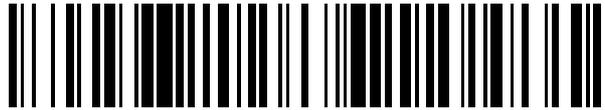


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 640 756**

51 Int. Cl.:

A61K 38/14 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 31/7036 (2006.01)
A61K 31/7052 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.10.2011 PCT/US2011/056661**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.04.2012 WO12054447**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.10.2011 E 11834974 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.06.2017 EP 2629779**

54 Título: **Uso de depósitos de fosfolípidos viscosos estables para tratar heridas**

30 Prioridad:

22.10.2010 US 405715 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.11.2017

73 Titular/es:

**DR. REDDY'S LABORATORIES SA. (100.0%)
Elisabethenanlage 11
4051 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**CHEN, HAILIANG;
CHEN, ANDREW XIAN;
SURAKANTI, DUSHYANTH y
OKUMU, FRANKLIN**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 640 756 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

Uso de depósitos de fosfolípidos viscosos estables para tratar heridas

5 Referencia a solicitudes de patente relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos N.º: 61/405.715, presentada el 22 de octubre de 2010.

10 Antecedentes de la invención

Una herida es una lesión en el cuerpo, como las que se producen como resultado de violencia, accidente o cirugía, que típicamente implica laceración o rotura de una membrana y que normalmente daña a tejidos y/o huesos subyacentes. Merriam-Webster's Collegiate Dictionary, 11ª ed. 2004.

15 El tratamiento de una herida depende del tipo, causa, localización y profundidad de la herida, así como de otras estructuras afectadas que están más allá de la piel. Sin embargo, en general, el tratamiento consiste en limpiar, tratar con un antibiótico, proteger la herida cubriéndola con una compresa de gasa para absorber los líquidos y evitar una contaminación adicional y/o cerrar la herida para evitar una mayor contaminación. El cierre de la herida
20 normalmente implica el uso de una sutura, clips metálicos, grapas y tiras adhesivas.

En general, el riesgo de infección en una herida se reduce mediante la limpieza adecuada de la herida y/o el desbridamiento, eliminando cualquier material extraño y tejido no viable antes de la aplicación de un antibiótico en la herida.

25 Los sistemas de cierre de heridas asistidos por vacío, que son sistemas de cierre de heridas que aplican de forma continua o intermitente presión subatmosférica a la superficie de una herida, pueden usarse para eliminar de la herida los fluidos y el tejido no viable, disminuir el nivel de bacterias en la herida, mejorar el flujo sanguíneo en el lecho de la herida y el tejido circundante y/o juntar los bordes de la herida y estimular el crecimiento celular. Tales
30 sistemas de cierre de heridas asistidos por vacío se describen en, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos 4.949.880, 5.100.396, 5.261.893, 5.527.293, 6.071.267, 7.799.004 y Gestring, Negative Pressure Wound Therapy, UpToDate, May 2010.

35 Un depósito es una forma de administrar un principio activo, tal como un antibiótico, en el cuerpo de un paciente por acción sistémica o local. Generalmente se administra mediante inyección subcutánea o intramuscular o instilación en otros tejidos corporales, vasos o cavidades. Un depósito también puede aplicarse a una herida antes de contenerla, coserla, vendarla o cerrarla de otra manera. A diferencia de los depósitos extraíbles, los depósitos biodegradables se desintegran o degradan en un tiempo predefinido, típicamente después de que el ingrediente farmacéutico activo atrapado se haya administrado. En otras construcciones, el depósito biodegradable inyectable libera su ingrediente
40 farmacéutico activo casi simultáneamente con, o en función de, su degradación gradual. Una ventaja clave de ciertos depósitos de administración biodegradables es su capacidad de liberar la medicación directamente en el sitio de acción previsto proporcionando concentraciones locales elevadas de la medicación en comparación con los niveles sistémicos.

45 Los depósitos también pueden modular la administración de medicamentos para permitir varios perfiles de liberación. El perfil de liberación podría ser de liberación inmediata (descarga) seguido de un equilibrio, podría ser, entre otras cosas, de "orden cero" o velocidad de administración constante, podría proporcionar un incremento lento hasta el equilibrio o incluso podría proporcionar una liberación retardada. Además, los depósitos tienen la ventaja de permitir la liberación durante un período de tiempo prolongado, con una sola administración. Los niveles en sangre
50 no se ven comprometidos por, por ejemplo, problemas de cumplimiento del paciente.

Los depósitos pueden estar compuestos por sistemas de partículas, tales como depósitos a base de microesferas y depósitos a base de nanoesferas, o también pueden estar compuestos por un gel biodegradable, típicamente hecho de formadores de matriz soluble (polímeros, lípidos, hidratos de carbono) y un disolvente orgánico o una mezcla de
55 disolventes miscibles y no miscibles en agua.

Se han utilizado fosfolípidos para preparar depósitos que comprenden un agente farmacológico activo lipófilo. Los fosfolípidos son solubles en aceites o disolventes orgánicos pero insolubles en agua. Para formar un depósito, a menudo se requiere una concentración alta de fosfolípidos formadores de depósitos. Esto puede afectar al volumen y a la viscosidad del depósito resultante y, por consiguiente, los depósitos de fosfolípidos disponibles actualmente
60 pueden ser muy difíciles de inyectar a través de una aguja convencional o una jeringa. Entre las referencias que describen formulaciones basadas en fosfolípidos se incluyen los documentos WO 89/00077, WO 02/32395, EP 0282405 y las patentes de Estados Unidos N.º 5.863.549, 4.252.793, 5.660.854, 5.693.337 y Wang et al., Lyophilization Of Water-In-Oil Emulsions To Prepare Phospholipid-Based Anhydrous Reverse Micelles For Oral Peptide Delivery, (39) European Journal of Pharmacology, en 373-79 (2010).

65 El documento US4610868 se refiere a vehículos de matriz lipídica que proporcionan la liberación sostenida de

agentes bioactivos *in vivo* o *in vitro*.

La vancomicina es un antibiótico glicopeptídico utilizado en la profilaxis y el tratamiento de infecciones causadas por bacterias grampositivas. Generalmente es el fármaco de elección para infecciones graves y endocarditis causada por *S. aureus*, estafilococos negativos para la coagulasa, *Streptococcus pneumoniae*, estreptococos β -hemolíticos, corynebacteria del grupo JK, estreptococos viridans o enterococos cuando no se pueden usar β -lactámicos por alergias o resistencias farmacológicas. La vancomicina puede combinarse con otros antimicrobianos al tratar, *entre otras cosas*, la endocarditis de la válvula protésica producida por estafilococos resistentes a la meticilina negativos para la coagulasa y la endocarditis enterocócica. También se ha utilizado como agente alternativo para la meningitis neumocócica causada por cepas con sensibilidad reducida a la penicilina. La vancomicina se ha utilizado en la cirugía cardíaca y vascular para prevenir la infección posquirúrgica. Véase Rybak et al., Vancomycin Therapeutic Guidelines: A Summary of Consensus Recommendations From The Infectious Diseases Society of America, The American Society Of Health-System Pharmacists, and The Society Of Infectious Disease Pharmacists, CID 2009:49 (1 August), pág. 325.

La gentamicina es un antibiótico aminoglucósido utilizado para tratar muchos tipos de infecciones bacterianas, particularmente las causadas por bacterias gramnegativas. Se ha utilizado en un entorno quirúrgico porque actúa contra patógenos tales como anaerobios y enterococos. La gentamicina se ha utilizado en otras aplicaciones quirúrgicas (por ejemplo, entornos ortopédicos) y se está utilizando actualmente en un implante de colágeno biodegradable.

Tanto la vancomicina como la gentamicina en sus formas de sal disponibles actualmente y usadas habitualmente, por ejemplo clorhidrato de vancomicina y el sulfato de gentamicina, son antibióticos muy hidrófilos. Estos antibióticos, particularmente en sus formas de sal, son también difíciles de formular en depósitos inyectables basados en fosfolípidos u otras formulaciones de alto contenido en fase oleosa, ya que no son libremente solubles en fosfolípidos o aceite.

Además, mediante la realización de una serie de ensayos de estabilidad, actualmente se ha descubierto que la vancomicina y la gentamicina se degradan mediante diferentes mecanismos. La vancomicina pierde su estabilidad a través de la hidrólisis y la gentamicina se degrada debido a la oxidación o formación de aductos. Por tanto, las formulaciones que contienen cualquiera de los principios activos son generalmente sensibles a estas condiciones. Además, tanto la vancomicina como la gentamicina son sensibles al calor y no pueden esterilizarse usando calor, tal como autoclave o radiación gamma.

Por consiguiente, intentar formular un depósito que comprende una sal de vancomicina, una sal de gentamicina o ambas junto con un fosfolípido y un aceite proporcionan muchos desafíos prácticos. Una de tales características incluye la formulación no debe presentar una viscosidad alta, ya que la formulación tiene que esterilizarse mediante filtración a través de una membrana esterilizante, tal como una que tenga poros de aproximadamente 0,22 micrómetros o menos. También subsisten ciertos problemas dicotómicos. Por ejemplo, estos principios activos tienen también problemas de compatibilidad con los fosfolípidos que, como la viscosidad, sugieren la necesidad de mantener bajo el contenido de fosfolípidos. Sin embargo, la necesidad de una formación de gel coherente y cohesiva y unas características de liberación adecuadas sugieren lo contrario. Por consiguiente, sigue existiendo la necesidad no satisfecha de depósitos de fosfolípidos viscosos estables durante el almacenamiento que contengan una vancomicina, gentamicina, una sal farmacéutica de las mismas o una mezcla de las mismas que se pueda administrar mediante inyección subcutánea o intramuscular o por inyección o instilación en una herida u otros tejidos corporales, vasos o cavidades para tratar y/o prevenir la infección de la herida.

Breve resumen de la invención

Un aspecto de la presente invención proporciona un procedimiento para fabricar un depósito que comprende un agente o agentes farmacéuticamente activos hidrófilos solubles en agua que comprende: (1) disolver una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina o una mezcla de las mismas en agua; (2) formar una emulsión de aceite en agua que comprende un fosfolípido, un aceite y una solución acuosa que comprende la sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina o la mezcla de las mismas (una "emulsión"); (3) homogeneizar la emulsión usando un homogeneizador de alta presión, tal como un MICROFLUIDIZADOR para obtener una "solución monofásica", (4) asegurar que el pH de la emulsión y/o la solución monofásica esté entre aproximadamente 3 a aproximadamente 6, un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 o un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 ajustando el pH según sea necesario, (5) liofilizar la solución a pH ajustado, (6) añadir un agente modificador de la viscosidad en una cantidad suficiente para obtener una viscosidad deseada, (7) prefiltrar la solución de viscosidad modificada para obtener una solución transparente, (8) eliminar una cierta cantidad del agente modificador de la viscosidad de la solución transparente para obtener un depósito que tiene de aproximadamente 5,5 % en peso a aproximadamente 7,5 % en peso del agente modificador de la viscosidad con respecto al peso total del depósito, (9) esterilizar el depósito sin calentar el depósito. En otra realización, la prefiltración y la eliminación del agente modificador de la viscosidad son etapas opcionales. el(los) agente(s) farmacéuticamente activo(s) es una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina o gentamicina. En algunas realizaciones, el(los) agente(s) farmacéuticamente activo(s) es una mezcla de una sal farmacéuticamente

aceptable de vancomicina y gentamicina. También se contemplan depósitos que comprenden las sales farmacéuticamente aceptables de vancomicina, gentamicina o una mezcla de las mismas, estén hechas mediante este proceso o mediante algún otro.

5 En una realización, el método comprende además una etapa de llenar asépticamente el depósito viscoso en una jeringa, un vial o cualquier otro dispositivo apropiado capaz de almacenar y/o administrar el depósito en el sitio de tratamiento o en la herida.

10 De acuerdo con otro aspecto de la invención, un agente estabilizante se disuelve opcionalmente en agua junto con el ingrediente o los ingredientes farmacéuticamente aceptables. Entre los ejemplos del agente estabilizante se incluyen, pero no de forma limitante, EDTA disódico, glicina, L-histidina, ácido cítrico, metionina, ácido ascórbico, L-cisteína, alfa-tocoferol y mezclas de los mismos. En aún otro aspecto de la invención, el depósito no incluye un agente estabilizante.

15 En aún otra realización, se lleva a cabo la etapa de homogeneización de la emulsión, que da como resultado una emulsión primaria, donde la fase discontinua de lípido/aceite tiene un diámetro promedio inferior a aproximadamente 200 nm, inferior a aproximadamente 100 nm o inferior a aproximadamente 80 nm.

20 Se cree que la reducción del diámetro promedio de las gotitas lipídicas, sin limitaciones, reduce la viscosidad de la solución monofásica resultante, lo que permite la esterilización a través de un filtro, en lugar de usar un sistema de esterilización basado en calor, tal como esterilización por autoclave o radiación gamma, que puede afectar a la estabilidad de la vancomicina y/o la gentamicina.

25 Antes de la etapa de homogeneización, la emulsión suele ser una masa blanca, opaca, espesa similar al yogur. Después de la homogeneización, la solución monofásica resultante es, generalmente, transparente, translúcida y similar al agua en las propiedades de viscosidad y flujo.

30 Aunque la presente invención no está limitada por ninguna teoría de funcionamiento en particular, se cree que una forma muy hidrófila de vancomicina, gentamicina o una mezcla de las mismas, puede formularse con fosfolípidos para formar una solución monofásica como se define en el presente documento, dando como resultado depósitos viscosos estables durante el almacenamiento con propiedades deseables. Se cree que las gotitas de lípidos extremadamente pequeñas proporcionadas durante la homogeneización pueden ser instrumentales en las propiedades eventuales de los depósitos producidos, entre otros factores que pueden estar implicados.

35 De acuerdo con otra realización de la presente invención, el pH de la solución monofásica es de aproximadamente 3 a aproximadamente 6, un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 o un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 en otras realizaciones de la invención.

De acuerdo con la presente invención, el pH del depósito viscoso, el producto final, es de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 o un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 4.

40 Otro aspecto de la presente invención proporciona un depósito transparente que comprende un agente o agentes farmacéuticamente activos hidrofílicos solubles en agua seleccionado de entre el grupo que consiste en una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina y una mezcla de las mismas;

45 agua; un fosfolípido; un aceite; un agente de ajuste del pH; y un agente modificador de la viscosidad seleccionado del grupo que consiste en etanol, isopropanol y una mezcla de los mismos;

para su uso en el tratamiento y/o prevención de una infección en una herida; donde el agua presente en el depósito viscoso no es más del 2 % en peso con respecto al peso total del depósito; y el pH del depósito es de 3 a 5.

En otra realización, el depósito es inyectable.

50 En una realización de la presente invención, el depósito comprende sales farmacéuticas de una o ambas de vancomicina y gentamicina. En otra realización, el depósito comprende sales farmacéuticamente aceptables de vancomicina o gentamicina. En aún otra realización, el depósito comprende una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina o gentamicina.

60 Los depósitos de acuerdo con la presente invención son "transparentes". Esto ofrece ventajas en cuanto a que se puede ver aire, cuerpos extraños y similares atrapados para prevenir la introducción involuntaria de los mismos en el cuerpo. De forma interesante, también se ha descubierto que cuando las sales farmacéuticamente aceptables tanto de vancomicina como de gentamicina están presentes en el depósito, el depósito de la invención es más transparente que cuando el depósito contiene sales farmacéuticamente aceptables de vancomicina o gentamicina por separado. En tal realización donde en el depósito hay sales farmacéuticamente aceptables tanto de vancomicina como de gentamicina, la claridad de dicho depósito es "ultraclara" como se define en el presente documento. En una realización, cuando el depósito comprende sales farmacéuticamente aceptables de vancomicina o gentamicina, la claridad de dicho depósito es "traslúcida" o "transparente", como se define en el presente documento.

65 En otra realización, el agente modificador de la viscosidad es etanol, donde la cantidad de etanol presente en el depósito es de aproximadamente 3 % en peso a aproximadamente 25,0 % en peso, de aproximadamente 4 % en peso a aproximadamente 10 % en peso o de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 6,5 % en peso respecto al peso total de la composición.

En aún otra realización, la cantidad de fosfolípido presente en el depósito es de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 95 % en peso, de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 75 % en peso o de aproximadamente 35 % en peso a aproximadamente 60 % en peso respecto al peso total de la composición.

5 De acuerdo con otra realización de la presente invención, la cantidad de aceite presente en el depósito es de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 95 % en peso, de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 75 % en peso o de aproximadamente 35 % en peso a aproximadamente 60 % en peso respecto al peso total de la composición.

10 De acuerdo con una realización de la presente invención, no se libera más de aproximadamente 80 %, no más de aproximadamente 50 % o no más de aproximadamente 20 % de vancomicina y/o gentamicina a las dos horas, cuando se mide de acuerdo con un método USP I utilizando 500 ml de agua desionizada como medio.

15 De acuerdo con otro aspecto de la invención, el depósito comprende, opcionalmente, un agente estabilizante para mejorar la estabilidad de la vancomicina, la gentamicina o de ambas. Entre los ejemplos del agente estabilizante se incluyen, aunque sin limitaciones, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), edetato disódico, glicina, L-histidina, ácido cítrico, metionina, ácido ascórbico, L-cisteína, alfa-tocoferol y mezclas de los mismos. De acuerdo con aún otro aspecto de la invención, el depósito viscoso no contiene un agente estabilizante. En aún otra realización, la cantidad de agente estabilizante usado, si es que hay, no afectará negativamente la estabilidad de cada principio activo, vancomicina o gentamicina, en el depósito.

20 En otro aspecto de la invención, se proporciona un depósito viscoso en un aplicador, jeringa, vial o cualquier otro dispositivo capaz de almacenar y/o administrar el depósito en el sitio de tratamiento, sitio del depósito o herida.

El depósito transparente para su uso de acuerdo con la invención puede administrarse por vía intradérmica, intramuscular, subcutánea, instilación o tópica.

El depósito transparente de la presente invención puede ser para su uso en un método de prevención y/o tratamiento de infección posquirúrgica.

25 El depósito transparente de la presente invención puede ser para su uso en un método de prevención y/o tratamiento de una infección de una herida introduciendo un depósito de la presente invención en una herida. En una realización de la presente invención, la herida se selecciona de entre el grupo que consiste en una herida quirúrgica, una herida ortopédica, una herida traumática, una herida de combate y cualquier combinación de las mismas. De acuerdo con un aspecto de la presente invención, la herida quirúrgica incluye, pero sin limitaciones, una herida incisa, que es un corte limpio realizado mediante un instrumento afilado.

30 En otro aspecto de la presente invención, las heridas ortopédicas incluyen, pero sin limitaciones, lesiones del sistema musculoesquelético, las extremidades, la pelvis, la columna vertebral y estructuras asociadas, y cualquier combinación de las mismas.

35 En aún otro aspecto de la presente invención, las heridas traumáticas incluyen, pero sin limitaciones, heridas abiertas en la cabeza, la cara, el pecho, el abdomen, las extremidades, la pelvis y/o lesiones externas y/o lesiones con bordes desgarrados e irregulares con presencia de materia extraña y/o fragmentos de tejido no viables, tales como laceración, abrasiones, heridas por punción, heridas de penetración y cualquier combinación de las mismas.

40 En otro aspecto de la presente invención, las heridas de combate incluyen, pero sin limitaciones, lesiones infligidas por un dispositivo explosivo y/o un arma, heridas de bala, cualquiera de las heridas traumáticas mencionadas anteriormente y cualquier combinación de las mismas.

Breve descripción de los dibujos

45 La figura 1 es un diagrama de flujo del proceso de una realización del método de fabricación de una composición de la invención de acuerdo con un aspecto de la invención.

La figura 2 muestra la recuperación de ensayo de vancomicina y gentamicina de la formulación del Ejemplo 1 después del tratamiento en autoclave.

50 La figura 3 es un perfil de liberación *in vitro* de gentamicina y vancomicina de la formulación del Ejemplo 6 usando el método I de la USP.

La figura 4 ilustra las concentraciones en plasma de vancomicina de la formulación del Ejemplo 1 en conejos.

La figura 5 ilustra las concentraciones tisulares de vancomicina de la formulación del Ejemplo 1 en conejos.

La figura 6 ilustra las concentraciones en plasma de gentamicina de la formulación del Ejemplo 1 en conejos.

La figura 7 ilustra las concentraciones tisulares de gentamicina de la formulación del Ejemplo 1 en conejos.

55 La figura 8 ilustra las concentraciones en plasma medias de vancomicina en conejos después de una sola instilación s.c. en una herida de la formulación del Ejemplo 6.

La figura 9 ilustra las concentraciones en plasma medias de gentamicina de la formulación del Ejemplo 6 en conejos.

Descripción detallada

60 La presente invención se describirá con más detalle a continuación.

Aunque la memoria descriptiva concluye con las reivindicaciones que apuntan particularmente y reivindican claramente la invención, se cree que la presente invención se comprenderá mejor a partir de la siguiente descripción. Todos los porcentajes y relaciones usados en el presente documento son en peso de la composición total y todas las mediciones hechas están a 25 °C y a una presión normal a menos que se designe de otro modo.

Todas las temperaturas son en grados centígrados a menos que se especifique lo contrario. La presente invención puede comprender (terminación abierta) o consistir esencialmente en los componentes de la presente invención, así como en otros ingredientes o elementos descritos en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, "que comprende" significa los elementos citados, o su equivalente en estructura o función, más cualquier otro elemento o elementos que no se citan. Los términos "que tiene", "incluyendo" y "comprendido por" también deben interpretarse de forma abierta, a menos que el contexto sugiera lo contrario. Tal como se usa en el presente documento, "que consiste esencialmente en" significa que la invención puede incluir ingredientes además de los citados en la reivindicación, pero solo si los ingredientes adicionales no alteran materialmente las características básicas y nuevas de la invención reivindicada. En general, tales aditivos pueden no estar presentes en absoluto o solo en cantidades residuales. Sin embargo, puede ser posible incluir hasta aproximadamente 10 % en peso de materiales que podrían alterar sustancialmente las características básicas y novedosas de la invención mientras se mantiene la utilidad de los compuestos (en oposición al grado de utilidad). Todos los intervalos citados en el presente documento incluyen los puntos extremos, incluyendo aquellos que citan un intervalo "entre" dos valores. Términos tales como "aproximadamente", "generalmente", "sustancialmente" y similares, deben interpretarse como que modifican un término o valor tal que no es un absoluto. Tales términos serán definidos por las circunstancias y los términos que modifican como tales términos son entendidos por los expertos en la técnica. Esto incluye, como mínimo, el grado de error experimental esperado, error de técnica e error de instrumento para una técnica dada usada para medir un valor.

Obsérvese que aunque la memoria descriptiva y las reivindicaciones pueden referirse a un producto final tal como, por ejemplo, un depósito u otra forma de dosificación de la invención como, por ejemplo, que contiene un pH en un estado intermedio, puede ser difícil determinar la forma de dosis final que satisface la mención. Sin embargo, dicha mención puede satisfacerse si los materiales usados antes de la producción final satisfacen dicha mención. De manera similar, la cantidad de ingredientes introducidos en, por ejemplo, la emulsión, si se describe como en peso, puede cambiar en relación con el peso del producto en alguna otra fase de producción tal como, en el depósito final, que puede pesar más o menos. Es suficiente que dichos porcentajes en peso sean correctos en cualquier etapa de producción y/o en cualquier producto intermedio. De hecho, en cuanto a cualquier propiedad o característica de un producto final que no pueda determinarse directamente a partir de la forma de dosificación, es suficiente que dicha propiedad resida en los componentes citados justo antes de las etapas de producción final.

El término "emulsión" utilizado en el presente documento es un sistema de dos fases líquidas inmiscibles. Una de las dos fases (fase interna, fase discontinua o fase discreta) se distribuye como gotitas/glóbulos a través de la segunda fase (fase externa o continua). Tal como se usa en el presente documento, las emulsiones incluyen emulsiones de aceite en agua (Ac/A), donde un líquido menos polar conocido habitualmente como aceite está en la fase interna; y las emulsiones de agua en aceite (A/Ac), donde un líquido acuoso u otro líquido relativamente polar está en la fase interna.

El término "solución monofásica" y "nanoemulsión" se usan indistintamente en el presente documento. Se observa que el término "solución" en "solución monofásica" no significa que se trata de una mezcla homogénea de dos o más sustancias, sino que es un producto resultante de la etapa de homogeneización utilizando un homogeneizador de alta presión, tal como un MICROFLUIDIZADOR.

El término "monofásico", "una fase" y "similar a una fase" se utiliza para significar que el producto resultante permanecerá como una fase sin separación de fases o precipitación incluso después de una centrifugación de 6000 g durante 10 minutos a 25 °C en una cantidad de 1 g de la muestra, usando una centrífuga hecha por Heraeus, modelo Biofuge Fresco o cualquier equivalente.

El término "viscoso" tal como se usa en el presente documento significa que la viscosidad de la composición es de aproximadamente 1 mPa.s (1 centipoise) a aproximadamente 5000 mPa.s (5000 centipoise), de aproximadamente 10 mPa.s (10 centipoises) a aproximadamente 2000 mPa · s (2000 centipoise), o de 100 mPa · s (100 centipoise) a 1500 mPa · s (1500 centipoise).

El término "inyectable" tal como se usa en el presente documento significa que la composición puede administrarse con una jeringa o un catéter o retirarse de un vial en una jeringa. No significa, sin embargo, que la composición de la invención debe estar en realidad en una jeringa o administrarse usando una jeringa a menos que la cita específica o el contexto sugieran ese significado.

El término "translúcido" y "transparente" se usan indistintamente en el presente documento para significar que la composición de la invención no es turbia ni opaca y que está libre de partículas suspendidas visualmente. También debe estar libre de burbujas. Además, por translúcido, se quiere decir que el depósito está libre de partículas suspendidas visualmente y también debe estar libre de burbujas. Además, por "translúcido" o "transparente", también se quiere decir que el depósito de la presente invención tiene una transmitancia óptica mayor que aproximadamente 90 % medida a 800 nm (T800) en una cubeta de cuarzo de trayectoria de 1 cm y alcohol como blanco cuando se mide mediante un espectrofotómetro de UV visible, tal como el fabricado por Pharmacia, Modelo Ultrospec III.

Por "turbio" u "opaco" se quiere decir que un valor de T800 del depósito es menor que aproximadamente 90 %.

Por "ultra claro", se quiere decir que un valor de T800 del depósito es mayor que aproximadamente 92 % o 95 %.

El término "estable" tal como se usa en el presente documento significa que (1) la formulación permanece transparente a 25 °C durante al menos un año, o (2) la formulación permanece transparente y no se separa ni precipita después de la centrifugación cuando la formulación se expone a 40 grados C durante una semana.

5 El término "gel" y "depósito" se usan indistintamente en el presente documento.

Un aspecto de la presente invención proporciona un depósito transparente que comprende un agente o agentes farmacéuticamente activos hidrofílicos solubles en agua seleccionados de entre el grupo que consiste en una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina y una mezcla de las mismas, agua, fosfolípido, un aceite, un agente de ajuste del pH y un agente modificador de la viscosidad **seleccionado del grupo que consiste en etanol, isopropanol, y una mezcla de los mismos, para su uso en el tratamiento y/o prevención de una infección en una herida**, donde el agua presente en el depósito viscoso no es más que aproximadamente 2 % en peso, por ejemplo no más de aproximadamente 0,5 % en peso de agua con respecto al peso total del depósito; y el pH del depósito es de 3 a 5.

15 El depósito transparente opcionalmente comprende un agente estabilizante. En otro aspecto de la invención, el depósito transparente se proporciona en una jeringa, vial o cualquier otro dispositivo capaz de administrar y/el depósito en el sitio de tratamiento, sitio del depósito o herida.

Principio activo farmacéutico

20 El principio activo farmacéutico de acuerdo con la presente invención es una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina o una mezcla de las mismas. En una realización, el principio activo farmacéutico de acuerdo con la presente invención es clorhidrato de vancomicina, sulfato de gentamicina o una mezcla de las mismas. En otra realización, los principios activos farmacéuticos de acuerdo con la presente invención son clorhidrato de vancomicina y sulfato de gentamicina. En aún otra realización, el principio activo farmacéutico de

25 Ejemplos de salesfarmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitaciones, cualquier ácido que pueda formar sales con vancomicina o gentamicina, tales como ácido acético, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido láctico, ácido succínico, ácido sulfúrico.

30 La cantidad de los principios activos farmacéuticos que pueden estar presentes en el depósito viscoso puede variar con una serie de parámetros que incluyen el tamaño de la dosis total prevista, la duración de la administración, el tamaño del depósito y dónde y cómo se administrará, el tipo de activo a administrar, el patrón de administración (por ejemplo, proceso continuo retardado, etc.), y similares. Sin embargo, generalmente, la cantidad total del principio activo farmacéuticamente aceptable puede ser de aproximadamente 0,001 % en peso a aproximadamente 50 % en peso, de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 10 % en peso o de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso respecto al peso total de la composición.

Aceite

40 Un aceite de acuerdo con la presente invención puede ser, por ejemplo, aceites naturales tales como aceites vegetales, aceites animales, vitamina E, éster de vitamina E y similares y/o aceites sintéticos o semisintéticos, o mezclas de los mismos.

45 Un aceite vegetal se refiere al aceite derivado de semillas de plantas o nueces. Ejemplos de aceites vegetales incluyen, aunque no de forma limitativa, aceite de almendras, aceite de borraja, aceite de semilla de grosella negra, aceite de ricino, aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de sésamo, aceite de algodón, aceite de semilla de uva, aceite de girasol, aceite de canola, aceite de coco, aceite de palma, aceite de naranja, aceite de maíz, aceite de oliva y similares.

50 Un aceite animal se refiere al aceite de triglicérido derivado de una fuente animal. Ejemplos de aceite animal pueden ser aceite de pescado, o de otras fuentes tales como sebo, manteca y similares.

55 Ejemplos de aceites sintéticos o semisintéticos son monoglicéridos, diglicéridos o triglicéridos, cuyos componentes ácidos son ácidos grasos C6 a C20 saturados y/o insaturados, CAPTEX® (varios grados de ésteres de propilenglicol tales como didecanoato de propilenglicol y ésteres de glicerol tales como tricaprilato/caprato de glicerilo); MIGLYOL® (triglicéridos de ácido caprílico/cáprico; o triglicéridos de ácido caprílico/cáprico/linoleico o triglicéridos de ácido caprílico/cáprico/succínico o diéster de propilenglicol de ácido caprílico/cáprico y mezclas con otros agentes, CAPMUL® (disponible en diferentes grados, calidades, por ejemplo, Capmul MCM. Son principalmente mono- y di-ésteres de glicerol y de propilenglicol, tales como mono-oleato de glicerilo y monocaprilato de propilenglicol. Otro grado consiste en monoestearato de polietilenglicol glicerilo. En una realización, el aceite usado de acuerdo con la presente invención es aceite de sésamo.

65 La cantidad de aceite que puede estar presente en el depósito viscoso puede ser de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 95 % en peso, de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 75 % en peso o de aproximadamente 35 % en peso a aproximadamente 60 % en peso respecto al depósito viscoso.

En determinadas realizaciones, la relación entre el aceite y el fosfolípido en el depósito viscoso puede estar dentro de un intervalo de aproximadamente 20: 1 a aproximadamente 1: 20, de aproximadamente 3: 1 a aproximadamente 1: 3, o de aproximadamente 1: 2 a aproximadamente 1: 1, en peso.

5 Fosfolípido

El fosfolípido de acuerdo con la presente invención se refiere a una molécula lipídica que contiene uno o más grupos fosfato, incluyendo aquellos derivados de glicerol (fosfoglicéridos, glicerofosfolípidos) o espingosina (esfingolípidos).

10 En algunas realizaciones, los fosfolípidos son derivados de triglicéridos donde un ácido graso ha sido sustituido por un grupo fosfato y una de varias moléculas que contienen nitrógeno. Las cadenas de ácidos grasos son hidrófobas y las cargas en los grupos fosfato y amino hacen que la porción de la molécula sea hidrófila. El resultado es una molécula anfifílica.

15 Según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), la lecitina es un nombre no patentado que describe una mezcla compleja de fosfolípidos insolubles en acetona, que comprenden principalmente fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol, combinados con diversas cantidades de otras sustancias tales como triglicéridos, ácidos grasos y carbohidratos. La composición de lecitina y por lo tanto sus propiedades físicas varían dependiendo de la fuente de la lecitina y la composición de fosfolípidos, por ejemplo, el contenido de fosfatidilcolina, etc.

20 De acuerdo con una realización de la presente invención, la lecitina utilizada en la presente invención son lecitinas de calidad farmacéutica derivadas de huevo o soja, que se han utilizado en productos parenterales y están sustancialmente libres de agentes irritantes, alergénicos, inflamatorios o agentes que causan otras reacciones biológicas adversas.,

30 De acuerdo con la práctica de la presente invención, la selección del fosfolípido para preparar el depósito viscoso se determina en base a la capacidad del fosfolípido para (1) ser químicamente compatible con el agente o los agentes farmacéuticamente activos hidrofílicos solubles en agua seleccionados de entre el grupo que consiste en sales farmacéuticamente aceptables de vancomicina, gentamicina y una mezcla de las mismas, (2) forman una solución monofásica y mantienen el tamaño de pequeñas gotitas a través del proceso de fabricación y durante el almacenamiento, y (3) proporcionan el depósito deseado y proporcionan la liberación deseada de sales de vancomicina, gentamicina y una mezcla de las mismas, el agente farmacéuticamente activo.

35 Ejemplos del fosfolípido incluyen, pero sin limitaciones, pero no se limitan a, esfingolípidos en forma de espingosina y derivados (obtenidos a partir de soja, huevo, cerebro y leche), gangliósidos y fitosfingosina y derivados (obtenidos a partir de levadura).

40 Los fosfolípidos también se pueden sintetizar y ejemplos de fosfolípidos sintéticos comunes incluyen, pero sin limitaciones, diglicérols, tales como 1,2-diauril-sn-glicerol (DLG), 1,2-dimiristoil-sn-glicerol (DMG), 1,2-dipalmitoil-sn-glicerol (DPG), 1,2-diestearoil-sn-glicerol (DSG); ácidos fosfatídicos, tales como ácido 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DMPA, Na), ácido 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DPPA, Na), ácido 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DSPA, Na); fosfocolinas, tales como ácido 1,2-didecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DDPC), 1,2-dilauril-sn-glicero-3-fosfocolina (DLPC), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC), 1,2-dilinoilil-sn-glicero-3-fosfocolina (DLOPC), 1,2-dierucoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DEPC), 1,2-dieicosapentaenoil-sn-glicero-3-fosfocolina (EPA-PC), 1,2-didocosahexanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DHA-PC), 1-miristoil-2-palmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (MPPC), 1-miristoil-2-estearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (MSPC), 1-palmitoil-2-miristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (PMPC), 1-palmitoil-2-estearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (PSPC), 1-estearoil-2-miristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (SMPC), 1-estearoil-2-palmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (SPPC), 1-miristoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (MOPC), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), 1-estearoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC); fosfoetanolaminas, tales como fosfoetanolamina de soja hidrogenada (HSPE), fosfoetanolamina de huevo no hidrogenada (EPE), 1,2-dilauril-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DLPE), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DLoPE), 1,2-diericul-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DEPE), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (POPE), fosfoglicérols, tales como fosfaridilglicerol de soja hidrogenado, sal de sodio (HSPG, Na), fosfatidilglicerol de huevo no hidrogenado, sal de sodio (EPG, Na), 1,2-dilauril-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (LPG, Na), 1,2-miristoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (MPG, Na), 1,2-miristoil-sn-glicero-3-fosfo-sn-1-glicerol, sal de amonio (DMP-sn-1-G, NH₄), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DPPG, Na), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DSPG, Na), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfo-sn-1-glicerol, sal de sodio (DSP-sn-1G, Na), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DOPG, Na), 1,2-dierucil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DEPG, Na), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (POPG, Na); fosfatidilserinas, tales como 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfo-L-sina, sal de sodio (DMPS, Na), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo-L-sina, sal de sodio (DPPS, Na), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfo-L-sina, sal de sodio (DSPS, Na), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo-L-sina, sal de sodio

(DOPS, Na), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfo-L-sina, sal de sodio (POPS, Na); fosfolípidos de cadena mixta, tales como 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (POPG, Na), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de amonio (POPG, NH₄); lisofosfolípidos, tales como 1-miristoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (S-liso-PC), 1-palmitoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (P-liso-PC), 1-estearoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (S-liso-PC); y fosfolípidos pegilados, tales como N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 2000)-MPEG-2000-DPPE, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 5000)-MPEG-5000-DPPE, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 5000)-MPEG-5000-DPPE, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 750)-MPEG-750-DPPE, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 2000)-MPEG-2000-DPPE, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, sal de sodio.

La cantidad de fosfolípidos que puede estar presente en el depósito viscoso puede variar con una serie de parámetros, incluyendo la viscosidad de la formulación final, la duración de la administración, el tamaño del depósito y dónde y cómo se administrará, el tipo de activo que se va administrar, el patrón de administración (por ejemplo, continuo, retardado, etc.), y similares. Sin embargo, generalmente, la cantidad de fosfolípidos que puede estar presente en el depósito viscoso puede ser de aproximadamente 5 % a aproximadamente 95 % con respecto al peso total de la composición, o de aproximadamente 35 % a aproximadamente 60 % con respecto al peso total de la composición.

Agua

El agua que se puede usar de acuerdo con la presente invención incluye, pero sin limitaciones, agua destilada y desionizada, o cualquier otro líquido que sea capaz de disolver la vancomicina y/o gentamicina hidrófilos y solubles en agua y capaz de sublimarse/evaporarse durante la etapa de liofilización.

Con el fin de producir una solución monofásica usando un homogeneizador de alta presión, tal como un MICROFLUIDIZADOR, la emulsión de aceite en agua debe contener de aproximadamente 10 % a aproximadamente 80 % de agua, de aproximadamente 30 % a aproximadamente 80 % de agua, o de aproximadamente 60 % a 80 % de agua con respecto al peso total de la emulsión de aceite en agua con el fin de tener la propiedad de flujo deseada para su procesamiento en el homogeneizador, tal como un MICROFLUIDIZADOR.

Sin embargo, una vez que se obtiene la solución monofásica, la mayor parte del agua se puede eliminar, por ejemplo, mediante liofilización sublimación y/o evaporación.

La vancomicina se degrada debido a la hidrólisis y la cantidad de agua residual en el depósito viscoso final afecta a la estabilidad a largo plazo de la vancomicina. Cuando la vancomicina precipita, el depósito viscoso se vuelve de translúcido a turbio o se separa en dos fases como se muestra en el Ejemplo 2 de la presente invención.

Por consiguiente, de acuerdo con la presente invención, la cantidad de agua residual debe mantenerse inferior al 2 % en peso o inferior a aproximadamente 0,5 % en peso de agua con respecto al peso total del depósito viscoso transparente para mantener la vancomicina estable durante el almacenamiento.

Agente de ajuste del pH

El agente de ajuste del pH de acuerdo con la presente invención es cualquier ácido, base o sal no tóxico. Ejemplos de agentes de ajuste del pH incluyen, pero sin limitaciones, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido sulfúrico, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido amónico lisina, arginina y similares.

Como se ha mencionado anteriormente, la gentamicina se degrada debido a la oxidación o a la formación de aductos. Como se muestra en el Ejemplo 4 a continuación, el pH afecta a la estabilidad a largo plazo de la gentamicina, y cuando la gentamicina precipita, el depósito viscoso cambia de translúcido a turbio.

Por consiguiente, el pH del depósito viscoso puede ser de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 o un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 4.

Agentes estabilizante

Un agente estabilizante de acuerdo con la presente invención es un material que reduce el efecto catalítico del ion metálico sobre la oxidación, la hidrólisis u otras reacciones de degradación y o aumenta la estabilidad del agente farmacéuticamente activo hidrosoluble hidrófilo. Entre los ejemplos de tales agentes estabilizantes se incluyen, pero sin limitaciones, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), edetato disódico, glicina, L-histidina, ácido cítrico, metionina, ácido ascórbico, L-cisteína, alfa-tocoferol y mezclas de los mismos. En determinadas realizaciones, la cantidad del agente estabilizante presente en el depósito viscoso es de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 5,0 % con respecto al peso total de la composición, o de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,0 % con respecto al peso total de la composición. En otra realización, el depósito viscoso no

contiene un agente estabilizante.

Agente modificador de la viscosidad

5 Un agente modificador de la viscosidad de acuerdo con la presente invención es un líquido acuoso o no acuoso (aparte de tener un nivel de contaminante de agua) que es capaz de disolver la pasta seca formada después de la liofilización, la sublimación y/o la evaporación.

10 Entre los ejemplos de un agente modificador de la viscosidad se incluyen, sin limitaciones, etanol, isopropanol, y una mezcla de los mismos. En una realización, el agente modificador de la viscosidad es sustancialmente no acuoso. En otra realización, el agente modificador de la viscosidad es etanol.

15 El agente modificador de la viscosidad se añade a la pasta seca hasta que la pasta seca se disuelve completamente en el agente. La solución de viscosidad modificada resultante también puede volverse "turbia". En una realización, el agente modificador de la viscosidad y la pasta seca se mezclan a una temperatura de aproximadamente 10 °C a 80° C, o en un intervalo de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 70 °C, o en un intervalo de aproximadamente 25 °C a 60 °C.

20 El agente modificador de la viscosidad se añade a la pasta seca hasta que la cantidad de agente modificador de la viscosidad es de aproximadamente 10 % en peso, 20 % en peso, 25 % en peso o 30 % en peso en relación con el peso total de la solución resultante. La viscosidad resultante de la solución puede ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 mPa·s (centipoise), de 15 a 100 mPa·s (centipoise), o de aproximadamente 20 mPa·s (centipoise) a aproximadamente 50 mPa·s (centipoise).

25 La viscosidad se puede determinar utilizando un reómetro programable digital Brookfield con el husillo SP-40 o cualquier otro reómetro equivalente. Más específicamente, las RPM de partida del reómetro puede ser de 0,1 a 1,0, reduciendo después las RPM a 0,1 en incrementos de 0,1 RMP cada 30 segundos. La medición de la viscosidad se puede registrar a 0,8 RMP a una temperatura ambiente de aproximadamente 30 °C.

30 Posteriormente, se puede eliminar una cierta cantidad del agente modificador de la viscosidad usado para disolver la pasta seca. La eliminación del agente modificador de la viscosidad puede hacerse hasta que la cantidad residual de agente modificador de la viscosidad que puede estar presente en el depósito viscoso es de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 2 % a aproximadamente 18 % o de aproximadamente 5,0 % a aproximadamente 6,5 % respecto al depósito viscoso. Si se seca en exceso, el agente modificador de la viscosidad puede añadirse de nuevo según sea necesario. La viscosidad del depósito viscoso resultante de acuerdo con la presente invención es de aproximadamente 1 mPaS (centipoise) a aproximadamente 5000 mPaS (centipoise), de aproximadamente 10 mPaS (centipoise) a aproximadamente 2000 mPaS (centipoise) o de 100 mPaS (centipoise) a 1500 mPaS (centipoise).

40 Descripción del proceso

Tal como se muestra en la Figura 1, un aspecto de la presente invención proporciona un proceso para fabricar un depósito viscoso que comprende un agente farmacéuticamente activo hidrofílico soluble en agua seleccionado del grupo que consiste en vancomicina, gentamicina y una mezcla de las mismas, que comprende: (1) disolver una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina o una mezcla de las mismas en agua, para formar una solución acuosa; (2) formar una emulsión que comprende un fosfolípido, un aceite y una solución acuosa que comprende la sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina o una mezcla de las mismas; (3) homogeneizar la emulsión usando un homogeneizador de alta presión, tal como un MICROFLUIDIZADOR para obtener una solución monofásica, (4) garantizar que el pH de la emulsión y/o la solución monofásica está entre aproximadamente 3 y aproximadamente 6, un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 o un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 4, (5) liofilizar la solución monofásica para formar una pasta seca, (6) añadir un agente modificador de la viscosidad en una cantidad suficiente para obtener una viscosidad deseada, (7) prefiltrar la solución de viscosidad modificada para obtener una solución transparente, (8) eliminar una cierta cantidad del agente modificador de la viscosidad de la solución transparente para obtener un depósito viscoso que tiene de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 20 % en peso, de aproximadamente 2 % a aproximadamente 18 % en peso o de aproximadamente 5,5 % en peso a aproximadamente 7,5 % en peso del agente modificador de la viscosidad con respecto al peso total del depósito viscoso, y (9) esterilizar el depósito viscoso sin calentar. En otra realización, la prefiltración y la eliminación del agente modificador de la viscosidad son etapas opcionales.

60 Disolver sales de vancomicina y/o gentamicina en agua

En primer lugar, el clorhidrato de vancomicina, el sulfato de gentamicina o ambos se disuelven en agua para formar una solución acuosa.

65 La concentración inicial de fármaco de clorhidrato de vancomicina en agua es de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml o de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml, y la concentración

inicial de fármaco desulfato de gentamicina en agua es de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 75 mg/ml, o de aproximadamente 10 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml.

Formación de emulsión de aceite en agua

- 5 A continuación, se mezcla la solución acuosa de las sales farmacéuticamente aceptables de vancomicina y/o gentamicina, fosfolípido, aceite, opcionalmente un agente de ajuste del pH y, opcionalmente, un agente estabilizante para formar una emulsión de aceite en agua.

- 10 Homogeneización para obtener una solución monofásica

Posteriormente, se puede homogeneizar la emulsión usando un mezclador de alto cizallamiento y/o un homogeneizador de alta presión, tal como un MICROFLUIDIZADOR, para reducir el tamaño de lípidos de la emulsión primaria a un diámetro promedio inferior a 200 nm, inferior a 100 nm y/o inferior a 80 nm para formar una solución monofásica.

15 Con el fin de producir tal solución monofásica, la emulsión de aceite en agua contiene de forma ventajosa de aproximadamente 10 % a aproximadamente 80 % de agua, de aproximadamente 30 % a aproximadamente 80% de agua, o de aproximadamente 60 % a 80% de agua con respecto al peso total de la emulsión de aceite en agua con el fin de tener la propiedad de flujo deseada para su procesamiento en el homogeneizador, tal como un MICROFLUIDIZADOR.

Ajuste de pH

- 25 El pH se puede ajustar añadiendo un agente de ajuste del pH antes y/o después de la etapa de homogeneización, de manera que el pH de la composición sea de aproximadamente 3 a aproximadamente 6, un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 o un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 4,

30 En otra realización, esta etapa se lleva a cabo añadiendo una cantidad apropiada de un agente de ajuste del pH a la emulsión, seguido de mezclado con alto cizallamiento durante aproximadamente 1 minuto. A continuación, después de la etapa de homogeneización, se comprueba el pH de la composición y puede ajustarse de nuevo si es necesario.

Liofilización, sublimación o evaporación

- 35 Eliminando el agua, las sales farmacéuticamente aceptables de gentamicina y/o vancomicina se dispersan uniformemente en el vehículo fosfolípido/aceite. Después, el agua se retira de la solución monofásica por liofilización, sublimación y/o evaporación, de manera que la cantidad de agua residual en la pasta seca resultante o en el depósito transparente inyectable final es inferior a aproximadamente 2 % en peso o inferior a aproximadamente 0,5 % en peso de agua en relación con el peso total de la pasta seca o del depósito transparente viscoso. En otra realización, la emulsión se liofiliza utilizando un liofilizador de bandejas.

Adición del agente modificador de la viscosidad

- 45 El agente modificador de la viscosidad se añade a la pasta seca hasta que la pasta seca se disuelve completamente en una solución turbia. El agente modificador de la viscosidad se puede añadir a la pasta seca hasta que la cantidad de agente modificador de la viscosidad es de aproximadamente 75 % en peso, de aproximadamente 50 % en peso, de aproximadamente 30 % en peso o de aproximadamente 25 % en peso en relación con el peso total de la solución turbia. En una realización, el agente modificador de la viscosidad y la pasta seca se pueden mezclar a una temperatura de aproximadamente 10 °C a 80° C o de aproximadamente 25 °C a 60 °C.

Prefiltración

- 55 La solución turba se filtra a continuación utilizando, por ejemplo, un filtro de 0,65 micrómetros para formar una solución transparente. El componente turbio eliminado mediante las etapas de prefiltración consiste en una pequeña fracción de vancomicina (aproximadamente 2 % de ensayo diana) y gentamicina (3-4 % de ensayo diana). Esta pérdida puede compensarse ajustando la carga inicial o reduciendo las dianas del ensayo. Esta es una etapa opcional y no es necesario para ciertas realizaciones de la invención.

- 60 Eliminación del agente modificador de la viscosidad

Posteriormente, se elimina el agente modificador de la viscosidad que se añadió para disolver la pasta seca. La eliminación del agente modificador de la viscosidad puede hacerse hasta que la cantidad de agente modificador de la viscosidad residual que puede estar presente en el depósito viscoso es de aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 2 % a aproximadamente 18 % o de aproximadamente 5% a aproximadamente 6,5 % respecto al depósito viscoso.

Si se seca en exceso, el agente modificador de la viscosidad puede añadirse de nuevo según sea necesario. La eliminación del agente modificador de la viscosidad puede realizarse usando un evaporador rotatorio o soplando con gas nitrógeno o aire. El análisis gravimétrico térmico (TGA) puede usarse para medir la cantidad de agente modificador de la viscosidad eliminado de la solución transparente para formar un depósito viscoso.

5 La viscosidad del depósito viscoso resultante de acuerdo con la presente invención es de aproximadamente 1 mPa.s (centipoise) a aproximadamente 5000 mPa.s (centipoise), de aproximadamente 10 mPa.s (centipoises) a aproximadamente 2000 mPa.s (centipoise), o de 100 mPa.s (centipoise) a 1500 mPa.s (centipoise). La medición de la viscosidad se puede realizar usando cualquier método convencional, incluyendo el uso de un reómetro programable digital Brookfield con el Modelo No. DV-III con husillo N.º SP-40. Esta es una etapa opcional y no es necesaria para ciertas realizaciones de la invención.

Esterilización por filtración

15 El depósito viscoso se esteriliza a continuación mediante filtración a través de una membrana esterilizante, tal como una que tenga poros de aproximadamente 0,22 micrómetros o menos.

20 Otro aspecto de la presente invención es un método de administración por vía intradérmica, intramuscular, subcutánea, instilación o tópica del depósito viscoso que comprende una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina o una mezcla de las mismas, agua, fosfolípido, un aceite, un agente de ajuste del pH y un agente modificador de la viscosidad.

Tratamiento y/o prevención de la infección de heridas

25 Un aspecto de la presente invención es un método de prevención y/o tratamiento de una infección de una herida administrando un depósito de la presente invención a la herida. En otra realización, se proporciona un método para hacer que el tejido localizado no pueda sostener un microorganismo patógeno administrando a la herida un depósito de la presente invención.

30 Las heridas incluyen, pero sin limitaciones, heridas crónicas, heridas agudas, heridas quirúrgicas, heridas ortopédicas, heridas traumáticas, heridas de combate y cualquier combinación de las mismas.

35 Las heridas ortopédicas incluyen, pero sin limitaciones, lesiones del sistema musculoesquelético, las extremidades, incluyendo la pelvis, la columna vertebral y estructuras asociadas, y cualquier combinación de las mismas.

40 Las heridas traumáticas incluyen, pero sin limitaciones, heridas abiertas en la cabeza, la cara, el pecho, el abdomen, EXTREMIDADES (incluyendo la pelvis) y/o lesiones externas y/o lesiones con bordes desgarrados e irregulares con presencia de materia extraña y/o fragmentos de tejido no viables, tales como laceración, abrasiones, heridas por punción, heridas de penetración y cualquier combinación de las mismas.

Las heridas de combate incluyen, pero sin limitaciones, lesiones infligidas por un dispositivo explosivo y/o un arma, heridas de bala, cualquiera de las heridas traumáticas mencionadas anteriormente y cualquier combinación de las mismas.

45 En otro aspecto de la presente invención, los métodos comprenden además las etapas de limpiar la herida para eliminar sustancialmente un material extraño y/o tejido no viable; y cerrar la herida.

50 En una realización de la presente invención, la etapa de cerrar la herida se realiza usando una sutura, clips metálicos, grapas o tiras adhesivas.

En otro aspecto de la presente invención, los métodos comprenden administrar un depósito de la presente invención a una herida y usar un sistema de cierre de herida asistido por vacío a la herida.

55 En aún otro aspecto de la presente invención, los métodos comprenden limpiar la herida para eliminar sustancialmente un material extraño y/o tejido no viable; usar un sistema de cierre de herida asistido por vacío a la herida; introducir un depósito de la presente invención en una herida; y cerrar la herida.

60 También se contempla en la presente invención un método de cierre de heridas utilizando un depósito de la presente invención. El método comprende la etapa de administrar el depósito de la presente invención antes, durante o después del cierre de la herida utilizando, por ejemplo, una sutura, clips metálicos, grapas, apósitos, vendas y/o tiras/cintas adhesivas.

Ejemplos

Ejemplo 1: Formulación de acuerdo con la presente invención y proceso para preparar la formulación

5

Tabla 1:

Lista de ingredientes de la formulación de acuerdo con la presente invención	
Componente	% en p/p
Sulfato de gentamicina	Equivalente al 0,36 % en el valor del "Ensayo de gentamicina USP"
Clorhidrato de vancomicina	Equivalente al 0,24 % en el valor el "Ensayo de vancomicina USP"
Lecitina de soja (PL90G)	53,3
L-histidina,	0,1
Etanol	6,0
Aceite de sésamo	40,0
TOTAL	100%

Se prepararon (100) gramos de una formulación de acuerdo con la presente invención de la siguiente manera: En primer lugar, se cargó un vaso de precipitados de 500 ml con 0,36 g de sulfato de gentamicina, 0,24 g de clorhidrato de vancomicina, 53,3 g de PL90G, 40 g de aceite de sésamo y 0,1 g de L-histidina. A esto se añadió después agua (ml) para inyección (WFI) y la mezcla se homogeneizó mediante un mezclador de alto cizallamiento a 5000 RPM durante 15 minutos. La solución monofásica resultante se liofilizó para eliminar el agua hasta menos de 0,2 % de humedad residual, para obtener una pasta seca. Esta pasta seca se mezcló con agua y/o etanol, para formar una formulación y se usó en varios de los estudios, incluyendo del EJEMPLO 2 al EJEMPLO 5 como se expone a continuación.

10

15

Ejemplo 2: Efecto del contenido de agua sobre el aspecto de la formulación del Ejemplo 1

Se añadieron varias cantidades de agua (del 1,1 % en peso al 4,1% en peso) y etanol (al 6 % en peso) en la pasta seca del Ejemplo 1 para producir varias muestras de formulaciones del Ejemplo 1. Las muestras se mezclaron bien mediante un mezclador BeadBeater, se centrifugaron para eliminar las burbujas de aire y, luego, se observaron para determinar el aspecto inicial ("muestra inicial"). Asimismo, las muestras se pasaron a través de un filtro de 0,45 µm y los filtrados se almacenaron a 2-8 °C para la observación de aspecto adicional ("muestra filtrada"). La Tabla 2 muestra el efecto del contenido de agua sobre el aspecto de las formulaciones. Se encontró que el contenido de agua afectó significativamente el aspecto de las formulaciones:

20

25

Tabla 2:

Efecto del contenido de agua sobre el de las formulaciones del Ejemplo 1								
ID de la muestra	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	S-6	S-7	S-8
Agua (%)	1,14	1,46	1,83	2,05	2,61	3,06	3,70	4,07
Muestra inicial	Turbia				Transparente			2 fases
Muestra filtrada	Todo transparente tras la filtración Sin embargo, con más agua, se produjo una precipitación retardada a 2-8 °C después de aproximadamente 3 a 7 días.							n.d.

Ejemplo 3: Efecto del contenido de agua sobre la estabilidad de la gentamicina y la vancomicina

El efecto del contenido de agua residual sobre la estabilidad de la gentamicina y la vancomicina de las formulaciones del Ejemplo 1 se evaluó mediante un tratamiento en autoclave de 60 minutos. Como se resume en la Tabla 3 a continuación, se encontró que la vancomicina tenía una estabilidad reducida en términos de recuperación o pureza al nivel de agua residual más alto. No se observó efecto significativo alguno del agua sobre la estabilidad de la gentamicina en el mismo intervalo.

30

35

Tabla 3:

Efecto del contenido de agua sobre la estabilidad de la gentamicina y la vancomicina				
ID		Vanco		Genta
		Recuperación (% sobre preautoclave)	Pureza (%)	Recuperación (% sobre preautoclave)
Ejemplo 1* (0,76% H ₂ O)	Pre-autoclave	69,4	89,2	67,7
	Autoclave		68,8	
Ejemplo 1* (1,26 % H ₂ O)	Pre-autoclave	65,7	89,9	80,2
	Autoclave		64,5	
Ejemplo 1* (1,76 % H ₂ O)	Pre-autoclave	62,0	89,5	/
	Autoclave		63,2	
Ejemplo 1* (2,26 % H ₂ O)	Pre-autoclave	60,5	88,8	77,5
	Autoclave		58,8	
	Autoclave		69,4	

* pH 5,7

Ejemplo 4: Perfiles de estabilidad al pH y solubilidad en pH de la gentamicina y la vancomicina en las formulaciones del ejemplo 1

5

Las formulaciones de pH ajustado del Ejemplo 1 (sin agua añadida) se colocaron a 2-8 °C para el examen del aspecto. (Véase la Tabla 4 a continuación.)

Tabla 4:

Efecto del pH sobre el aspecto de las formulaciones del Ejemplo 1			
pH	Agua (%)	Aspecto	
		Antes de la filtración	Sobrenadante a 2-8 °C
3,21	0,17	Transparente	Transparente
5,54	0,15	Turbia	Transparente durante 5-7 días, después turbia
5,63	0,13		
6,02	0,04		
6,01	0,11		
6,99	0,11		
7,67	0,09		

10

Se generó un perfil de estabilidad al pH calentando la muestra con un tratamiento en autoclave de 60 minutos. (Véase la Tabla 5 a continuación.)

Tabla 5:

Efecto del pH sobre el aspecto de las formulaciones del Ejemplo 1					
pH	Agua (%)	Recuperación (% sobre el pretratamiento)		Pureza de la vancomicina (%)	
		Vancomicina	Gentamicina	Pretratamiento	Posttratamiento
3,21	0,17	82,9	94,1	91,6	79,4
5,54	0,15	82,3	79,6	91,5	81,6
5,63	0,13	78,0	81,6	90,4	73,6
6,02	0,04	77,0	79,6	90,5	74,3

Efecto del pH sobre el aspecto de las formulaciones del Ejemplo 1					
pH	Agua (%)	Recuperación (% sobre el pretratamiento)		Pureza de la vancomicina (%)	
		Vancomicina	Gentamicina	Pretratamiento	Postratamiento
6,01	0,11	80,1	82,7	89,6	75,0
6,99	0,11	80,5	73,1	90,7	76,2
7,67	0,09	77,4	75,3	91,2	77,1
5,99	0,201	80,8	84,3	87,8	71,5

Los resultados indicaron que:

- 5 (1) el pH afectó al aspecto de las formulaciones del ejemplo 1. La formulación era transparente a pH 3,2;
 (2) El pH afectó a la estabilidad de la gentamicina en la formulación. Se prefiere un pH bajo (por ejemplo, de pH de 3 a 4) para la estabilidad de la gentamicina; y
 (3) El pH no afectó significativamente a la estabilidad de la vancomicina.

10 Ejemplo 5: Perfil de estabilidad del pH de la gentamicina en la formulación del Ejemplo 1 a un pH de entre 3,0 y 5,5

Se prepararon muestras de las formulaciones del Ejemplo 1 (sin agua añadida) a tres niveles de pH diferentes dentro de 3,0 a 5,5. Además, se probó también el efecto de la L-histidina sobre la estabilidad de la formulación del Ejemplo 1, comparando la formulación que contenía L-histidina con las que no contenían L-histidina. La estabilidad de la gentamicina y la vancomicina se evaluó de la misma manera que se expone en el Ejemplo 3. Se encontró que

- 15 (1) La estabilidad de la gentamicina en la formulación es dependiente del pH (la gentamicina prefería un pH bajo (por ejemplo, de un pH de 3 a 4));
 (2) La estabilidad de la vancomicina en la formulación es menos sensible al pH en el intervalo de pH estudiado;
 (3) la L-histidina aumentó la estabilidad de la gentamicina en el intervalo de pH estudiado; y
 20 (4) L-histidina disminuyó la estabilidad de la vancomicina en el intervalo de pH estudiado.

La Figura 2 muestra la recuperación del ensayo después del tratamiento en autoclave.

25 Ejemplo 6: Otra formulación de acuerdo con la presente invención y proceso para preparar la formulación

Tabla 6:

Lista de ingredientes de otra formulación de acuerdo con la presente invención	
Componente	% en p/p
Sulfato de gentamicina	Equivalente al 1,675 % en el valor del "Ensayo de gentamicina USP"
Clorhidrato de vancomicina	Equivalente al 1,876 % en el valor el "Ensayo de vancomicina USP"
Lecitina de soja (PL90G)	50,0
Etanol	6,0
Aceite de sésamo	c.s. hasta 100
pH HCl 1 N	3,3

30 Se preparó un depósito viscoso estéril de color amarillo claro (tamaño de lote: 1500 g) que contenía menos del 0,5 % en peso de agua residual que tenía un pH de 3,3 mediante un proceso de múltiples etapas siguiendo las etapas de: (1) emulsión, (2) microfluidización/homogeneización, (3) liofilización, (4) dilución en etanol, (5) prefiltración, (6) eliminación de etanol y (7) filtración. La mezcla simple de todos los ingredientes enumerados anteriormente no puede formar la formulación de acuerdo con la presente invención, ya que todavía no forma un depósito transparente.

35 Los procedimientos detallados para cada una de las etapas indicadas anteriormente son los siguientes: En primer lugar, se añadió agua al sulfato de gentamicina, clorhidrato de vancomicina, para permitir la disolución completa del sulfato de gentamicina y el clorhidrato de vancomicina. A continuación, se añadió PHOSPHOLIPON® 90G (de Phospholipid GmbH) y aceite de sésamo, seguido de un mezclado con alto cizallamiento a 5000 rpm durante 60 minutos para obtener una emulsión uniforme. A continuación, el pH de la emulsión se ajustó a 3,3 ± 0,2 añadiendo

HCl 1N. Esto se llevó a cabo añadiendo una cantidad apropiada de HCl 1N a la emulsión, seguido de mezclado con alto cizallamiento durante 1 minuto. A continuación, se midió el pH para asegurar que la emulsión tuviera un pH de $3,3 \pm 0,2$.

5 Posteriormente, la emulsión se colocó en un MICROFLUIDIZADOR para producir una solución monofásica. El tamaño promedio de las gotitas de la emulsión se midió usando un dispositivo de dispersión de luz láser.

A continuación, la emulsión se liofilizó para eliminar agua para obtener una pasta seca con menos de 0,5 % de agua residual. A continuación, la pasta seca se mezcló con alcohol deshidratado. Después, la mezcla se sometió a ultrasonidos en un baño de agua a 60-70 °C hasta que se obtuvo una solución transparente. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se prefiltró a través de un filtro estéril de 0,65 micrómetros.

10 A continuación, se eliminó el alcohol de la solución soplando gas nitrógeno hasta que la cantidad residual de etanol fue de 6,5 % en peso - 7 % en peso para obtener un gel viscoso y transparente. El alcohol deshidratado se añadió de nuevo según lo necesario, si estaba sobreesecado.

20 En una campana de bioseguridad, se aplicó gas de argón a 40 psi para filtrar el depósito viscoso a través de un filtro de 0,2 micrómetros para esterilizar la formulación. A continuación, en una campana de bioseguridad, el depósito viscoso filtrado se introdujo en un vial de vidrio. Ejemplo 7: Perfil de liberación *in vitro*

Se midió el perfil de liberación *in vitro* de la formulación del Ejemplo 6 que contenía gentamicina y vancomicina usando el método USP I usando un aparato de cesta (100 rpm a 37 °C). Se cargó 1,36 g de la formulación del Ejemplo 6 en una cápsula de tamaño 000 y la cápsula llena se colocó en una cesta de malla 40 con deflectores. La figura 3 muestra un perfil de liberación *in vitro* de gentamicina y vancomicina de la formulación del Ejemplo 6 usando el método I de la USP.

Ejemplo 8: Estudios farmacocinéticos en conejos

30 Se usaron conejos blancos New Zealand para realizar estudios farmacocinéticos ("FC") para evaluar la administración de las formulaciones preparadas de acuerdo con la presente invención. Se prepararon dos formulaciones de acuerdo con los procedimientos expuestos en el Ejemplo 1 y el Ejemplo 6, respectivamente, y se administraron a una herida quirúrgica o en una bolsa subcutánea. La Tabla 7 a continuación muestra el diseño del estudio FC en conejos con más detalle:

35 Tabla 7

Estudio	Formulación en gel	Dosis de vanco (mg/kg)	Dosis de genta (mg/kg)	Peso corporal (kg)	Iny. Vol. (ml)	Conc. de vanco (mg/g)	Conc. de genta (mg/g)
1 ^{er} experimento	Ejemplo 1	2,06	3,08	2,5	2,0	2,57	3,85
2 ^a experimento	Ejemplo 6	12,6 o 25,2.	11,5 o 22,9.	3,0	2 o 4.	18,76	16,75

40 En un primer experimento, se analizaron dos conejos blancos New Zealand. Después de la instilación de la herida de la formulación del Ejemplo 1, la vancomicina y la gentamicina se absorbieron rápidamente, con un $T_{m\acute{a}x}$ en plasma de 1-2 horas. Las concentraciones en plasma $C_{m\acute{a}x}$ fueron similares a las observadas en el ratón. Las concentraciones en plasma disminuyeron hasta casi el límite de cuantificación en 36 horas. Las concentraciones tisulares de vancomicina alcanzaron un máximo a las 72 horas y estaban por encima de la concentración mínima inhibidora (CMI) a lo largo de 168 horas, como se muestra en las figuras 4 y 5.

45 Las concentraciones tisulares de gentamicina alcanzaron su máximo a las 72 horas y estaban a o por debajo de la CMI durante 168 horas, como se muestra en las figuras 6 y 7.

El análisis de plasma y tejido se realizó mediante análisis de cromatografía líquida/espectrometría de masas (LC-MS/MS) y los resultados farmacocinéticos (FC) de la formulación del ejemplo 1 se resumen en las tablas 8 y 9, respectivamente a continuación:

50

Tabla 8:

Parámetros FC en plasma de conejo de la formulación del Ejemplo 1							
Parámetros FC	Vanco	Genta C1a	Genta C1	Genta C2/C2a	Genta Total	AUC/CMI de vanco	C _{máx} /CMI de genta
C _{máx} (µg/ml)	0,702	0,278	1,063	0,746	2,085		0,3
T _{máx} (h)	2	1	1	1	1		
AUC (h.µg/ml)	11,60	3,44	14,13	9,85	27,42	15,5	
T _{1/2} (h)	39,16	10,50	23,24	23,83	22,91		

Tabla 9:

Parámetros FC en tejido de conejo de la formulación del Ejemplo 1							
Parámetros FC	Vanco	Genta C1a	Genta C1	Genta C2/C2a	Genta Total	AUC/CMI de vanco	C _{máx} /CMI de genta
C _{máx} (µg/ml)	3,73	1,0525	5,865	3,23	10,1475		1,3
T _{máx} (h)	72	72	72	72	72		
AUC (h.µg/ml)	354,88	104,28	573,10	324,86	1002,25	473,2	
T _{1/2} (h)	35,32	50,32	49,68	51,60	50,35		

- 5 En un segundo experimento, se analizaron seis conejos New Zealand (Grupo I) mediante instilación en la herida de la formulación del Ejemplo 6 que contenía la dosis de 12,6 mg/kg de vancomicina y 11,46 mg/kg de gentamicina; y se analizaron seis conejos New Zealand (Grupo II) mediante instilación en la herida de la formulación del Ejemplo 6 que contenía la dosis de 25,2 mg/kg de vancomicina y 22,9 mg/kg de gentamicina;
- 10 El gel de concentración más baja (Grupo I) promedió 4 µg/g tanto para vancomicina como para gentamicina total en el sitio de la herida, mientras que la concentración más alta del gel (Grupo II) promedió 26 y 19,4 µg/g para vancomicina y gentamicina respectivamente, respectivamente, que son superiores a cuatro veces los valores de CMI (concentración mínima inhibidora). Las concentraciones plasmáticas de vancomicina y gentamicina del estudio MPI de la formulación del Ejemplo 6 exhibieron relaciones de AUC/CMI de vancomicina (área bajo la curva de concentración/concentración mínima inhibidora) superiores a 400 a ambas dosis y relaciones C_{máx}/CMI de gentamicina (concentración máxima/concentración mínima inhibidora) mayores de 800 en ambas dosis.

20 La figura 8 ilustra las concentraciones plasmáticas medias de vancomicina en conejos después de una sola instilación subcutánea (s.c.) de una herida y la figura 9 ilustra la concentración plasmática media total de gentamicina en conejos.

El análisis en plasma y tejido se realizó mediante análisis LC-MS/MS y los resultados FC de la formulación del ejemplo 6 se resumen en la tabla 10 siguiente:

Tabla 10

	Vanco		Genta C1		Genta C1a		Genta C2/C2a		Genta total		Vanco		Genta total											
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2										
Gfp	Promedio	3150	Promedio	2737	Promedio	769	Promedio	1023	Promedio	3188	Promedio	4318	Promedio	6679	Promedio	8927	Promedio	1	2	C _{máx} /CMI				
p C _{máx}		3125		2737		769		1023		3188		4318		6679		8927		1	2	835	1116			
T _{máx}		3		1		1		1		1		1		1		1								
AUC última		47392		60114		19216		25447		5463		7351		23286		31652		47966		64451		63190		80151

La diferencia clave entre la formulación del Ejemplo 6 (alta resistencia) y la formulación del Ejemplo 1 (menor resistencia) es que aunque los perfiles FC de estas dos formulaciones en animales pequeños, tales como ratones, eran similares, había una mayor diferencia en cuanto al rendimiento cuando se analizaron en animales más grandes, tales como conejos, ya que las concentraciones en ejido para la formulación del Ejemplo 1 cayeron por debajo del valor de 4 veces la CMI antes, por lo tanto describen un área inferior bajo la curva de concentración (AUC) con respecto al tiempo/área gastada 4 veces sobre la CMI.

Ejemplo comparativo 1

Ingredientes	% Peso
Sulfato de gentamicina	3
Clorhidrato de vancomicina	2
Phospholipon 90G	63
Aceite de sésamo	27
Etanol	5
TOTAL	100,00

Los Ejemplos Comparativos 1 se produjeron utilizando los mismos métodos que los Ejemplos 1 o 6, excepto que no se realizaron las etapas de homogeneización, eliminación en etanol y/o prefiltración.

El Ejemplo Comparativo 1 formó una pasta dura opaca después de la liofilización y no fue adecuada para inyección incluso después de añadir etanol.

Ejemplo 9: Estudios de tratamiento de heridas en ratas

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho adultas en este estudio. Este estudio se llevó a cabo bajo un protocolo de conformidad con la Ley de Bienestar Animal, la implementación del Reglamento de Bienestar Animal y de acuerdo con los principios de la Guía para el Cuidado del Uso del Laboratorio. Había tres grupos de estudio que contenían cada uno diez animales. El primer grupo no recibió tratamiento y la herida se cerró después del riego. El segundo grupo recibió cuatro perlas de PMMA de 3 mm que contenían aproximadamente 28 mg de vancomicina y 32 mg de tobramicina que se colocaron en la herida después del riego y antes del cierre. El tercer grupo recibió 1 ml de formulación preparada de acuerdo con el Ejemplo 1 que contenía aproximadamente 17 mg de vancomicina y 19 mg de gentamicina colocados en la herida después del riego y antes del cierre.

Se creó un defecto femoral abierto contaminado usando la siguiente técnica: Se anestesió a las ratas Sprague-Dawley macho adultas con isoflurano y se prepararon para la cirugía; sus ejes femorales derechos fueron expuestos y estabilizados con una placa de polioximetileno a medida, se fijaron con seis hilos roscados K. A continuación se creó un defecto de 6 mm en el eje medio con una sierra reticulante, se enfrió con solución salina. El defecto se contaminó con 30 mg de colágeno bovino estéril empapado con 1x10⁵ Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Staphylococcus aureus* en 0,5 ml de solución salina. La cepa (Xenogen 36) de *S. aureus* utilizada derivó de la ATCC 49525 originalmente de un paciente humano séptico (Caliper LifeSciences, CA USA). CA, EE.UU.).

Las heridas se cerraron en capas y los animales se recuperaron. Seis horas después de la "lesión" inicial, los animales se anestesiaron de nuevo, las heridas se abrieron, se desbridaron con una eliminación cuidadosa de toda la contaminación y se regaron con 60 ml de solución salina estéril a presión baja. Sus heridas se cerraron de nuevo en capas. Los animales se recuperaron, y se les permitió movilidad total, comida y agua.

Catorce días después de la lesión se sacrificó a los animales. El fémur y el hardware se rasparon del tejido blando y se separaron. El tejido óseo se congeló instantáneamente en nitrógeno líquido y se trituró. Las muestras de hueso e implante se enviaron por separado para el análisis microbiológico cuantitativo estándar. En resumen, las muestras de hueso triturado se homogeneizaron con 10 ml de solución salina en un agitador, de forma similar las muestras de implante se enjuagaron con 10 ml de solución salina en un agitador; después, se diluyeron secuencialmente las alicuotas de especímenes individuales y se diseminaron sobre placas de agar con digerido de soja y caseína. Después de una incubación de una noche a 37°C, se contaron colonias bacterianas; el umbral de detectabilidad fue de 30 UFC/ g.;

Se fabricaron perlas de PMMA antibióticas en condiciones estériles usando el cemento de artroplastia Palacos R (Zimmer, Dover OH). Se mezclaron 40 g de copolímero de MMA en polvo con 2,0 g de vancomicina y 2,4 g de tobramicina (Sigma-Aldrich) y luego se mezclaron con 20 ml de monómero líquido de MMA. A continuación se usó un molde de 3 mm para crear perlas que pesaban aproximadamente 200 mg y que contenían 7 mg de vancomicina y 8 mg de tobramicina cada una. Por lo tanto, cuatro perlas representaban una dosis de 28 mg de vancomicina y 32 mg

de tobramicina.

5 Había bacterias en todos los animales del grupo de control que no recibieron antibióticos (grupo de estudio 1),
mientras que solo la mitad de los animales tratados con la formulación preparada de acuerdo con el Ejemplo 1
tenían bacterias detectables (grupo de estudio 3). La formulación preparada de acuerdo con el Ejemplo 1 (grupo de
estudio 3) fue significativamente superior a las perlas de antibiótico (grupo de estudio 2) con respecto a la reducción
del número de animales con bacterias detectables en hueso o en implantes. La cuantificación bacteriana demostró la
superioridad de la formulación preparada de acuerdo con el Ejemplo 1 (grupo de estudio 3) en comparación con
perlas de antibióticos (grupo de estudio 2). Los recuentos bacterianos fueron muy similares entre los animales
10 tratados con perlas con antibióticos (grupo de estudio 2) y los que no recibieron tratamiento (grupo de estudio 1).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un depósito transparente que comprende un agente o agentes farmacéuticamente activos hidrofílicos solubles en agua seleccionados de entre el grupo que consiste en una sal farmacéuticamente aceptable de vancomicina, gentamicina y una mezcla de las mismas; agua; un fosfolípido; un aceite; un agente de ajuste del pH; y un agente modificador de la viscosidad seleccionado del grupo que consiste en etanol, isopropanol, y una mezcla de los mismos; para su uso en el tratamiento y/o prevención de una infección en una herida; donde el agua presente en el depósito viscoso no es más del 2 % en peso con respecto al peso total del depósito; y el pH del depósito es de 3 a 5.
- 10 2. El depósito para su uso según la reivindicación 1, donde la herida se selecciona de entre el grupo que consiste en heridas crónicas, heridas agudas, heridas quirúrgicas, heridas ortopédicas, heridas traumáticas, heridas de combate y cualquier combinación de las mismas.
- 15 3. El depósito para su uso según la reivindicación 2, donde la herida ortopédica es una lesión del sistema músculo-esquelético.
- 20 4. El depósito para su uso según la reivindicación 2, donde la herida traumática se selecciona de una herida abierta en la cabeza, la cara, el pecho, el abdomen, las extremidades y/o lesiones externas y/o lesiones con bordes desgarrados e irregulares con presencia de materia extraña y/o fragmentos de tejido no viables, tales como laceración, abrasiones, heridas por punción, heridas de penetración y cualquier combinación de las mismas.
- 25 5. El depósito para su uso según la reivindicación 2, donde la herida de combate se selecciona de entre lesiones infligidas por un dispositivo explosivo y/o un arma, heridas por disparo y cualquier combinación de las mismas.
- 30 6. El depósito para su uso según la reivindicación 1, que comprende además limpiar la herida para eliminar sustancialmente un material extraño y/o tejido no viable; y cerrar la herida.
- 35 7. El depósito para su uso según la reivindicación 6, donde la etapa de cerrar la herida se realiza usando una sutura, clips metálicos, grapas o tiras adhesivas.
- 40 8. El depósito para su uso según una cualquiera de la reivindicación 1 a la reivindicación 7, que comprende administrar el depósito a una herida y usar un sistema de cierre de herida asistido por vacío a la herida.
9. El depósito para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende limpiar la herida para eliminar sustancialmente un material extraño y/o tejido no viable; usar un sistema de cierre de herida asistido por vacío a la herida; introducir el depósito en una herida; y cerrar la herida.
10. El depósito para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende administrar el depósito antes, durante o después del cierre de la herida usando una sutura, clips metálicos, grapas, apósitos, vendas y/o tiras/cintas adhesivas.

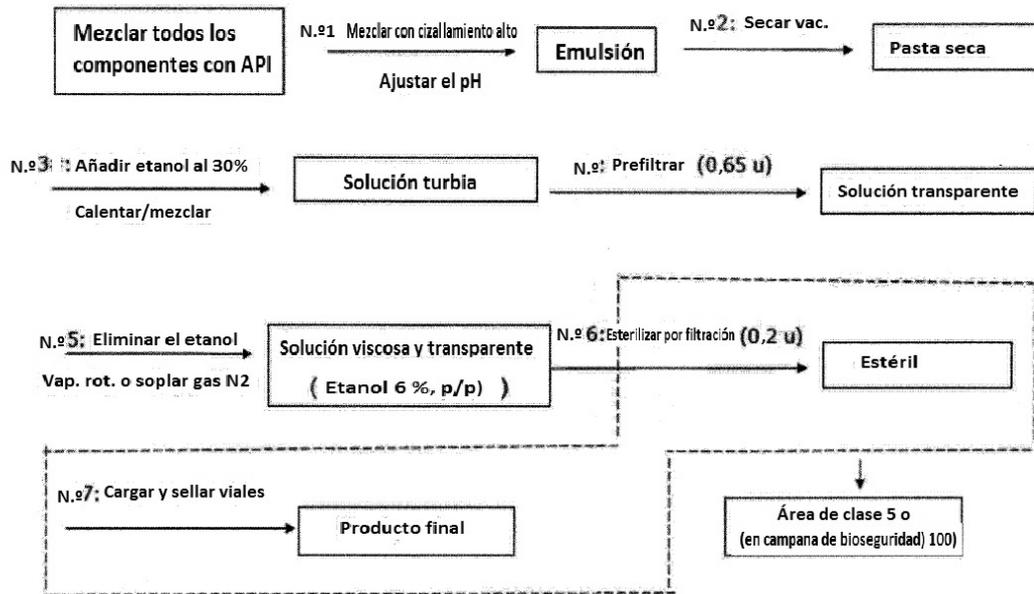


FIGURA 1

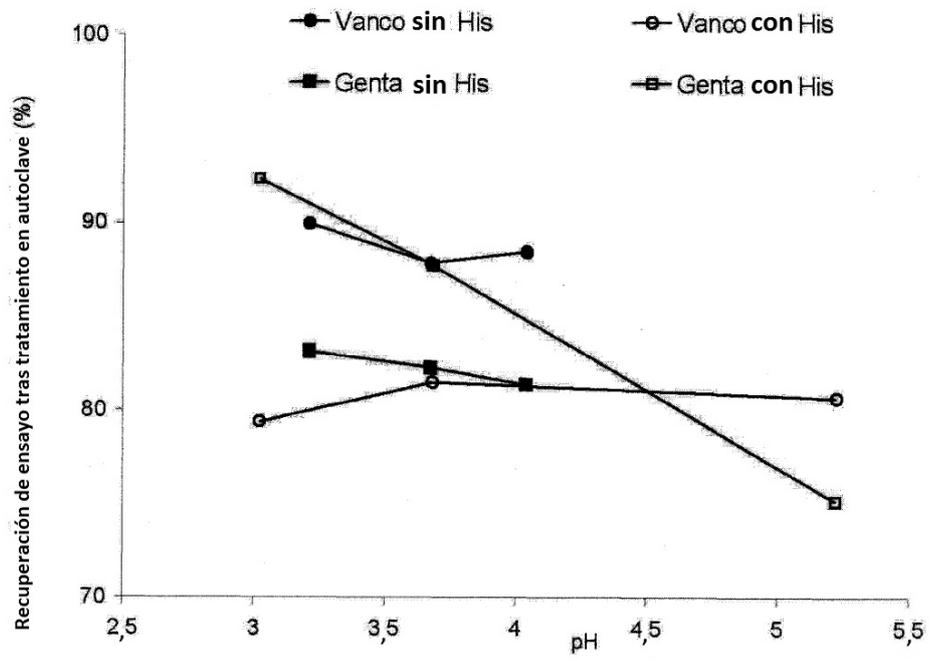


Figura 2

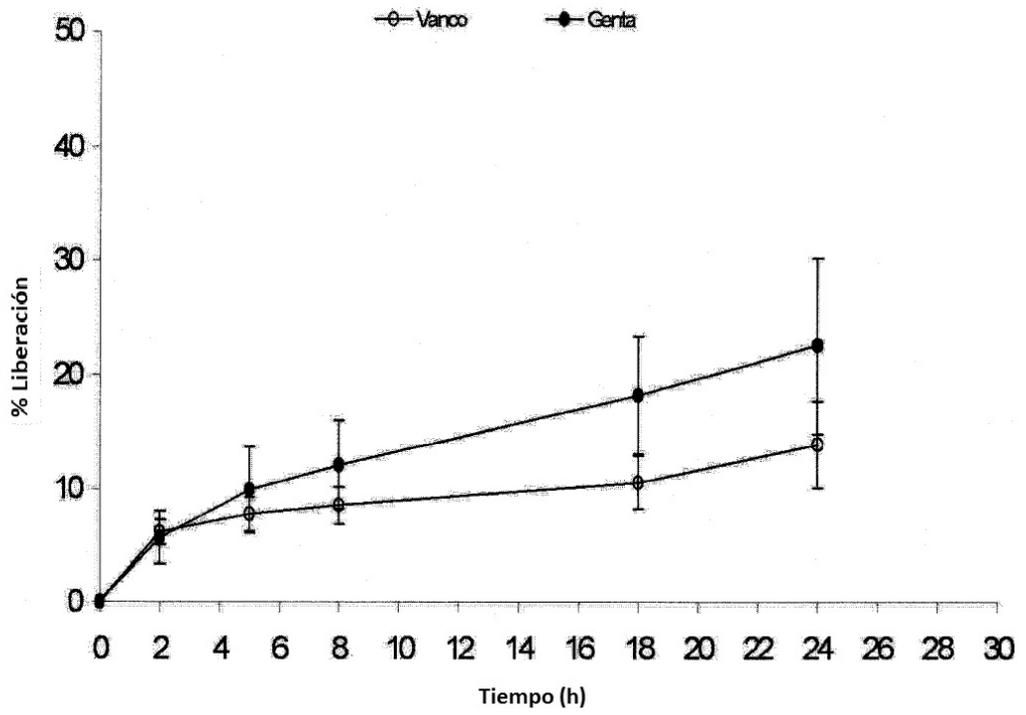


FIGURA 3

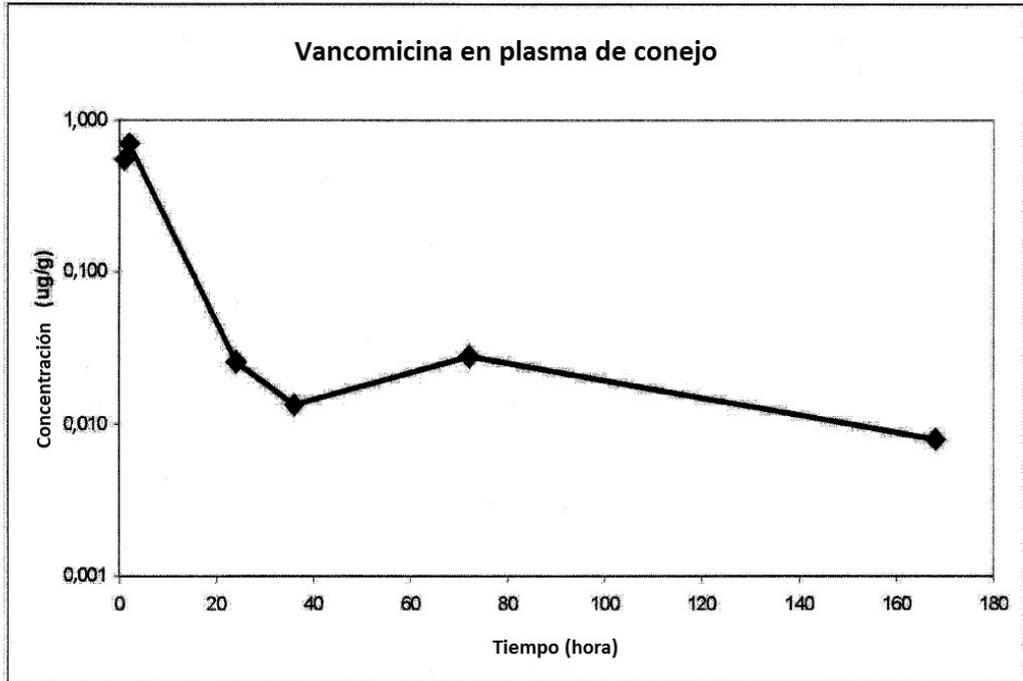


Figura 4

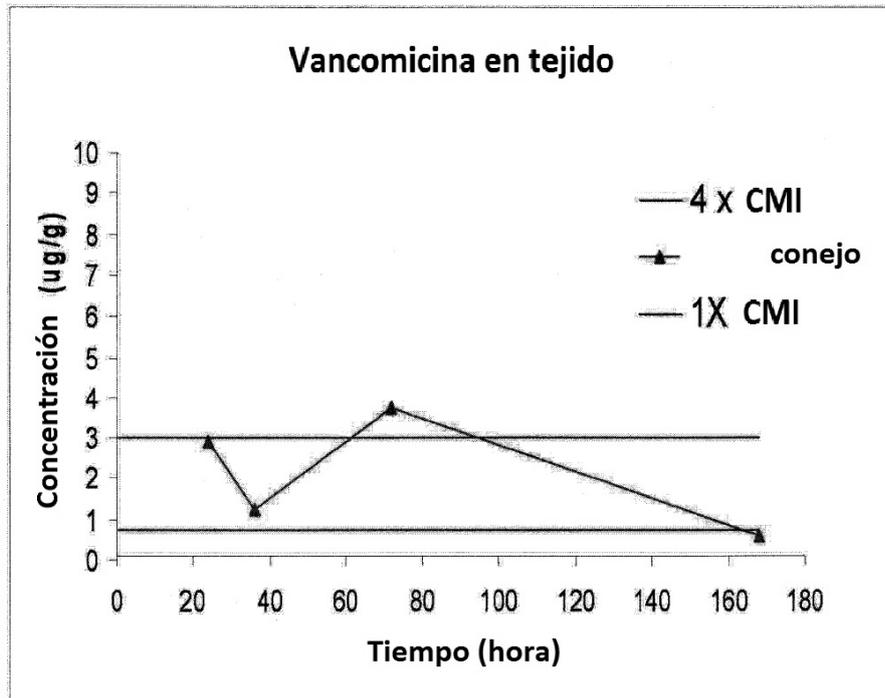


Figura 5

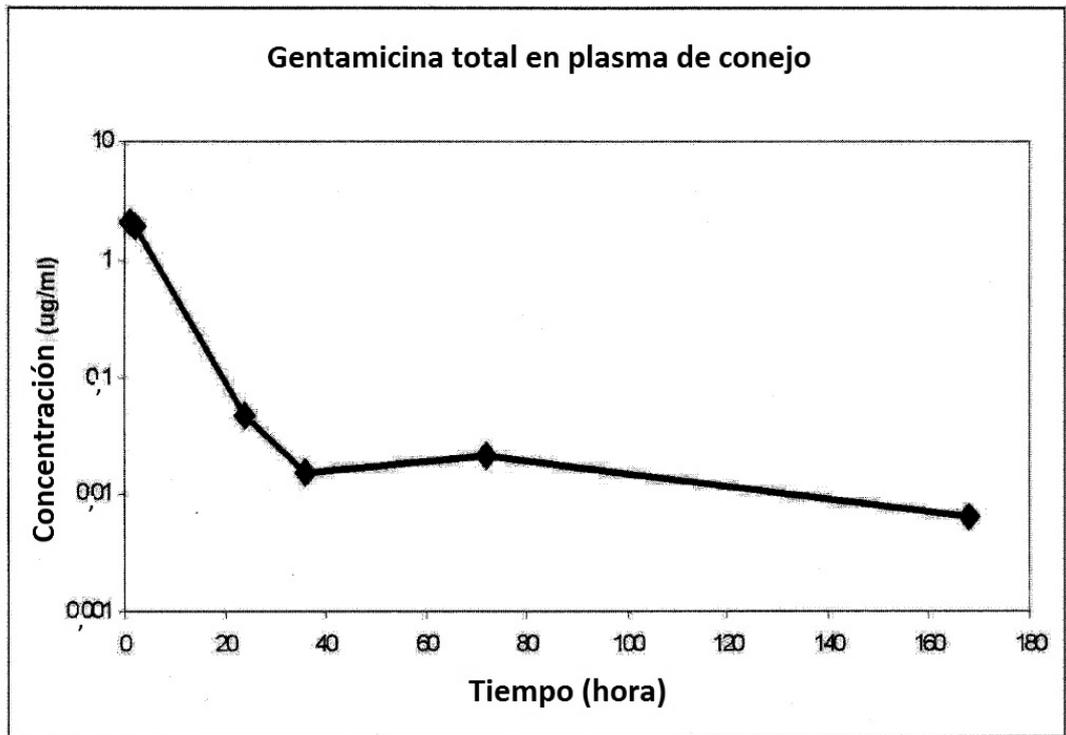


Figura 6

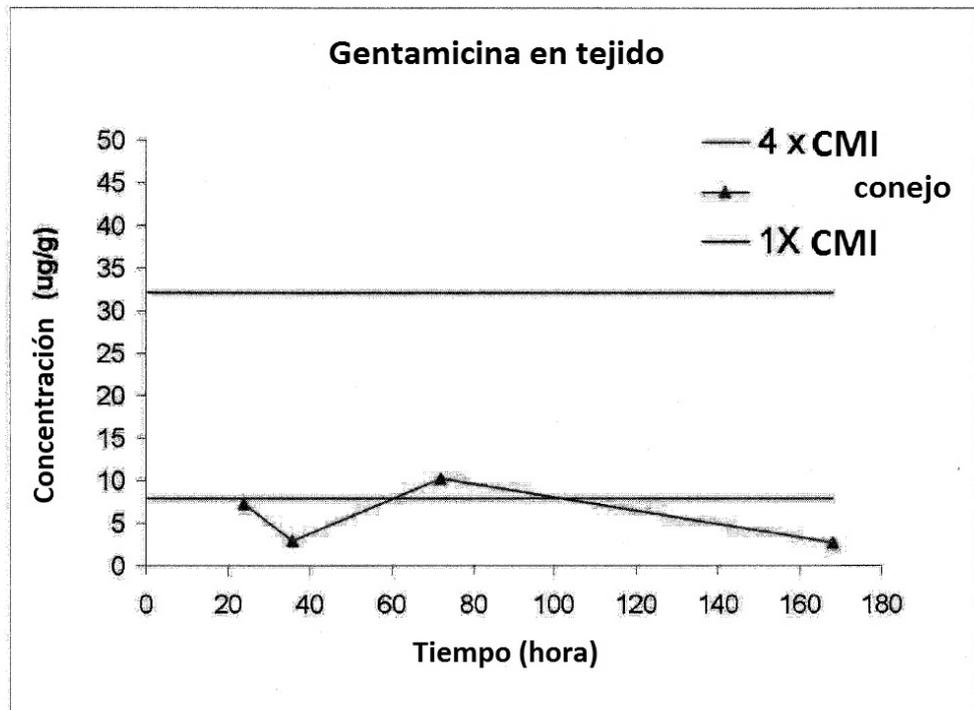


Figura 7

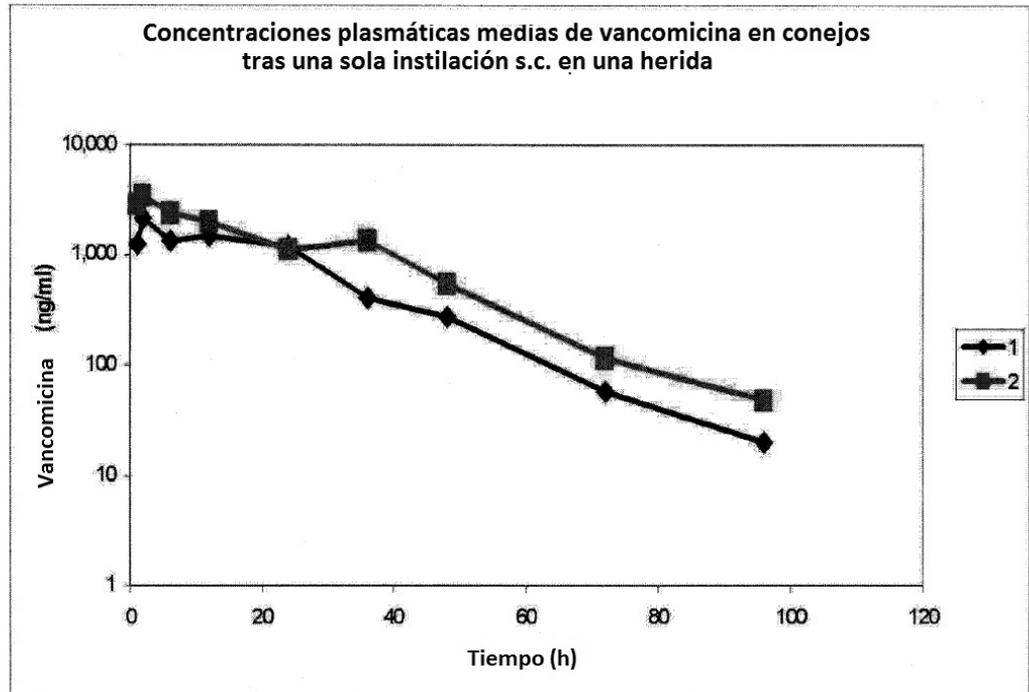


Figura 8

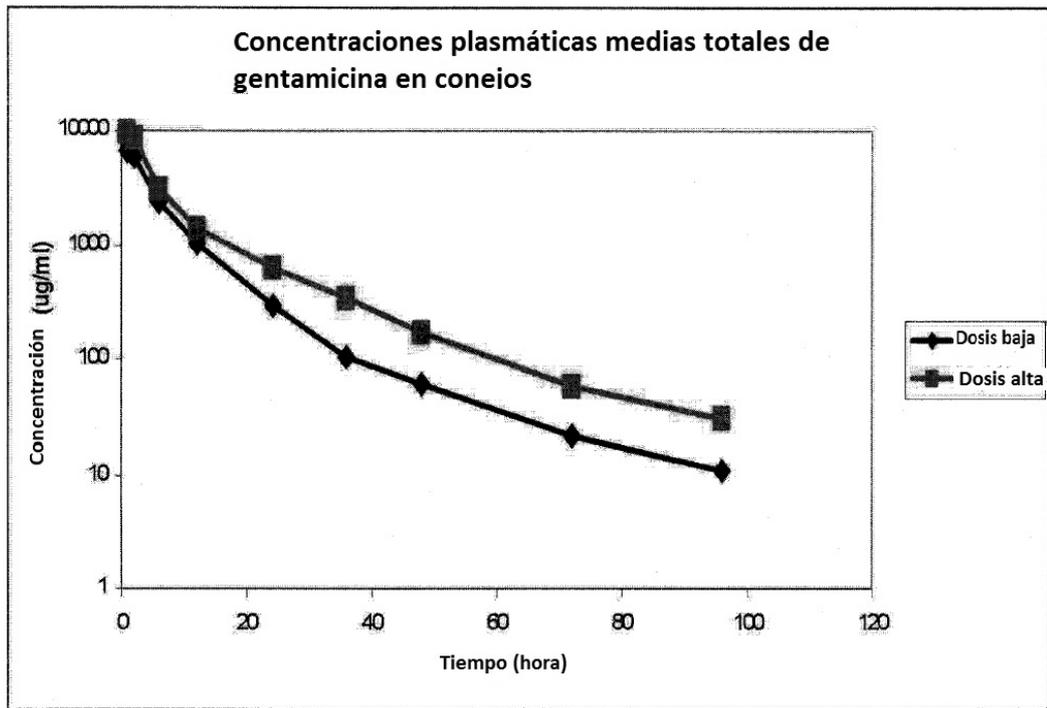


Figura 9