disponible.

Feibush et al. (Pharmaceutical Research, Vol. 17, pp. 197-204 (2000)) describen la identificación de los principales productos de degradación que se formaron durante un estudio de estrés de acetato de pexiganano en una formulación de fármaco (1 % de pexiganano en crema).

Lipsky et al. (Clinical Infectious Diseases, Vol. 47, No. 12, pp. 1537-1545 (2008)) describen la terapia tópica frente a la terapia antimicrobiana sistémica para el tratamiento de úlceras del pie diabético ligeramente infectadas.

El documento WO 2009/070564 A2 se refiere a composiciones y métodos de pexiganano para la prevención de la infección en los implantes transcutáneos integrados en el hueso.

Los péptidos a menudo son difíciles de formular, ya que muestran inestabilidad química, adoptan múltiples conformaciones, tienden a auto-asociarse y también presentan inestabilidades físicas complejas, especialmente en forma tópica. Tanto la estabilidad química como física son importantes en una formulación farmacéutica eficaz y comercial. Una formulación inestable da lugar a la pérdida de potencia y mala calidad y pérdida del cumplimiento del paciente. Las formulaciones tópicas, especialmente, deben permanecer estables en el recipiente durante su almacenamiento a largo plazo y posteriormente, cuando se aplican a la piel. Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad de una forma de dosificación para la administración tópica de pexiganano, que proporcione un tratamiento eficaz de la infección de la herida, y que siga siendo química y físicamente estable durante su almacenamiento a largo plazo.

Sumario

La presente invención supera los problemas expuestos anteriormente y avanza la técnica proporcionando formulaciones estables de pexiganano para la administración tópica. Las formulaciones de la presente invención

presentan una mayor estabilidad tanto química como física a largo plazo.

Como tal, la presente invención proporciona una formulación tópica que comprende pexiganano o una sal de adición de ácido del mismo que comprende un primer tensioactivo hidrófilo que tiene un valor de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) entre 12 y 17 y un segundo tensioactivo hidrófobo que tiene un valor de HLB entre 3,5 y 5,5, en el que el primero tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo comprenden del 1,5 % p/p al 5,0 % p/p de la formulación y la relación ponderal del primer al segundo tensioactivo es tal que el HLB combinado está entre 12,5 y 14,5, en el que el primer tensioactivo hidrófilo es monoestearato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 60) y el segundo tensioactivo hidrófobo es monoestearato de sorbitano (Span® 60).

Preferentemente, el valor HLB del primer tensioactivo hidrófilo está entre 13 y 16, y más preferentemente, el valor HLB del primer tensioactivo hidrófilo es 14,9. Preferentemente, el valor HLB del segundo tensioactivo hidrófobo está entre 3,5 y 5,5, y más preferentemente, el valor HLB del segundo tensioactivo hidrófilo es 4,7.

Preferentemente, el primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo comprenden del 2 % p/p al 4,5 % p/p de la formulación. Más preferentemente, el primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo comprenden aproximadamente el 3,5 % p/p de la formulación.

Según la presente invención, el HLB combinado del primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo está entre 12,5 y 14,5. Más preferentemente, el HLB combinado del primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo es 13,6. También preferentemente, el HLB combinado del primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo es 14,4.

De acuerdo con la presente invención el primer tensioactivo hidrófilo es monoestearato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 60) y el segundo tensioactivo hidrófobo es monoestearato de sorbitano (Span® 60).

En una realización, la formulación tópica estable puede comprender el 1,05 (% p/p) de acetato de pexiganano; el 20,0 (% p/p) de propilenglicol; el 0,1 (% p/p) de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); el 7,5 (% p/p) de alcohol estearílico; el 2,0 (% p/p) de alcohol cetílico; el 1,0 (% p/p) de miristato de isopropilo; el 0,1 (% p/p) de hidroxitolueno butilado (BHT); el 0,43 (% p/p) de monoestearato de sorbitano (Span® 60); el 3,07 (% p/p) de monoestearato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 60); el 0,1 (% p/p) de monooleato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 80) y tampón de acetato de sodio (c.s.p.).

En otra realización, la formulación tópica estable puede comprender el 1,05 (% p/p) de acetato de pexiganano; el 20,0 (% p/p) de propilenglicol; el 0,1 (% p/p) de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); el 6,0 (% p/p) de alcohol estearílico; el 2,0 (% p/p) de alcohol cetílico; el 3,0 (% p/p) de miristato de isopropilo; el 0,1 (% p/p) de hidroxitolueno butilado (BHT); el 0,17 (% p/p) de monoestearato de sorbitano (Span® 60); el 3,33 (% p/p) de monoestearato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 60); el 0,1 (% p/p) de monooleato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 80) y tampón de acetato de sodio (c.s.p.).

En una realización adicional, la presente invención proporciona la formulación tópica estable para su uso en un método de tratamiento de una infección de la piel o de una herida que comprende la aplicación tópica a un paciente que lo necesite en el sitio de la infección una cantidad eficaz de las formulaciones de la presente invención.

Descripción detallada

Ahora se ha descubierto que se pueden preparar formulaciones tópicas que comprenden pexiganano que son química y físicamente estables. Aspectos adicionales de la presente invención serán más evidentes a partir de la descripción detallada de las siguientes realizaciones.

Para los propósitos de la presente divulgación, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

El término "ingrediente activo" se refiere a un ingrediente que tiene una actividad terapéutica o cosmética.

El término "aplicación tópica" se refiere a una aplicación a la piel, incluyendo heridas de la piel, el pelo, las orejas, las membranas mucosas, la aplicación rectal, la aplicación nasal, así como la aplicación dental dentro de la cavidad bucal.

El término "formulación estable" se refiere a cualquier formulación que tiene suficiente estabilidad para ser útil como agente farmacéutico. Preferentemente, la formulación tiene una estabilidad suficiente para permitir el almacenamiento a una temperatura conveniente, preferentemente entre 10 °C y 30 °C, durante un periodo razonable de tiempo, preferentemente más de un mes, más preferentemente más de tres meses, incluso más preferentemente más de seis meses, y más preferentemente más de un año. Preferentemente, la formulación permanece estable en el tiempo a temperatura ambiente, es decir, 25 °C.

El término "estabilidad física" significa que la emulsión de aceite y agua se mantiene unida, sin presentar separación entre las fases de aceite y agua, y sin cambios significativos en las propiedades físicas del producto.

El término "estabilidad química" significa que un porcentaje deseable del agente terapéutico se mantiene intacto y el porcentaje de productos de degradación producidos por vías químicas tales como oxidación o hidrólisis, están en un nivel aceptable. En particular, una formulación en general se considera químicamente estable si la concentración del fármaco se degrada no más del 10 % después de un almacenamiento a largo plazo a la temperatura de almacenamiento prevista del producto, es decir, es importante mantener la concentración del fármaco alrededor del 90 % para un producto eficaz. La estabilidad durante el almacenamiento a largo plazo se puede demostrar, por ejemplo, usando condiciones aceleradas, tal como al menos de 6 a 40 °C, como indicación del almacenamiento a largo plazo a 25 °C. La degradación química puede estar causada por varios mecanismos, entre ellos la hidrólisis, la escisión de enlaces disulfuro, el pH, la temperatura, la interacción entre los ingredientes, la oxidación y/o la degradación catalizada por luz.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de polipéptido que es suficiente para mostrar un beneficio significativo, por ejemplo, la curación de una herida, la inhibición de la proliferación, la prevención o mejora de la contaminación o infección bacteriana, o un aumento en la velocidad de curación de una herida, la inhibición de la proliferación, la prevención o mejora de dicha contaminación e infecciones. Preferentemente, el beneficio válido es estadísticamente significativo en comparación con un control. La puesta en contacto de un sujeto con los polipéptidos de pexiganano se puede realizar con una cantidad y durante un tiempo suficientes para reducir la infección o presencia bacteriana.

El término "herida" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier tipo de lesión en la que la piel se rompe, se corta, se perfora o se daña de alguna manera. La herida puede ser aguda o crónica. Las heridas crónicas son aquellas causadas por un proceso relativamente lento que da lugar a daño tisular. Las heridas crónicas incluyen, por ejemplo, úlceras de presión, venosas y diabéticas.

"Las úlceras diabéticas" y "infecciones del pie diabético", se refieren a tipos de heridas que no cicatrizan en personas que tienen diabetes. Las heridas del pie diabético que no cicatrizan se consideran una de las complicaciones más importantes de la diabetes, que representa una importante carga médica, social y económica mundial que afecta en gran medida a la calidad de vida del paciente. Normalmente, una insuficiencia en la circulación u otro soporte sistémico del tejido hace que falle y se desintegre, lo que da lugar a una herida crónica. Debido a que las heridas que no cicatrizan están asociadas a una circulación inadecuada, un mal funcionamiento de las venas, una mala constricción de las venas y los capilares de las extremidades exteriores, e inmovilidad, las heridas que no cicatrizan se producen con mayor frecuencia en ancianos y en personas con diabetes. Los diabéticos a menudo sufren daño en los nervios de sus pies y piernas, permitiendo que se desarrollen pequeñas heridas o irritaciones sin ser conscientes. Dadas las anomalías de la microvasculatura y otros efectos secundarios de la diabetes, estas heridas tardan mucho tiempo en sanar y requieren un enfoque de tratamiento especializado para su curación adecuada. Además de la herida que no cura, la infección se puede apoderar del sitio, dando lugar a un absceso crónico. Una vez que la infección llega a un punto crítico, la infección puede propagarse de forma local o volverse sistémica.

El término "sujeto" como se usa en el presente documento, se refiere a un sujeto mamífero, preferentemente un sujeto humano, más preferentemente un sujeto humano que tiene una herida crónica, por ejemplo, un sujeto que padece diabetes.

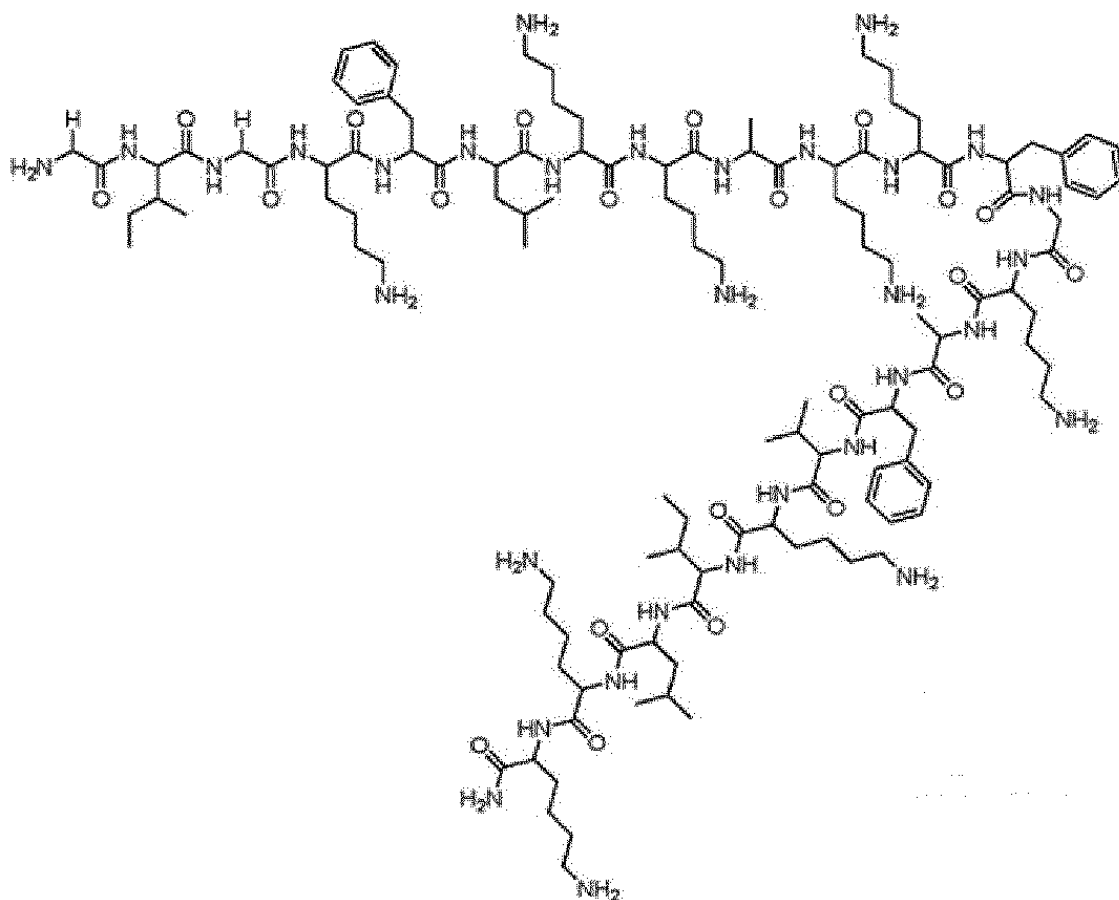
Las magaininas son péptidos catiónicos de origen natural que se encuentran en los animales. Tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana mediante su interacción con los fosfolípidos aniónicos de células microbianas, que producen la interrupción de las membranas celulares. El pexiganano (también conocido como MSI 78) es un análogo de un péptido catiónico sintético de la magainina 2, un péptido de defensa del huésped aislado de la piel de rana. La composición química del pexiganano es:

H-Gly-Ile-Gly-Lys-Phe-Leu-Lys-Lys-Ala-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Ala-Phe-Val-Lys-

Ile-Leu-Lys-Lys-NH₂ [SEQ ID NO:1].

La secuencia del pexiganano consta de siete aminoácidos de origen natural, seis de los cuales tienen la configuración L, y el séptimo (glicina) que es ópticamente inactivo. El péptido se aisló en su forma de sal de acetato con un poco de agua residual como constituyentes naturales de la sustancia farmacológica.

La molécula se sintetiza como un diastereómero individual con todos los centros quirales de estereoquímica predefinida. La fórmula molecular empírica del pexiganano es C₁₂₂H₂₁₀N₃₂O₂₂.



Véase Patente de Estados Unidos n.º 5.912.231

- 5 El pexiganano tiene actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram-positivas (tales como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA)) y organismos Gram-negativos que habitualmente infectan la piel y los tejidos blandos. Tiene un bajo potencial para la inducción de resistencia y sin resistencia cruzada con los antibióticos terapéuticos existentes, como consecuencia de su mecanismo de acción. El pexiganano actúa causando la lisis en las células de los microbios, actuando así como un inhibidor eficaz de la proliferación de bacterias, incluyendo bacterias resistentes a los antimicrobianos. El pexiganano es eficaz en el tratamiento tópico de heridas, donde se inhibe la proliferación de bacterias en la herida y trata la infección bacteriana. Preferentemente, el pexiganano se administra en forma de sal de adición de ácido, incluyendo acetato de pexiganano.

- 15 Por lo tanto, el pexiganano es un tratamiento eficaz y preferido para la infección de la herida. Sin embargo, todavía no se ha conseguido una formulación tópica estable adecuada para su administración farmacéutica.

- 20 La inestabilidad química tras su almacenamiento a largo plazo es un problema común con las formulaciones de péptidos. Con el tiempo, los péptidos se pueden degradar mediante una serie de mecanismos, incluyendo la desamidación, oxidación, hidrólisis, intercambio de disulfuro, y racemización. A diferencia de muchas moléculas terapéuticas, los péptidos no tienen una estructura globular que pueda secuestrar los grupos reactivos, y por lo tanto las cadenas laterales de muchos péptidos están expuestas a especies reactivas de oxígeno. El alto grado de flexibilidad de la cadena peptídica puede dar lugar a altas tasas de desamidación. El comportamiento de auto-asociación que muestran los péptidos puede dar lugar a una mayor inestabilidad química. Los péptidos altamente auto-asociativos pueden incluso formar micelas, lo que afecta a su capacidad para atravesar las membranas.

- 25 La naturaleza de los péptidos también da lugar a la inestabilidad física en la formulación. La capacidad de los péptidos para auto-asociarse causa que se formen agregados, llevando eventualmente a la formación de grandes agregados.

- 30 La presente invención proporciona una formulación tópica estable capaz de superar estos problemas asociados al almacenamiento a largo plazo de formulaciones de péptidos. Las formulaciones de la presente invención comprenden pexiganano y excipientes farmacéuticamente aceptables.

Puesto que las composiciones descritas en el presente documento se administran por vía tópica, las composiciones se pueden proporcionar en una forma adecuada para la administración tópica, incluyendo, pero no limitado a, cremas, lociones, ungüentos, geles, pomadas o soluciones, suspensiones, emulsiones, aerosoles u otras formas adecuadas para su administración tópica. Preferentemente, la formulación se proporciona en forma de una crema o un gel.

Cualquier dosificación adecuada de pexiganano se puede administrar mediante los métodos de la presente invención. Preferentemente, el pexiganano está en forma de sal de adición de ácido y preferentemente, la forma de sal de adición es la forma de acetato. La dosificación administrada naturalmente variará dependiendo de factores conocidos, tales como las características farmacodinámicas del compuesto particular, la sal, o su combinación; la edad, la salud o el peso del sujeto; la naturaleza y extensión de los síntomas; las características metabólicas del fármaco y el paciente, el tipo de tratamiento concurrente; la frecuencia del tratamiento; o el efecto deseado. Una concentración preferida de acetato de pexiganano es del 1-3 % p/p de la formulación. Más preferentemente, la concentración es del 1,05 % p/p.

Las formulaciones tópicas descritas en el presente documento contienen diversos excipientes. Los excipientes elegidos en general no deben precipitar el pexiganano al porcentaje utilizado, no deben causar reacciones perjudiciales al pexiganano, y deberían ayudar en la solubilización y la dispersión satisfactorias del pexiganano. Los excipientes pueden incluir, sin limitación, agentes quelantes, agentes de refuerzo, antioxidantes, emulsionantes, disolventes, emolientes, agentes gelificantes, agentes humectantes, conservantes antimicrobianos, agentes anti-espumantes, y agentes de ajuste del pH.

La formulación de la presente invención comprende al menos dos emulsionantes. El primer emulsionante es un emulsionante hidrófilo, que es Tween® 60 y el segundo emulsionante es un emulsionante hidrófobo que es Span® 60.

Se pueden utilizar otros emulsionantes, como un tercer o cuarto, o más, emulsionantes, además del primer emulsionante y el segundo emulsionante. Estos otros emulsionantes pueden incluir, pero no se limitan a, Tween® 80, sesquiestearato de metil glucosa, PEG-20 sesquiestearato de metil glucósido, Steareth-21, monoestearato de polietilenglicol 20 sorbitano, monoestearato de polietilenglicol 60 sorbitano, monoestearato de polietilenglicol 80 sorbitano, Steareth-20, Ceteth-20, estearato de PEG-100, sarcosinato de estearoil de sodio, lecitina hidrogenada, sulfato de cocoilglicerilo de sodio, sulfato de estearoil de sodio, lactilato de estearoil de sodio, monoestearato de PEG-20 de glicerilo, monoestearato de sacarosa, poliestearatos de sacarosa, estearato de poliglicerilo 10, miristato de poliglicerilo 10, steareth 10, DEA oleth 3 fosfato, DEA oleth 10 fosfato, sal de sodio de fosfato de PPG-5 Ceteth 10, sal de potasio de fosfato de PPG-5 Ceteth 10, esteareth-2, aceite de PEG-5 soja esteroil, aceite de PEG-10 soja esteroil, fosfato de dietanolamina cetilo, monoestearato de sorbitano, monoestearato de dietilenglicol, monoestearato de glicerilo, steareth-2 o -100, ácido esteárico, y mezclas de los mismos.

El equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) de los emulsionantes a la fase oleosa también afecta a la estabilidad. El HLB es una medida del grado en que una sustancia es hidrófila o lipófila, determinado mediante el cálculo de los valores de las diferentes regiones de la molécula. Un valor de HLB de 0 corresponde a una molécula completamente hidrófoba y un valor de 20 corresponde a una molécula completamente hidrófila.

Inesperadamente se ha descubierto que la relación del primer emulsionante y el segundo emulsionante es importante para la estabilidad química de la formulación. Se encontró que la proporción ideal de emulsionantes proporcionan una mejora significativa en la estabilidad química a largo plazo de la formulación a temperaturas de almacenamiento. Aunque se entiende que el ajuste de la relación del primer y segundo emulsionantes, y así el ajuste del HLB combinado de los dos emulsionantes, afecta a la estabilidad física, no se espera que tenga ningún efecto sobre la estabilidad química. Sin embargo, alterando la relación del primer emulsionante hidrófilo al segundo emulsionante hidrófobo se encontró que la formulación tiene una estabilidad química muy mejorada tras su almacenamiento a largo plazo.

El primer emulsionante hidrófilo tiene un valor HLB de entre 12 y 17. Más preferentemente, el primer emulsionante hidrófilo tiene un valor HLB de entre 13 y 16. Por ejemplo, el HLB del primer emulsionante hidrófilo puede ser 14,9.

El segundo emulsionante hidrófobo tiene un valor de HLB de entre 3,5 y 5,5. Más preferentemente, el segundo emulsionante hidrófobo tiene un valor de HLB de entre 3,5 y 5,5. Por ejemplo, el HLB del segundo emulsionante hidrófobo puede ser 4,7.

El primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo juntos pueden comprender del 1,5 al 5,0 % p/p de la formulación. Preferentemente, el primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo comprenden del 2 al 4,5 % p/p de la formulación. Más preferentemente, el primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo comprenden aproximadamente el 3,5 % p/p de la formulación. Cuando el primer emulsionante hidrófilo y el segundo emulsionante hidrófobo están presentes juntos, se puede medir el HLB combinado de los dos emulsionantes. El HLB combinado se calcula tomando el promedio ponderado de los valores individuales de HLB, como ponderado por el porcentaje de la formulación compuesta del emulsionante individual. Preferentemente, el

HLB combinado del primer emulsionante hidrófilo y del segundo emulsionante hidrófobo está entre 12,5 y 14,5. También preferentemente, el HLB combinado del primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo es 14,4. Las presentes formulaciones pueden incluir agentes quelantes. Los agentes quelantes preferidos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, los derivados del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), edetato disódico y EDTA, ácido cítrico, y mezclas de los mismos.

Las presentes formulaciones pueden incluir agentes de refuerzo, tal como se utiliza para aumentar la viscosidad y/o aumentar la consistencia. Los agentes de refuerzo preferidos pueden incluir, pero no se limitan a, alcohol estearílico, alcohol cetílico, ceras, cetareth-20, cetareth-30, alcohol cetearílico, ceteth 20, alcohol cetoestearílico, alcohol cetílico, alcohol cetílico estearílico, y mezclas de los mismos.

Las presentes formulaciones pueden incluir disolventes. Los disolventes preferidos incluyen, pero no se limitan a, propilenglicol, agua, alcohol isopropílico, vaselina líquida, éter, éter de petróleo, alcoholes (por ejemplo, etanol y alcoholes superiores), siliconas, compuestos aromáticos (por ejemplo, tolueno), alcanos (por ejemplo, pentano, hexano y heptano), cetonas (por ejemplo, acetona y metil etil cetona), hidrocarburos clorados (por ejemplo, cloroformo, tetracloruro de carbono, cloruro de metileno y dicloruro de etileno), acetatos (por ejemplo, acetato de etilo), ésteres y aceites (por ejemplo, miristato de isopropilo, adipato de diisopropilo y aceite mineral) y mezclas de los mismos. El disolvente también puede tener propiedades antimicrobianas.

Las presentes formulaciones pueden incluir conservantes. Los conservantes preferidos pueden incluir, pero no se limitan a, fenoxietanol, parabenos (tales como metilparabeno y propilparabeno), propilenglicoles, sorbatos, derivados de urea (tales como urea diazolidinilo), y mezclas de los mismos.

Las presentes formulaciones pueden incluir emolientes. Los emolientes preferidos incluyen, pero no se limitan a los triglicéridos caprílico/cáprico, aceite de ricino, manteca de cacao, adipato de diisopropilo, glicerina, monooleato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, estearato de glicerilo, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, lanolina, alcohol de lanolina, lanolina hidrogenada, parafinas líquidas, ácido linoleico, aceite mineral, ácido oleico, vaselina blanca, polietilenglicol, éteres de polioxietilenglicol de alcoholes grasos, éter de polioxipropileno 15-estearilo, estearato de propilenglicol, escualeno, compuestos de silicona, alcohol estearílico, urea y mezclas de los mismos.

Las presentes formulaciones pueden incluir antioxidantes. Los antioxidantes preferidos incluyen, pero no se limitan a, hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), galato de propilo, coenzima Q10, aceite de romero, té verde, licopeno, extracto de semilla de uva, extracto de corteza de pino, vitamina C, beta caroteno natural, beta caroteno sintético, gamma-orzanol (ésteres de ácido ferrúlico), selenio, luteína, y mezclas de los mismos.

Las presentes formulaciones pueden incluir agentes tamponantes. Los agentes tamponantes preferidos incluyen, pero no se limitan a, tampones de acetato, tales como acetato de sodio, tampones de citrato, tampones de fosfato, tampones de ácido láctico, tampones de borato, y sus mezclas. El pH de las presentes formulaciones preferentemente está entre 4,0 y 6,0. Más preferentemente, el pH de la presente formulación es 5,0.

A modo de ejemplo, una formulación puede comprender acetato de pexiganano, propilenglicol, EDTA, alcohol estearílico, alcohol cetílico, miristato de isopropilo, BHT, el 0,43 (% p/p) de Span 60, el 3,07 (% p/p) de Tween® 60, Tween 80, y tampón de acetato de sodio. Por ejemplo, una formulación puede ser:

Ingrediente	% p/p
Acetato de pexiganano	1,05
Propilenglicol	20,00
EDTA	0,10
Alcohol esterilizado	7,50
Alcohol cetílico	2,00
Miristato de isopropilo	1,00
BHT	0,10
Span® 60	0,43
Tween® 60	3,07
Tween® 80	0,10
Tampón de acetato sódico (63,4 mM)	c.s.p.

Una formulación adicional puede ser:

Ingrediente	% p/p
Acetato de pexiganano	1,05
Propilenglicol	20,00

ES 2 599 395 T3

Ingrediente	% p/p
EDTA	0,10
Alcohol esterilizado	6,00
Alcohol cetílico	2,00
Miristato de isopropilo	3,00
BHT	0,10
Span [®] 60	0,43
Tween [®] 60	3,07
Tween [®] 80	0,10
Tampón de acetato sódico (63,4 mM)	c.s.p.

Una formulación adicional puede ser:

Ingrediente	% p/p
Acetato de pexiganano	1,05
Propilenglicol	20,00
EDTA	0,10
Alcohol estearílico	6,00
Alcohol cetílico	2,00
Miristato de isopropilo	3,00
BHT	0,10
Span [®] 60	0,17
Tween [®] 60	3,33
Tween [®] 80	0,10
Ácido clorhídrico diluido	cs pH 5,0
Hidróxido de sodio al 10 %	cs pH 5,0
Tampón de acetato sódico (26,54 mM)	c.s.p.

5 Una formulación adicional puede ser:

Ingrediente	% p/p
Acetato de pexiganano	1,05
Propilenglicol	20,00
EDTA	0,10
Alcohol estearílico	7,50
Alcohol cetílico	2,00
Miristato de isopropilo	1,00
BHT	0,10
Span [®] 60	0,43
Tween [®] 60	3,07
Tween [®] 80	0,10
Propilparabeno	0,08
Metilparabeno	0,03
Ácido clorhídrico diluido	cs pH 5,0
Hidróxido de sodio al 10 %	cs pH 5,0
Tampón de acetato sódico (63,4 mM)	c.s.p.

Una formulación adicional puede ser:

Ingrediente	% p/p
Acetato de pexiganano	1,05
Propilenglicol	5,00
EDTA	0,10
Alcohol estearílico	7,50
Alcohol cetílico	2,00
Miristato de isopropilo	1,00
BHT	0,10
Span® 60	0,43
Tween® 60	3,07
Tween® 80	0,10
Ácido clorhídrico diluido	cs pH 5,0
Hidróxido de sodio al 10 %	cs pH 5,0
Tampón de acetato sódico (63,4 mM)	c.s.p.

Una formulación adicional puede ser:

5

Ingrediente	% p/p
Acetato de pexiganano	1,05
Propilenglicol	10,00
EDTA	0,10
Alcohol esterilizado	6,00
Alcohol cetílico	2,00
Miristato de isopropilo	3,00
BHT	0,10
Span® 60	0,17
Tween® 60	3,33
Tween® 80	0,10
Ácido clorhídrico diluido	cs pH 5,0
Hidróxido de sodio al 10 %	cs pH 5,0
Tampón de acetato sódico (63,4 mM)	c.s.p.

Los métodos de administración de una formulación tópica son conocidos para un experto en la materia. La presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección de la piel o de una herida que comprende la aplicación tópica a un paciente que lo necesite en el sitio de la infección una cantidad eficaz de las formulaciones de la presente invención.

10

Aunque la presente invención ha sido descrita en detalle con referencia a ejemplos específicos, se entiende que se pueden hacer varias modificaciones sin apartarse del espíritu de la invención, y serían reconocidas fácilmente por el experto en la materia.

15

Ejemplos

Las siguientes formulaciones se analizaron en los ejemplos expuestos a continuación:

20

Composiciones de formulación

Componente (% p/p)	3216-6 (Comparación)	3216-10	3216-72
Acetato de pexiganano	1,05	1,05	1,05
Propilenglicol	20,00	20,00	20,00
EDTA	0,10	0,10	0,10
Alcohol estearílico	7,50	7,50	6,00
Alcohol cetílico	2,00	2,00	2,00
Miristato de isopropilo	1,00	1,00	3,00
BHT	0,10	0,10	0,10

Componente (% p/p)	3216-6 (Comparación)	3216-10	3216-72
Span 60	2,00	0,43	0,17
Tween [®] 60	1,50	3,07	3,33
Tween 80	0,10	0,10	0,10
Ácido clorhídrico diluido	cs pH 5,0	cs pH 5,0	cs pH 5,0
Hidróxido de sodio al 10 %	cs pH 5,0	cs pH 5,0	cs pH 5,0
Tampón de acetato sódico	c.s.p.	c.s.p.	c.s.p.
La Fórmula 3216-6 tiene un HLB combinado de 9,07 ^(9,1) .			
La Fórmula 3216-10 tiene un HLB combinado de 13,6.			
La Fórmula 3216-72 tiene un HLB combinado de 14,4.			

Ejemplo 1: Estabilidad química a los 6 y 11 meses

5 Las formulaciones 3216-6, 3216-10 y 3216-72 se analizaron para determinar la estabilidad química. La estabilidad se determinó mediante ensayos de HPLC. Los parámetros cromatográficos utilizados fueron los siguientes:

Columna: Halo[®] C18 2,7 µm, 4,6 x 150 mm
 Volumen de inyección: 20 µl
 Temperatura de la columna: 70 °C
 Tasa de flujo: 1,4 ml/min
 Detección: 214 nm
 Tiempo de funcionamiento: 27 min
 Fase móvil A: 5 % de acetonitrilo: 5 % de isopropanol: 90 % de agua: 0,1 % de ácido trifluoroacético
 Fase móvil B: 70 % de acetonitrilo: 20 % de isopropanol: 10 % de agua: 0,1 % de ácido trifluoroacético

10 Se midió la degradación del fármaco. A continuación se resumen once meses de datos y los datos de estabilidad química de dieciocho meses. Se muestra la estabilidad química de los tres a 25 °C, es decir, a temperatura ambiente. Como se ha indicado más arriba, el análisis a 40 °C durante un tiempo más corto es indicativo de estabilidad a 25 °C durante periodos de tiempo más largos. El ensayo de una formulación a 40 °C durante seis meses se considera indicativo de la estabilidad de la misma formulación a 25 °C durante dos años.

15 Los resultados muestran que el pexiganano es químicamente más estable en las formulaciones 3216-10 y 3216-72 según la presente invención que en la formulación 3216-6 que se utiliza como formulación comparativa. Como se muestra a continuación, la concentración del fármaco en 3216-6 se redujo del 102,4 % de la demanda de la etiqueta en t = 0 (el punto inicial) al 87 % a los 6 meses. Es muy deseable que una formulación comercial mantenga una concentración de fármaco por encima de la marca del 90 % que se considera estable. Esto se consigue mediante las formulaciones 3216-10 y 3216-72 de acuerdo con la presente invención.

20 Por otra parte, a 40 °C, se observó una mayor degradación de la sustancia farmacológica en 3216-6 que en 3216-10 y 3216-72. Por ejemplo, a los once meses, los productos de degradación totales observados en la formulación 3216-6 a 40 °C es casi dos veces el número observado en la formulación 3216-10 a 40 °C. Esta es una diferencia significativa en la estabilidad química.

25 Los resultados que se muestran a continuación indican que las formulaciones 3216-10 y 3216-72 serían químicamente mucho más estables a las temperaturas de almacenamiento a largo plazo de la formulación 3216-6. La diferencia entre las formulaciones 3216-10 y 3216-72 frente a 3216-06 radica en la proporción de emulsionantes.

30 Estabilidad química de cremas de acetato de pexiganano al 1 %: 11 meses

Lote n.º (Fórmula n.º)	T de almacenamiento (°C)	Ensayo y productos de degradación	0	1	6	11
3216-6 (Comparación)	25	% de CL	102,4		102,8	100,3
		Productos de degradación totales			1,55	2,06
	40	% de CL	102,4	100,1	87,3	70,9
		Productos de degradación totales			10,39	20,47
3216-10	25	% de CL	102,2		102,8	101,1

ES 2 599 395 T3

Lote n.º (Fórmula n.º)	T de almacenamiento (°C)	Ensayo y productos de degradación	0	1	6	11
		Productos de degradación totales			1,53	2,65
	40	% de CL		99,8	93,6	85,6
		Productos de degradación totales			5,76	11,62
3216-72	25	% de CL	102,4		102,1	100,4
		Productos de degradación totales			1,6	1,74
	40	% de CL		99,2	94,3	84,5
		Productos de degradación totales			6,2	12,43
Para su uso como valor de t = 0 en lugar de los valores iniciales reales de los productos de degradación						

Resultados de estabilidad para una crema de acetato de pexigianano al 1,05 % p/p a los 6 meses

Formulación	Condiciones	% p/p	% de CL	Tiempo de retención acetato de pexigianano	Tiempo de retención desconocido	Tiempo de retención relativo desconocido	% Área de acetato de pexigianano ¹	Productos de degradación totales, % en área
3216-6 (Comparación)	5 °C	1,09	103,4	12,251	8,647	0,71	0,38	1,35
					9,840	0,80	0,74	
					11,538	0,94	0,24	
3216-6 (Comparación)	25 °C	1,08	102,8	12,261	8,642	0,70	0,38	1,55
					9,830	0,80	0,73	
					11,542	0,94	0,24	
					14,240	1,16	0,20	
					8,659	0,71	0,45	
					9,509	0,77	0,35	
					9,839	0,80	0,76	
					10,605	0,86	1,42	
					10,853	0,88	0,24	
					11,027	0,90	0,95	
3216-6 (Comparación)	40 °C	0,92	87,3	12,271	11,166	0,91	0,23	10,39
					11,231	0,92	0,36	
					11,546	0,94	0,39	
					11,798	0,96	0,26	
					12,646	1,03	0,48	
					14,185	1,16	0,26	
					14,866	1,21	2,61	
					17,318	1,41	1,63	
					8,657	0,71	0,38	
					9,843	0,80	0,74	
3216-10	5 °C	1,09	103,6	12,255	11,544	0,94	0,25	1,58
					14,205	1,16	0,22	
					8,640	0,71	0,37	
3216-10	25 °C	1,08	102,8	12,244				1,53

Formulación	Condiciones	% p/p	% de CL	Tiempo de retención acetato de pexigánano	Tiempo de retención desconocido	Tiempo de retención relativo desconocido	% Área de acetato de pexigánano ¹	Productos de degradación totales, % en área
3216-10	40 °C	0,98	93,6	12,296	9,833	0,80	0,74	5,76
					11,536	0,94	0,22	
					14,172	1,16	0,20	
					8,655	0,70	0,37	
					9,848	0,80	0,79	
					10,616	0,86	0,49	
					11,035	0,90	0,84	
					11,179	0,91	0,21	
					11,242	0,91	0,26	
					11,558	0,94	0,33	
					11,818	0,96	0,35	
					12,689	1,03	0,30	
					13,977	1,14	0,20	
					14,254	1,16	0,36	
					14,947	1,22	0,80	
					17,447	1,42	0,45	
3216-72	5 °C	1,09	103,6	12,273	8,663	0,71	0,36	2,03
					9,853	0,80	0,75	
					11,555	0,94	0,24	
					14,227	1,16	0,20	
3216-13 (A)	25 °C	1,07	102,1	12,269	14,655	1,19	0,26	1,60
					18,007	1,47	0,22	
					8,674	0,71	0,38	
					9,854	0,80	0,77	
3216-13 (A)	40 °C	0,99	94,3	12,280	11,550	0,94	0,22	
					14,241	1,16	0,23	
					8,661	0,71	0,42	
					9,511	0,77	0,20	
					9,851	0,80	0,76	

Formulación	Condiciones	% p/p	% de CL	Tiempo de retención acetato de pexiganano	Tiempo de retención desconocido	Tiempo de retención relativo desconocido	% Área de acetato de pexiganano ¹	Productos de degradación totales, % en área
					10,620	0,86	0,68	6,20
					10,862	0,88	0,23	
					11,036	0,90	0,84	
					11,242	0,92	0,29	
					11,553	0,94	0,30	
					11,808	0,96	0,31	
					12,668	1,03	0,25	
					13,957	1,14	0,21	
					14,226	1,16	0,23	
					14,932	1,22	0,91	
					17,434	1,42	0,57	
¹ Fueron reportados picos ≥ 0,2 % de la superficie de la sustancia farmacológica por RRT y el % de área relativa al pico de acetato de pexiganano.								

Resultados de estabilidad para una crema de acetato de pexiganano al 1,05 % p/p a los 11 meses

Formulación	Condiciones	% p/p	% de CL	Tiempo de retención acetato de pexiganano	Tiempo de retención desconocido	Tiempo de retención relativo desconocido	% Área de acetato de pexiganano ¹	Productos de degradación totales, % en área
3216-6 (Comparación)	25 °C	1,05	100,3	13,155	8,956	0,68	0,36	2,06
					10,157	0,77	0,75	
					11,392	0,87	0,21	
					11,532	0,88	0,32	
					11,922	0,91	0,21	
					16,992	1,29	0,22	
					8,836	0,67	0,38	
					8,963	0,68	0,63	
					9,879	0,75	0,75	
					10,148	0,77	1,09	
3216-6 (Comparación)	40 °C	0,74	70,9	13,150	10,533	0,80	0,30	20,47
					10,965	0,83	5,58	
					11,240	0,85	0,91	
					11,382	0,87	1,63	
					11,570	0,88	2,01	
					11,916	0,91	0,24	
					12,163	0,92	0,94	
					14,478	1,10	0,23	
					15,129	1,15	0,21	
					15,689	1,19	0,55	
3216-10	25 °C	1,06	101,1	13,152	17,036	1,30	5,01	2,65
					8,967	0,68	0,38	
					10,160	0,77	0,79	
					10,890	0,83	0,36	
					11,399	0,87	0,46	
					11,542	0,88	0,43	
					11,941	0,91	0,24	

Resultados de estabilidad para una crema de acetato de pexiganano al 1,05 % p/p a los 11 meses

Formulación	Condiciones	% p/p	% de CL	Tiempo de retención acetato de pexiganano	Tiempo de retención desconocido	Tiempo de retención relativo desconocido	% Área de acetato de pexiganano ¹	Productos de degradación totales, % en área
3216-10	40 °C	0,90	85,6	13,174	8,852	0,67	0,24	
					8,980	0,68	0,48	
					9,918	0,75	0,49	
					10,175	0,77	0,98	
					10,609	0,81	0,28	
					10,875	0,83	0,28	
					10,993	0,83	1,78	11,62
					11,258	0,85	0,69	
					11,400	0,87	1,59	
					11,586	0,88	1,65	
3216-13 (A)	25 °C	1,05	100,4	13,072	11,936	0,91	0,39	
					12,303	0,93	0,67	
					17,067	1,30	2,11	
					8,967	0,69	0,38	
					10,171	0,78	0,78	1,74
3216-13 (A)	40 °C	0,89	84,5	13,125	11,403	0,87	0,33	
					17,011	1,30	0,24	
					8,820	0,67	0,29	
					8,956	0,68	0,49	
					9,898	0,75	0,58	
					10,165	0,77	1,01	
					10,569	0,81	0,36	
					10,865	0,83	0,49	
					10,987	0,84	2,32	12,43
					11,246	0,86	0,79	
3216-13 (A)	40 °C	0,89	84,5	13,125	11,395	0,87	1,24	
					11,579	0,88	1,58	

Formulación	Condiciones	% p/p	% de CL	Tiempo de retención acetato de pexiganano	Tiempo de retención desconocido	Tiempo de retención relativo desconocido	% Área de acetato de pexiganano ¹	Productos de degradación totales, % en área
					11,916	0,91	0,38	
					12,278	0,94	0,55	
					17,059	1,30	2,35	
¹ Fueron reportados picos $\geq 0,2$ % de la superficie de la sustancia farmacológica por RRT y el % de área relativa al pico de acetato de pexiganano.								

Ejemplo 2: Estabilidad química a los 18 meses a 40 °C

La estabilidad química de 3216-6, 3216-10, y 3216-72 se analiza a 40 °C durante 18 meses, predictivo del almacenamiento a largo plazo de las formulaciones a 25 °C. Se observan que los resultados muestran que la diferencia entre la formulación 3216-6 en comparación con las formulaciones de 3216-10 y 3216-72 de acuerdo con la presente invención a 40 °C presentan una diferencia significativa en el número de productos de degradación. En otras palabras, la diferencia en el número de productos de degradación entre la formulación 3216-6 (utilizada como comparación) frente a las formulaciones 3216-10 y 3216-72 a los 18 meses es mayor que la diferencia observada entre estas mismas formulaciones a los 11 meses (mostrado más arriba en el Ejemplo 1).

Ejemplo 3: Estabilidad física

La estabilidad física de las formulaciones se analizó para determinar el aspecto, el pH (puro), la viscosidad a temperatura ambiente, y se realizó un ensayo del ingrediente farmacéutico activo.

Las muestras se analizaron a 1, 2, y 3 meses, a 5 °C, 25 °C y 40 °C. El ensayo a 40 °C proporciona una buena indicación de la estabilidad de un producto que se almacena a largo plazo a 25 °C. Se observa que el ensayo a 40 °C durante un corto tiempo tal como seis meses, se considera indicativo de la estabilidad a 25 °C (es decir, temperatura ambiente) durante un periodo de tiempo más largo (veinticuatro meses); es decir, proporciona condiciones de ensayo aceleradas.

El ciclo de congelación/descongelación consistió en almacenamiento durante tres o cuatro días a -20 °C, seguido de almacenamiento durante tres o cuatro días a temperatura ambiente; se realizaron un total de tres ciclos.

Se midieron el aspecto, el pH y la viscosidad. En cuanto al aspecto, se prefiere una crema suave que parece de color blanco o blanquecino, sin separación evidente en fases separadas. En cuanto al pH, un pH típico adecuado puede incluir un pH entre aproximadamente 4,5 y aproximadamente 8.

En cuanto a la viscosidad, se realizó la medición de la crema a temperatura ambiente. Se midieron los valores de viscosidad de muestras de 13 gramos en un reómetro equipado con un husillo n.º 29, a 30 rpm, usado a temperatura ambiente durante 2 minutos. Las viscosidades ideales incluyen un rango de 5000 a 40.000 mPa·s, y preferentemente se encuentran entre 10.000 y 20.000 mPa·s.

Los resultados, que muestran estos parámetros de estabilidad física, fueron los siguientes:

Crema de acetato de pexiganano al 1,05 %: Fórmula n.º: 3216-6 (Comparación)

Condiciones de almacenamiento	Punto temporal (meses)	Aspecto	pH (puro)	Viscosidad ¹ (mPa·s)
N/D	T = 0	Conforme	5,02	10460
C/D	3 ciclos	Conforme	5,01	9300
5 °C	1	Conforme	5,06	7133
	2	Conforme	5,00	11360
	6	Conforme	5,06	6000
25 °C	1	Conforme	5,06	13200
	2	Conforme	5,00	13900
	6	Conforme	5,04	12660
	11	Conforme	NA	NA
40 °C	18	Conforme	5,04	14660
	1	Conforme	5,10	16660
	2	Conforme	5,01	16900
	6	Conforme	5,05	17760
	11	Conforme	NA	NA

¹: Los parámetros de viscosidad son los siguientes: Cámara 13R, husillo 29, 30 rpm, muestra de 13 gramos a temperatura ambiente durante 2 minutos

Conforme = crema blanca a blanquecina suave

NA = no analizado (no sometido a ensayo)

Crema de acetato de pexiganano al 1,05 %: Fórmula n.º: 3216-10

Condiciones de almacenamiento	Punto temporal (meses)	Aspecto	pH (puro)	Viscosidad ¹ (mPa·s)
N/D	T = 0	Conforme	4,82	17030
C/D	3 ciclos	Conforme	4,88	10930
5 °C	1	Conforme	4,89	18300
	2	Conforme	4,83	16360
	3	NA	NA	NA
	6	Conforme	4,76	9100
25 °C	1	Conforme	4,89	12430

Condiciones de almacenamiento	Punto temporal (meses)	Aspecto	pH (puro)	Viscosidad ¹ (mPa·s)
	2	Conforme	4,82	12100
	3	NA	NA	NA
	6	Conforme	4,76	10160
	11	Conforme	NA	NA
	18	Conforme	4,78	8266
40 °C	1	Conforme	4,89	19700
	2	Conforme	4,83	21330
	3	NA	NA	NA
	6	Conforme	4,77	20200
	11	Conforme	NA	NA

¹: Los parámetros de viscosidad son los siguientes: Cámara 13R, husillo 29, 30 rpm, muestra de 13 gramos a temperatura ambiente durante 2 minutos
 Conforme = crema blanca a blanquecina suave
 NA = no analizado (no sometido a ensayo)

Crema de acetato de pexiganano al 1,05 %: Fórmula n.º: 3216-72

Condiciones de almacenamiento	Punto temporal (meses)	Aspecto	pH (puro)	Viscosidad ¹ (mPa·s)
N/D	T = 0	Conforme	4,99	19660
C/D	3 ciclos	Conforme	5,09	11230
5 °C	1	Conforme	5,04	15930
	2	Conforme	4,99	16160
	3	NA	NA	NA
	6	Conforme	4,93	10400
25 °C	1	Conforme	5,06	14030
	2	Conforme	4,99	14400
	3	NA	NA	NA
	6	Conforme	4,93	12160
40 °C	11	Conforme	NA	NA
	1	Conforme	5,06	18100
	2	Conforme	5,01	18860
	3	NA	NA	NA
	6	Conforme	4,95	20300
	11	Conforme	NA	NA

¹: Los parámetros de viscosidad son los siguientes: Cámara 13R, husillo 29, 30 rpm, muestra de 13 gramos a temperatura ambiente durante 2 minutos
 Conforme = crema blanca a blanquecina suave
 NA = no analizado (no sometido a ensayo)

Ejemplo 4: Ensayos de estrés

- 5 Se realizaron ensayos de estrés de centrifugación para ayudar a evaluar la probabilidad de que el producto se mantenga unido en almacenamiento a largo plazo. Las formulaciones se sometieron a ensayos de estrés en una centrífuga, como se muestra a continuación. La formulación 3216-10 era idéntica a la formulación 3216-6 en todos los aspectos excepto para la relación de dos emulsionantes, Span 60 y Tween 60. En 3216-6, la relación en % p/p es de 2:1,5, mientras que en 3216-10 esta proporción se modificó a 0,43:3,07. La cantidad total de los dos emulsionantes se mantuvo igual al 3,5 % p/p. Sin embargo, el ajuste de la relación de los dos dio lugar a una estabilidad superior. La formulación 3216-10 era más capaz de mantener su integridad física en el ensayo de estrés como se evidencia por el tiempo requerido para presentar separación de fases. En el ensayo de centrifugación a 25 °C, mientras que 3216-6 mostraba separación después de 10 minutos a 5000 g, 3216-10 necesitó 60 minutos en condiciones de estrés similares para mostrar separación. En un ensayo similar realizado a 40 °C (condiciones aceleradas), mientras que 3216-6 mostraba separación después de 60 minutos, no se observó tal separación con 3216-10.

Tabla 3. Ensayos de estrés de la crema de acetato de pexiganano

Formulación n.º	Condiciones	pH inicial	pH	Aspecto	Viscosidad, mPa·s	Fase punto de separación en la centrifugación Prueba 2	
						25 °C	40 °C
3216-6 (Comparación)	5 °C	5,07	5,06	Conforme	6480	Signo de separación a 5000 g, 10 min	Signo de separación a 5000 g, 60 min
	25 °C		5,02	Conforme	10980		
	40 °C		5,09	Conforme	10420		
	50 °C		5,04	Conforme	12780		
	-20 °C/40 °C		4,93	Conforme	10580		
3216-10	5 °C	5,08	5,11	Conforme	9880	Signo de separación a 5000 g, 60 min	Sin separación
	25 °C		5,07	Conforme	17400		
	40 °C		5,12	Conforme	17160		
	50 °C		5,1	Conforme	17840		
	- 20 °C/40 °C Ciclos		4,94	Conforme	16040		

¹ Crema viscosa suave de color blanco a color blanquecino

Ejemplo 5: Preparación de una formulación de pexiganano

5 Etapa 1: El tampón de acetato de sodio se preparó mezclando el agua purificada, trihidrato de acetato de sodio y ácido acético glacial.

10 Etapa 2: En el recipiente de fabricación principal se combinaron propilenglicol, polisorbato 60 y aproximadamente el 85 % del tampón de acetato de sodio. La mezcla se calentó a 65-70 °C mientras se mezcla con hélice. Se mantuvo la temperatura.

15 Etapa 3: En un segundo recipiente, se combinaron alcohol estearílico, alcohol cetílico, monoestearato de sorbitano, miristato de isopropilo y BHT, y se calienta a 65-70 °C mientras se mezcla para asegurar que todos los materiales sólidos se funden. Se mantuvo la temperatura.

Etapa 4: En un tercer recipiente, se combinaron el resto del tampón de acetato de sodio, polisorbato 80, edetato disódico y acetato de pexiganano, y se calienta a 35-45 °C con agitación hasta que se obtuvo una solución clara. Se mantuvo la temperatura.

20 Etapa 5: Con homogeneización, se añadió lentamente la fase oleosa de la etapa 3 a la fase acuosa de la etapa 2.

25 Etapa 6: Se interrumpió el calentamiento. Se continuó la homogeneización. La emulsión se enfrió a 55 °C usando un baño de hielo.

Etapa 7: La homogeneización se detuvo y la emulsión se retiró del baño de hielo.

Etapa 8: Se inició la mezcla con hélice. La fase de fármaco de la etapa 4 se añadió a la emulsión de la etapa 7.

30 Etapa 9: Con mezcla con hélice continua, el lote se enfrió a temperatura ambiente.

Etapa 10: El pH se registró. Si es necesario, el pH se ajustó a $5,0 \pm 0,2$ utilizando HCl al 10 % o NaOH al 10 %. El producto se mezcló hasta que esté suave y homogéneo.

35 Ejemplo 6: Preparación y purificación del ingrediente activo acetato de pexiganano

El ingrediente activo, el acetato pexiganano, se proporciona como un polvo liofilizado.

40 El precursor de péptido-resina de acetato de pexiganano se fabricó usando el procedimiento general descrito en Merrifield (Solid Phase Peptide Synthesis I. The Synthesis of a Tetrapeptide. J. Am. Chem. Soc. 1963 85 (14): 2149-2154), con pequeñas modificaciones. El grupo α -amino de cada aminoácido se protegió con el grupo Fmoc sensible a la base, mientras que los grupos de cadena lateral funcional se protegen con grupos lábiles en medio ácido. La síntesis se llevó a cabo usando resina Fmoc-Rink Amide (sustitución: aproximadamente 0,7 meq/g) como soporte de la resina de partida para el proceso de fabricación. Se utilizó la química convencional de Fmoc para el ensamblaje de la cadena de péptido, utilizando el siguiente ciclo general:

- eliminación del grupo Fmoc N-terminal de la resina de partida o del último aminoácido añadido utilizando una solución al 20 % (v/v) de piperidina en DMF;
- lavado con DMF;

- acoplamiento del siguiente aminoácido utilizando DIC en presencia de HOBt; y
- lavado con DMF.

5 Después de eliminar el grupo Fmoc y el lavado con DMF, se separó una pequeña muestra de la resina y se sometió al ensayo de control en proceso de la ninhidrina, un ensayo de medición del color de los grupos amino unidos a la resina residual. El ensayo fue positivo para confirmar la presencia del grupo amino libre.

10 Este ciclo se repitió con los derivados de aminoácidos apropiados, es decir, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ile-OH y Fmoc-Gly-OH. El seguimiento en proceso, utilizando el ensayo de la ninhidrina, se llevó a cabo al final de cada ciclo de síntesis como evaluación de la etapa de acoplamiento. Un resultado negativo indica la ausencia de aminas libres (acoplamiento completo). Si se determina que el ensayo es positivo, que indica amina sin reaccionar (acoplamiento incompleto), la reacción de acoplamiento se puede prolongar, se puede realizar el re-acoplamiento del derivado de aminoácido protegido o se puede realizar la acetilación (protección terminal), usando anhídrido acético en presencia de DIEA.

20 La resina se lavó con IPA y se secó bajo una corriente de nitrógeno para dar el precursor de péptido protegido-resina de acetato de pexiganano. El producto se separó de la resina y de forma concomitante se desprotege por tratamiento de los sublotos del precursor de péptido-resina con una mezcla de TFA y agua (TFA:H₂O, aproximadamente 95:5, v/v) durante aproximadamente dos horas y media a temperatura ambiente. La resina se separó por filtración, se lavó con TFA adicional, y los filtrados combinados se concentraron por evaporación rotatoria. El producto en bruto se precipitó mediante la adición de los filtrados concentrados a MTBE, se aisló por filtración, se lavó sobre el filtro con MTBE, y se secó hasta un peso constante en un horno de vacío a temperatura ambiente.

30 El pexiganano en bruto de la etapa anterior se purificó por un procedimiento de RP-HPLC preparativa de dos pasos, en sílice C₁₈ de fase inversa, durante la que se evaluó la pureza de las fracciones por HPLC analítica. En el primer paso del proceso, sublotos del producto en bruto se redisolieron por separado en ácido acético acuoso diluido (aproximadamente 10 %, v/v), la solución se filtró y se aplicó a una columna de HPLC preparativa que se ha lavado con metanol y se equilibró con fosfato de trietilamonio acuoso 0,1 M, pH 2,3 (TEAP). El producto se eluyó usando un gradiente de acetonitrilo en tampón TEAP, con control por rayos ultravioleta (UV) a 230 nm. Las fracciones resultantes se analizaron mediante un método de HPLC en proceso y se combinaron de tal manera que la pureza cumple con los requisitos para los controles en proceso. Las fracciones con una pureza por debajo de los criterios de control en proceso se pueden reciclar a través del procedimiento anterior o se pueden descartar.

40 En la segunda etapa de la purificación, el grupo de péptido semi-purificado procedente de la primera etapa de purificación se diluyó y se cargó en una columna preparativa, que había sido equilibrada con TFA acuoso al 0,1 %. El producto se eluyó usando un gradiente de acetonitrilo en TFA acuoso al 0,1 % con control por UV a 230 nm. Las fracciones resultantes se analizaron mediante un método de HPLC en proceso y se combinaron de tal manera que la pureza cumplía con los requisitos para los controles en proceso. Las fracciones con una pureza por debajo de los criterios de control en proceso se pueden reciclar a través del procedimiento anterior o se pueden descartar.

45 Las fracciones reunidas de la purificación en dos etapas se liofilizaron por separado para dar sublotos de la sal de TFA del producto purificado, que se almacena en condiciones de refrigeración antes de la conversión a la sal de acetato en la siguiente etapa del proceso.

50 La sal de TFA purificada del producto de la etapa de purificación anterior se convirtió en la sal de acetato mediante un procedimiento de intercambio iónico utilizando resina Dowex 1 X 2-100. Se pasó una solución de los sublotos agrupados en ácido acético acuoso diluido (aproximadamente 10 %, v/v) a través de una columna rellena con un exceso de Dowex 1 X 2-100 (forma de acetato), que se lavó posteriormente con ácido acético acuoso adicional para recuperar completamente el producto.

55 Los eluyentes combinados de la etapa de intercambio de contraión se filtraron y se liofilizaron hasta sequedad para dar la sal de acetato de pexiganano.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación tópica que comprende pexiganano o una sal de adición de ácido del mismo que comprende un primer tensioactivo hidrófilo que tiene un valor de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) entre 12 y 17 y un segundo tensioactivo hidrófobo que tiene un valor de HLB entre 3,5 y 5,5, en el que el primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo comprenden del 1,5 % p/p al 5,0 % p/p de la formulación y la relación ponderal del primer al segundo tensioactivo es tal que el HLB combinado está entre 12,5 y 14,5, en el que el primer tensioactivo hidrófilo es monoestearato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 60) y el segundo tensioactivo hidrófobo es monoestearato de sorbitano (Span® 60).
2. La formulación tópica de la reivindicación 1, en la que el primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo comprenden del 2 % p/p al 4,5 % p/p de la formulación.
3. La formulación tópica de la reivindicación 1, en la que el primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo comprenden aproximadamente el 3,5 % p/p de la formulación.
4. La formulación tópica de la reivindicación 1, en la que el HLB combinado del primer tensioactivo hidrófilo y el segundo tensioactivo hidrófobo es 13,6.
5. Una formulación tópica estable que comprende:
 - (i) 1,05 (% p/p) de acetato de pexiganano
 - (ii) 20,0 (% p/p) de propilenglicol
 - (iii) 0,1 (% p/p) de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)
 - (iv) 7,5 (% p/p) de alcohol estearílico
 - (v) 2,0 (% p/p) de alcohol cetílico
 - (vi) 1,0 (% p/p) de miristato de isopropilo
 - (vii) 0,1 (% p/p) de hidroxitolueno butilado (BHT)
 - (viii) 0,43 (% p/p) de monoestearato de sorbitano (Span® 60)
 - (ix) 3,07 (% p/p) de monoestearato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 60)
 - (x) 0,1 (% p/p) de monooleato de polioxietileno (20) sorbitano (Tween® 80) y
 - (xi) (c.s.p.) de tampón de acetato de sodio.
6. Una formulación tópica estable que comprende:
 - (i) 1,05 (% p/p) de acetato de pexiganano
 - (ii) 20,0 (% p/p) de propilenglicol
 - (iii) 0,1 (% p/p) de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)
 - (iv) 6,0 (% p/p) de alcohol estearílico
 - (v) 2,0 (% p/p) de alcohol cetílico
 - (vi) 3,0 (% p/p) de miristato de isopropilo
 - (vii) 0,1 (% p/p) de hidroxitolueno butilado (BHT)
 - (viii) 0,17 (% p/p) de monoestearato de sorbitano (Span® 60)
 - (ix) 3,33 (% p/p) de monoestearato de polioxietilen (20) sorbitano (Tween® 60)
 - (x) 0,1 (% p/p) de monooleato de polioxietileno (20) sorbitano (Tween® 80) y
 - (xi) (c.s.p.) de tampón de acetato de sodio.
7. Una formulación tópica estable de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6 para su uso en un método de tratamiento de una infección de la piel o de una herida.