



MD/EP 3244889 T2 2020.06.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3244889 (13) T2

(51) Int. Cl.: **A61K 31/416** (2006.01.01)
A61K 31/4174 (2006.01.01)
A61K 31/4196 (2006.01.01)
A61K 45/06 (2006.01.01)
A61P 31/10 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2017 0279 (22) Data de depozit: 2016.01.08 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 6700189.0, 2016.01.08 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3244889, 2020.03.04 (31) Numărul cererii prioritare: 15150904 (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.01.13 (33) Țara cererii prioritare: EP	(49) Data publicării traducerii fascicului de brevet european validat: BOPI nr. 06/2020, 2020.06.30 (80) Data publicării mențiunii eliberării de către OEB: EPB nr. 10/2020, 2020.03.04 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 02/2018, 2018.02.28
(71) Solicitant: Aziende Chimiche Riunite Angelini Francesco A.C.R.A.F. S.p.A., IT (72) Inventatori: MILANESE Claudio, IT; CAPEZZONE DE JOANNON Alessandra, IT; TONGIANI Serena, IT; DONATI Luca, IT (73) Titular: Aziende Chimiche Riunite Angelini Francesco A.C.R.A.F. S.p.A., IT (74) Mandatar autorizat: SOKOLOVA Sofia	

(54) Compoziție farmaceutică pentru tratamentul micozei

(57) Rezumat:

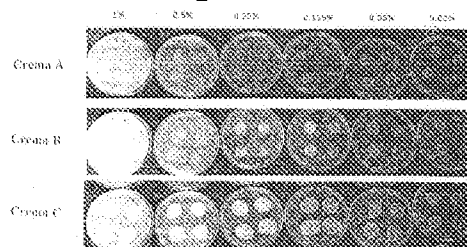
1

Prezenta invenție se referă la o compoziție farmaceutică care conține o combinație de benzidamină și un ingredient activ antimicotic, combinația menționată având un efect sinergic în tratamentul micozei.

Revendicări: 15

Figuri: 2

2



(54) Pharmaceutical composition for the treatment of mycosis**(57) Abstract:**

1
The present invention relates to a pharmaceutical composition comprising a combination of benzydamine and an antimycotic active ingredient, said combination having a synergistic effect in the

2
treatment of mycosis.
Claims: 15
Fig.: 2

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)****Domeniul invenției**

5 Prezentă invenție se referă la o compoziție farmaceutică care conține o combinație de benzidamină și un ingredient activ antimicotic, combinația menționată având un efect sinergic în tratamentul micozei.

Premisele de creare a invenției

10 Fungii care aparțin genului *Candida* sunt una dintre cele mai frecvente cauze ale infecțiilor fungice la nivel mondial.

Multe specii de *Candida* sunt comensale inofensive sau endosimbionte ale gazdelor lor, cum ar fi de exemplu ființele umane.

15 Fungii care aparțin speciilor *Candida albicans* și *Candida tropicalis* sunt prezente în mod normal pe mucoasa cavității bucale, tractului gastrointestinal și vaginului. Cu toate acestea, atunci când flora mucoaselor este modificată, de exemplu, datorită tratamentului îndelungat cu antibiotice sau modificări hormonale, Fungii se pot multiplica anormal și pot provoca infecții superficiale, de exemplu la gură sau la vagin, cunoscute sub denumirea de candidoză. La persoanele imunosupresate, Fungii pot provoca chiar infecții sistemice severe, cunoscute sub denumirea de candidemie, care sunt uneori mortale.

20 Vulvovaginita cauzată de fungi reprezintă astăzi aproximativ 30-35% din infecțiile vaginale și este cauzată în cea mai mare parte de fungi *Candida albicans*.

Vulvovaginita este însoțită de modificări ale pH-ului vaginal, iar principalele simptome sunt mâncărimi vaginale și/sau vulvare intense, scurgeri, inflamație și durere.

25 În mod obișnuit, tratamentul este prin administrarea de medicamente antimicotice topice sub formă de creme, ovule vaginale și soluții pentru uz extern. În cazul infecțiilor severe și/sau recidivante, medicamentele antimicotice sunt administrate pe cale orală.

Pevaryl™ este o cremă disponibilă comercial pentru tratamentul micozei vulvovaginale, care conține 1% m/m de nitrat de econazol.

30 Econazolul este un derivat al imidazolului, înzestrat cu o activitate antimicotică cu spectru larg și utilizat în mod obișnuit pentru tratamentul micozei *Candida albicans*.

Mai multe cereri de brevet dezvăluie combinații de ingrediente active utile în tratamentul micozei orale și vulvovaginale.

35 WO 96/26724 dezvăluie o compoziție farmaceutică care conține o cantitate antiinflamatoare de benzidamină sau o sare a acesteia, o cantitate eficientă antimicrobiană a unui agent antimicrobian și un purtător sau excipient acceptabil farmaceutic.

US 2009/0208558 se referă la utilizarea unui agent antimicotic și a unui inhibitor de adeziune a epiteliale sau a celulelor endoteliale pentru producerea unui medicament combinat pentru tratamentul topic al micozei *Candida mycosis*.

40 Majoritatea combinațiilor de medicamente prezintă un efect aditiv. Cu toate acestea, în unele cazuri, combinațiile prezintă mai puțin sau mai mult decât un efect aditiv. Aceste combinații sunt numite, respectiv, antagonice sau sinergice. Efectele antagonice sau sinergice sunt imprevizibile și sunt descoperiri experimentale neașteptate. Găsirea combinațiilor extrem de eficiente, adică amestecuri sinergice de agenți activi este totuși dificilă. Serendipitatea nu este o cale validă, deoarece numărul de combinații potențiale de agenți este uluitor de mare. Cealaltă strategie de descoperire normală de deducere a combinațiilor potențiale din cunoașterea mecanismului este de asemenea limitată în potențialul său, deoarece multe puncte finale biologice ale organismelor vii sunt afectate de căi multiple. Aceste căi nu sunt adesea cunoscute, și chiar și atunci când sunt, modurile în care interacționează căile pentru a produce efectul biologic final sunt deseori necunoscute.

50 Esența invenției

Solicitantul s-a confruntat cu problema de a furniza o compoziție farmaceutică pentru tratamentul micozei, având o activitate îmbunătățită în comparație cu compozițiile cunoscute în domeniu.

55 Solicitantul a descoperit că benzidamina poate fi utilizată în asociere cu ingrediente active antimicotice derivate din imidazol.

În particular, solicitantul a constatat în mod surprinzător că combinația de benzidamină cu un ingredient activ antimicotic derivat din imidazol are un efect sinergic în inhibarea creșterii fungilor aparținând genului *Candida*.

Astfel, într-un prim aspect, prezenta invenție se referă la o compoziție farmaceutică care conține o combinație de benzidamină și un imidazol-antimicotic sau o sare a acestuia și cel puțin un excipient acceptabil farmaceutic, pentru utilizare în tratamentul micozei *Candida mycosis*.

5 În mod avantajos, benzidamina din compoziția conform prezentei invenții atenuează mâncărimea vulvovaginală și durerea.

De preferință, imidazolul-antimicotic menționat este selectat în grupul care conține bifonazol, butoconazol, clotrimazol, clotrimazol, econazol, fenticonazol, ketoconazol, izoconazol, miconazol, neticonazol, omoconazol, oxiconazol, sertaconazol, sulconazol, tioconazol sau săruri ale acestora.

10 Mai preferabil, imidazolul-antimicotic menționat este selectat în grupul care conține bifonazol, butoconazol, clotrimazol, econazol, fenticonazol, ketoconazol, izoconazol, miconazol, omoconazol, sertaconazol, sulconazol, tioconazol sau săruri ale acestora.

Chiar mai preferabil, imidazolul-antimicotic menționat este selectat în grupul care conține butoconazol, econazol, fenticonazol, izoconazol, miconazol, sulconazol sau săruri ale acestora.

15 În mod avantajos, imidazolul-antimicotic menționat este econazol, miconazol sau o sare a acestuia.

De preferință, *Candida mycosis* menționată este cauzată de *Candida Albicans*, *Candida lusitaniae*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida rugosa*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* sau *Candida dubliniensis*. Mai preferabil, *Candida mycosis* menționată este cauzată de *Candida Albicans*, *Candida lusitaniae* sau *Candida tropicalis*.

20 Mai preferabil, *Candida mycosis* menționată este candidoză mucoasă, candidoză cutanată, onicomicoză, candidoză sistemică, candidoză iatrogenică, candidoză de scutec, candidoză intestinală sau candida balanitis.

Chiar mai preferabil, candidoza mucoasă menționată este orală sau vulvovaginală.

25 **Descrierea succintă a desenelor**

Figura 1 prezintă vizual rezultatele activității cremelor A până la C din exemplul 7 testate pe plășete care conțin tulpină de *Candida albicans* ATCC 10231 cu metoda de diluare a agarului utilizând de la 1% la 0,03% m/v de cremă.

30 Figura 2 prezintă grafic rezultatele analizei densitometrice efectuate pe plășetele din Figura 1.

Descrierea detaliată a invenției

35 În prezenta descriere, expresia „efect sinergic” înseamnă că combinația de benzidamină și imidazol-antimicotic inhibă creșterea unei tulpini de fungi aparținând genului *Candida* la o concentrație mai mică decât suma concentrațiilor de benzidamina și imidazol-antimicotic utilizate singure pentru aceeași tulpină pentru a obține aceeași inhibiție. Cu alte cuvinte, un efect sinergic înseamnă că combinația de benzidamină și imidazol-antimicotic este eficientă în producerea mai mult decât efectul aditiv al fiecărei componente din aceeași tulpină.

Sinergia este definită în prezentul document în termenii indicelui de concentrație inhibitorie fracțională (CIF), care este suma CIF pentru medicamentele individuale utilizate în fiecare combinație, astfel cum este descris de Meletiadis J. et al. în *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Feb. 2010, p. 602-609. În conformitate cu o sinergie științifică și preferată, definiția este definită de un indice CIF mai mic de 0,5, adică atunci când 50% inhibare rezultă dintr-o combinație de o pătrime sau mai puțin din concentrația fiecărui medicament necesară pentru a produce același efect dacă este utilizat individual (adică concentrația inhibitorie minimă (CIM) a fiecărui medicament). Un indice CIF de 0,5 sub această definiție strictă definește un răspuns aditiv. Sub o definiție mai largă utilizată în scopurile din acest document, cantitățile eficiente sinergic sunt definite de un indice CIF mai mic de 1,0, adică atunci când 50% inhibare rezultă dintr-o combinație de o jumătate sau mai puțin din CIM pentru fiecare medicament. Un indice CIF de 1,0 sub această definiție mai largă definește un răspuns aditiv. În cadrul acestui test, izobologramele pot fi preparate din curbele de răspuns la doză pentru diferite combinații de benzidamină și imidazol-antimicotic în fiecare tulpină, cu sinergie indicată de puncte sub linia care conectează indicii CIF de 1 pentru benzidamină cu indicii CIF de 1 pentru imidazol-antimicotic. Acest standard permite determinarea CIM -ului pentru combinațiile testate, astfel încât să furnizeze CIM-ul fiecărei componente necesare pentru obținerea unui amestec sinergic. Cantitățile exacte vor depinde, de exemplu, de tulpina particulară.

55 În prezenta descriere și în revendicările următoare, expresia „imidazol-antimicotic” indică ingrediente active antimicotice care conțin un inel imidazolic în structura lor chimică.

De preferință, compoziția farmaceutică destinată utilizării conform prezentei invenții conține benzidamină într-o cantitate de la 0,001% de masă până la 1% de masă, mai preferabil de la 0,05% de masă până la 0,5% de masă și chiar mai preferabil de la 0,08% de masă până la 0,2% de masă.

De preferință, compoziția farmaceutică destinată utilizării conform prezentei invenții conține imidazol-antimicotic, sau o sare a acestuia, într-o cantitate de la 0,01% de masă până la 4% de masă, mai preferabil de la 0,1% de masă până la 2% de masă și chiar mai preferabil de la 0,5% de masă până la 1,5% de masă.

5 De preferință, compoziția farmaceutică destinată utilizării conform prezentei invenții este pentru utilizare topică.

De preferință, compoziția farmaceutică destinată utilizării conform prezentei invenții este preparată în forme medicamentoase adecvate, cum ar fi creme, unguente, loțiuni, gel, spume, ovule, ovule cu eliberare prelungită, dușuri vaginale sau soluții pentru utilizare externă.

10 Mai preferabil, forma medicamentoasă menționată este cremă, unguent, loțiune, duș vaginal sau soluție pentru uz extern.

Chiar mai preferabil, forma medicamentoasă menționată este cremă sau duș vaginal.

Excipientul acceptabil farmaceutic poate fi selectat din grupul care conține: emolienți, agenți de îngroșare, conservant, stabilizatori, surfactanți, tamponare, săruri pentru reglarea presiunii osmotice, emulsifianți și altele asemenea.

De preferință, compoziția farmaceutică destinată utilizării conform prezentei invenții conține unul sau mai mulți emulsifianți având un BHL cuprins între 6 și 9 și unul sau mai mulți emulsifianți vând un BHL cuprins între 9 și 12.

20 Emulsifianții care au un BHL cuprins între 6 și 9 utili în prezenta invenție sunt, de exemplu, alcool cetearilic, cetearth-20, poligliceril-3-diizostearat, un amestec de stearat de sorbitan și cocoat de zaharoză, dilaurat PEG-4, sesquistearat de metil glucoză, laureth-2, laureth-3, dioleat PEG-8, poligliceril-5-dioleat, lactilat stearyl de sodiu, sorbitan laurat, lauroil macrogol-6 gliceride, peroleat de sorbitan PEG-40, stearat de poligliceril-3, poligliceril-2 laurat.

25 Emulsifianții care au un HLB cuprins între 9 și 12 utili în prezenta invenție sunt, de exemplu laureth-4, cocoat de gliceril PEG-7, gliceride de migdale PEG-20, palmiat de poligliceril-3, ulei de ricin hidrogenat PEG-25, stearamidă, un amestec de stearat de gliceril, stearat PEG-100, polisorbitat 85, olivat PEG-7, glucozidă de cetearil, olivat de cetearil, monostearat de gliceril, diizostearat de poligliceril-10, polisorbitat 85, oleat de poligliceril-5, oleat de PEG-8, citrat de stearat de gliceril, cocoat de gliceril PEG-7, distearat de poligliceril-metilglucoză.

30 Emulsifianții preferați în special cu un BHL variind de la 9 până la 12 sunt Tefose 63, un amestec de palmitostearat PEG6 și PEG-32 și stearat de glicol și Gelot 64, un amestec de monostearat de glicerol și stearat de PEG-75, ambele fabricate de Gattefosse SAS, Franța.

Emulsifianții preferați în special, cu un BHL cuprins între 6 și 9 sunt Labrafil M2130CS, un amestec de lauroil macrogol-6 gliceride și Labrafil M1944CS, un amestec de oleoil polioxil-6 gliceride, ambele fabricate de Gattefosse SAS, Franța.

35 Exemplele care urmează sunt destinate ilustrării ulterioare a prezentei invenții, fără a o limita.

Exemple

40 Scopul testelor dezvăluite în exemplele 1 până la 5 a fost de a evalua activitatea fungicidă *in vitro* a combinației de benzidamină și un imidazol-antimicotic împotriva tulpinilor de fungi aparținând genului *Candida*.

Exemplul 1

1.1 Prepararea tulpinilor fungice

45 Tulpinile de *Candida* stocate la -80°C au fost decongelate și însămânțate cu ansa pe planșeta SDA și apoi s-a efectuat o a doua subcultură. Apoi, suspensiile de tulpini *Candida* au fost preparate după cum urmează.

50 10 ml de soluție salină s-au introdus într-un tub Falcon de 50 ml cu 5 g de bile de sticlă. Loop-ul celular din coloniile din a doua subcultură a fost transferat în soluție salină și suspendate prin triturarea loop-ului de peretele umed al tubului pentru a deplasa celulele. Apoi, tubul a fost agitat timp de 3 minute utilizând un agitator mecanic.

Numărul de celule din suspensie a fost ajustat de la $1,5 \times 10^6$ la $5,0 \times 10^6$ unități de formare a coloniilor (UFC)/ml utilizând soluție salină conform standardului Mc Farland 0,5 și citind densitatea optică la 550 nm.

55 Pentru calculare, s-au preparat diluții seriale de 1:10 folosind soluție salină, pentru a obține diluții 10^{-4} și 10^{-5} ale suspensiei. O probă de 100 μ l din fiecare diluție a fost distribuită pe planșetă și incubată la 37°C timp de 48 ore. Numărul de colonii a fost calculat prin inspecție vizuală și s-a constatat că densitatea celulelor se situează în intervalul dorit.

1.2 Metoda de diluare a agarului

60 Metodologia a fost similară cu cea dezvăluită de R. Moody et al., „In Vitro Activities of Miconazole, Miconazole Nitrate, and Ketoconazole Alone and Combined with Rifampin against

Candida spp. and *Torulopsis glabrata* Recovered from Cancer Patients.”, Antimicrobial Agents and Chemotherapy: 1980, 17, 871-875.

1.2.1 Prepararea soluțiilor de ingrediente active

S-au utilizat plăci Petri standard (diametru 92 mm × 16 mm înălțime). După turnarea agarului, planșetele au fost lăsate să se răcească și apoi imediat utilizate.

(A) Soluțiile utilizate pentru a calcula MIC-ul ingredientelor active au fost preparate astfel cum este descris mai jos. Nitratul de econazol și nitratul de miconazol au fost dizolvați fiecare în 100% dimetil sulfoxid (DMSO) până la concentrații de 5,0 mg de medicament activ pe ml. Apoi, s-au preparat diluții seriale 1:2 în DMSO, până la concentrații de la 5,0 mg/ml la 0,078 mg/ml. S-au adăugat 0,250 ml din fiecare soluție de econazol sau nitrat de miconazol la 24,75 ml (diluție 1:100) de agar Sabouraud topit (Difco Laboratoires, Detroit, Mich), amestecat și turnat în plăci Petri standard, până la concentrația finală de la 50 μg/ml până la 0,78 μg/ml.

Benzdamina a fost dizolvată în apă la o concentrație de 12,5 mg/ml. Apoi, s-au preparat diluții seriale 1:2 în apă, până la concentrații de la 12,5 mg/ml la 1,56 mg/ml. S-a adăugat 1 ml din fiecare soluție de benzidamină la 24 ml (diluție 1:25) de agar Sabouraud topit, amestecat și turnat în plăci Petri standard, până la concentrația finală de la 0,5 μg/ml la 0,0625 μg/ml.

În calitate de control pozitiv, Amfotericină B dintr-o soluție stoc de 1600 μg/ml a fost diluată în DMSO la soluții cu concentrații de la 50 μg/ml la 6,25 μg/ml. Aceste soluții au fost diluate 1:100 în agar Sabouraud, amestecate și turnate în plăci Petri standard, până la concentrația finală de la 0,5 μg/ml la 0,0625 μg/ml. Controale negative de apă, DMSO și apă + DMSO au fost incluse în experiment.

(B) Pentru studiile de sinergie, alte soluții de nitrat de econazol și miconazol cu concentrații de la 2,5 mg/ml la 0,098 mg/ml au fost preparate în DMSO, cu diluții seriale 1:2, astfel cum sunt prezentate în paragraful 1.2.1(A).

De asemenea, soluții suplimentare de benzidamină cu concentrații de la 6,25 mg/ml la 1,56 mg/ml au fost preparate în apă, cu diluții seriale 1:2, astfel cum sunt prezentate în paragraful 1.2.1 (A). Mai mult decât atât, soluția de benzidamină cu o concentrație de 6,25 mg/ml a fost diluată 1:1,43 în apă pentru a da o soluție de benzidamină cu o concentrație de 4,37 mg/ml.

Apoi, 0,250 ml din fiecare soluție de nitrat de econazol sau miconazol și 1 ml din fiecare soluție de benzidamină s-au adăugat la 23,750 ml de agar Sabouraud topit (Difco Laboratoires, Detroit, Mich), amestecat și turnat în plăci Petri standard, rezultând astfel concentrații finale de econazol sau miconazol de la 25 μg/ml la 0,098 μg/ml și de benzidamină de la 0,25 mg/ml la 0,0625 mg/ml și 0,175 mg/ml.

1.2.2 Testarea sensibilității

(A) Pentru calculul MIC-ului, suprafața fiecărei plăci Petri standard pregătite astfel cum este descris în paragraful 1.2.1 (A) a fost inoculată cu patru pete (20 μl volum de inoculat) din suspensiile de tulpini *Candida* preparate astfel cum este descris în paragraful 1.1.

Suspensii de test inoculate pe plăci Petri standard cu amfotericină B s-au utilizat în calitate de control pozitiv.

Suspensia de test inoculată pe plăci Petri standard fără medicamente, dar care conține apă, DMSO și apă + DMSO au fost utilizate în calitate de controale negative.

Toate plăcile Petri au fost incubate la 35°C timp de 48 de ore.

(B) Pentru studiile de sinergie, suprafața fiecărei plăci Petri pregătite astfel cum este descris în paragraful 1.2.1 (B) a fost inoculată cu patru pete (volum de 20 μl de inoculat) din suspensiile de tulpini *Candida* preparate astfel cum este descris în paragraful 1.1 și incubate la 35°C timp de 48 ore.

1.3 Metoda de diluare a bulionului

Metodologia utilizată pentru metoda de diluare a bulionului a fost similară celei descrise în documentul „EUCAST Definitive Document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts” (Clin Microbiol Infect 2008; 14: 398-408).

1.3.1 Prepararea soluțiilor de ingrediente active

(A) Soluțiile utilizate pentru a calcula MIC-ul ingredientelor active au fost preparate astfel cum este descris mai jos. Nitratul de econazol și nitratul de miconazol au fost dizolvați fiecare în 100% dimetilsulfoxid (DMSO) până la concentrații de 10,0 mg de medicament activ pe ml. Apoi, s-au preparat diluții seriale 1:2 în DMSO, până la concentrații de la 10,0 mg/ml la 0,078 mg/ml. Aceste soluții au fost ulterior diluate 1:100 în RPMI-1640 (GiBCO® de Life Technologies) conținând 2% glucoză, acid 3-(N-morfolin)propansulfonic (MOPS, de SIGMA) fără NaHCO₃, până la concentrația finală de la 100 μg/ml până la 0,78 μg/ml.

Nitratul de clotrimazol a fost dizolvat în 100% dimetilsulfoxid (DMSO) la concentrații de 1,250 mg de medicament activ pe ml. Apoi, s-au preparat diluții seriale 1:2 în DMSO, până la concentrații de la 1.250 mg/ml la 0.0196 mg/ml. Aceste soluții au fost diluate în continuare 1:100 în RPMI-1640 (GiBCO® de Life Technologies) conținând 2% glucoză, acid 3-(N-morfolin)propansulfonic (MOPS, de SIGMA) fără NaHCO₃, până la concentrația finală de la 12,50 μg/ml până la 0,196 μg/ml.

Nitratul de fluconazol a fost dizolvat în 100% sulfat de dimetil (DMSO) la concentrații de 5,0 mg de medicament activ pe ml. Apoi, s-au preparat diluții seriale 1:2 în DMSO, până la concentrații de la 5,0 mg/ml la 0,3125 mg/ml. Aceste soluții au fost diluate în continuare 1:100 în RPMI-1640 (GiBCO® de Life Technologies) conținând 2% glucoză, acid 3-(N-morfolino)propansulfonic (MOPS, de SIGMA) fără NaHCO₃, până la concentrația finală de la 50 μg/ml la 3,125 μg/ml.

Benzidamina a fost dizolvată în apă la o concentrație de 25 mg/ml. Apoi, s-au preparat diluții seriale 1:2 în apă, până la concentrații de la 25 mg/ml la 3,125 mg/ml. S-a adăugat 1 ml din fiecare soluție la 24 ml (diluție 1:25) de RPMI-1640 (GiBCO® de Life Technologies) conținând 2% glucoză, acid 3-(N-morfolin)propansulfonic (MOPS, de SIGMA) fără NaHCO₃, până la concentrația finală de la 1 mg/ml la 0,125 mg/ml.

În calitate de control pozitiv Amfotericina B dintr-o soluție stoc de 1600 mg/ml a fost diluată în DMSO la soluții cu concentrații de la 200 μg/ml la 50 μg/ml. Aceste soluții au fost diluate 1:100 în RPMI-1640 (GiBCO®, de Life Technology) conținând 2% glucoză, acid 3-(N-morfolin)propansulfonic (MOPS, de SIGMA) fără NaHCO₃, până la concentrații de la 2 μg/ml la 0,5 μg/ml.

Controale negative de apă, DMSO și apă + DMSO au fost incluse în experiment.

(B) Pentru studiile de sinergie, alte soluții de nitrat de econazol, miconazol, clotrimazol și fluconazol cu concentrații de la 100 μg/ml la 0,049 μg/ml au fost preparate în RPMI-1640, astfel cum este prezentat în paragraful 1.3.1(A).

De asemenea, alte soluții de benzidamină cu concentrații de la 1 mg/ml până la 0,25 mg/ml au fost preparate în RPMI-1640, astfel cum este descris în paragraful 1.3.1 (A). Mai mult decât atât, soluția de benzidamină cu o concentrație de 1 mg/ml a fost diluată în continuare 1:1,43 cu RPMI-1640 până la o concentrație de 0,7 mg/ml.

1.3.2 Testarea sensibilității

S-au folosit plăci de microdiluție care conțin godeuri cu o capacitate nominală de aproximativ 300 ml/godeu.

Suspensiile de tulpini *Candida* preparate astfel cum s-a descris în paragraful 1.1 au fost cultivate pe mediu pe bază de agar de dextroză Sabouraud SDA (Oxoid). Coloniile au fost diluate în soluție salină tamponată cu fosfat (PBS) și suspensiile au fost ajustate la aproximativ 1-5 x10⁵ UFC/ml utilizând standardul Mc Farland 0,5 și citind densitatea optică la 550 nm.

Un inoculat standard a fost preparat prin suspendarea unei singure colonii dintr-o a doua subcultură de tulpini *Candida*, pentru a obține o densitate optică similară cu standardul McFarland 0,5 (aproximativ 1-5 x10⁵ UFC/ml).

(A) Pentru calculul MIC-ului, au fost pregătite plăci de microdiluție care conțin în fiecare godeu 100 ml din fiecare soluție de ingrediente active obținute astfel cum este descris în paragraful 1.3.1 (A). Godeurile au fost apoi inoculate cu 100 ml suspensii de tulpini *Candida* obținute astfel cum s-a dezvăluit mai sus conținând 1-5 x10⁵ UFC/ml.

În fiecare godeu, densitatea finală de inoculat și concentrația finală a ingredientelor active a fost jumătate din cea utilizată (adică densitatea finală a inoculatului a fost de 0,5-2,5 x10⁵ UFC/ml, concentrația de econazol și miconazol a fost de la 50 μg/ml la 0,39 μg/ml, concentrația de clotrimazol a fost de la 6,25 μg/ml până la 0,098 μg/ml, concentrația de fluconazol a fost de la 50 μg/ml până la 3,125 μg/ml, iar concentrația de benzidamină a fost de la 0,5 mg/ml la 0,0625 mg/ml).

În calitate de control pozitiv s-au utilizat godeuri care conțin 100 μl de amfotericină B inoculată cu 100 ml din aceleași suspensii de *Candida*.

În calitate de control negativ s-au utilizat godeuri care conțin 100 μl de apă, DMSO și apă + DMSO și mediu steril fără medicamente inoculate cu 100 μl din aceleași suspensii de *Candida*.

Plăcile de microdiluție au fost incubate timp de 48 de ore la 35°C.

(B) Pentru studiile de sinergie, au fost pregătite plăci de microdiluție care conțin în fiecare godeu 50 μl din fiecare soluție de econazol și miconazol și 50 μl din fiecare soluție de benzidamină, obținute astfel cum este descris în paragraful 1.3.1(B). Apoi, sondele au fost inoculate cu 100 μl de suspensii de *Candida* 1-5 x10⁵ UFC/ml. În fiecare godeu, densitatea finală a inoculatului a fost jumătate din cea utilizată (adică 0,5-2,5 x10⁵ UFC/ml), iar concentrația finală a

ingredientelor active a fost un sfert din cea utilizată (adică, concentrația de econazol și miconazol a fost de la 25 µg/ml până la 0,098 µg/ml, concentrația de clotrimazol a fost de la 0,78 µg/ml până la 0,049 µg/ml, concentrația de fluconazol a fost de la 25 µg/ml până la 3,125 µg/ml, iar concentrația de benzidamină a fost de la 0,25 mg/ml până la 0,0625 mg/ml și 0,175 mg/ml).

- 5 Plăcile de microdiluție au fost incubate timp de 48 de ore la 35°C.

1.4 Calculul CIM-ului

Cea mai mică concentrație de medicament care a produs o inhibare completă a creșterii pentru o anumită tulpină de *Candida* a fost considerată concentrația inhibitorie minimă (CIM) pentru tulpina menționată.

- 10 Valoarea CIM-ului pentru *C. lusitaniae* ATCC® 34449 a fost obținută cu metoda de diluare a agarului descrisă în paragraful 1.2.

Valorile CIM-ului pentru *C. albicans* ATCC® MYA-427, *C. tropicalis* ATCC® 750, *C. albicans* ATCC® 10231 și *C. albicans* ATCC® MYA-574 rezistente la fluconazol au fost obținute cu metoda de diluare a bulionului prezentată în paragraful 1.3.

- 15 Valorile CIM ale nitrului de econazol, nitrului de miconazol, nitrului de clotrimazol, nitrului de fluconazol și benzidaminei pentru tulpinile de *Candida* testate sunt prezentate în Tabelul 1 care urmează mai jos.

Tabelul 1

Ingredient activ	Tulpini de <i>Candida</i>				
	<i>C. lusitaniae</i> ATCC® 34449	<i>C. albicans</i> ATCC® MYA427	<i>C. tropicalis</i> ATCC® 750	<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	<i>C. albicans</i> ATCC® MYA574 rezistentă la fluconazol
Nitrat de econazol (µg/ml)	1,56	25	12,5	25	25
Nitrat de miconazol (µg/ml)	-	2,5	6,25	6,25	50
Nitrat de clotrimazol (µg/ml)	-	-	6,25	0,025	-
Nitrat de fluconazol (µg/ml)	-	-	50	3,125	-
Benzidamină (µg/ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Amfotericină B (µg/ml)	-	-	-	0,5	-
Apă	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
DMSO	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Apă+DMSO	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Apă, DMSO și apă + DMSO utilizate în calitate de controale negative nu au arătat niciun efect inhibitor (n/a).					

- 20 1.5 Efectul sinergic

Activitatea fungicidă a combinației de benzidamină și nitrat de econazol a fost evaluată față de *C. lusitaniae* ATCC® 34449 în agar Sabouraud, cu metoda de diluție a agarului descrisă în paragraful 1.2.

- 25 Efectul sinergic al combinațiilor care conțin benzidamină și nitrat de econazol a fost evaluat prin calcularea concentrației inhibitorii fracționale (CIF), în conformitate cu Meletiadis J. et al. în Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Feb. 2010, p. 602-609.

Valorile CIF au comparat activitatea antimicotică a combinației care conține benzidamină și nitrat de econazol cu activitatea antimicotică a fiecărui ingredient activ testat singur.

- 30 Valorile CIF pentru combinațiile care conțin benzidamină și nitrat de econazol (CIF_[combinația b+e]) au fost calculate pentru fiecare tulpină *Candida* utilizând următoarea ecuație:

$$CIF_{[combinația\ b+e]} = CIF_{[b]} + CIF_{[e]}$$

în care:

- 35 CIF_[b] este concentrația inhibitorie fracțională a benzidaminei față de o tulpină specifică de *Candida*, calculată ca raportul dintre CIM-ul benzidaminei în prezența unei cantități sub-CIM de econazol (CIM_(b+e)) și CIM-ul numai a benzidaminei (CIM_(b)), după cum urmează:

$$CIF_{[b]} = \frac{CIM_{(b+e)}}{CIM_{(b)}}$$

CIF_[e] este concentrația inhibitorie fracțională a econazolului față de o tulpină specifică *Candida*, calculată ca raportul dintre CIM-ul econazolului în prezența unei cantități sub-CIM de benzidamină (CIM_(e+b)) și CIM-ul econazolului singur (CIM_(e)), după cum urmează:

- 40
$$CIF_{[e]} = \frac{CIM_{(e+b)}}{CIM_{(e)}}$$

Sinergia a fost definită ca CIF-ul mai mic de 0,5 conform Meletiadis J. et al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Feb. 2010, p. 602-609.

Tabelul 2

		concentrația benzidaminei (mg/ml)			
		0,25	0,175	0,125	0,0625
concentrația nitratului de econazol (μg/ml)	0,78	nicio creștere	nicio creștere	nicio creștere	C
	0,39	nicio creștere	nicio creștere	nicio creștere	-
	0,195	nicio creștere	nicio creștere	nicio creștere	-
	0,098	nicio creștere	C	C	-

5 În tabelul de mai sus, litera „C” indică faptul că a fost observată creșterea *C. lusitaniae* ATCC® 34449.

CIF-ul pentru combinația de benzidamină și nitrat de econazol (CIF_[combinația b+e]) a fost calculat cu ecuația dezvoltată mai sus:

$$\text{CIF}_{[b]} = 0,125/0,5 = 0,25$$

10 $\text{CIF}_{[e]} = 0,098/1,56 = 0,0628$

$$\text{CIF}_{[\text{combinația b+e}]} = 0,0628 + 0,25 = 0,3128$$

Rezultatele de mai sus au demonstrat că atunci când ingredientele active benzidamina și nitratul de econazol au fost asociate la concentrații sub-CIM, a fost observată o activitate sinergică fungicidă împotriva *C. lusitaniae* ATCC® 34449.

15 Următoarele exemple 2 până la 5 rezumă rezultatele obținute pentru alte tulpini de *Candida*.

Exemplul 2

Activitatea fungicidă a benzidaminei și a nitratului de econazol sau miconazol a fost evaluată față de *C. albicans* ATCC® MYA-427 în RPMI-1640 cu metoda de diluare a bulionului descrisă în paragraful 1.3.

20

Rezultatele sunt rezumate în Tabelul 3.

Tabelul 3

		concentrația benzidaminei (mg/ml)	
		0,125	
concentrația nitratului de econazol (μg / ml)	3,125	nicio creștere	
	1,56	nicio creștere	
	0,78	C	
concentrația nitratului de miconazol (μg / ml)	3,125	nicio creștere	
	1,56	nicio creștere	
	0,78	nicio creștere	
	0,39	C	
C = creșterea a fost observată			

25 Datele de mai sus demonstrează clar că combinația cu benzidamină a permis reducerea CIM-ului nitratului de econazol de la 25 μg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 1,56 μg/ml și a CIM-ului nitratului de miconazol de la 25 μg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 0,78 μg/ml.

Exemplul 3

Activitatea fungicidă a benzidaminei și a nitratului de econazol sau miconazol a fost evaluată față de *C. Tropicalis* ATCC® 750 în RPMI-1640, cu metoda de diluare a bulionului descrisă în paragraful 1.3.

30

Rezultatele sunt rezumate în Tabelul 4.

Tabelul 4

		concentrația benzidaminei (mg/ml)	
		0,175	
concentrația nitratului de econazol (μg / ml)	1,56	nicio creștere	
	0,78	C	
	0,39	C	
concentrația nitratului de miconazol (μg / ml)	0,78	nicio creștere	
	0,39	C	
	0,195	C	
C = creșterea a fost observată			

Datele de mai sus demonstrează clar că combinația cu benzidamină a permis reducerea CIM-ului nitrului de econazol de la 12,5 µg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 1,56 µg/ml și a CIM-ului nitrului de miconazol de la 6,25 µg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 0,78 µg/ml.

5 Exemplul 3a

Activitatea fungică a benzidaminei și a nitrului de clotrimazol sau fluconazol a fost evaluată față de *C. Tropicalis* ATCC® 750 în RPMI-1640, cu metoda de diluare a bulionului descrisă în paragraful 1.3.

Rezultatele sunt rezumate în Tabelul 4a.

10 **Tabelul 4a**

		concentrația benzidaminei (mg/ml)
		0,125
concentrația nitrului de clotrimazol (µg/ml)	0,390	nicio creștere
	0,195	nicio creștere
	0,098	nicio creștere
	0,049	C
concentrația nitrului de fluconazol (µg/ml)	25	nicio creștere
	12,5	nicio creștere
	6,25	nicio creștere
	3,13	C
C = creșterea a fost observată		

Datele de mai sus demonstrează clar că combinația cu benzidamină a permis reducerea CIM-ului nitrului de clotrimazol de la 6,25 µg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 0,098 µg/ml și a CIM-ului nitrului de fluconazol de la 50 µg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 6,25 µg/ml.

15 CIF-ul pentru combinația de benzidamină și nitr de clotrimazol ($CIF_{[combinația\ b+c]}$), calculat cu ecuația descrisă mai sus, a constituit 0,37.

CIF-ul pentru combinația de benzidamină și nitr de fluconazol ($CIF_{[combinația\ b+f]}$), calculat cu ecuația dezbătută mai sus, a constituit 0,48.

20 Exemplul 4

Activitatea fungică a benzidaminei și a nitrului de econazol sau miconazol a fost evaluată față de *C. Albicans* ATCC® 10231 în RPMI-1640, cu metoda de diluare a bulionului descrisă în paragraful 1.3.

Rezultatele sunt rezumate în Tabelul 5.

25 **Tabelul 5**

		concentrația benzidaminei (mg/ml)
		0,125
concentrația nitrului de econazol (µg / ml)	6,25	nicio creștere
	3,125	nicio creștere
	1,56	C
concentrația nitrului de miconazol (µg / ml)	3,125	nicio creștere
	1,56	nicio creștere
	0,78	C
C = creșterea a fost observată		

Datele de mai sus demonstrează clar că combinația cu benzidamină a permis reducerea CIM-ului nitrului de econazol de la 25 µg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 3,125 µg/ml și a CIM-ului nitrului de miconazol de la 6,25 µg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 1,56 µg/ml.

30 Exemplul 5

Activitatea fungică a benzidaminei și a nitrului de econazolsau miconazol a fost evaluată față de *C. Albicans* ATCC® MYA-574 rezistentă la fluconazol în RPMI-1640, cu metoda de diluare a bulionului descrisă în paragraful 1.3.

35 Rezultatele sunt rezumate în Tabelul 6.

Tabelul 6

		concentrațiile benzidaminei (mg/ml)		
		0,25	0,125	0,625
concentrația nitratului de econazol (μg/ml)	12,5	nicio creștere	nicio creștere	-
concentrația nitratului de miconazol (μg/ml)	25	nicio creștere	nicio creștere	nicio creștere
	12,5	nicio creștere	nicio creștere	-

C = creșterea a fost observată

5 Datele de mai sus arată demonstrează că combinația cu benzidamină a permis reducerea CIM-ului nitratului de econazol de la 25 μg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 12,5 μg/ml și a CIM-ului nitratului de miconazol de la 50 μg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 12,5 μg/ml.

De asemenea, CIM-ul benzidaminei a fost redus de la 0,5 mg/ml, astfel cum este prezentat în Tabelul 1, până la 0,125 mg/ml atunci când este în combinație cu econazol și până la 0,0625 mg/ml atunci când este în combinație cu miconazol.

10 Exemplul 6

Următorul Tabel 7 prezintă formularea a trei compoziții farmaceutice pentru utilizare conform prezentei invenții sub formă de cremă pentru aplicare topică. Toate valorile sunt exprimate în procente de masă în raport cu conținutul total al formulării.

Tabelul 7

		Cantitate (% m/m)		
Ingrediente		F1	F2	F3
Galat de propil		0,1	-	0,1
EDTA		0,1	-	0,1
Migliol 812		3	3	-
Ulei de parafină		-	-	3
Compritol 888 ATO		-	2	-
Gelot 64		-	12	-
Tefose 63		18	-	18
Labrafil M1944CS		-	-	3
Labrafil M2130CS		3	3	-
Clorhidrat de benzidamină	0,12	0,12	0,12	0,11
Nitrat de econazol		1	1	1
Apă q.s.		100	100	100
Migliol 812: Trigliceridă caprilică/caprică (Sasol Olefin & Surfactants GmbH, Germania)				
Compritol 888ATO: Behenat de gliceril (Gattefosse SAS, Franța)				
Gelot 64: Amestec de monostearat de glicerol și stearat PEG-75 - BHL 10 (Gattefosse SAS, Franța)				
Tefose 63: Stearat de glicol/palmitostearat PEG-6 și PEG-32 - BHL 10 (Gattefosse SAS, Franța)				
Labrafil M1944CS: Oleoil polioxil-6 gliceride - BHL 9 (Gattefosse SAS, Franța)				
Labrafil M2130CS: Lauroil macrogol-6 gliceride - BHL 9 (Gattefosse SAS, Franța)				

15 Formularea de cremă F1 a fost testată pentru evaluarea eliberării ingredientelor active după opt ore de la aplicare.

20 Experimentele cu celule de difuzie Franz au fost utilizate pentru a analiza ratele de flux transdermic in vitro ale clorhidratului de benzidamină pe o membrană a substratului. Celulele de difuzie Franz sunt o metodă comună și bine cunoscută pentru măsurarea ratelor de flux transdermic. Procedura generală a celulelor Franz este descrisă în Franz, T. J., Percutaneous absorption: on the relevance of in vitro data. J Invest Derm, 64:190-195 (1975). Următoarea a fost metodologia utilizată în prezentul exemplu.

25 S-a utilizat o membrană de celuloză regenerată cu o porozitate de 0,45 μm. Membrana a fost condiționată cu o soluție de NaCl 0,9% m/v înainte de utilizare, cu scopul de a elimina aerul din pori.

30 Zona de contact a membranei cu produsul a fost de 0,6 cm². Compartimentul receptor a fost termostatat la 37°C. Un singur gram de formulare de cremă 1 a fost aplicat pe membrana din compartimentul donator. La fiecare oră pe o perioadă de opt ore, 0,3 ml dintr-o soluție de NaCl 0,9% m/v au fost prelevate și înlocuite cu soluție proaspătă.

Probele colectate au fost analizate cu utilizarea metodei HPLC.

Rezultatele au fost raportate ca o cantitate cumulativă de ingredient activ eliberat pe unitate de suprafață în funcție de timp. Rezultatele testului sunt rezumate în următorul Tabel 8.

Tabelul 8

Tempoul (h)	Eliberarea ingredientului activ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
0	0
1	5,40
2	8,00
3	10,13
4	12,04
5	13,41
6	14,90
7	16,50
8	17,40

5

Exemplul 7

Activitatea anti-*Candida* a unei formulări de cremă pentru utilizare conform prezentei invenții care conține aceleași ingrediente ale cremei F1 din Tabelul 7 (cremă A) a fost testată în comparație cu activitatea cremei Pevaryl®, o cremă comercializată care conține 1 % de nitrat de econazol (cremă B) și placebo (cremă C).

10

Tulpina de *Candida albicans* ATCC 10231 a fost utilizată pentru a investiga proprietățile antifungice ale cremelor A până la C și, în special, pentru a confirma în continuare că prezența benzidaminei a avut efecte asupra activității fungicide a econazolului.

15

În acest scop, a fost stabilită o analiză de diluare a agarului conform Asterholm et al. (Acta Derm Venereol 2010; 90: 239-245), astfel încât formularea de cremă să poată fi testată. Din cauza necesităților tehnice, cremele au trebuit să fie diluate în agar, astfel încât concentrațiile finale ale cremei să se situeze în intervalul de la 0,03% până la 1% (m/v).

20

Astfel cum s-a raportat în Figurile 1 și 2, inspecția vizuală și analiza densitometrică a planșetelor au confirmat că prezența benzidaminei a crescut activitatea fungică a econazolului. De fapt, datele analizei densitometrice au demonstrat că o concentrație mai mică de 4 ori a cremei A a fost suficientă pentru a obține o reducere de creștere similară cu cea observată cu crema B.

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- RANI N ET AL: "Imidazoles as potential antifungal agents: A review", MINI-REVIEWS IN MEDICINAL CHEMISTRY 2013 BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS B.V. NLD, vol. 13, no. 11, 2013, pages 1626-1655, XP009183599, ISSN: 1389-5575
- US-A1- 2004 180 965
- MOODY M R ET AL: "In vitro activities of miconazole, miconazole nitrate, and ketoconazole alone and combined with rifampin against *Candida* spp. and *Torulopsis glabrata* recovered from cancer patients.", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY MAY 1980, vol. 17, no. 5, May 1980 (1980-05), pages 871-875, XP055180997, ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.17.5.871
- STELMACHOW J ET AL: "Efficacy and tolerance of benzydamine in the treatment of vaginal infections", MEDICAL SCIENCE MONITOR 1998 PL, vol. 4, no. 6, 1998, pages 1040-1042, XP009183593, ISSN: 1234-1010
- YUCESOY M ET AL: "In-vitro synergistic effect of fluconazole with nonsteroidal anti-inflammatory agents against *Candida albicans* strains", JOURNAL OF CHEMOTHERAPY, SCRIT, IT, vol. 12, no. 5, October 2000 (2000-10), pages 385-389, XP002429141, ISSN: 1120-009X
- BOSELLI F. ET AL: "Efficacy and Tolerability of Fitostimoline (Vaginal Cream, Ovules, and Vaginal Washing) and of Benzydamine Hydrochloride (Tantum Rosa Vaginal Cream and Vaginal Washing) in the Topical Treatment of Symptoms of Bacterial Vaginosis", ISRN OBSTETRICS AND GYNECOLOGY, vol. 2012, 2012, pages 1-5, XP055181404, DOI: 10.1086/503780

(57) Revendicări:

1. Compoziție farmaceutică care conține o combinație sinergică de benzidamină și un imidazol-antimicotic sau o sare a acestuia și cel puțin un excipient acceptabil farmaceutic pentru utilizare în tratamentul micozei *Candida*.

2. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, în care imidazolul-antimicotic menționat este selectat din grupul care conține bifonazol, butoconazol, clormidazol, clotrimazol, croconazol, econazol, fenticonazol, ketoconazol, izoconazol, miconazol, neticonazol, omoconazol, oxiconazol, sertaconazol, sulconazol, tioconazol sau săruri ale acestora.

3. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 2, în care imidazolul-antimicotic menționat este selectat din grupul care conține bifonazol, butoconazol, clotrimazol, econazol, fenticonazol, ketoconazol, izoconazol, miconazol, omoconazol, sertaconazol, sulconazol, tioconazol sau săruri ale acestora.

4. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 3, în care imidazolul-antimicotic menționat este selectat din grupul care conține butoconazol, econazol, fenticonazol, izoconazol, miconazol, sulconazol sau săruri ale acestora.

5. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 4, în care imidazolul-antimicotic menționat este econazol, miconazol sau o sare a acestuia.

6. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, în care micoza *Candida* menționată este cauzată de o specie *Candida* selectată din grupul care constă din *Candida Albicans*, *Candida lusitaniae*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida rugosa*, *Candida parapsilosis* și *Candida dubliniensis*.

7. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 6, în care micoza *Candida* menționată este candidoză mucoasă, candidoză cutanată, onicomicoză, candidoză sistemică, candidoză iatrogenică, candidoză de scutec, candidoză intestinală sau candida balanitis.

8. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 7, în care candidoza mucoasă menționată este orală sau vulvovaginală.

9. Compoziție farmaceutică, conform oricărei din revendicările 1-8, în care compoziția menționată este pentru utilizare topică.

10. Compoziție farmaceutică, conform oricărei din revendicările 1-9, în care compoziția menționată este sub formă de cremă, unguent, loțiune, gel, spumă, ovule, ovule cu eliberare prelungită, duș vaginal sau soluție pentru uz extern.

11. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 10, în care compoziția menționată este sub formă de cremă, unguent, loțiune, duș vaginal sau soluție pentru uz extern.

12. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 11, în care compoziția menționată este cremă sau duș vaginal.

13. Compoziție farmaceutică, conform oricărei din revendicările 1-12, în care benzidamina este prezentă într-o cantitate de la 0,001% de masă până la 1% de masă, mai preferabil de la 0,05% de masă până la 0,5% de masă și chiar mai preferabil de la 0,08% de masă până la 0,2% de masă.

14. Compoziție farmaceutică, conform oricărei din revendicările 1-12, în care imidazolul-antimicotic, sau o sare a acestuia, este prezent într-o cantitate de la 0,01% de masă până la 4% de masă, mai preferabil de la 0,1 de masă până la 2% de masă și chiar mai preferabil de la 0,5% de masă până la 1,5% de masă.

15. Compoziție farmaceutică, conform oricărei din revendicările precedente, în care compoziția farmaceutică menționată este sub formă de cremă care conține unul sau mai mulți emulsifianți cu un BHL cuprins între 6 și 9 și unul sau mai mulți emulsifianți cu un BHL care variază de la 9 până la 12.

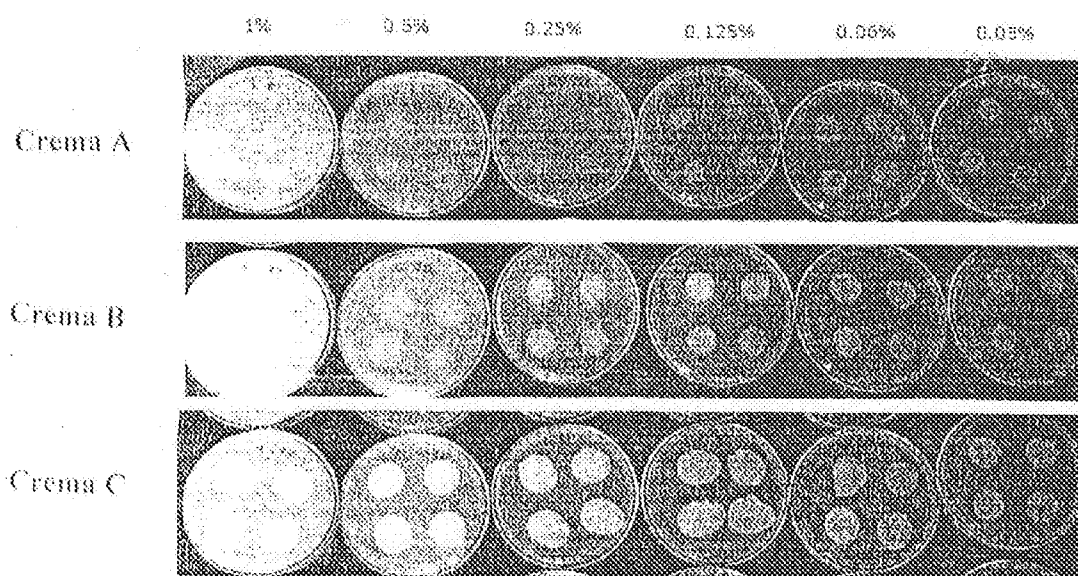


Fig. 1

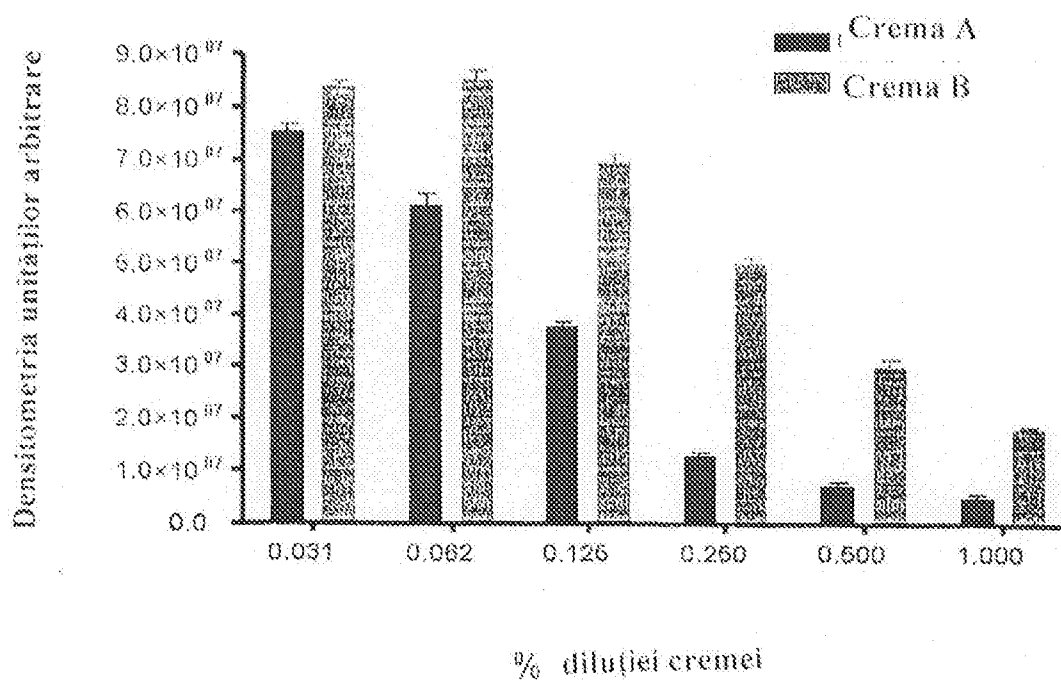


Fig. 2