

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 372 296**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/085** (2006.01)  
**A61K 31/10** (2006.01)  
**A61L 24/06** (2006.01)  
**A61P 17/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05818777 .4**  
96 Fecha de presentación: **01.11.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1807064**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.07.2007**

54 Título: **FORMULACIÓN DE MONÓMERO DE CIANOACRILATO QUE CONTIENE DIYODOMETIL-P-TOLISULFONA E HIDROXIDIFENIL ÉTER.**

30 Prioridad:  
**03.11.2004 US 980382**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**18.01.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**18.01.2012**

73 Titular/es:  
**ETHICON, INC.**  
**U.S. ROUTE 22**  
**SOMERVILLE, NEW JERSEY 08876-0151, US**

72 Inventor/es:  
**BORDOLOI, Binoy, K. y**  
**BHENDE, Shubhangi, R.**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 372 296 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Formulación de monómero de cianoacrilato que contiene diyodometil-p-tolisulfona e hidroxidifenil éter

**Antecedentes**

5 Las formulaciones polimerizables de monómero de cianoacrilato han sido divulgadas para una variedad de aplicaciones tópicas. Específicamente, dichas formulaciones han sido usadas como una alternativa o un complemento a las suturas y/o grapas quirúrgicas en cierres de heridas, formando una película polimérica sobre los bordes aproximados de una herida o una incisión. Los agentes antimicrobianos pueden ser incorporados a las formulaciones de monómero de cianoacrilato en un esfuerzo para mejorar las propiedades de barrera microbiana de la película polimérica resultante. Sin embargo, es fundamental que el agente antimicrobiano no cause una polimerización prematura de la formulación de monómero de cianoacrilato cuando es deseable que la formulación sea estable durante períodos de tiempo prolongados, para su uso en una fecha posterior, es decir, una polimerización en una fecha posterior. Además, el agente antimicrobiano no debe interferir con la polimerización cuando la formulación de monómero de cianoacrilato es aplicada, por ejemplo, a los bordes aproximados de una herida. Además, el agente antimicrobiano no debe tener ningún efecto perjudicial sobre la resistencia mecánica de la formulación de monómero de cianoacrilato. Finalmente, el agente antimicrobiano debe ser capaz de ser liberado de la película polimérica en cantidades suficientes para que el agente sea efectivo.

En este sentido, el documento US 6.214.332 describe la compatibilidad de los monómeros de cianoacrilato con varios agentes antimicrobianos, tales como polivinilpirrolidona-yodo, nitrato de plata, hexaclorofeno, merbromina, tetraciclina-HCl, hidrato de tetraciclina y eritromicina. Esta referencia indica que la polivinilpirrolidona-yodo, en forma sólida, produce una formulación de monómero de cianoacrilato que es estable durante 8 semanas, cuando es almacenada a temperatura ambiente, se polimeriza para formar una película polimérica en 30 segundos y exhibe un efecto antimicrobiano.

El documento US-A-20030007948 describe una composición adhesiva para el tratamiento de infecciones de piel por hongos. La composición comprende un monómero de cianoacrilato y un agente anti-fúngico, que puede ser 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter.

Sin embargo, muchos agentes antimicrobianos convencionales no son adecuados para su uso en formulaciones de monómero de cianoacrilato, debido a su incapacidad para satisfacer uno o más de los criterios descritos anteriormente. Por ejemplo, aunque las sales de amonio cuaternario son agentes antimicrobianos usados normalmente, también son conocidas por iniciar la polimerización de monómeros de cianoacrilato, tal como se describe en el documento US-A-20030007948 A, así como en los documentos US-A-5.928.611 y US-A-6.767.552. Por lo tanto, es deseable el uso de una sal de amonio cuaternario, como agente antimicrobiano, en una formulación de monómero de cianoacrilato cuando se requiere que la formulación sea estable durante períodos de tiempo prolongados.

El uso de diyodometil-p-tolilsulfona como un agente antimicrobiano es deseable, ya que es un agente antimicrobiano de amplio espectro. Por ejemplo, las mezclas de diyodometil-p-tolilsulfona, tales como Amical-48 (disponible en el mercado en Dow), y los polímeros adhesivos, acrílicos, de fusión en caliente, han sido indicados en el documento US 6.216.699, para su uso en paños para incisiones quirúrgicas que tienen propiedades antimicrobianas. Se ha informado que dichas mezclas indican zonas de inhibición contra diversos organismos, incluyendo *S. aureus*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. cepacia*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *S. pyogenes*, *E. faecalis* resistente a vancomicina, *C. albicans* y *B. subtilis*. Sin embargo, el uso de diyodometil-p-tolilsulfona en un polímero formado o por mezcla directa en el polímero fundido no asegura que la diyodometil-p-tolilsulfona sea adecuada para su uso con composiciones prepoliméricas, tales como las formulaciones de monómero de cianoacrilato descritas en la presente memoria.

El uso de más de un agente antimicrobiano, por ejemplo, una mezcla de agentes antimicrobianos, es deseable, frecuentemente, para conseguir un espectro de actividad antimicrobiana más amplio contra diversos organismos. Por ejemplo, un hidroxidifenil éter halogenado, tal como 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter, y conocido comúnmente como triclosán (fabricado por Ciba Specialty Chemical Corporation, bajo el nombre comercial Irgasan® DP300 o Irgacare® MP), es un agente antimicrobiano de amplio espectro y tiene un efecto antimicrobiano frente a diversos organismos, incluyendo, pero sin limitarse a, el género *Staphylococcus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* resistente a meticilina y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina .

El documento WO-A-03043421 describe composiciones acuosas para injertar compuestos antimicrobianos en superficies inanimadas. La superficie es tratada con una solución acuosa de un monómero de acrilato, uno o más agentes antimicrobianos y un iniciador de injerto, para unir químicamente los agentes antimicrobianos a la superficie. Los agentes antimicrobianos pueden comprender una mezcla de diyodometil-p-tolilsulfona y Triclosán.

Por lo tanto, es deseable tener una formulación estable de monómero de cianoacrilato, diyodometil-p-tolilsulfona y un 2-

5 hidroxí difenil éter halogenado, en la que los agentes antimicrobianos no causen una polimerización prematura de la formulación de monómero de cianoacrilato cuando es conveniente que la formulación sea estable durante periodos de tiempo prolongados, para su uso en una fecha posterior, es decir, una polimerización en una fecha posterior, que no interfiera con la polimerización cuando la formulación de monómero de cianoacrilato es aplicada, por ejemplo, a los bordes aproximados de una herida; y que tenga propiedades antimicrobianas eficaces durante hasta 72 horas.

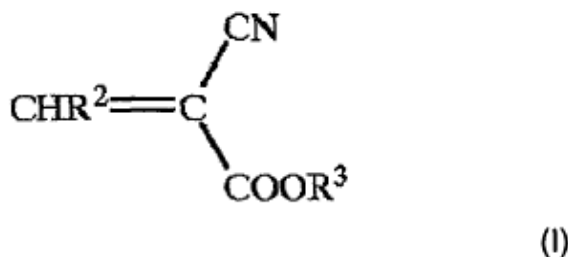
**Resumen de la invención**

10 En la presente memoria se describe una formulación antimicrobiana polimerizable que comprende cianoacrilato monomérico, diyodometil-p-tolilsulfona y un 2-hidroxi difenil éter halogenado, que puede ser usada para formar un adhesivo de cierre de herida. También se describe una formulación según la invención, en la que el 2-hidroxi difenil éter halogenado es 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter, para su uso en un procedimiento para cerrar los bordes aproximados de una herida con una película polimérica que inhibe sustancialmente el crecimiento de microorganismos, que comprende: aplicar dicha formulación a los bordes aproximados de la herida; y permitir que la formulación polimerice para formar una película polimérica.

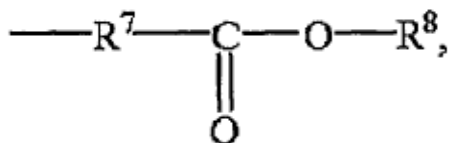
**Descripción detallada**

15 La presente invención se refiere a una formulación antimicrobiana polimerizable que comprende un monómero de cianoacrilato, diyodometil-p-tolilsulfona y un hidroxí bifenil éter halogenado, que forma una película polimérica que es capaz de funcionar como un adhesivo de cierre de herida, en el que las propiedades de barrera microbiana de la película polimérica son mejoradas mediante la incorporación de diyodometil-p-tolilsulfona y un hidroxí bifenil éter halogenado a la misma.

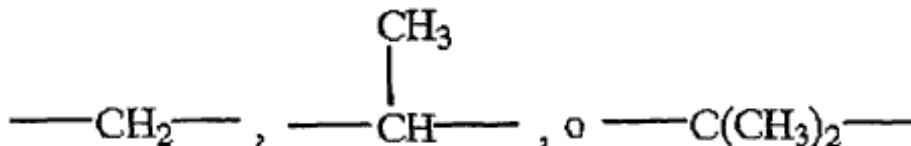
20 Los monómeros preferentes de fórmula (I), para su uso en la presente invención, son alfa-cianoacrilatos. Estos monómeros son conocidos en la técnica y tienen la fórmula



25 en la que R<sup>2</sup> es hidrógeno y R<sup>3</sup> es un grupo hidrocarbilo o hidrocarbilo sustituido; un grupo que tiene la fórmula --R<sup>4</sup>--O--R<sup>5</sup>--O--R<sup>6</sup>, en la que R<sup>4</sup> es un grupo 1,2-alquileo que tiene 2-4 átomos de carbono, R<sup>5</sup> es un grupo alquileo que tiene 2-4 átomos de carbono, y R<sup>6</sup> es un grupo alquilo que tiene 1-6 átomos de carbono, o un grupo que tiene la fórmula



35 en la que R<sup>7</sup> es



40 y R<sup>8</sup> es un radical orgánico.

Los ejemplos de grupos hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido adecuados incluyen grupos alquilo, de cadena lineal o ramificada, que tienen 1-16 átomos de carbono; grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>, de cadena lineal o cadena ramificada, sustituidos con un grupo aciloxi, un grupo haloalquilo, un grupo alcoxi, un átomo halógeno, un grupo ciano o un grupo

haloalquilo; grupos alqueniilo, de cadena lineal o cadena ramificada, que tienen de 2 a 16 átomos de carbono; grupos alquinilo, de cadena lineal o cadena ramificada, que tienen de 2 a 12 átomos de carbono; grupos cicloalquilo; grupos aralquilo; grupos alquilarilo y grupos arilo.

5 El radical orgánico  $R^8$  puede ser sustituido o no sustituido y puede ser de cadena lineal, ramificada o cíclico, saturado, insaturado o aromático. Los ejemplos de dichos radicales orgánicos incluyen radicales alquilo  $C_1-C_8$ , radicales alqueniilo  $C_2-C_8$ , radicales alquinilo  $C_2-C_8$ , radicales cicloalifáticos  $C_3-C_{12}$ , radicales arilo, tales como fenilo y fenilo sustituido y radicales aralquilo, tales como bencilo, metilbencilo y feniletilo. Otros radicales orgánicos incluyen radicales de hidrocarburos sustituidos, tales como halo (por ejemplo, hidrocarburos sustituidos con cloro, flúor y bromo) y radicales de hidrocarburos sustituidos con oxígeno (por ejemplo, hidrocarburos sustituidos con alcoxi). Los radicales orgánicos  
10 preferentes son radicales alquilo, alqueniilo y alquinilo, que tienen de 1 a 8 átomos de carbono, y sus derivados sustituidos con halo. Particularmente preferentes son los radicales alquilo de 4 a 6 átomos de carbono.

En el monómero de cianoacrilato de fórmula (I),  $R^3$  es, preferentemente, un grupo alquilo, que tiene 1-10 átomos de carbono, o un grupo que tiene la fórmula  $--AOR^9$ , en la que A es un alquileo divalente, de cadena lineal o ramificada, o un radical oxialquileno, que tiene 2-8 átomos de carbono, y  $R^9$  es un radical alquilo, de cadena lineal o ramificada, que  
15 tiene 1-8 átomos de carbono. Los ejemplos de los grupos representados por la fórmula  $--AOR^9$  incluyen 1-metoxi-2-propilo, 2-butoxi etilo, isopropoxi etilo, 2-metoxi etilo y 2-etoxi etilo.

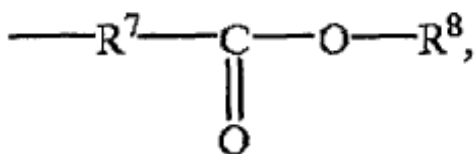
Los monómeros alfa-cianoacrilato preferentes usados en la presente invención son cianoacrilato de 2-octilo, cianoacrilato de dodecilo, cianoacrilato de 2-etilhexilo, cianoacrilato de butilo cianoacrilato de metilo, cianoacrilato de 3-metoxibutilo, cianoacrilato de 2-butoxi etilo, cianoacrilato de 2-isopropoxietilo o cianoacrilato de 1-metoxi-2-propilo.

20 Los alfa-cianoacrilatos de fórmula (I) pueden ser preparados según los procedimientos conocidos en la técnica. Se hace referencia, por ejemplo, a los documentos US .2.721.858 y 3.254.111. Por ejemplo, los alfa cianoacrilatos pueden ser preparados haciendo reaccionar un cianoacetato de alquilo con formaldehído, en un solvente orgánico no acuoso, y en presencia de un catalizador básico, seguido de pirólisis del polímero intermedio anhidro, en presencia de un inhibidor de polimerización. Los monómeros de alfa-cianoacrilato, preparados con bajo contenido de humedad y  
25 esencialmente libres de impurezas, son preferentes para uso biomédico.

Los alfa-cianoacrilatos de fórmula (I) en la que  $R^3$  es un grupo que tiene la fórmula  $--R^4--O--R^5--O--R^6$ , pueden ser preparados según el procedimiento descrito en el documento US 4.364.876 de Kimura et al. En el procedimiento de Kimura et al., los alfa-cianoacrilatos son preparados mediante la producción de un cianoacetato mediante esterificación de ácido cianoacético con un alcohol o mediante transesterificación de un cianoacetato de alquilo y un alcohol,  
30 condensando el cianoacetato y formaldehído o paraformaldehído, en presencia de un catalizador, en una proporción molar de 0,5 a 1,5:1, preferentemente de 0,8 a 1,2:1, para obtener un condensado; despolimerizando la mezcla de reacción de condensación, directamente o después de la retirada del catalizador de condensación, para producir un cianoacrilato crudo; y destilando el cianoacrilato crudo para formar un cianoacrilato de una gran pureza.

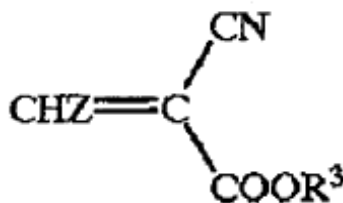
Los alfa-cianoacrilatos de fórmula (I), en la que  $R^3$  es un grupo que tiene la fórmula

35



40 pueden ser preparados según el procedimiento descrito en el documento US 3.995.641 de Kronenthal et al. En el procedimiento de Kronenthal et al., dichos monómeros de alfa-cianoacrilato son preparados haciendo reaccionar un éster de alquilo de un ácido alfa-cianoacrilico con un 1,3-dieno cíclico, para formar un aducto Diels-Alder, el cual es sometido, a continuación, a hidrólisis alcalina, seguida de acidificación, para formar el correspondiente aducto de ácido alfa-cianoacrilico. El aducto de ácido alfa-cianoacrilico es esterificado, preferentemente, por un bromoacetato de alquilo para producir el correspondiente aducto carbalkoximetil alfa-cianoacrilato. Como alternativa, el aducto ácido alfa-cianoacrilico puede ser convertido en el aducto haluro de alfa-cianoacrililo mediante una reacción con cloruro de tionilo.  
45 A continuación, el aducto de haluro de alfa-cianoacrililo se hace reaccionar con un hidroxacetato de alquilo o un hidroxacetato de alquilo sustituido con metilo, para proporcionar el correspondiente aducto carbalkoximetil alfa-cianoacrilato o aducto carbalkoxi alquil alfa-cianoacrilato, respectivamente. El grupo de bloqueo 1,3-dieno cíclico es eliminado finalmente y el aducto carbalkoxi metil alfa-cianoacrilato o el aducto carbalkoxi alquil alfa-cianoacrilato es  
50 convertido en el aducto carbalkoxi alquil alfa-cianoacrilato, calentando el aducto en presencia de un ligero déficit de anhídrido maleico.

Los ejemplos de monómeros de fórmula (I) incluyen cianopentadienoatos y alfa-cianoacrilatos de la fórmula:



(II)

5

10 en la que Z es  $-\text{CH}-\text{CH}_2$  o  $-\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2$ , y  $\text{R}^3$  es tal como se ha definido anteriormente. Los monómeros de fórmula (II), en la que  $\text{R}^3$  es un grupo alquilo de 1-10 átomos de carbono, es decir, los ésteres de ácido 2-cianopenta-2,4-dienoico, pueden ser preparados haciendo reaccionar un 2-cianoacetato apropiado con acroleína, en presencia de un catalizador, tal como cloruro de zinc.

Según la presente invención, los componentes de la formulación de monómero de cianoacrilato incluyen estabilizadores de radicales libres, estabilizadores aniónicos, plastificantes, espesantes, etc. Los detalles se describen en los documentos US 5.981.621 y US 6.433.096.

15 La formulación de monómero de cianoacrilato puede incluir también, opcionalmente, al menos un agente plastificante que imparte flexibilidad a la película polimérica formada a partir del monómero. El agente plastificante contiene, preferentemente, poco o nada de humedad y no debería afectar considerable a la estabilidad de la polimerización del monómero. Dichos plastificantes son útiles para cerrar o cubrir heridas, incisiones, abrasiones, llagas u otras aplicaciones en las que la flexibilidad del adhesivo es deseable.

20 Los ejemplos de plastificantes adecuados incluyen citrato de tributilo, citrato de acetil tributilo, sebacato de dimetilo, fosfato de trietilo, fosfato de tri(2-etilhexilo), fosfato de tri(p-cresilo), triacetato de glicerilo, tributirato de glicerilo, sebacato de dietilo, adipato de dioctilo, miristato de isopropilo, estearato de butilo, ácido láurico, trimelitato de trioctilo, glutarato de dioctilo y sus mezclas. Los plastificantes preferentes son citrato de tributilo y citrato de acetil tributilo.

25 La adición de agentes plastificantes en cantidades en el intervalo de aproximadamente el 0,5% en peso a aproximadamente el 25% en peso, o de aproximadamente el 1% en peso a aproximadamente el 20% en peso. %, o de aproximadamente el 3% en peso a aproximadamente el 15% en peso, o de aproximadamente el 5% en peso a aproximadamente el 7% en peso, proporciona una elongación y una resistencia incrementadas de la película polimérica con relación a una película polimérica que no tiene agentes plastificantes.

30 Los agentes espesantes pueden ser seleccionados de entre espesantes conocidos, incluyendo poli(metacrilato de 2-etilhexilo), poli(acrilato de 2-etilhexilo) y acetato butirato de celulosa. Los agentes espesantes adecuados incluyen, por ejemplo, policianoacrilatos, polioxalatos, copolímeros de ácido láctico y glicólico, policaprolactona, copolímeros de ácido láctico-caprolactona, poli(caprolactona+DL-láctico+glicólico), poliortoésteres polialquil acrilatos, copolímeros de acetato de vinilo y alquilacrilato, metacrilatos polialquilo y copolímeros de metacrilatos de alquilo y butadieno. Los ejemplos de metacrilatos y acrilatos de alquilo son poli(metacrilato de butilo) y poli(acrilato de butilo), también copolímeros de varios monómeros de acrilato y metacrilato, tales como poli(metacrilato de butilo-co-metacrilato de metilo). Los espesantes poliméricos biodegradables son preferentes para algunos usos, tales como algunos usos quirúrgicos. Preferentemente, el agente espesante es soluble en una formulación de monómero de cianoacrilato a temperatura ambiente (es decir, 20-25°C.), de manera que pueda ser añadido a la formulación de monómero de cianoacrilato sin un calentamiento excesivo de la formulación de monómero de cianoacrilato, y permanece combinado, de manera uniforme, en la formulación de monómero de cianoacrilato.

35 La cantidad de agente espesante que se añade a la formulación de monómero de cianoacrilato depende del peso molecular del agente espesante. El agente espesante comprende, preferentemente, aproximadamente 0,5-25,0% en peso de la formulación de monómero de cianoacrilato. En realizaciones preferentes, el agente espesante comprende aproximadamente del 1,0 al 10,0%, más preferentemente, del 1,0 al 5,0% de la formulación de monómero de cianoacrilato. En realizaciones, el agente espesante tiene un peso molecular alto, preferentemente, de al menos 100.000 o al menos 500.000 o al menos 1.000.000. El agente espesante es seleccionado de manera que sea compatible con el monómero (es decir, no afecte negativamente a la polimerización, resistencia de unión o estabilidad). La cantidad de agente espesante a usar puede ser determinada por una persona con conocimientos ordinarios en la técnica, usando técnicas conocidas, sin excesiva experimentación.

50 En realizaciones, la formulación de monómero de cianoacrilato tiene una viscosidad de 5-500 mPas, preferentemente, 30-400 mPas, medida con un viscosímetro Brookfield a 25°C.

- 5 La formulación de monómero de cianoacrilato puede incluir también, opcionalmente, al menos un estabilizador aniónico de fase de vapor y al menos un estabilizador aniónico de fase líquida. Estos agentes estabilizadores inhiben una polimerización prematura. Dichos agentes estabilizadores pueden incluir también mezclas de agentes estabilizadores aniónicos y agentes estabilizadores de radicales. Cualquier mezcla de estabilizadores está incluida, con la condición de que la mezcla no inhiba la polimerización del monómero tras entrar en contacto con un iniciador y sea compatible con el espesante seleccionado.
- Los ejemplos de agentes estabilizadores de radicales incluyen hidroquinona, éter monometílico de la hidroquinona, catecol, pirogalol, benzoquinona, 2-hidroxibenzoquinona, p-metoxi fenol, t-butil catecol, hidroxí-anisol butilado, hidroxí tolueno butilado y t-butil hidroquinona.
- 10 Los estabilizadores aniónicos de fase de vapor pueden ser seleccionados de entre estabilizadores conocidos, incluyendo dióxido de azufre, trifluoruro de boro y fluoruro de hidrógeno. La cantidad de estabilizador aniónico de fase de vapor que es añadida a la formulación de monómero de cianoacrilato depende de la identidad del estabilizador o estabilizadores de fase líquida elegidos en combinación con el mismo, el monómero a estabilizar, así como el material de envasado a usar para la formulación de monómero de cianoacrilato. Preferentemente, cada estabilizador aniónico de fase de vapor es añadido para proporcionar una concentración de menos de 200 partes por millón (ppm). En realizaciones preferentes, cada estabilizador aniónico de fase de vapor está presente aproximadamente de 1 a 200 ppm, más preferentemente, aproximadamente de 10 a 75 ppm, incluso más preferentemente, aproximadamente de 10 a 50 ppm, y más preferentemente, de 10 a 20 ppm. La cantidad a usar puede ser determinada por una persona con conocimientos en la técnica, usando técnicas conocidas, sin excesiva experimentación.
- 20 En realizaciones, la fase de vapor comprende, entre otras cosas, un estabilizador aniónico, que es dióxido de azufre. En realizaciones, la fase de vapor comprende, entre otras cosas, un estabilizador, que es el trifluoruro de boro o fluoruro de hidrógeno. Una combinación de dióxido de azufre y trifluoruro de boro o fluoruro de hidrógeno es preferente en algunas realizaciones.
- 25 En realizaciones, el estabilizador aniónico de fase líquida es un ácido muy fuerte. Tal como se usa en la presente memoria, un ácido muy fuerte es un ácido que tiene un pKa acuoso inferior a 1,0. Los agentes estabilizadores ácidos muy fuertes, adecuados, incluyen ácidos minerales y/u oxigenados muy fuertes. Los ejemplos de dichos ácidos muy fuertes incluyen ácido sulfúrico (pKa -3,0 a -5,2) y ácido perclórico (pKa -5,0). En realizaciones, el estabilizador aniónico de fase líquida, ácido muy fuerte, es añadido para proporcionar una concentración final de 1 a 200 ppm. Preferentemente, el estabilizador aniónico de fase líquida, ácido muy fuerte, está presente en una concentración de aproximadamente 5 a 80 ppm, más preferentemente, de 10 a 40 ppm. La cantidad de estabilizador aniónico de fase líquida, ácido muy fuerte, a usar puede ser determinada por una persona con conocimientos en la materia, sin excesiva experimentación. Preferentemente, el estabilizador aniónico de fase líquida, ácido muy fuerte, es ácido sulfúrico, ácido perclórico o ácido clorosulfónico. Más preferentemente, el estabilizador aniónico de fase líquida, ácido muy fuerte, es ácido sulfúrico.
- 30 En realizaciones, se usa dióxido de azufre como estabilizador aniónico de fase de vapor y se usa ácido sulfúrico como estabilizador aniónico de fase líquida. Las combinaciones de al menos un estabilizador de fase de vapor y al menos un estabilizador aniónico de fase líquida son preferentes. Por ejemplo, pueden usarse combinaciones de dióxido de azufre y ácido sulfúrico, dióxido de azufre y ácido perclórico, dióxido de azufre y ácido clorosulfónico, trifluoruro de boro y ácido sulfúrico, trifluoruro de boro y ácido perclórico, trifluoruro de boro y ácido clorosulfónico, trifluoruro de boro y ácido metanosulfónico, fluoruro de hidrógeno y ácido sulfúrico, fluoruro de hidrógeno y ácido perclórico, fluoruro de hidrógeno y ácido clorosulfónico y fluoruro de hidrógeno y ácido metanosulfónico. Puede usarse, entre otras combinaciones, una combinación de trifluoruro de boro, dióxido de azufre y ácido sulfúrico. Los dos tipos de estabilizadores aniónicos son elegidos en conjunción, de manera que los estabilizadores son compatibles con la formulación de monómero de cianoacrilato adhesivo elegido y cada estabilizador, así como con el material de envasado y el equipo usado para fabricar y envasar la formulación de monómero de cianoacrilato. En otras palabras, la combinación de estabilizador o estabilizadores de fase de vapor, estabilizador o estabilizadores de fase líquida y monómero debería ser tal que una formulación de monómero de cianoacrilato adhesivo, estabilizada, sustancialmente no polimerizada, esté presente después del envasado.
- 35 La formulación de monómero de cianoacrilato puede incluir también, opcionalmente, al menos otro agente estabilizador aniónico que inhibe la polimerización prematura. Estos agentes se denominan, en la presente memoria, agentes aniónicos activos secundarios para diferenciarlos de los estabilizadores aniónicos, de fase líquida, fuertes o muy fuertes, denominados, en la presente memoria, estabilizadores aniónicos "principales". Los agentes aniónicos activos secundarios pueden ser incluidos en la formulación de monómero de cianoacrilato para ajustar su velocidad de curado.
- 50 El agente aniónico activo secundario sería, normalmente, un ácido con un pKa más alto que el agente estabilizador aniónico principal y puede ser proporcionado para controlar, de manera más precisa, la velocidad de curado y la estabilidad del adhesivo, así como el peso molecular del adhesivo curado. Cualquier mezcla de estabilizadores aniónicos principales y agentes activos secundarios está incluida, con la condición de que la química de la formulación
- 55

de monómero de cianoacrilato no se vea comprometida y que la mezcla no inhiba considerablemente la polimerización deseada de la formulación de monómero de cianoacrilato. Además, la mezcla no debería mostrar, en una formulación médica de monómero de cianoacrilato, niveles inaceptables de toxicidad.

5 Los agentes aniónicos secundarios adecuados incluyen aquellos que tienen constantes de ionización pKa acuosa en el intervalo de 2 a 8, preferentemente de 2 a 6 y, más preferentemente, de 2 a 5. Los ejemplos de dichos agentes estabilizadores aniónicos secundarios adecuados incluyen ácido fosfórico (pKa 2,2), ácidos orgánicos, tales como ácido acético (pKa 4,8), ácido benzoico (pKa 4,2), ácido cloroacético (pKa 2,9), ácido cianoacético y sus mezclas. Preferentemente, estos agentes estabilizadores aniónicos secundarios son ácidos orgánicos, tales como ácido acético o ácido benzoico. En realizaciones, la cantidad de ácido acético y/o ácido benzoico es aproximadamente de 25-500 ppm. La concentración de ácido acético es, típicamente, de 50-400 ppm, preferentemente, de 75-300 y, más preferentemente, de 100-200 ppm. Cuando se usa un ácido más fuerte, tal como ácido fosfórico, puede usarse una concentración de 20-100 ppm, preferentemente, de 30 a 80 y, más preferentemente, de 40 a 60 ppm.

15 Tal como se ha indicado anteriormente, se ha informado que la diiodometil-p-tolilsulfona indica zonas de inhibición contra diversos organismos, incluyendo *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. cepacia*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *S. pyogenes*, *E. faecalis* resistente a vancomicina, *C. albicans* y *B. subtilis*, mientras que el 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter tiene un efecto antimicrobiano contra el género *Staphylococcus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* resistente a meticilina y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Por lo tanto, la mezcla de estos dos agentes antimicrobianos produce un espectro más amplio de actividad antimicrobiana que cualquiera de los agentes antimicrobianos por separado.

20 Además, se ha demostrado que el uso de diiodometil-ptolilsulfona y un hidroxil difenil éter halogenado en una formulación de monómero de cianoacrilato produce una actividad antimicrobiana inesperadamente superior en comparación con la actividad antimicrobiana de cada agente por separado, sin un efecto negativo considerable sobre la propiedad física de la formulación de monómero de cianoacrilato

25 La diiodometil-p-tolilsulfona (DIMPTS) es soluble en el monómero de cianoacrilato, al menos hasta 15.000 ppm (1,5%), mientras que un hidroxil difenil éter halogenado, tal como 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter es soluble al menos hasta 15.000 ppm (1,5%). Consiguientemente, las formulaciones en la presente memoria pueden tener una concentración de diiodometil-p-tolilsulfona en el intervalo aproximadamente de 500 (0,05%) a 10.000 ppm (1,00%), preferentemente de 700 (0,07%) a 7.000 ppm (0,70%), y una concentración de un hidroxil difenil éter halogenado en el intervalo de 500 (0,05%) a 10.000 ppm (1%), preferentemente de 700 (0,07%) a 7.000 ppm (0,70%), más preferentemente, la concentración de diiodometil-p-tolilsulfona es de aproximadamente 2.800 ppm (0,28%) y la concentración de un hidroxil difenil éter halogenado es aproximadamente de 2.800 ppm (0,28%).

35 La formulación de monómero de cianoacrilato puede ser envasada en cualquier tipo de recipiente adecuado fabricado de materiales, incluyendo envases de vidrio, plástico, envases de metal y envases formados con película. Los recipientes adecuados son aquellos en cuyo interior la formulación de monómero de cianoacrilato puede ser dispensada y esterilizada sin daños inaceptables a, o degradación del recipiente o de los componentes de la formulación de monómero de cianoacrilato. El vidrio es especialmente preferente cuando la esterilización se consigue con calor seco, debido a la falta de estabilidad de muchos plásticos a las temperaturas usadas para la esterilización por calor seco (típicamente, al menos 160°C). Los ejemplos de los tipos de envases incluyen ampollas, viales, jeringas, pipetas, etc. En una realización preferente, el recipiente comprende un recipiente sellable.

40 Para aplicaciones biomédicas, la formulación de monómero de cianoacrilato según la invención puede estar esterilizada. La esterilización se puede realizar mediante técnicas conocidas por las personas con conocimientos en la materia, y se realiza, preferentemente, mediante procedimientos que incluyen procedimientos químicos, físicos y de irradiación. Los ejemplos de procedimientos químicos incluyen la exposición a vapor de peróxido de hidrógeno u óxido de etileno. Los ejemplos de procedimientos físicos incluyen la esterilización por calor (seco o húmedo). Los ejemplos de procedimientos de irradiación incluyen radiación gamma, radiación con haz de electrones e irradiación de microondas. Los procedimientos preferentes son la esterilización por calor seco y húmedo y la esterilización por haz de electrones. En realizaciones en las que se usará una formulación de monómero de cianoacrilato para aplicaciones médicas, la formulación de monómero de cianoacrilato esterilizada debe exhibir bajos niveles de toxicidad para los tejidos vivos durante su vida útil.

50 Durante el uso, la formulación de monómero de cianoacrilato que contiene diiodometil-p-tolilsulfona e hidroxil difenil éter halogenado puede formar una película biocompatible a través de superficies de tejido colindantes en las etapas siguientes: (a) manteniendo juntas al menos dos superficies de tejido para formar superficies de tejidos colindantes, (b) aplicando a través de las superficies de tejido colindantes una formulación de monómero de cianoacrilato biocompatible adhesiva, y (c) dejar que la formulación de monómero de cianoacrilato polimerice y forme una película biocompatible sobre las superficies de tejido colindantes.

55 Cuando la formulación de monómero de cianoacrilato es curada en una película sobre una incisión sobre un sustrato

de látex, la resistencia mecánica de la construcción formada con la película y el sustrato de látex puede ser ensayada mediante un procedimiento de ensayo de reventamiento, tal como se describe a continuación. La película polimérica tiene, preferentemente, una resistencia a reventamiento en el intervalo desde al menos 34,47 a 137,88 kPa y, más preferentemente, al menos de 68,94 a 137,88 kPa.

5 **Ejemplos**

La invención se ilustra adicionalmente mediante los ejemplos siguientes. Los ejemplos siguientes demuestran que una formulación estabilizada de cianoacrilato de 2-octilo, disponible comercialmente (comercializada como adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup> por Ethicon, Inc., Somerville, NJ), que incluye una cantidad suficiente de diyodometil-p-tolilsulfona o 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter o una formulación mezclada de diyodometil-p-tolilsulfona y 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter, es estable después de una esterilización por calor y/o un envejecimiento por calor durante períodos de tiempo prolongados. Las formulaciones de monómero esterilizadas o envejecidas por calor pueden ser polimerizadas bajo condiciones apropiadas, produciendo una película polimérica que exhibe actividad antimicrobiana, en un desafío antimicrobiano estándar.

**Ejemplo 1**

15 Nueve ampollas de silicato de boro, lavadas con ácido y secadas en horno (USP-1) fueron cargadas con diferentes concentraciones de diyodometil-p-tolilsulfona (DIMPTS) en 2-octilcianoacrilato.

20 Se colocaron 1,5028 g de adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup> y 0,0012 g de diyodometil-p-tolilsulfona sólida en una ampolla. La ampolla fue agitada suficientemente para disolver la diyodometil-p-tolilsulfona en el 2-octilcianoacrilato. Se colocaron 0,4966 g de la solución resultante en la ampolla n° 1; se colocaron 0,4760 g de la solución en la ampolla n° 2, y la ampolla original, ampolla n° 3, se dejó con 0,5302 g.

Se colocaron 1,5090 g de adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup> y 0,0025 g de diyodometil-p-tolilsulfona sólida en una ampolla. La ampolla fue agitada suficientemente para disolver la diyodometil-p-tolilsulfona en el 2-octilcianoacrilato. Se colocaron 0,5103 g de la solución resultante en la ampolla n° 4; se colocaron 0,4991 g de la solución en la ampolla n° 5; y la ampolla original, ampolla n° 6, se dejó con 0,4996 g.

25 Se colocaron 1,5134 g de adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup> y 0,0046 g de diyodometil-p-tolilsulfona sólida en una ampolla. La ampolla fue agitada suficientemente para disolver la diyodometil-p-tolilsulfona en el 2-octilcianoacrilato. Se colocaron 0,5100 g de la solución resultante en la ampolla n° 7; se colocaron 0,4978 g de la solución en la ampolla n° 8; y la ampolla original, ampolla n° 9, se dejó con 0,5056 g.

30 Las ampollas n° 1, n° 4 y n° 7 fueron expuestas a calor seco durante 65 minutos, a 160°C. Las ampollas n° 2, n° 5 y n° 8 fueron expuestas a irradiación gamma a 15 kGy. Las ampollas n° 3, n° 6 y n° 9 fueron expuestas a irradiación gamma a 20 kGy.

Tabla I

| Nº de muestra | Conc. DIMPTC (ppm) en 2-OCA | Procedimiento de esterilización | Observaciones                        |
|---------------|-----------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| 1             | 700                         | Calor @ 160°C/65 min            | Ampolla incolora                     |
| 2             | 700                         | Gamma @ 15 kGy                  | Ampolla de vidrio ligeramente marrón |
| 3             | 700                         | Gamma @ 29 kGy                  | Ampolla de vidrio ligeramente marrón |
| 4             | 1.400                       | Calor @ 160°C/65 min            | Ampolla incolora                     |
| 5             | 1.400                       | Gamma @ 15 kGy                  | Ampolla de vidrio ligeramente marrón |
| 6             | 1.400                       | Gamma @ 20 kGy                  | Ampolla de vidrio ligeramente marrón |



(Cont.)

|   |       |                   |                                      |
|---|-------|-------------------|--------------------------------------|
| 7 | 2.800 | Calor @ 160°C/min | Ampolla incolora                     |
| 8 | 2.800 | Gamma @ 15kGy     | Ampolla de vidrio ligeramente marrón |
| 9 | 2.800 | Gamma @ 20 kGy    | Ampolla de vidrio ligeramente marrón |

5 Después de una exposición al calor @ 160°C durante 65 min, la ampolla nº 1 estaba notablemente turbia. Tras una inspección 18 horas después, el contenido de la ampolla nº 1 era todavía una solución turbia, algo más viscosa que anteriormente, pero todavía podía fluir. Tras una inspección 84 horas después, el contenido de la ampolla nº 1 era turbio, y bastante viscoso, posiblemente solidificado.

La ampolla nº 4 era sustancialmente transparente después de la exposición al calor, pero se volvió de un color gris en lugar del color púrpura original del adhesivo tópico para la piel Dermabond®. La ampolla nº 7 no tenía ningún cambio aparente después de la exposición al calor.

10 Las ampollas nº 2, nº 3, nº 5, nº 6, nº 8 y nº 9 exhibieron un cambio de color de vidrio típico de los cambios inducidos en vidrio de boro silicato por la irradiación gamma. A pesar de esta alteración del color de la ampolla de vidrio, no había una decoloración aparente de las formulaciones de estas ampollas al día siguiente de la esterilización. Los resultados de los ensayos de las muestras indicadas en el Ejemplo 1 y en la Tabla I, se muestran en el Ejemplo 2 y la Tabla II(B).

### Ejemplo 2

15 La eficacia antimicrobiana de las formulaciones (que contienen diyodometil-p-tolilsulfona), descritas en la presente memoria fue ensayada contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 51625 (resistente a meticilina), *Enterococcus faecium* ATCC 700 221 (resistente a vancomicina), *Escherichia coli* ATCC 8739 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Candida albicans* ATCC 10231. Los cultivos de los organismos de desafío fueron cultivados en 20 ml de caldo tripticasa de soja estéril (TSB) durante 16-24 horas a 35-37°C.

20 Se usaron placas de agar de tripticasa de soja (TSA) para el ensayo. Una solución salina al 0,85% fue utilizada para las diluciones. Todos los medios fueron esterilizados con vapor previamente a su uso. Las placas de agar fueron preparadas vertiendo aproximadamente 20 ml de medio fundido en placas de petri estériles desechables (100 x 15 mm). Las placas de agar se dejaron solidificar bajo una campana de flujo laminar.

25 Los cultivos de una noche fueron sometidos a agitación vorticial y se preparó una dilución 1:100 para obtener un mínimo de 10<sup>4</sup> unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. El inóculo diluido fue extendido sobre la superficie de la placa de agar usando hisopos de algodón estériles. Se tuvo cuidado de cubrir uniformemente toda la superficie del agar. Las placas se dejaron secar al aire durante 30 minutos.

30 Veinte microlitros de una muestra de ensayo fueron añadidos al centro de una placa inoculada. Dos gotas de muestra de control fueron expresadas en placas TSA separadas. Las gotas de muestra de ensayo no fueron extendidas manualmente y se dejaron polimerizar sobre las placas para formar una película fina. Las placas fueron incubadas a 35-37°C durante 24 horas. Las placas fueron examinadas para las zonas de inhibición resultantes de la difusión de los agentes activos fuera del producto y al interior del medio de agar. La zona de inhibición fue medida en milímetros (mm) desde el borde de la película hasta el borde donde termina la zona libre. La eficacia antimicrobiana de la composición se describe en términos de zona de inhibición en la Tabla II (B).

35 La efectividad de la propiedad antimicrobiana de DIMPTS pura se describe en términos de concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) en la Tabla II (A). Una concentración mínima inhibitoria es la menor concentración que previene el desarrollo de crecimiento visible después de un período de incubación. La concentración mínima bactericida es la menor concentración que alcanza una reducción de 1.000 veces o más en el inóculo bacteriano original. La concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida son evaluadas usando un procedimiento de tubo de dilución.

40

Tabla II (A) Evaluación preliminar de DIMPTS para concentraciones mínimas inhibitorias y concentraciones mínimas bactericidas (CMI/CMB)

| Organismo                               | DIMPTS (ppm) |         |
|---|--------------|---------|
|   | CMI          | CMB     |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 6538       | 100          | <250    |
| <i>Escherichia coli</i> 8739            | 100          | <250    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027      | >100         | NA      |
| <i>Enterococcus faecium</i> 700221      | 50           | NA      |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 33591      | 12,5         | <250    |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 51625 | 25           | <100    |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> 624     | 50           | 125-250 |
| <i>Bacillus subtilis</i> 902173         | 50           | 50-100  |
| <i>Candida albicans</i> 10231           | 5            | 10-100  |

5 La Tabla II (B) muestra datos de estabilidad (%mol de monómero) de la formulación de monómero de cianoacrilato, determinados mediante RMN, y de eficacia antimicrobiana, determinada por los datos de las zonas de inhibición, para las muestras indicadas en la Tabla I. La zona de ensayo de inhibición es un ensayo microbiológico usado normalmente para evaluar el efecto antimicrobiano de un agente difusible contra las cepas microbianas de interés. Conforme el agente se difunde fuera del disco, la concentración se reduce logarítmicamente. La sensibilidad del organismo al agente se juzga por la apariencia y el tamaño de una zona en la que no se produce crecimiento, la zona de inhibición.

10 Las zonas sin crecimiento alrededor del material representan la zona de inhibición, es decir, la concentración de agente antimicrobiano es mayor que la concentración mínima inhibitoria (CMI) para el organismo de desafío particular. El área libre alrededor de la materia indica que los organismos de desafío fueron eliminados o inhibidos por el agente difusible.

Tabla II (B)

| Organismo de desafío                     | Estabilidad (calor y gamma) y diámetro promedio de zona (mm) sobre placa TSA |  |  |  |  |  |  |  |  |  |                   |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|-------------------|
|  | Tipo de organismo  | DERMABON control                         | 700 ppm, calor                           | 1.400 ppm, calor                         | 2.800 ppm, calor                       | 700 ppm, 15 kGy                        | 1.400 ppm, 15 kGy                        | 2.800 ppm, 15 kGy                        | 700 ppm, 20kGy                           | 1.400 ppm, 20 kGy                        | 2.800 ppm, 20 kGy |
| Observación; estabilidad (% de monómero) | Descripción de muestra   |  |  |  |  |  |  |  |  |  |                   |
|  | viscosidad normal, púrpura; claro; 95,3%                                     | viscosidad normal, púrpura; claro; 85,3% | viscosidad normal, púrpura; claro; 90,9% | viscosidad normal, púrpura; claro; 93,1% | viscosidad normal, púrpura; claro; *** | viscosidad normal, púrpura; claro; 76% | viscosidad normal, púrpura; claro; 82,3% | viscosidad normal, púrpura; claro; 48,3% | viscosidad normal, púrpura; claro; 76,6% | viscosidad normal, púrpura; claro; 80,4% |                   |
| <i>S. aureus</i>                         | 2  | 4  | 5  | 4  | 7                                      | 6                                      | 5  | 7  | 7  | 6  |                   |
| <i>S. epidermis</i> MRSE                 | 7  | 5  | 5  | 5*                                       | 9*                                     | 7                                      | 8  | 8  | 8*                                       | 9*                                       |                   |
| <i>E. faecium</i> VRE                    | **   | 4*                                       | 4*                                       | 4*                                       | 5                                      | 6                                      | 6*                                       | 6  | 7  | 4*                                       |                   |
| <i>E. coli</i>                           | 0  | 0  | 0  | 0  | 1                                      | 1                                      | 1  | 1,5                                      | 1  | 1,5                                      |                   |
| <i>P. aeruginosa</i>                     | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                                      | 0                                      | 0  | 0  | 0  | 0  |                   |
| <i>C. albicans</i>                       | 0  | 2  | 1  | 5  | 2                                      | 4                                      | 5  | 2  | 4  | 9  |                   |

Nota:

- \* 1 ó 2 colonias observadas dentro de la zona clara
- \*\* Bajo crecimiento aproximadamente 2 mm alrededor de la muestra
- \*\*\* Muestra filtrada, el ensayo no se realizó

La formulación que contiene diyodometil-p-tolilsulfona mostró una actividad sustancialmente incrementada contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium* y *Candida albicans*, en comparación con el control. La actividad contra *Candida albicans* incrementa considerablemente con un incremento de la concentración de diyodometil-p-tolilsulfona. Las muestras esterilizadas por radiación de la formulación que contiene diyodometil-p-tolilsulfona mostraron una actividad incrementada contra *E. coli*, en comparación con el control. Las formulaciones esterilizadas mediante calor que contenían diyodometil-p-tolilsulfona a una mayor concentración no mostraron actividad contra *E. coli*. Las formulaciones que contenían diyodometil-p-tolilsulfona no mostraron una zona de inhibición alrededor de las muestras de película de ensayo cuando fueron desafiadas con *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, no se observó crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* bajo la zona de muestra de la película de ensayo.

### 10 Ejemplo 3

La tabla III expone muestras adicionales (10 a 15) preparadas y expuestas a diversas condiciones, de manera similar a las del Ejemplo 1 y la Tabla I. Las viscosidades indicadas fueron determinadas en un viscosímetro Brookfield (Modelo n° DV2 Plus; husillo n° 40, 100 RPM de velocidad, a 25°C.). El porcentaje de monómero fue determinado mediante RMN (400 MHz) en solución CDCl<sub>3</sub>.

15

Tabla III

| Nº de muestra | Concentración de DIMPTS (ppm) en adhesivo tópico para la piel DERMABOND® | Procedimiento de esterilización (Calor o Gamma) | Observaciones visuales                                      | %mol de monómero (mediante RMN) (n=1) | Viscosidad (CPS) (n=1) |
|---------------|--|---|---|---------------------------------------|------------------------|
| Control A     | adhesivo tópico para la piel DERMABOND® en vial original                 | Ninguno   | Líquido púrpura/baja viscosidad                             | 95,5                                  | 6,8                    |
| Control B     | adhesivo tópico para la piel DERMABOND® en vial original+no DIMPTS       | Calor @ 160°C durante 65 min                    | Vidrio inalterado, líquido amarillo, baja viscosidad        | 78,1%                                 |                        |
| Control C     | adhesivo tópico para la piel DERMABOND® en vial original+no DIMPTS       | Gamma @ 20 kGy                                  | Vidrio ligeramente marrón, líquido púrpura, baja viscosidad | 91,0%                                 |                        |
| 10            | DIMPTS (870 ppm) en adhesivo tópico para la piel DERMABOND®              | Calor @ 160°C durante 65 min                    | Vidrio inalterado, líquido púrpura, baja viscosidad         | 88,4%                                 |                        |
| 11            | DIMPTS (870 ppm) en adhesivo tópico para la piel DERMABOND®              | Gamma @ 20 kGy                                  | Vidrio ligeramente marrón, líquido púrpura, baja viscosidad | 85,2%                                 |                        |
| 12            | DIMPTS (1350 ppm) en adhesivo tópico para la piel DERMABOND®             | Calor @ 160°C durante 65 min                    | Vidrio inalterado, líquido amarillo, baja viscosidad        | 80,2%                                 |                        |

(Cont.)

|    |  |                              |   |       |      |
|----|--|------------------------------|---|-------|------|
| 13 | DIMPTS (1350 ppm) en adhesivo tópico para la piel DERMABOND® | Gamma @ 20 kGy               | Vidrio ligeramente marrón, líquido púrpura, baja viscosidad | 83,4% | 20,4 |
| 14 | DIMPTS (2832 ppm) en adhesivo tópico para la piel DERMABOND® | Calor @ 160°C durante 65 min | Vidrio inalterado, líquido púrpura, baja viscosidad         | 90.8% | 9,6  |
| 15 | DIMPTS (5477 ppm) en adhesivo tópico para la piel DERMABOND® | Calor @ 160°C durante 65 min | Vidrio inalterado, líquido púrpura, baja viscosidad         | 86,0% |      |

La Tabla III indica que el porcentaje de monómero y la viscosidad de las formulaciones de monómero incorporadas con diyodometil-p-tolilsulfona (DIMPTS) eran consistentes con el material de control.

#### 5 Ejemplo 4

Se evaluaron muestras de la formulación de monómero de cianoacrilato fabricadas mediante la incorporación de 2.793 ppm de DIMPTS en adhesivo tópico para la piel Dermabond®, disponible comercialmente. Se evaluó el porcentaje de monómero, medido mediante RMN, bajo diversas condiciones. Las evaluaciones se realizaron después de que la muestra fue preparada a 80°C; después de que la muestra fue preparada y sometida a un ciclo de esterilización mediante calor (sin envejecimiento) a 160°C durante 65 minutos; después de la muestra fue preparada y sometida a envejecimiento durante 6 días a 80°C (sin un ciclo de esterilización mediante calor); y después de que la muestra fue preparada y sometida a envejecimiento durante 12 días a 80°C (sin un ciclo de esterilización mediante calor). El control era adhesivo tópico para la piel Dermabond®, disponible comercialmente. La Tabla IV muestra los resultados de las muestras 16 a 19.

15

Tabla IV

| Nº de muestra<br>A: Control<br>B: Composiciones | Condiciones de envejecimiento | Procedimiento de esterilización | % de monómero (n=3) |                           |
|---|-------------------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------------|
|   |                               |                                 | Control (0 ppm)     | Composiciones (2.793 ppm) |
| 16A-B   | 0 días a 80°C                 | Ninguno                         | 97,7                | 98,0                      |
| 17A-B   | 6 días a 80°C                 | Ninguno                         | 92,3 (n=2)          | 91,5                      |
| 18A-B   | 12 días a 80°C                | Ninguno                         | 76,1                | 75,9                      |
| 19A-B   | Ninguna                       | Calor @ 160°C/65 min            | 96,6                | 95,7                      |

La Tabla IV indica que una formulación de monómero que contiene 2.793 ppm de diyodometil-p-tolilsulfona demostró una estabilidad comparable a la de la muestra de control después de la esterilización y bajo condiciones variadas.

#### Ejemplo 5

20 Se evaluaron muestras de una formulación de monómero de cianoacrilato fabricadas incorporando 2.834 ppm de DIMPTS en adhesivo tópico para la piel Dermabond®, disponible comercialmente, expuestas a varias condiciones seguido de un tratamiento de estabilización con hidroquinona y dióxido de azufre. El tratamiento de estabilización fue

realizado con el fin de mantener la viscosidad del adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup> que contiene 2.834 ppm de DIMPTS después del ciclo de esterilización por calor descrito más adelante.

5 Específicamente, un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup> con 2.834 ppm de DIMPTS y 438 ppm de hidroquinona fue colocado en un matraz que fue lavado con ácido sulfúrico 1N durante 3 horas, fue aclarado 3 veces con agua desionizada y fue sacado durante la noche a 110°C. A continuación, las ampollas fueron rellenas con adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>/DIMPTS/hidroquinona y se cubrieron durante 10 segundos con la mezcla de 250 ppm de dióxido de azufre en nitrógeno y se sellaron inmediatamente. A continuación, todas las ampollas fueron esterilizadas mediante calor a 160°C durante 65 min.

10 A continuación, se realizaron ensayos de reventamiento, usando un procedimiento similar al usado para el ensayo Mullen de reventamiento. Una película de látex que tiene una longitud de incisión de 1,3 cm en el centro de cada cuadrado fue cortada en piezas de 10,9 cm<sup>2</sup>. Un molde de acero de bajo contenido de carbono recubierto de Teflón que tiene un cuadrado recortado fue colocado en un cuadrado de látex con la incisión en el centro del recorte. Se aplicaron 50 microlitros de la formulación de monómero de cianoacrilato al cuadrado de látex, usando una micropipeta. La formulación de monómero de cianoacrilato se dejó curar durante un día con humedad. Las muestras fueron colocadas en el aparato de ensayo y la presión de reventamiento fue registrada en la tabla V.

(1) Control-A: Un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>, disponible comercialmente, (sin DIMPTS, sin hidroquinona, sin dióxido de azufre, sin esterilización adicional por calor) fue recubierto en 5 películas de látex con un espesor de aproximadamente 0,2 mm. Estas películas fueron curadas por humedad, sin ningún iniciador.

20 (2) Control-B: Un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>, disponible comercialmente, (sin DIMPTS, sin hidroquinona, sin dióxido de azufre, sin esterilización por calor adicional) fue recubierto en 5 películas de látex con un espesor de aproximadamente 0,2 mm. El sustrato fue recubierto primero con un iniciador (solución de tri-etil amina en acetil tri-butil citrato al 5%) aplicado desde una toallita.

25 (3) Composición-C: Un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>, disponible comercialmente, (con 2.834 ppm de DIMPTS, 438 ppm de hidroquinona, 250 ppm de dióxido de azufre y con esterilización por calor adicional) fue recubierto en 5 películas de látex con un espesor de aproximadamente 0,2 mm . Estas películas fueron curadas por humedad sin ningún iniciador.

30 (4) Composición-D: Un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>, disponible comercialmente, (con 2.834 ppm de DIMPTS, 438 ppm de hidroquinona, 250 ppm de dióxido de azufre y con esterilización por calor adicional) fue recubierto en 5 películas de látex con un espesor de aproximadamente 0,2 mm . El sustrato fue recubierto primero con un iniciador (solución de tri-etil amina en acetil tri-butil citrato al 5%) aplicado desde una toallita.

El resultado del ensayo de reventamiento y la observación de la velocidad de curado en todas las muestras (control y composición) se resumen en las Tablas V (A) y V (B), respectivamente.

**Tabla V (A) Resistencia al reventamiento (kPa) y observación visual del curado activado por humedad**

| Muestra 20 A y C | Resistencia a reventamiento (kPa) (activado por humedad) (n=5) |
|------------------|--|
| Control A        | 93,07 kPa  |
| Composición C    | 95,14 kPa  |

35 **Tabla V (B) Resistencia a reventamiento (pKa) y observación visual del curado activado por amina**

| Muestra 20 B y D | Observación visual de curado (activado por amina) |
|------------------|---|
| Control B        | 30-45 segundos                                    |
| Composición D    | 30-45 segundos                                    |

Las Tablas V (A) - (B) indican que una formulación de monómero que contiene 2.834 ppm de diyodometil-p-tolilsulfona

se polimerizó para formar una película polimérica que demostró una resistencia mecánica comparable a una película polimérica formada a partir de la muestra de control, bajo condiciones de curado por humedad o iniciador.

### Ejemplo 6A

5 Este ejemplo demuestra la inesperadamente superior actividad antimicrobiana de una mezcla de diyodometil-p-tolilsulfona y 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter en una formulación de monómero de cianoacrilato, en comparación con la actividad de cada agente por separado

Se prepararon muestras comparativas E-H, usando solo uno de los agentes antimicrobianos, usando los mismos procedimientos descritos del Ejemplo 5. Las muestras se indican a continuación en la Tabla VI (A1):

**Tabla VI (A1)**

| Id de muestra  | E                     | F                    | G                     | H                     | I                     |
|--|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Adhesivo tópico para la piel DERMABOND®  | 1,96 g                | 2,16 g               | 5,03 g                | 5,00 g                | 5,00 g                |
| Hidroquinona   | 438 ppm               | 438 ppm              | 0,019 g<br>376 ppm    | 0,0016 g<br>318 ppm   | 0,0018 g<br>358 ppm   |
| <sup>1</sup> Dióxido de azufre/N <sub>2</sub>  | 250 ppm               | 250 ppm              | 250 ppm               | 250 ppm               | 250 ppm               |
| Diyodometil-p-tolilsulfona   | na                    | 0,061 g<br>2,816 ppm | na                    | 0,0295 g<br>5.863 ppm | 0,0137 g<br>2.725 ppm |
| 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter   | 0,0053 g<br>2.697 ppm | na                   | 0,0275 g<br>5.435 ppm | na                    | 0,0131 g<br>2.737 ppm |
| Nota:<br><sup>1</sup> : Las ampollas rellenas de adhesivo tópico para la piel Dermabond®/DIMPTS/2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter/hidroquinona fueron cubiertas durante 10 segundos con una mezcla de 250 ppm de dióxido de azufre en nitrógeno y fueron selladas inmediatamente. |                       |                      |                       |                       |                       |

10

La Muestra E correspondía a una muestra fabricada usando un adhesivo tópico para la piel Dermabond®, disponible comercialmente, que contenía 2.697 ppm de 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter;

La Muestra F correspondía a una muestra fabricada con un adhesivo tópico para la piel Dermabond®, disponible comercialmente, que contenía 2.816 ppm de diyodometil-p-tolilsulfona;

15 La Muestra G correspondía a una muestra fabricada con un adhesivo tópico para la piel Dermabond®, disponible comercialmente, que contenía 5.435 ppm de 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter;

La Muestra H correspondía a una muestra fabricada con un adhesivo tópico para la piel Dermabond®, disponible comercialmente, y que contenía 5.863 ppm de diyodometil-p-tolilsulfona.

20 La Muestra Inventiva I correspondía a una muestra fabricada con un adhesivo tópico para la piel Dermabond®, disponible comercialmente, que contenía 2.737 ppm de 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter y 2.725 ppm de diyodometil-p-tolilsulfona.

Cada una de las Muestras Comparativas E-H y la Muestra Inventiva I fue esterilizada mediante esterilización por calor a 160°C durante 65 minutos.

25 Un ensayo de reducción Log<sub>10</sub> es un ensayo de microbiología estándar para evaluar la eficacia de un agente antimicrobiano. Los resultados de un ensayo antimicrobiano cuantitativo pueden ser resumidos por medio del valor de reducción log. Los ensayos cuantitativos son usados para evaluar la eficacia de los agentes antimicrobianos, donde la diferencia en la escala logarítmica entre el promedio de los microbios supervivientes para los portadores del control y

los ensayos es una medida de la eficacia del agente antimicrobiano.

El porcentaje eliminado corresponde a:

Reducción 1-log = 90% eliminado

Reducción 2-log = 99% eliminado

5 Reducción 3-log = 99,9% eliminado

Reducción 4-log = 99,99% eliminado

Reducción 5-log = 99.999% eliminado

Reducción 6-log = 99,9999% eliminado

Preparación de Inóculo:

10 Los cultivos de una noche en medios de cultivo apropiados fueron sometidos a agitación vorticial y se prepararon diluciones para obtener un mínimo de  $10^5$  unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. El inóculo diluido fue usado para la inoculación de cada pocillo individual en una placa de cultivo de tejido.

15 Un medio de nutrientes estéril, así como un inóculo estándar (0,1 ml) fueron añadidos a cada pocillo individual. Inóculos de control, que contenían un medio de cultivo apropiado y sólo inóculo, fueron mantenidos como control positivo para cada conjunto.

20 0,5 ml de cada una de las Muestras Comparativas E-H y la Muestra Inventiva I fueron expresados en una placa TSA estéril. El material expresado fue extendido usando un lazo estéril en un área de 4 cm x 2 cm. Se tuvo cuidado de extender los contenidos para conseguir un espesor de película uniforme. La película se dejó polimerizar en la placa. Una vez polimerizada, fue cortada en artículos de ensayo con un peso de  $80 \pm 2$  mg. Los artículos de ensayo fueron añadidos a pocillos que contenían medio de cultivo e inóculo. Se realizó un conteo de placa estándar a 0, 24, 48 y 72 las horas, retirando alícuotas de los pocillos. El ensayo se realizó por duplicado.

El porcentaje de organismo eliminado después del tratamiento con la formulación antimicrobiana fue evaluado después de 24, 48 y 72 horas, tal como se muestra en la Tabla VI (A2)

**Tabla VI (A2)**

| Id de muestra         | Porcentaje eliminado de <i>Staphylococcus aureus</i> @ |          |          |
|-----------------------|--|----------|----------|
|                       | 24 horas   | 48 horas | 72 horas |
| Muestra Comparativa E | 99,632   | 99,9999  | 99,9999  |
| Muestra Comparativa F | 99,787   | 99,786   | 99,9999  |
| Muestra Comparativa G | 99,9985  | 99,9985  | 99,9985  |
| Muestra Comparativa H | 99,9985  | 99,9985  | 99,9985  |
| Muestra Inventiva I   | 99,9999  | 99,9999  | 99,9999  |

25

30 Tal como se muestra en la Tabla VI (A2), la Muestra Comparativa G, que contenía un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>, disponible comercialmente, y 5.435 ppm de 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter, mostró una reducción 4-5 log en *Staphylococcus aureus* en 24 horas. De manera similar, la Muestra Comparativa H, que contenía un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>, disponible comercialmente, y 5.863 ppm de diyodometil-p-tolilsulfona exhibió una reducción 4-5 log en *Staphylococcus aureus* en 24 horas. Por el contrario, la Muestra Inventiva I, que contenía un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>, disponible comercialmente, y una mezcla de 2.725 ppm de diyodometil-p-tolilsulfona y 2.737 ppm de 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter, exhibió una reducción 6 log de *Staphylococcus aureus* en 24 horas, demostrando la inesperada actividad antimicrobiana superior de la mezcla en comparación con la actividad de cualquiera de los agentes por separado, a una concentración constante de un agente antimicrobiano. La efectividad



antimicrobiana fue observada también a las 48 y 72 horas.

**Ejemplo 6B**

5 La eficacia antimicrobiana de las formulaciones (que contienen una formulación mezclada de diyodometil-p-tolilsulfona y 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil), descritas en la presente memoria, fue ensayada contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus agalactiae* ATCC 624 y *Candida albicans* ATCC 10231. Los cultivos de organismos de desafío fueron cultivados en 20 ml de caldo tripticasa de soja estéril (TSB) durante 16-24 horas a 35-37°C.

10 Se usaron placas de agar de tripticasa de soja (TSA) para el ensayo. Una solución salina al 0,85% fue utilizada para las diluciones. Todos los medios fueron esterilizados con vapor previamente a su uso. Las placas de agar fueron preparadas vertiendo aproximadamente 20 ml de medio fundido en placas de petri estériles desechables (100 x 15 mm). Las placas de agar se dejaron solidificar bajo una campana de flujo laminar.

Los cultivos de una noche fueron sometidos a agitación vorticial y se preparó una dilución 1:100 para obtener un mínimo de 10<sup>4</sup> unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. El inóculo diluido fue extendido sobre la superficie de la placa de agar usando hisopos de algodón estériles. Se tuvo cuidado de cubrir uniformemente toda la superficie del agar. Las placas se dejaron secar al aire durante 30 minutos.

15 0,5 ml de la formulación fueron expresados en una placa TSA estéril. El material expresado fue extendido usando un lazo estéril en un área de 4 cm x 2 cm. Se tuvo cuidado de extender los contenidos para conseguir un espesor de película uniforme. La película se dejó polimerizar en la placa. Una vez polimerizada, discos de 5 mm fueron perforados asépticamente y fueron usados para el ensayo.

20 Los discos fueron transferidos diariamente a placas recién inoculadas durante un máximo de 72 horas. En cada punto temporal (es decir, 24, 48 y 72 horas), las placas fueron incubadas a 35-37°C durante 24 horas y, posteriormente, fueron examinadas para zonas de inhibición resultantes de la difusión de los agentes activos fuera del producto y al interior del medio de agar. La zona de inhibición fue medida en milímetros (mm) a través de la película e incluye el diámetro del disco.

25 La Tabla VI (B) informa acerca de la eficacia antimicrobiana, determinada por los datos de las zonas de inhibición, para las muestras (que contenían la formulación mezclada de diyodometil-p-tolilsulfona y 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil), descrita en la Tabla VI (A1).

**Tabla VI (B)**

| Datos de la zona de inhibición (diámetro de la zona medido en milímetros) |                            |        |        |                               |        |        |                               |        |        |
|---|----------------------------|--------|--------|-------------------------------|--------|--------|-------------------------------|--------|--------|
| Formulación   | <i>S. aureus</i> ATCC 6538 |        |        | <i>S. agalactiae</i> ATCC 624 |        |        | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 |        |        |
|   | 24 hrs                     | 48 hrs | 72 hrs | 24 hrs                        | 48 hrs | 72 hrs | 24 hrs                        | 48 hrs | 72 hrs |
| Muestra Comparativa E   | 18                         | 19,5   | 19     | 7,25                          | 6      | 5,5    | 0                             | 0      | 0      |
| Muestra Comparativa F   | 7                          | 3      | 2,75   | 7                             | 5,75   | 5,5    | 14,5                          | 12,5   | 12     |
| Muestra Comparativa H   | 8,25                       | 6      | 5,5    | 7,25                          | 5,75   | 5,5    | 16,75                         | 15     | 15     |
| Muestra Comparativa I   | 18                         | 19     | 19     | 7,5                           | 5,5    | 5,5    | 16,5                          | 14     | 13,5   |

**Ejemplo 6C**

30 Se evaluaron las muestras de la formulación de monómero de cianoacrilato descritas en el Ejemplo 6A. El porcentaje de monómero, medido mediante RMN, fue evaluado en varias condiciones. Las evaluaciones se realizaron después de que la muestra fue preparada; después de que la muestra fue preparada y sometida a un ciclo de esterilización por calor (sin envejecimiento) a 160°C durante 65 minutos; después de que la muestra fue preparada y sometida a envejecimiento durante 6 días a 80°C (sin un ciclo de esterilización por calor); y después de que la muestra fue preparada y sometida a envejecimiento durante 13 días a 80°C (sin un ciclo de esterilización por calor). La muestra de control (J) era un adhesivo tópico para la piel Dermabond<sup>®</sup>, disponible comercialmente, La Tabla VI (C) muestra los resultados de la muestra de control J, las Muestras Comparativas G y H y la Muestra Inventiva I.

<sup>1</sup>Tabla VI (C)

| Condición de envejecimiento                     | Procedimiento de esterilización | Muestra Comparativa J Control | Muestra Comparativa G | Muestra Comparativa H | Muestra Inventiva I |
|---|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| 0 días @ 80°C                                   | Ninguno                         | 97,2% +/- 0,2                 | 97,2% +/- 0,2         | 96,8% +/- 0,2         | 96,9% +/- 0,2       |
| 6 días @ 80°C                                   | Ninguno                         | 92,3% +/- 0,7                 | 85,6% +/- 3,3         | 93,1% +/- 0,4         | 92,0% +/- 0,3       |
| 13 días @ 80°C                                  | Ninguno                         | 74,5% +/- 1,9                 | 56,0% +/- 7,1         | 81,8% +/- 13,4        | 69,4% +/- 5,8       |
| Ninguna   | Calor @ 160°C/65 min            | 95,1% +/- 0,7                 | 95,3% +/- 0,3         | 95,6% +/- 0,2         | 95,6% +/- 0,1       |
| Nota:<br>1 % de monómero mediante RMN (@ N = 5) |                                 |                               |                       |                       |                     |

La Tabla VI (C) indica los datos comparables para todas las muestras después de un ciclo de esterilización

**REIVINDICACIONES**

1. Una formulación antimicrobiana polimerizable para formar un adhesivo de cierre de herida, que comprende: monómero de cianoacrilato, diyodometil-p-tolilsulfona y un hidroxidifenil éter halogenado.
- 5 2. Formulación según la reivindicación 1, en la que el hidroxidifenil éter halogenado es 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter.
3. Formulación según la reivindicación 1 ó 2, en la que la concentración de dicho diyodometil-p-tolilsulfona está entre 500 ppm y 15.000 ppm, y la concentración de dicho hidroxidifenil éter halogenado está entre 500 ppm y 15.000 ppm.
- 10 4. Formulación según la reivindicación 2, en la que dicha concentración de dicha diyodometil-p-tolilsulfona está entre 2.500 ppm y 3.000 ppm, y la concentración de dicho 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter está entre 1.500 ppm y 3.000 ppm.
- 5 15 5. Formulación según la reivindicación 1, que comprende al menos el 80% de monómero de cianoacrilato después de que la formulación es sometida a una temperatura de esterilización por calor de 160°C durante 65 minutos o una esterilización gamma, a una dosis de 15 a 20 kGy
6. Formulación según la reivindicación 1, que comprende al menos un 60% de monómero de cianoacrilato después de que la formulación es sometida a una temperatura de envejecimiento por calor de 80°C, durante aproximadamente 13 días.
7. Formulación según la reivindicación 1, en la que dicho monómero de cianoacrilato es seleccionado de entre el grupo que consiste en cianoacrilato de 2-octilo, cianoacrilato de n-octilo, cianoacrilato de 2-etil hexilo, cianoacrilato de butilo y sus isómeros.
- 20 8. Formulación según la reivindicación 2, para su uso en un procedimiento para cerrar los bordes aproximados de una herida con una película polimérica, que inhibe sustancialmente el crecimiento de microorganismos, que comprende:
  - 25 aplicar dicha formulación a los bordes aproximados de la herida; y
  - permitir que la formulación polimerice para formar una película polimérica.