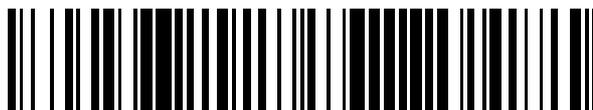


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 441 367**

51 Int. Cl.:

A61K 31/00 (2006.01)
A61K 31/122 (2006.01)
A61K 31/341 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
C07D 207/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2009** **E 09775509 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2013** **EP 2512461**

54 Título: **Chalconas como potenciadores de antibióticos**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.02.2014

73 Titular/es:

COLGATE-PALMOLIVE COMPANY (50.0%)
300 Park Avenue
New York, NY 10022, US y
INDIAN INSTITUTE OF INTEGRATIVE MEDICINE
(50.0%)

72 Inventor/es:

SUBRAMANYAM, RAVI;
DU-THUMM, LAURENCE;
QAZI, GHULAM NABI;
KHAN, INSHAD ALI;
SURI, KRISHAN AVTAR;
SATTI, NARESH KUMAR;
ALI, FURQAN y
KALIA, NITIN PAL

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 441 367 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

Chalconas como potenciadores de antibióticos

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere al campo de los antibióticos y a los compuestos capaces de potenciar la eficacia de los antibióticos. Dichos potenciadores se pueden usar para aumentar la eficacia de los antibióticos en una variedad de campos, incluyendo, por ejemplo, aumentar la eficacia de los antibióticos para tratar patologías orales promovidas por la presencia de microorganismos patógenos (por ejemplo, gingivitis, placa, etc.). La invención proporciona también métodos para la preparación de dichos compuestos y el uso de los compuestos y composiciones en los métodos de tratamiento de infecciones microbianas y otros trastornos producidos por microorganismos patógenos

15 **Antecedente de la invención**

Una variedad de alimentos humanos debe su origen a microorganismos patógenos, que incluyen bacterias, virus y hongos. La presencia de dichos microorganismos patógenos conduce a septicemia, infecciones graves del tracto respiratorio superior e inferior, SNC, meningitis, tejido intraabdominal que incluye el peritoneo, tracto genitourinario, piel, y tejido blando, y una variedad de infecciones diferentes del tipo de la micosis sistémica, candidiasis que incluyen infecciones producidas por dermatofitos. En los últimos 100 años se han hecho progresos significativos para combatir las enfermedades producidas por una gran familia de microorganismos con innumerables agentes terapéuticos de naturaleza química y biológica diversa que están disponibles como cura a corto y largo plazo. Dichos antibióticos incluyen aminoglicósidos, penicilinas, cefalosporinas, macrólidos, glicopéptidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, fármacos dirigidos contra TB de primera y segunda línea, agentes anti-lepra, agentes antivíricos, los agentes antifúngicos triazol e imidazol, combinaciones del tipo de los derivados de pirimidina y trimetoprim y sulfametoxazol.

El uso constante de antibióticos en el entorno hospitalario ha seleccionado poblaciones bacterianas que son resistentes a muchos antibióticos. Estas poblaciones incluyen patógenos oportunistas que pueden no ser muy virulentos pero que son intrínsecamente resistentes a numerosos antibióticos. Dichas bacterias infectan a menudo pacientes debilitados o inmunocomprometidos. Las poblaciones resistentes emergentes incluyen también cepas de especies bacterianas que son patógenos bien conocidos, que eran anteriormente susceptibles a los antibióticos. La resistencia recientemente adquirida se debe generalmente a mutaciones en el ADN, o a plásmidos de resistencia (plásmidos R) o a transposones que confieren resistencia transferidos desde otros organismos. Las infecciones debidas a cualquier tipo de población bacteriana, patógenos oportunistas naturalmente resistentes o bacterias patógenas resistentes a antibióticos, son difíciles de tratar con los antibióticos actuales. Se necesitan nuevas moléculas de antibióticos que puedan anular los mecanismos de resistencia.

A lo largo de los años las bacterias han desarrollado diversos mecanismos diferentes para superar la acción de los antibióticos. Estos mecanismos de resistencia pueden ser específicos de una molécula o de una familia de antibióticos, o pueden ser no específicos y estar implicados en la resistencia a antibióticos no relacionados. Los mecanismos específicos incluyen la degradación del fármaco, la inactivación del fármaco mediante modificación enzimática, y la alteración de la diana del fármaco (B. G. Spratt, Science 264: 388 (1994)). Existen, sin embargo, mecanismos más generales de resistencia a fármacos, en los cuales se evita o reduce el acceso del antibiótico a la diana disminuyendo el transporte del antibiótico al interior de la célula o aumentando la salida del fármaco desde la célula hacia el medio externo. Ambos mecanismos pueden disminuir la concentración del fármaco en el sitio diana y permitir la supervivencia de las bacterias en presencia de uno o más antibióticos que podrían inhibir o matar de otra manera las células bacterianas. Algunas bacterias utilizan ambos mecanismos, que combinan una baja permeabilidad de la pared celular (incluyendo las membranas) con una salida activa de antibióticos. (H. Nikaido, Science 264:382-388 (1994)).

La disminución en la permeabilidad de la membrana externa, reduciendo tanto el número de porinas como reduciendo el número de determinadas especies de porina, puede disminuir la susceptibilidad de una cepa a una amplia gama de antibióticos, debido a la disminución de la tasa de entrada de los antibióticos en las células. Sin embargo, para la mayoría de antibióticos, los tiempos de semiequilibrio son suficientemente cortos de tal manera que el antibiótico podría ejercer su efecto a no ser que esté presente otro mecanismo. Las bombas de salida son un ejemplo de los mencionados mecanismos diferentes. Una vez en el citoplasma o el periplasma, un fármaco se puede devolver al medio externo. Este transporte está mediado por las bombas de salida, que están constituidas por proteínas. Diferentes bombas pueden hacer salir de forma específica un fármaco o un grupo de fármacos, tales como el sistema NorA que transporta quinolonas, o Tet A, que transporta tetraciclinas, o puede hacer salir una gran variedad de moléculas, tales como determinadas bombas de salida de *Pseudomonas aeruginosa*. En general, las bombas de salida tienen un componente citoplasmático y se requiere energía para transportar las moléculas al exterior de la célula. Algunas bombas de salida tienen una segunda proteína de membrana citoplasmática que se extiende en el periplasma.

Las bombas de salida multicomponente, que pertenecen principalmente a los miembros de la familia resistencia-

modulación-división (RND), y que se encuentran principalmente en las bacterias gram negativas, incluyen las bombas MDR AcrAB-TolC y MexAB-OprM de *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La interacción entre las bombas de salida puede proporcionar efectos tanto aditivos como multiplicativos en la resistencia a los fármacos (A. Lee y col., J. of Bacteriology, 2000, 182: 3142). Se sabe que la(s) bomba(s) MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM, AcrAB-TolC, AcrEF, MarA, SoxS, y/o Tet están presentes en organismos Gram negativos tales como *P. aeruginosa* y *E. coli* y se han revisado en recientes publicaciones y artículos, tales como Webber y Piddock, J. de Antimicrobial Chemother, 2003, 51: 39-11; Bambeke y col J. de Antimicrobial Chemother, 2003, 51: 1055-1056, 74; Xian Zhi Li y col., Journal of Antimicrob. Chemother., 2000, 45: 433 436; O Lomovskaya, y col., Antimicrob. Agents y Chemother., 1999, 43: 1340 1346.

Una biopelícula es un grupo estructurado de microorganismos encapsulados en una matriz extracelular polimérica autodesarrollada. Las biopelículas se adhieren normalmente a una superficie viva o inerte. En el cuerpo humano o animal, las biopelículas pueden formarse sobre cualquier superficie interna o externa. Se ha encontrado que las biopelículas están implicadas en una amplia variedad de infecciones microbianas en el cuerpo y, por tanto, producen numerosas dolencias que incluyen infecciones del tracto urinario, infecciones del oído medio, formación de placa dental y gingivitis.

Los microorganismos presentes en una biopelícula tienen propiedades significativamente diferentes a las de los microorganismos en flotación libre de la misma especie. Esto se debe a que la matriz extracelular polimérica actúa para proteger los microorganismos del ambiente circundante, lo que permite a los microorganismos cooperar e interactuar de diversas maneras que no presentan los microorganismos en flotación libre. Estas comunidades complejas de microorganismos representan un desafío único puesto que frecuentemente son resistentes a los medios clásicos de control antimicrobiano. Las bacterias que viven en una biopelícula presentan una mayor resistencia a los antibióticos debido a que la matriz extracelular densa y la capa externa de células protegen el interior de la biopelícula de los efectos de los antibióticos. Por tanto, los antibióticos conocidos no tendrán el mismo efecto sobre las bacterias presentes en una biopelícula.

De esta manera, los factores celulares que afectan al transporte (transporte activo y pasivo) de antibióticos (y agentes antibacterianos) al interior de las células bacterianas son componentes importantes de la resistencia a los antibióticos de muchas especies bacterianas. Existe una necesidad de proporcionar compuestos y composiciones que potencien la eficacia de los antibióticos, incluso cuando la eficacia de los antibióticos puede verse afectada de forma adversa por la resistencia a los antibióticos.

Sumario de la invención

La presente invención tiene como objeto soslayar dichos problemas y el uso de los productos de la presente invención ofrece una pauta terapéutica de baja dosis que produce una acción terapéutica potenciada comparable a la de la dosis normalizada de un fármaco solo.

Una característica de la invención es proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención. Una realización incluye una composición que comprende al menos uno de los compuestos de fórmula 1-4 y, además, puede incluir también un antibiótico o compuesto antimicrobiano. Se describe también en el presente documento un método de tratamiento de infecciones que utiliza los compuestos de la invención o las composiciones que los comprenden. El tratamiento comprende la administración por vía oral, parenteral y/o la aplicación tópica de una cantidad eficaz del compuesto de la invención o sus composiciones tanto en solitario como en combinación con un antibiótico o agente antibiótico o dos o más compuestos de esta invención. De acuerdo con una realización adicional de la invención, se proporciona también una composición de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de una infección microbiana que comprende la administración por vía tópica a un mamífero que lo necesita.

La presente invención se refiere al uso de chalconas sintéticas como potenciadores de los antibióticos (y antibacterianos). La invención se refiere más concretamente a chalconas y a las composiciones que contienen chalconas seleccionadas entre el grupo que consiste en 3-(4"-hidroxi-3"-metoxi-fenil)-1-(2'-hidroxi-5'-metoxi-fenil)-prop-2-eno-1-ona (CK-1-fórmula 2), 3-(4'-hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-eno-1-ona (CK-4-fórmula 1), 3-(2",3"-dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-eno-1-ona (CK-14-fórmula 3), 3-(2",5"-dimetoxi-fenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-prop-2-eno-1-ona (CK-16-fórmula 4), y sus mezclas.

Descripción de la realización preferida

Tal como se usa en el presente documento, las palabras "preferido" y "preferentemente" se refieren a realizaciones de la invención que dan como resultado determinados beneficios, en determinadas circunstancias. Sin embargo, se pueden preferir también otras realizaciones, en las mismas u otras circunstancias. Además, la enumeración de una o más realizaciones preferidas no implica que otras realizaciones no sean útiles, y no se pretende que excluyan otras realizaciones del alcance de la invención. Además, las composiciones y métodos pueden comprender, consistir esencialmente en, o consistir en los elementos descritos en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, se pretende que la palabra "incluye", y sus variantes no sea limitante, de tal manera que la enumeración de elementos en una lista no sea excluyente de otros elementos equivalentes que pueden ser también útiles en los materiales, composiciones, dispositivos y métodos de la presente invención

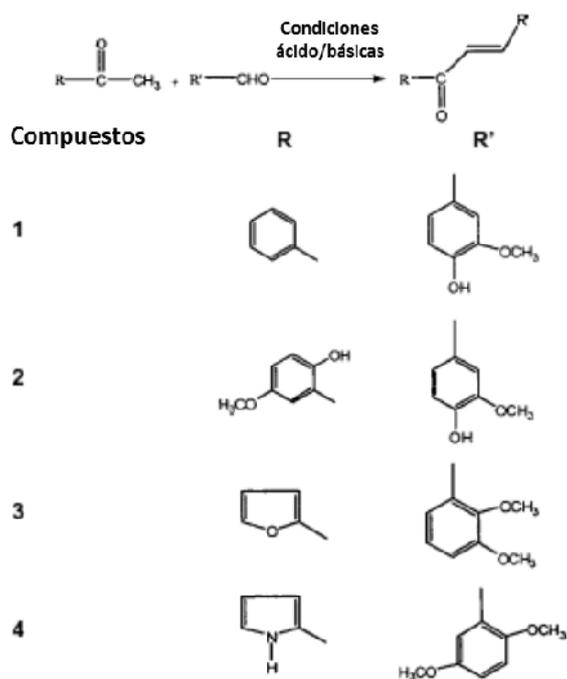
- 5 Tal como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente", cuando se aplica al valor de un parámetro de una composición o método de esta invención, indica que el cálculo de la medida del valor permite alguna ligera imprecisión sin que tenga un efecto sustancial sobre los atributos químicos o físicos de la composición o método. Si, por alguna razón, la imprecisión proporcionada por "aproximadamente" no se entiende de otra manera en la técnica con este significado ordinario, entonces "aproximadamente" tal como se usa en el presente documento
 10 indica una posible variación de hasta aproximadamente un 5% en el valor.

Tal como se hace referencia en el presente documento, todos los porcentajes de la composición son en peso de la composición total, a no ser que se especifique otra cosa.

- 15 Las presentes realizaciones incluyen composiciones que comprenden 3-(4"-hidroxi-3"-metoxi-fenil)-1-(2'-hidroxi-5'-metoxi-fenil)-prop-2-eno-1-ona (CK-1-fórmula 2), 3-(4'-hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-eno-1-ona (CK-4-fórmula 1), 3-(2", 3"-dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-eno-1-ona (CK-14-fórmula 3), 3-(2", 5"-dimetoxi-fenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-prop-2-eno-1-ona (CK-16-fórmula 4), y sus mezclas. Se cree que estos compuestos y composiciones tienen las propiedades de potenciar la eficacia del cribado *in vitro*, cuando se combinan con diversos agentes antiinfecciosos
 20 que utilizan bacterias, virus y levaduras. Estas composiciones y compuestos fueron también eficaces cuando se ensayaron *in vivo* utilizando modelos de ratones y cobayas infectados con microorganismos. En la siguiente tabla se proporcionan las estructuras de las chalconas de las realizaciones preferidas, lo que ilustra la síntesis de los compuestos.

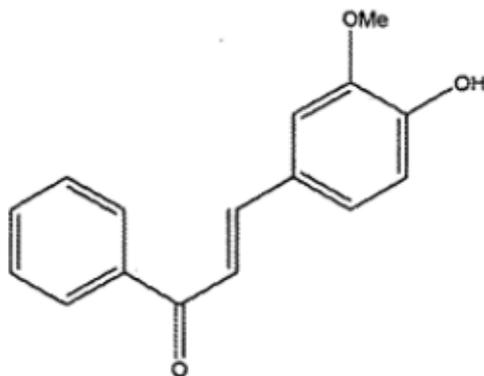
- 25 No se ha notificado que los compuestos de la presente invención sean útiles para potenciar la bioeficacia de los fármacos, particularmente los fármacos antiinfecciosos tal como se han descrito en la presente invención. Se ha llevado a cabo la síntesis de los compuestos mediante la combinación de diversas etapas químicas conocidas en la técnica de la síntesis. Una persona normalmente experta en la materia será capaz de sintetizar los compuestos descritos en las realizaciones utilizando las directrices proporcionadas en el presente documento.

- 30 Los derivados de chalcona de fórmula 2, es decir 3-(4"-hidroxi-3"-metoxi-fenil)-1-(2'-hidroxi-5'-metoxi-fenil)-prop-2-eno-1-ona, y 1 es decir, 3-(4'-hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-eno-1-ona, se sintetizaron mediante la condensación de derivados de acetofenona con aldehídos aromáticos sustituidos en condiciones alcalinas o ácidas, mientras que en el caso de los compuestos 3 y 4, la condensación se llevó a cabo entre el aldehído aromático sustituido y 2-acetilfurano y los aldehídos aromáticos sustituidos y 2-acetilpirrol, respectivamente. En el siguiente
 35 esquema se muestran la síntesis y la estructura de las fórmulas 1-4.



Síntesis de chalconas 1 a 4

- 40 Como ejemplo ilustrativo, la estructura química del compuesto 1,3-(4'-hidroxi-3'-metoxifenil)-1-fenil-prop-2-eno-1-ona, denominado también fenil-3-metoxi-4-hidroxiestiril cetona, es la siguiente:



Se cree que estos compuestos inhiben las bombas de salida celular de las bacterias u otros microorganismos. Dichas bombas de salida exportan moléculas de sustrato desde el citoplasma de una manera que consume energía, y las moléculas de sustrato exportadas pueden incluir agentes antibacterianos u otros antibióticos y agentes desinfectantes. Dichos inhibidores de la bomba de salida son útiles, por ejemplo, para tratar infecciones microbianas reduciendo la exportación de los antibióticos administrados simultáneamente o evitando la exportación de un compuesto sintetizado por microorganismos (por ejemplo, bacterias) para permitir o mejorar su crecimiento. Un ejemplo de reducción en la exportación de ese tipo de compuesto es inhibir la disponibilidad del hierro para el microorganismo reduciendo la exportación de los sideróforos. Sin pretender quedar vinculado por teoría alguna acerca del funcionamiento, los compuestos de la invención también pueden potenciar la eficacia de determinados agentes antibacterianos inhibiendo la formación de la biopelícula y/o degradando la biopelícula. De esta manera, se cree que los compuestos y composiciones a los que se hace referencia anteriormente son útiles para prevenir patologías causadas por la formación de una biopelícula. Por tanto, la presente invención proporciona también composiciones que incluyen dichos compuestos y métodos para tratar las infecciones microbianas, las dolencias producidas por la presencia de microorganismos patógenos, y las dolencias producidas por la formación de biopelículas.

Es por tanto una característica de la invención proporcionar un método para suprimir el crecimiento de una bacteria o un hongo, que comprende poner en contacto dicha bacteria u hongo con un compuesto de chalcona de la invención en presencia de una concentración de agente antibacteriano o antifúngico por debajo de la concentración inhibidora mínima (CIM) de dicha bacteria u hongo.

Se describen también en el presente documento métodos para tratar las infecciones en seres humanos y animales, producidas por células microbianas resistentes utilizando un agente antibiótico y un compuesto de chalcona de la invención en una cantidad suficiente para reducir la resistencia a los antibióticos, o una cantidad suficiente para inhibir la formación de la biopelícula y/o degradar la biopelícula, donde el compuesto de chalcona aumenta la susceptibilidad del microorganismo al agente antibiótico.

Se describe también en el presente documento un método para el tratamiento profiláctico de un ser humano o un animal, que comprende administrar a dicho ser humano o animal en riesgo de una infección microbiana un compuesto de chalcona de la invención, donde el compuesto disminuye la patogenicidad de un microorganismo en el ser humano o animal.

Se describe también un método para el tratamiento profiláctico de un ser humano o animal, que comprende administrar a dicho ser humano o animal en riesgo de una infección microbiana un agente antibiótico y un compuesto de chalcona de la invención, donde el compuesto aumenta la susceptibilidad de un microorganismo al agente antibiótico.

Se describe también en el presente documento un método de tratamiento que utiliza un compuesto de chalcona de la invención mediante la administración, sistémica o tópica, del compuesto al ser humano o animal, evitando de este modo los efectos tóxicos asociados con las mezclas de los compuestos de la invención.

Otra característica de la invención es potenciar la actividad antibiótica de un agente antibiótico contra un microorganismo poniendo en contacto el microorganismo con un agente antibiótico y un compuesto de chalcona de la invención.

El término "fármaco" utilizado en esta divulgación se refiere a una entidad química capaz de afectar la patofisiología del organismo, y se puede utilizar para el tratamiento o la prevención de una enfermedad. Los fármacos incluyen numerosas clases de compuestos, que incluyen, pero sin limitarse a, aminoglicósidos, penicilinas, cefalosporinas y otros agentes de tipo β -lactama, macrólidos, glicopéptidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, fármacos dirigidos contra TB de primera y segunda línea, agentes anti-lepra, agentes antivíricos, polienos, triazoles e imidazoles y combinaciones del tipo de las pirimidinas, sulfametoxazol, compuestos fenólicos tales como triclosan, magnolol y sus

derivados, honokiol y sus derivados, compuestos de amonio cuaternario tales como cloruro de cetilpiridinio. Los fármacos pueden ser la forma activada o metabolizada de un profármaco, consistente en especies iónicas cargadas, no cargadas, hidrófilas, hidrófobas o de ion híbrido que hacen su entrada mediante difusión simple, transporte mediado por portador dependiente y no dependiente de los requisitos de energía, a través de canales iónicos y/o regulados por voltaje.

Los derivados de chalcona particularmente preferidos de fórmula 1-4 se han seleccionado entre el siguiente conjunto de compuestos preparados mediante los métodos descritos en los ejemplos. Se pueden usar uno o más de los derivados de chalcona en las realizaciones descritas en el presente documento.

1. 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxifenil)-1-fenil-prop-2-eno-1-ona
2. 3-(4"-Hidroxi-3"-metoxi-fenil)-1-(2'-hidroxi-5'-metoxi-fenil)-prop-2-eno-1-ona,
3. 3-(2", 3"-Dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-eno-1-ona
4. 3-(2", 5"-dimetoxi-fenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-prop-2-eno-1-ona
5. 1-(2-Furil)-3-(3,4, dimetiloxifenil) prop-2-en-1-ona
6. 1-(2-Furil)-3-fenilprop-2-en-1-ona
7. 1-(2-Furil)-3-(3,4,5-metilendioxi fenil) prop-2-en-1-ona
8. 1-(2-Furil)-3-(3-hidroxi, -metiloxifenil) prop-2-en-1-ona
9. 1-(2-Furil)-3-(3-nitrofenil) prop-2-en-1-ona
10. 1-(2-Furil)-3-(3, hidroxifenil) prop-2-en--ona
11. 1-(2-Furil)-3-(4,5-nitrofenil) prop-2-en-1-ona
12. 1-(2-Furil)-3-(3,6-diclorofenil) prop-2-en-1-ona
13. 1-(2-Furil)-3-(2,3-dimetiloxifenil) prop-2-en-1-ona
14. 1-(2-Furil)-3-(2,5-dimetiloxifenil) prop-2-en-1-ona
15. 3-(4-nitrofenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-propenona
16. 3-(3-nitrofenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-propenona
17. 3-(2, 5-diclorofenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-propenona
18. 3-(2, 3-dimetiloxifenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-propenona
19. 3-(2, 3-diclorofenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-propenona
20. 3-(2, 6-diclorofenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-propenona

Los ejemplos particularmente adecuados de un microorganismo adecuado para el uso con un compuesto de chalcona de las realizaciones preferidas son especies bacterianas patógenas, tales como *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* que pueden ser intrínsecamente resistentes a los agentes antibacterianos habitualmente utilizados. Se cree que la exposición de estas bacterias a un compuesto de chalcona de la invención puede ralentizar de manera significativa la exportación de un agente antibacteriano desde el interior de la célula o la exportación de sideróforos. Por ejemplo, se ha notificado que la expresión en exceso del transportador de fármacos norA en las cepas de *S. aureus* para la resistencia a la fluoroquinolona, tanto *in vitro* (Kaatz y Seo, Antimicrobial agents and Chemother., 1997, 41: 2733-2737). De este modo, si se administra otro agente antibacteriano junto con el compuesto de chalcona de la invención, el agente antibacteriano, que de otra manera se mantendría a una concentración intracelular muy baja debido al proceso de exportación, se puede acumular hasta una concentración que inhiba el crecimiento de las células bacterianas. Esta inhibición del crecimiento puede ser debida tanto a la actividad bacteriostática como a la actividad bactericida, dependiendo del agente antibacteriano específico utilizado. Mientras que *P. aeruginosa* es un ejemplo de una bacteria adecuada, otras especies bacterianas y microbianas incluyendo las descritas anteriormente pueden contener bombas de sustrato amplio, que exportan de forma activa una variedad de antibióticos, y de esta manera pueden ser también dianas adecuadas.

De esta forma, a modo de ilustración de la utilidad de los compuestos de chalcona de la invención, se cree que la inhibición de la bomba de salida de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* permite obtener uno o más de los siguientes efectos biológicos. 1. Las cepas de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*,

Porphyromonas gingivalis se volverán susceptibles a los antibióticos que no podían usarse para el tratamiento de las infecciones bacterianas respectivas, o se volverán más susceptibles a los antibióticos que inhiben el respectivo crecimiento bacteriano; 2. Las cepas de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* serán más susceptibles a los antibióticos actualmente usados para el tratamiento de las respectivas infecciones bacterianas; 3. La virulencia de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* estará atenuada debido a que se encontrará impedida la disponibilidad de un elemento que soporta el sideróforo esencial; y 4. La inhibición de las bombas o de uno de los componentes de las bombas puede ser letal o evitar el crecimiento.

Obtener incluso uno de estos efectos proporciona un potencial tratamiento terapéutico de las infecciones producidas por estas bacterias. Alguno de los anteriores efectos o todos se pueden obtener también con aquellos microorganismos, y por tanto son también dianas adecuadas para detectar o utilizar inhibidores de bombas de salida. De esta manera, el término "microorganismos" incluye, por ejemplo, bacterias, hongos, levaduras, y protozoos.

Tal como se ha indicado, la bacteria que se va a inhibir mediante el uso de un compuesto de chalcona de la invención puede proceder de diferentes grupos o especies bacterianas, incluyendo dichos grupos bacterianos de especies, pero sin limitarse a uno de los siguientes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas acidovorans*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia capacia*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnet*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Francisella tularensis*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Actinomyces viscosus*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia intermedia*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus actinomycetemcomitans*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Branhamella catarrhalis*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Borrelia burgdorferi*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Kingella*, *Moraxella*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides distasonis*, grupo de homología del *Bacteroides 3452A*, *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides ovalus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides eggerthii*, *Bacteroides splanchnicus*, *Clostridium difficile*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium leprae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus subsp. hyicus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis* y *Staphylococcus saccharolyticus*.

El término "bomba de salida" se refiere a un ensamblaje de proteína transmembrana que exporta moléculas de sustrato desde el citoplasma o periplasma de una célula, de una manera dependiente de la energía. De esta manera, una bomba de salida se localizará normalmente en la membrana citoplásmica de la célula (abarcando la membrana citoplásmica). En las bacterias Gram negativas, la bomba puede abarcar el espacio periplásmico y puede ser también una parte de la bomba de salida que abarca la membrana externa.

Un "inhibidor de la bomba de salida" es un compuesto que interfiere de manera específica con la capacidad de una bomba de salida para exportar su sustrato normal, u otros compuestos tales como un antibiótico. El inhibidor puede tener actividad antimicrobiana intrínseca (por ejemplo, antibacteriana) por sí mismo, pero al menos una porción significativa de la actividad relevante se debe a la actividad inhibidora de la bomba de salida. De particular interés en las realizaciones son los compuestos que inhiben la exportación o la actividad de las bombas de salida que tienen un amplio intervalo de sustrato que incluye los agentes antibacterianos.

Se describe también en el presente documento un método para tratar una infección microbiana por ejemplo, una infección bacteriana, en un animal, administrando a un animal que padece de dicha infección uno o más compuestos de chalcona tal como se ha descrito anteriormente en una cantidad suficiente para reducir la actividad de la bomba de salida, o en una cantidad suficiente para inhibir la formación de la biopelícula y/o degradar la biopelícula.

Preferiblemente, el compuesto de chalcona es uno que disminuye la patogenicidad del microorganismo. Dicha disminución en la patogenicidad se puede obtener, por ejemplo, interfiriendo con la adquisición de elementos bacterianos esenciales inhibiendo el transporte de sideróforos, o inhibiendo o degradando la formación de la biopelícula. La patogenicidad también puede reducirse reduciendo o eliminando los productos microbianos que producen efectos que dañan los tejidos del hospedador. Otros métodos para reducir la patogenicidad están comprendidos también, sin embargo, en este aspecto.

La infección o el trastorno microbiano puede ser debido a bacterias que pueden ser, por ejemplo, cualquiera de las especies bacterianas indicadas anteriormente, pero incluyendo de manera específica *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Dichos trastornos, cuando están presentes en la cavidad oral incluyen, por ejemplo gingivitis, caries, formación de placa, y similares.

5 Se describe también en el presente documento un método para tratar a un animal que padece de una infección microbiana administrando al animal un compuesto de chalcona de la invención en cantidad suficiente para potenciar la actividad del agente antibiótico administrado junto con el compuesto de chalcona. En este aspecto, el compuesto de chalcona puede ser uno que reduce la viabilidad in vivo de un microorganismo implicado en la infección. Al reducir la viabilidad in vivo, el animal infectado puede eliminar más prontamente de su cuerpo la infección, o incluso, los microorganismos pueden destruirse. En realizaciones concretas, el animal es un mamífero. También en realizaciones concretas, el microorganismo puede ser uno de una variedad de especies bacterianas patógenas, que incluyen de forma específica las anteriormente relacionadas.

15 Se describe también en el presente documento un método para tratar una infección microbiana en un animal, que incluye de forma específica un mamífero, tratando el animal que padece de dicha infección con un agente antibiótico y un compuesto de chalcona de la invención que aumenta la susceptibilidad del microorganismo por este agente microbiano. De esta manera, un microorganismo implicado en la infección se puede tratar utilizando el agente microbiano en cantidades más pequeñas, o se puede tratar con un agente microbiano que no es terapéuticamente eficaz cuando se usa en ausencia del compuesto de chalcona. De esta manera, el método de tratamiento es especialmente adecuado para el tratamiento de infecciones utilizando un agente antibiótico solo debido a la necesidad de niveles de dosificación elevados (que pueden producir efectos secundarios indeseables), o debido a la carencia de algún agente antibiótico clínicamente eficaz. Sin embargo, es también adecuado para tratar infecciones que implican microorganismos que son susceptibles a antibióticos concretos como una manera de reducir la dosificación de aquellos agentes concretos. Esto puede reducir el riesgo de efectos secundarios, pero también puede reducir el efecto de selección para microorganismos muy resistentes resultantes del uso consistente a concentraciones elevadas de un agente antibiótico concreto. El microorganismo puede ser una bacteria que puede ser, por ejemplo, de cualquiera de los grupos o especies indicados anteriormente. También se pueden usar diversos agentes antibacterianos. Estos incluyen quinolonas, tetraciclinas, glicopéptidos, aminoglicósidos, beta-lactamas, rifamicinas, coumermicinas, macrólidos, y cloranfenicol.

En las realizaciones concretas, un antibiótico de las clases anteriores puede ser, por ejemplo, uno de los siguientes.

Antibióticos de beta-lactama

35 Imipenem, meropenem, sanefrinem, biapenem, cefaclor, cefadroxil, cefamandol, cefatrizina, cefazedona, cefazolina, cefixima, cefmenoxima, cefodizima, cefonicid, cefoperazona, ceforanida, cefotaxima, cefotiam, cefpimizol, cefpiramida, cefpodoxima, cefsulodin, ceftazidima, cefteteram, ceftazol, ceftibuten, ceftizoxima, ceftriazona, cefurozime, cefuzonam, cefaaceteril, cefalexina, cefaloglicina, cefaloridina, cefalotina, cefapirina, cefradina, cefmetazol, ceftaxitina, cefotetan, aztreonam, carumonam, flomoxef, moxalactama, amidinocilina, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, bencilpenicilina, carfecilina, cloxacilina, dicloxacilina, meticililina, mezlocilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, piperacilina, sulbenicilina, temocilina, ticarcilina, cefditoren, SC004, KY- 020, cefdinir, ceftibuten, FK- 312, S- 1090, CP- 0467, BK- 218, FK- 037, DQ- 2556, FK- 518, Cefozopran, ME1228, KP- 736, CP- 6232, Ro 09- 1227, OPC- 20000, LY206763, macrólidos, azitromicina, claritromicina, eritromicina, oleandomicina, rokitamicina, rosaramicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina y otros cetólidos. Quinolonas amifloxacina, cinoxacina, ciprofloxacina, enoxacina, fleroxacina, flumequina, loMefloxacina, ácido nalidixico, norfloxacina, ofloxacina, levofloxacina, ácido oxolinico, pefloxacina, difloxacina, marbofloxacina, rosoxacina, temafloxacina, tosufloxacina, esparfloxacina, clinafloxacina, trovafloxacina, alatrofloxacina, grepafloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina, gemifloxacina, nadifloxacina, PD131628, PD140248, Q- 35, AM- 1155, NM394, T- 3761, rufloxacina, OPC- 17116, DU- 6859a (identificado en Sato, K. y col., 1992, Antimicrob Agents Chemother. 37: 1491 98), DV-7751a (identificado en Tanaka, M. y col., 1992 Antimicrob Agents Chemother 37: 2212 18).

Tetraciclinas

55 Clortetraciclina, demeclocilina, doxiciclina, limeciclina, metaciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, aminoglicósidos, amikacina, arbekacina, butirosina, dibekacina, fortimicinas, gentamicina, kanamicina, netilmicina, ribostanicina, sisomicina, espectinomina, estreptomina, tobramicina, clindamicina, lincomicina.

Oxazolidinonas

60 Linezolid, Esperozolid

Se ha notificado cada uno de los anteriores compuestos en la bibliografía. También se pueden utilizar también otros compuestos antibióticos que se pueden identificar con los compuestos de chalcona de la presente invención.

65 En el contexto de la respuesta de un microorganismo, tal como una bacteria, a un agente antibiótico, el término

“susceptibilidad” se refiere a la sensibilidad del microorganismo para la presencia del agente antibiótico. De esta manera, aumentar la susceptibilidad significa que el microorganismo quedará inhibido a una concentración más baja del agente antibiótico en el medio que rodea las células microbianas. Esto es equivalente a decir que el microorganismo es más sensible al agente antibiótico. En la mayoría de los casos, la concentración inhibidora mínima (CIM) de este agente antibiótico se habrá reducido.

La presente invención caracteriza también un método para aumentar la actividad antimicrobiana de un agente antibiótico frente a un microorganismo, en el que dicho microorganismo se pone en contacto con un compuesto de chalcona de la invención, por ejemplo, un compuesto de chalcona no específico de tetraciclina, y un agente antibacteriano. De esta manera, este método hace que un agente antibiótico sea más eficaz frente a una célula que expresa una bomba de salida, o frente a una célula implicada en la formación de una biopelícula, cuando la célula se trata con la combinación de un agente antibiótico y un compuesto de chalcona. En las realizaciones concretas, el microorganismo es una bacteria o un hongo, tal como cualquiera de los descritos anteriormente, el agente antibacteriano puede seleccionarse entre numerosas clases estructurales de antibióticos que incluyen, por ejemplo, beta-lactamas, glicopéptidos, aminoglicósidos, quinolonas, tetraciclinas, rifamicinas, cumermicinas, macrólidos, y cloranfenicol. En las realizaciones concretas, un antibiótico de las clases anteriores puede ser tal como se ha indicado anteriormente.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas eficaces para el tratamiento de una infección en un animal, por ejemplo, un mamífero, por un microorganismo, tal como una bacteria o un hongo. La composición incluye un portador farmacéuticamente aceptable y un compuesto de chalcona tal como se ha descrito anteriormente. En las realizaciones preferidas, dichas composiciones contienen compuestos de chalcona que son por sí mismos antibióticos eficaces, incluso en ausencia de otros antibióticos (es decir, tienen actividad antimicrobiana intrínseca). De esta manera, la composición farmacéutica que incluye dichos compuestos de chalcona se puede utilizar tanto sola como junto a otros antibióticos.

También, en las realizaciones preferidas, los compuestos de chalcona en las composiciones farmacéuticas de este aspecto aumentan la eficacia de un agente antibiótico, de tal manera que dichas composiciones se usarían generalmente en combinación con dicho agente antibiótico diferente. La invención proporciona también composiciones farmacéuticas similarmente eficaces para el tratamiento de una infección en un mamífero, en el que las composiciones incluyen un compuesto de chalcona y un agente antibiótico. De forma similar, la invención proporciona formulaciones antimicrobianas que incluyen un agente antibiótico, un compuesto de chalcona de la invención, y un portador. En las realizaciones preferidas, el agente antibiótico es un agente antibacteriano.

Un “portador” o “excipiente” es un compuesto o material utilizado para facilitar la administración del compuesto, por ejemplo, para aumentar la solubilidad del compuesto. Los portadores sólidos incluyen, por ejemplo, almidón, lactosa, fosfato dicálcico, sacarosa, y caolín. Los portadores líquidos incluyen, por ejemplo, agua estéril, suero salino, tampones, tensioactivos no iónicos, y aceites comestibles tales como aceite, aceites de cacahuete y sésamo. Además, se pueden incluir diversos adyuvantes tales como se usan comúnmente en la técnica. Estos compuestos y otros compuestos de ese tipo se describen en la bibliografía, por ejemplo, en el Merck Index, Merck & Company, Rahway, N.J. Consideraciones para la inclusión de diversos componentes en las composiciones farmacéuticas se describen, por ejemplo, en Gilman y col. (Eds.) (1990); Goodman and Gilman’s: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8ª Ed., Pergamon Press.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para preparar una composición farmacéutica que comprende identificar un compuesto de chalcona del tipo descrito en la tabla anterior de fórmula 1-4, sintetizar el compuesto, y preparar una composición farmacéutica que contiene el compuesto. El compuesto de chalcona puede tener la estructura química que se ha descrito anteriormente. La composición farmacéutica puede contener también uno o más antibióticos, por ejemplo, como se ha identificado anteriormente, y uno o más portadores, diluyentes, y excipientes. Además, en las realizaciones preferidas, el compuesto de chalcona es activo frente a un microorganismo, por ejemplo, una bacteria, tal como se ha identificado anteriormente.

Identificación de compuestos de chalcona

La identificación de los compuestos de chalcona que tienen las estructuras descritas en la presente invención se llevó a cabo utilizando métodos de cribado conocidos por los expertos en la materia de las técnicas biológicas y se describen en detalle a continuación. Sin embargo, se pueden usar también otros métodos de cribado para detectar los inhibidores de las bombas de salida. Los inventores han cribado una biblioteca de compuestos químicos sintéticos y han identificado algunos compuestos que inhiben eficazmente las respectivas bombas de salida de *Staphylococcus aureus* 1199B (que expresa NorA en exceso), *Staphylococcus aureus* SA-K2192 (que expresa TetK en exceso), y *Staphylococcus aureus* SA-K2191 (que expresa MsrA en exceso).

El método del tablero de ajedrez

El método del tablero de ajedrez es el método usado más frecuentemente para acceder a las combinaciones antimicrobianas *in vitro*. El término “tablero de ajedrez” se refiere al modelo (de tubos o de pocillos de una placa de

microvaloración) formado por múltiples diluciones de dos fármacos que se están ensayando (Eliopoulos GM, Moellering RC. Antimicrobial Combinations, in: Antibiotics in Laboratory Medicine: USA: Williams & Wilkins). En el presente estudio, el tablero de ajedrez consistió en columnas en las que cada tubo (o pocillo) contiene la misma cantidad de fármaco normalizado (antibacteriano / antifúngico / anti-TB / antivírico) diluyéndose a lo largo del eje x e hileras en las que cada tubo (o pocillo) contiene la misma cantidad de potenciador que se está diluyendo a lo largo del eje y. Como resultado, cada casilla del tablero de ajedrez (que representa un tubo / pocillo o placa) contiene una única combinación del fármaco normalizado y el potenciador. El intervalo de concentración del fármaco normalizado en el presente estudio era de 64 µg/ml a 0,03 µg/ml, mientras que el potenciador se ensayó en el intervalo de 500 µg/ml a 0,2 µg/ml. Esta técnica del tablero de ajedrez se puede llevar a cabo con medio líquido o semisólido (agar).

En el método del agar, el agar (agar de Mueller Hinton, agar de Middlebrook 7H10) se autoclavó y se dejó enfriar hasta de 55° C a 50° C. La combinación del fármaco normalizado y el potenciador se añadió al agar. Se prepararon diluciones de 2 veces en serie de cada uno del fármaco normalizado y el potenciador en disolventes adecuados. A fin de mantener las concentraciones deseadas de agar y fármacos, y de descartar el efecto del disolvente, el volumen del disolvente (que contenía el fármaco normalizado o el potenciador) añadido al agar se mantuvo bajo (es decir ≤ 5% del volumen total). Después que las placas de agar se han vertido y dejado secar, se aplicaron las bacterias que se iban a ensayar a la superficie del agar con un dispositivo de repicado diseñado para suministrar un inóculo normalizado (aprox. 10⁴ ufc/mancha). Se incubaron las placas a 37° C durante 24 h (3 semanas en el caso de *Mycobacterium tuberculosis*).

Método del caldo:

Se llevó a cabo también el método del tablero de ajedrez anteriormente mencionado con medio líquido en un formato de placa de microvaloración. Se usó este método para estudiar la combinación de fármacos antibacterianos / antifúngicos / antivíricos con el potenciador.

Cribado de compuestos de chalcona in vivo

Los inhibidores de las bombas de salida bacterianas se caracterizaron inicialmente de forma general *in vitro*. Los que mostraron una inhibición eficaz de la(s) bomba(s) y los que muestran actividad sinérgica con los antibióticos se seleccionaron para su evaluación in vivo. Se llevó a cabo el ensayo de la eficacia utilizando métodos normalizados. Se puede llevar a cabo la evaluación de la eficacia primaria utilizando el modelo de la septicemia de murino (Yun y col. Journal of Antimicrob. Chemother., 2002, 46: 3071-3074). En este modelo se utilizó una dosis supralethal de bacterias para estimular los roedores. El tratamiento se inició, variando tanto el(los) tiempo(s) de tratamiento como la dosis de antibiótico. En estos experimentos se variaron las dosis del antibiótico y del inhibidor de la bomba de salida. Se indicó un resultado positivo por el aumento significativo en la protección respecto de la infección letal mediante la combinación del potenciador (el inhibidor de la bomba de salida) y el antibiótico frente al antibiótico solo.

Composiciones farmacéuticas y modos de administración

El compuesto concreto identificado anteriormente se puede administrar a un paciente tanto por sí mismo, como en combinación con un agente antibiótico, por ejemplo, un agente antibacteriano, o en composiciones farmacéuticas en las que se mezcla con un portador(es) o excipiente(s) o diluyente(s) adecuado(s). Una combinación de un compuesto de chalcona con un agente antibiótico puede ser de al menos dos tipos diferentes. En uno, una cantidad de compuesto de chalcona se combina con una cantidad de un agente antibiótico en una mezcla, por ejemplo, en una disolución o mezcla pulverulenta. En dichas mezclas, las cantidades relativas del compuesto de chalcona y del agente antibiótico se pueden variar según sea adecuado para la combinación específica y el tratamiento esperado. En un segundo tipo de combinación, un compuesto de chalcona y un agente antibiótico se pueden unir covalentemente de tal manera que las moléculas unidas se pueden escindir en el interior de la célula. Sin embargo, el término "en combinación" se puede referir también a otras posibilidades, entre las que se incluyen la administración en serie de un compuesto de chalcona y de otro agente antibiótico. Además, un compuesto de chalcona y/u otro agente antibiótico se pueden administrar en forma de profármacos, es decir, el compuesto se administra en una forma que se modifica en el interior de la célula para producir la forma funcional. Para el tratamiento de un paciente que presenta un trastorno de interés, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente o agentes tales como los citados. Una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a la cantidad del(de los) compuesto(s) que da como resultado la mejora de los síntomas o una prolongación de la supervivencia en un paciente, y puede incluir la eliminación de una infección microbiana.

Se puede determinar la toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos compuestos mediante métodos farmacéuticos normalizados en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para la determinación de la DL₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE₅₀ (la dosis terapéutica eficaz en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como el cociente DL₅₀/DE₅₀. Se prefieren los compuestos que presentan grandes índices terapéuticos. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivos celulares y en estudios animales se pueden usar en la formulación de un intervalo de dosificación para el uso en un ser humano. La dosificación de dichos compuestos se basa preferentemente en un intervalo de concentraciones en circulación que incluye la DE₅₀ con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede

variar en este intervalo dependiendo de la dosificación y de la forma farmacéutica empleadas, así como de la ruta de administración utilizada. Es preferible que la concentración terapéutica en suero de un compuesto de chalcona esté en el intervalo de 0,1 a 100 mcg/ml.

5 En el caso de composiciones dentífricas o para el cuidado bucal, los compuestos descritos en el presente documento se pueden administrar con un agente antibacteriano, agente antiplaca, agente anticálculo, agente
 10 antisarro, y otros agentes activos adecuados para el cuidado bucal, así como las combinaciones de estos agentes activos. Las composiciones pueden estar en la forma de una pasta de dientes, un polvo para dientes, gel, enjuague, comprimido masticable, goma de mascar, película, y similares. Se puede usar cualquier agente antibacteriano
 15 adecuado, incluyendo agentes antibacterianos naturales, agentes sintéticos, y similares. Las composiciones dentífricas contienen normalmente un agente antibacteriano, un compuesto de chalcona, un abrasivo, un humectante, y un portador oralmente aceptable: Las cantidades respectivas de los componentes pueden variar, y las personas que son normalmente expertas en la materia son capaces de formular composiciones dentífricas
 20 adecuadas utilizando las directrices proporcionadas en el presente documento.

15 El agente antibiótico en la composición de acuerdo con la presente invención no está particularmente limitado, y se puede seleccionar entre difenil éter halogenado (triclosan), extractos herbales o aceites esenciales (por ejemplo, extracto de romero, timol, mentol, eucaliptol, salicilato de metilo), antisépticos de bisguanida (por ejemplo, clorhexidina, alexidina, u octenidina), antisépticos fenólicos, hexetidina, povidona yodada, delmopinol, saliflúor, iones
 20 metálicos y sus sales (por ejemplo, cloruro de cinc, lactato de cinc, citrato de cinc, óxido de cinc, fluoruro estannoso, y cloruro estannoso), sanguinarina, propolis, agentes oxigenantes (por ejemplo, peróxido de hidrógeno, peroxiborato de sodio tamponado, o peroxicarbonato), cloruro de cetil piridinio, extracto de magnolia, magnolol, honokiol, 5,5'-dibutil-2,2'-diol, propil honokiol, ésteres de ácido borínico, y sus mezclas. Se pueden incluir agentes antiunión tales como Solrol, así como agentes dispersantes de la placa tales como enzimas (papaina, glucoamilasa, etc.).

25 Los presentes inventores han descubierto que el uso de los compuestos de chalcona de la invención, en combinación con los antibióticos, puede aumentar significativamente la eficacia del agente antibiótico. Aumentar la eficacia puede dar como resultado el uso de concentraciones más bajas de antibióticos para alcanzar el mismo o similar efecto conseguido cuando el agente microbiano se usa solo. Se puede reducir la cantidad de agente
 30 microbiano dondequiera entre un 10% y más de un 50% de su concentración cuando se usa solo, sin el compuesto de chalcona de la invención, preferentemente entre un 10% y un 75%, de forma más preferente entre aproximadamente un 10% a aproximadamente un 50%.

35 En una realización, tal como se muestra en detalle en otra parte en el presente documento, la combinación de un compuesto de chalcona, preferentemente 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxifenil)-1-fenil-prop-2-eno-1-ona, y un agente antibiótico proporciona un efecto sinérgico sobre la inhibición de la formación de la biopelícula y/o la degradación de la biopelícula. Los presentes inventores han encontrado una sorprendente reducción en la concentración de erradicación de la biopelícula (CEB₅₀), que es la concentración más baja a la cual se observa más del 50% de reducción de la biomasa con respecto al control. La CEB₅₀ del compuesto de chalcona y los agentes microbianos es
 40 más baja cuando se ensayan junto con la inhibición de la biopelícula en comparación que cuando se ensayan por separado.

45 De acuerdo con esto, en una realización preferida, el compuesto de chalcona tiene una CEB₅₀ en presencia del agente antibiótico de 50% o menos, de forma más preferente 30% o menos, lo más preferente 25% o menos, en comparación con la CEB₅₀ del compuesto de chalcona sin presencia del agente antibiótico. El compuesto de chalcona tiene preferentemente una CEB₅₀ en presencia del agente antibiótico de 0,1 ppm a 40 ppm, de forma más preferente 0,2 ppm a 30 ppm, de forma más preferente 0,2 ppm a 30 ppm.

50 En una realización preferida, el agente antibiótico tiene una CEB₅₀ en presencia del compuesto de chalcona del 75% o menos, de forma más preferente, del 50% o menos, en comparación con la CEB₅₀ del agente antibiótico solo (no en presencia del compuesto de chalcona). La CEB₅₀ del agente antibiótico en presencia del compuesto de chalcona depende del agente antibiótico específico utilizado en la composición. El agente antibiótico puede tener normalmente una CEB₅₀ de 30 ppm o menos en presencia del compuesto de chalcona. El agente microbiano tiene preferentemente una CEB₅₀ tiene preferentemente una CEB₅₀ de 20 ppm o menos, de forma más preferente 6 ppm o
 55 menos, de forma más preferente 2 ppm o menos en presencia del compuesto de chalcona. En una realización, donde el agente antibiótico es triclosan, triclosan tiene una CEB₅₀ de entre 5 ppm a 3 ppm en presencia del compuesto de chalcona, de forma más preferente una CEB₅₀ de 0,75 ppm a 1,5 ppm, mientras que la CEB₅₀ de triclosan solo está en el intervalo de entre aproximadamente 1,5 a aproximadamente 2,5 ppm.

60 En diversas realizaciones de la presente invención donde el portador de la composición para el cuidado bucal está en forma de sólido o de una pasta, la composición oral comprende preferentemente un material abrasivo dentalmente aceptable, que sirve tanto para pulimentar el esmalte dental como para proporcionar un efecto blanqueador. Los ejemplos no limitantes incluyen abrasivos de sílice tales como geles de sílice y sílices precipitadas. Las realizaciones comerciales incluyen ZEODENT® 115, comercializado por J. M. Huber, Edison, Nueva Jersey, Estados Unidos de América, y SYLODENT® XWA, SYLODENT® 783 o SYLODENT® 650 XWA de la Davison
 65 Chemical Division de W. R. Grace & Co., Nueva York, Nueva York, Estados Unidos de América, y los abrasivos de

silíce SORBOSIL®, comercializados por PQ Corporation, Malvern, PA, Estados Unidos de América. Otros abrasivos dentífricos útiles incluyen, sin limitación, metafosfato de sodio, metafosfato de potasio, fosfato tricálcico, fosfato dicálcico dihidratado, silicato de aluminio, alúmina calcinada, bentonita u otros materiales silíceos, o sus combinaciones.

5 El abrasivo está presente en una cantidad eficaz. En las realizaciones donde la composición oral está en una forma de sólido o pasta, el material abrasivo está generalmente presente de aproximadamente un 10% a aproximadamente un 99% de la composición oral. En determinadas realizaciones, el material de pulimentado está presente en cantidades que varían de aproximadamente un 10% a aproximadamente un 75% (por ejemplo, aproximadamente un 10% a aproximadamente un 40% o aproximadamente un 15% a aproximadamente un 30%) en la pasta de dientes, y entre aproximadamente un 70% a aproximadamente un 99% del polvo dentífrico.

15 En una realización más adicional, una composición de la invención comprende al menos un humectante, útil por ejemplo para evitar el endurecimiento de la pasta de dientes tras su exposición al aire. Se puede usar cualquier humectante oralmente aceptable, incluyendo, sin limitación, alcoholes polihídricos tales como glicerina, sorbitol, xilitol, y PEG de bajo peso molecular. La mayoría de los humectantes funciona también como endulzante. Uno o más humectantes están opcionalmente presentes en una cantidad total de aproximadamente un 1% a aproximadamente un 70%, por ejemplo aproximadamente un 1% a aproximadamente un 50%, aproximadamente un 2% a aproximadamente un 25%, o aproximadamente un 55 a aproximadamente un 15% en peso de la composición.

20 En una realización más adicional, una composición de la invención comprende al menos un tensioactivo, útil por ejemplo para compatibilizar otros componentes de la composición y proporcionar de esta forma un aumento de la estabilidad, para ayudar en la limpieza de la superficie dental a través de la detergencia, y para proporcionar espuma tras la agitación, por ejemplo, durante el cepillado con una composición dentífrica de la invención. Se puede usar cualquier tensioactivo oralmente aceptable, la mayoría de los cuales son aniónicos, no iónicos o anfóteros. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen, sin limitación, sales solubles en agua de alquil C₈₋₂₀ sulfatos, monoglicéridos sulfonados de ácidos grasos C₈₋₂₀, sarcosinatos, tauratos, y similares. Los ejemplos ilustrativos de estas y otras clases incluyen lauril sulfato de sodio, coco monoglicérido sulfonato de sodio, lauril sarcosinato de sodio, lauril isetonato de sodio, laureth carboxilato de sodio y dodecil bencenosulfonato de sodio. Los tensioactivos no iónicos adecuados incluyen, sin limitación poloxámeros, ésteres de polioxietileno sorbitán, etoxilatos de alcoholes grasos, etoxilatos de alquilfenol, óxidos de aminas terciarias, óxidos de fosfinas terciarias, dialquilsulfóxidos y similares. Los tensioactivos anfóteros adecuados incluyen, sin limitación, derivados de aminas secundarias y terciarias C₈₋₂₀ alifáticas que tienen un grupo aniónico tal como carboxilato, sulfato, sulfonato, fosfato o fosfonato. Un ejemplo adecuado es la cocoamidopropil betaína. Están opcionalmente presentes uno o más tensioactivos en una cantidad total de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 10%, por ejemplo, aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% o aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2% en peso de la composición.

40 En otra realización, la composición comprende un agente anticáculos oralmente aceptable. Uno o más de dichos agentes puede estar presente. Los agentes anticáculos adecuados incluyen, sin limitación fosfatos y polifosfatos (por ejemplo, pirofosfatos), ácido poliamino propanosulfónico (AMPS), citrato de cinc trihidrato, polipéptidos como ácidos poliaspártico y poliglutámico, sulfonatos de poliolefina, fosfatos de poliolefina, difosfonatos tales como azacicloalcano-2,2-difosfonatos (por ejemplo, ácido azacicloheptano -2,2-difosfónico, ácido N-metil azaciclopentano-2,3-difosfónico, (EHDP) y ácidos etano-1-amino-1,1-difosfonato, ácidos fosfonoalcano carboxílicos y las sales de cualquiera de estos agentes, por ejemplo, las sales de metales alcalinos y las sales de amonio. Las sales de fosfato y polifosfato inorgánicas útiles incluyen, de manera ilustrativa, fosfatos de sodio monobásicos, dibásicos y tribásicos, tripolifosfato de sodio (STPP), tetrapolifosfatos, pirofosfatos de mono, di, tri y tetrasodio, dihidrógeno pirofosfato de disodio, trimetafosfato de sodio, hexametafosfato de sodio y similares, donde el sodio puede sustituirse opcionalmente por potasio o amonio. Otros agentes anticáculos útiles incluyen polímeros de policarboxilato. Estos incluyen polímeros o copolímeros de monómeros que contienen grupos de ácido carboxílico, tales como ácido acrílico, ácido metacrílico, y ácido o anhídrido maleico. Los ejemplos no limitantes incluyen copolímeros de polivinil metil éter / anhídrido maleico (PVME/MA), tales como los disponibles bajo la marca GANTREZ® de ISP, Wayne, Nueva Jersey, Estados Unidos de América. Otros agentes anticáculos útiles adicionales incluyen agentes secuestrantes que incluyen ácidos hidroxicarboxílicos tales como ácidos cítrico, fumárico, málico, glutárico y oxálico y sus sales, y ácidos aminopolicarboxílicos tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Uno o más agentes anticáculos están opcionalmente presentes en la composición en una cantidad total eficaz anticáculos de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 50%, por ejemplo de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 25% o de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 15% en peso.

60 En diversas realizaciones, el sistema anticáculos comprende una mezcla de tripolifosfato de sodio (STPP) y un pirofosfato de tetrasodio (TSPP). En diversas realizaciones, la relación de TSPP a STPP varía desde aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:4. En una realización preferida, el primer principio activo anticáculos, TSPP está presente de aproximadamente 1 a aproximadamente 2,5% y el segundo principio activo anticáculos, STPP está presente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10%.

65 En diversas realizaciones, el sistema anticáculos comprende además un polímero de policarboxilato aniónico sintético. En una realización, el policarboxilato aniónico sintético está presente entre aproximadamente 0,1% y

aproximadamente 5%. En otra realización, el policarboxilato aniónico sintético está presente entre aproximadamente 0,5% a aproximadamente 1,5%, lo más preferentes a aproximadamente 1% de la composición para el cuidado bucal. En una realización de acuerdo con la presente invención, el sistema anticálculos comprende un copolímero de anhídrido maleico y metil vinil éter, tal como, por ejemplo, el producto GANTREZ® S-97 descrito anteriormente.

5 En diversas realizaciones, la relación de TSPP a STPP al policarboxilato aniónico sintético varía entre aproximadamente 5:10:1 y aproximadamente 5:20:10 (o 1:4:2). En una realización, el sistema anticálculos de la composición para el cuidado bucal comprende TSPP, STPP, y un policarboxilato tal como un copolímero de anhídrido maleico y metil vinil éter a una relación de aproximadamente 1:7:1. En una realización no limitante, el sistema anticálculos consiste esencialmente en TSPP presente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2,5%, STPP presente de aproximadamente 1% a aproximadamente 10%, y un copolímero de anhídrido maleico y metil vinil éter presente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 1,5%.

15 En una realización más adicional, una composición de la invención comprende al menos un agente espesante, útil por ejemplo, para impartir una consistencia deseada y/o una sensación en boca a la composición. Se puede usar cualquier agente espesante oralmente aceptable, incluyendo sin limitación carbómeros, conocidos también como polímeros de carboxivinilo, carragenatos, conocidos también como musgo de Irlanda y más concretamente carragenato- τ (carragenato iota), polímeros celulósicos tales como hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa (CMC) y sus sales, por ejemplo CMC de sodio, gomas naturales tales como karaya, goma xantana, goma arábiga y tragacanto, silicato de aluminio magnesio coloidal, sílice coloidal y similares. Uno o más agentes espesantes están opcionalmente presentes en una cantidad total de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 15%, por ejemplo aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% o aproximadamente 0,2% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

25 En una realización más adicional, una composición de la invención comprende al menos un modificador de la viscosidad, útil por ejemplo, para inhibir la sedimentación o la separación de ingredientes o para promover la redispersabilidad tras la agitación de una composición líquida. Se puede usar cualquier modificador de la viscosidad oralmente aceptable, incluyendo, sin limitación, aceite mineral, vaselina, arcillas y arcillas organomodificadas, sílice, y similares. Uno o más modificadores de la viscosidad están opcionalmente presentes en una cantidad total de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 10%, por ejemplo aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

35 En otra realización, la composición comprende una fuente de iones fluoruro oralmente aceptable. Puede estar presente una o más de dichas fuentes. Las fuentes adecuadas de iones fluoruro incluyen sales fluoruro, de monofluorofosfato y fluorosilicatos, y fluoruros de amina, que incluyen olaflur (difluoridrato de N'-octadeciltrimetilendiamina-N,N,N'-tris (2-etanol)). Se puede usar cualquiera de dichas sales que sea oralmente aceptable, incluyendo, sin limitación, las sales de metales alcalinos (por ejemplo, potasio, sodio) amonio, estannosas y de indio, y similares. Se usan normalmente sales liberadoras de fluoruro solubles en agua. Una o más sales liberadoras de fluoruro están opcionalmente presentes en una cantidad que proporciona un total de aproximadamente 100 a aproximadamente 20.000 ppm, de aproximadamente 200 a aproximadamente 5.000 ppm, o de aproximadamente 500 a aproximadamente 2.500 ppm, iones fluoruro. Cuando el fluoruro de sodio es la única sal liberadora de fluoruro presente, de forma ilustrativa, una cantidad de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 5%, aproximadamente 0,05% a aproximadamente 1% o aproximadamente 0,1% a aproximadamente 0,5%, de fluoruro de sodio en peso puede estar presente en la composición.

45 Otros componentes incluyen, sin limitación, aromatizantes, colorantes, y otros principios activos tales como agentes antioxidantes y antiinflamación. Los componentes se formulan en composiciones orales de acuerdo con métodos conocidos.

50 Las pastas y geles dentales contienen cantidades principales de humectantes y usualmente un compuesto o compuestos abrasivos para la limpieza de los dientes. Se formulan con diversos principios activos, tales como agentes anticaries, compuestos antiplaca, agentes antiinflamación, y similares, además de un compuesto antibacteriano y un inhibidor de la bomba de salida.

55 Los enjuagues bucales y los lavados bucales contienen inhibidores de la bomba de salida y agentes antibacterianos en un portador líquido tal como agua o agua/etanol. En general, la composición contiene una cantidad principal de disolvente, hasta un 98 o 99% en peso. El compuesto activo (I) se formula opcionalmente junto con tensioactivos, colorantes, aromatizantes, y otros principios activos.

60 El portador o vehículo oralmente aceptable en una perla o comprimido masticable es un alcohol polihídrico sólido soluble en agua (poliol) no cariogénico, tal como manitol, xilitol, sorbitol, maltitol, hidrolizado de almidón hidrogenado, glucosa hidrogenada, disacáridos hidrogenados, polisacáridos hidrogenados, y similares, en una cantidad de aproximadamente 85% a aproximadamente 95% de la composición total. Se pueden incorporar emulsionantes tales como glicerina, y lubricantes en forma de comprimidos, en cantidades menores de aproximadamente 0,1% a 5% en la formulación de comprimido, perla o comprimido masticable para facilitar la preparación de las perlas en forma de comprimido y de los comprimidos masticables. Los lubricantes adecuados incluyen aceites vegetales tales como

65

aceite de coco, estearato de magnesio, estearato de aluminio, talco, almidón y Carbowax. Las gomas no cariogénicas adecuadas incluyen carragenatos kappa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, y similares.

5 El comprimido masticable, perla o comprimido puede revestirse opcionalmente con un material de revestimiento tal como ceras, shellac, carboximetilcelulosa, copolímero de polietileno/anhídrido maleico o carragenato kappa para aumentar adicionalmente el tiempo que tarda el comprimido o comprimido masticable en disolverse en la boca. El comprimido o comprimido masticable no revestido se disuelve lentamente, proporcionando una velocidad de liberación continua de los principios activos de aproximadamente 3 a 5 minutos. De acuerdo con estos, las composiciones del comprimido, perla y comprimido masticable de la dosis del sólido de esta realización da como resultado un periodo de tiempo de contacto del diente en la cavidad oral relativamente más largo con el compuesto antibacteriano y el inhibidor de la bomba de salida de la presente invención.

15 Las formulaciones para goma de mascar contienen normalmente una base de goma de mascar, uno o más agentes plastificantes, al menos un agente endulzante y al menos un agente aromatizante, además de un compuesto antibacteriano y compuestos inhibidores de la bomba de salida. Es preferible una goma sin azúcar.

20 Los materiales con base de goma son bien conocidos en la técnica e incluyen bases de goma naturales o sintéticas de los mismos. Las gomas o elastómeros naturales representativas incluyen chicle, caucho natural, jelutong, balata, gutapercha, leche caspi, serbal, guttakay, goma corona, y perillo. Las gomas o elastómeros sintéticos representativos incluyen copolímeros de butadieno-estireno, copolímeros de poliisobutileno e isobutileno-isopreno. La base de goma se incorpora al producto de goma de mascar a una concentración de aproximadamente un 10% a aproximadamente un 40% y de forma preferente de aproximadamente 20% a aproximadamente 35%.

25 Los agentes plastificantes/de ablandamiento incluyen, sin limitación, gelatina, ceras y sus mezclas en cantidades de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5%. El ingrediente de agente endulzante utilizado en la práctica de la presente invención se puede seleccionar entre una amplia variedad de materiales, e incluye los mismos endulzantes artificiales y de poliol utilizados para la preparación de comprimidos, perlas y comprimidos masticables. Los endulzantes de poliol tales como sorbitol y maltitol están presentes en la composición de la goma de mascar de la presente invención en cantidades de aproximadamente 40% a aproximadamente 80% y preferentemente de aproximadamente 50% a aproximadamente 75%. En una realización no limitante, en la composición de la goma de mascar de la presente invención está presente un endulzante artificial en cantidades de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2% y preferentemente aproximadamente 0,3% a aproximadamente 1%.

35 Ejemplo 1

Preparación de 3-(4"-Hidroxi-3"-metoxi-fenil)-1-(2'-hidroxi-5'-metoxi-fenil)-prop-2-en-1-ona (**CK-1**)

40 Se añadieron 2-Hidroxi-5-metoxi acetofenona (10 g, 0,06 mol) y 3-metoxi-4-hidroxi benzaldehído (10 g, 0,06 mol) a la disolución de 6 g de hidróxido de sodio en 30 ml de agua estilada en un matraz de fondo redondo de 250 ml a 0°C. La temperatura de reacción se mantuvo por debajo de 15°C con agitación ocasional durante 200 h. La mezcla de reacción se neutralizó con una disolución acuosa de HCl al 5% en condiciones de enfriamiento con hielo. La mezcla neutralizada se extrajo con cloroformo y se purificó mediante cromatografía en columna usando gel de sílice para obtener 2, p.f. 121,5°C,

45 RMN ¹H: δ 3,84 (s, 3H), δ 3,97 (s, 3H), δ 6,96 (m, 2H), δ 7,14 (m, 2H), δ 7,24 (d, 1H), δ 7,39 (bs, 1H), δ 7,44 (d, 1H), J= 15,31 Hz), δ 7,86 (d, 1H, J= 15,31 Hz).

Ejemplo 2

50 Preparación de 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4)

55 Se añadió 3-metoxi-4-hidroxibenzaldehído (20 g, 0,132 mol) a la disolución de acetofenona (20 g, 0,125 mol) disuelta en disuelta en ácido acético (20 ml) en un matraz de fondo redondo con agitación constante. La temperatura de reacción se mantuvo por debajo de 15°C con agitación ocasional durante 200 h. La mezcla de reacción se vertió sobre agua enfriada con hielo y el producto se extrajo con cloroformo. El extracto de cloroformo se destiló a presión reducida y el residuo se cromatografió en gel de SiO₂ para obtener 1. p.f. 91°C

60 RMN ¹H: δ 3,94 (s, 3H), δ 6,96 (d, 1H, J= 8,11 Hz), δ 7,13 (d, 1H, J= 1,78 Hz), δ 7,22 (dd, 1H, J= 8,11 Hz y 1,78 Hz), δ 7,37 (d, 1H, J= 15,30 Hz), δ 7,50 (m, 2H), δ 7,57 (m, 1H), δ 7,75 (d, 1H, J= 15,30 Hz), δ 8,01 (m, 2H) .

Ejemplo 3

Preparación de 3-(2", 3"-Dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-en-1-ona (CK-14)

65 Se añadió 2,3-dimetoxibenzaldehído (4,69 g, 0,018 mol) a la disolución de 2-acetilfurano (2 g, 0,018 mol) en metanol (10 ml) en un matraz de fondo redondo. A esta disolución se añadió una disolución acuosa de NaOH al 10% (4 ml)

con agitación. La temperatura de reacción se mantuvo por debajo de 15°C y la agitación continuó durante 24 h. La mezcla de reacción se vertió a continuación en agua enfriada con hielo con agitación intensa y el producto se filtró. La recristalización del producto se llevó a cabo con etanol. p.f. 109,8°C

- 5 RMN ¹H: δ 3,80 (s, 3H), δ 3,88 (s, 3H), δ 6,69 (dd, 1H, J=3,56 y 1,99 Hz), δ 7,00 (bs, 3H), δ 7,54 (bs, 1H), δ 7,60 (d, 1H, J=15,80Hz), δ 7,84 (bs, 1H), 8,14 (d, 1H, J= 15,80Hz).

Ejemplo 4

- 10 Preparación de 3-(2", 5"-dimetoxi-fenil)-1 -(1H-pirrol-2-il)-prop-2-en-1-ona (CK-16).

Se añadió 2,5-dimetoxibenzaldehído (0,76 g, 0,004mol) a la disolución de 2-acetilpirrol (0,5 g, 0,004 mol) en metanol (10 ml) en un matraz de fondo redondo de 100 ml. b. A esta disolución se añadió una disolución acuosa de NaOH al 10% (2 ml) con agitación. La temperatura de reacción se mantuvo por debajo de 15°C y la agitación continuó durante 15 h. La mezcla de reacción se vertió a continuación en agua enfriada con hielo con agitación intensa y el producto se filtró. La recristalización del producto se llevó a cabo con acetato de etilo. p.f. 122,6°C

- 15

RMN ¹H: δ3,86 (s, 6H), δ6,35 (bs, 1H), δ 6,96 (d, 1H, J=6,35 Hz), δ 7,17 (m, 3H), δ7,28 (bs, 1H), δ 7,42 (d, 1H, J=15,90 Hz), δ 8,11 (d, 1H, J=15,90 Hz).

20

Ejemplo 5

Disminución en la CIM de ciprofloxacina contra *Staphylococcus aureus* 1199B (expresión en exceso de NorA) cuando se utilizó combinada con 3-(4'-hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4)

25

La disminución en la concentración inhibidora mínima (CIM) de ciprofloxacina sola y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Staphylococcus aureus* 1199B, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de hasta dieciséis veces en la CIM de ciprofloxacina combinada con el compuesto de chalcona a 50 µg/ml (Tabla 1).

30

Tabla- 1.

CIM de ciprofloxacina sola y en combinación con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4) contra <i>Staphylococcus aureus</i> 1199B (expresión en exceso de Nor A)	
Conc de (CK-4) (µg/ml)	CIM (µg/ml) de ciprofloxacina para <i>Staphylococcus aureus</i> 1199B
-	8,0
6,25	4,0
12,5	2,0
25,0	1,0
50,0	0,5

Ejemplo 6

35

Disminución en la CIM de tetraciclina contra *Staphylococcus aureus* SA-K2192 (expresión en exceso de TetK) cuando se utilizó combinada con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4).

40

La disminución en la concentración inhibidora mínima (CIM) de tetraciclina sola y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Staphylococcus aureus* SA-K2192, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de hasta ocho veces en la CIM de tetraciclina combinada con el compuesto de chalcona a 50 µ g/ml (Tabla 2).

Tabla- 2.

CIM de tetraciclina sola y en combinación con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4) contra <i>Staphylococcus aureus</i> SA-K2192 (expresión en exceso de TetK)	
Conc de (CK-4) (µg/ml)	CIM (µg/ml) de tetraciclina para <i>Staphylococcus aureus</i> SA-K2192
-	32
6,25	32
12,5	16
25,0	8,0
50,0	4,0

Ejemplo 7

5 Disminución en la CIM de tetraciclina contra *Staphylococcus aureus* SA-K2191 (expresión en exceso de MsrA) cuando se utilizó combinada con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4).

10 La disminución en la concentración inhibidora mínima (CIM) de eritromicina sola y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Staphylococcus aureus* SA-K2191, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de hasta ocho veces en la CIM de eritromicina combinada con el compuesto de chalcona a 50 µg/ml (Tabla 3).

Tabla- 3.

CIM de eritromicina sola y en combinación con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4) contra <i>Staphylococcus aureus</i> SA-K2191 (expresión en exceso de MsrA)	
Conc de (CK-4) (µg/ml)	CIM (µg/ml) de eritromicina para <i>Staphylococcus aureus</i> SA-K2191
-	64
6,25	64
12,5	32
25,0	16
50,0	8,0

Ejemplo 8

20 Disminución en la CIM de ciprofloxacina contra *Staphylococcus aureus* 1199B (Expresión en exceso de NorA) cuando se utilizó combinada con 3-(2", 3"-Dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-en-1-ona (CK-14)

25 La disminución en la concentración inhibidora mínima (CIM) de ciprofloxacina sola y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Staphylococcus aureus* 1199B, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de hasta ocho veces en la CIM de ciprofloxacina combinada con el compuesto de chalcona a 50 µ g/ml (Tabla 4).

Tabla- 4.

CIM de ciprofloxacina sola y en combinación con 3-(2", 3"-Dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-en-1-ona (CK-14) contra <i>Staphylococcus aureus</i> 1199B (expresión en exceso de Nor A)	
Conc de (CK-4) (µg/ml)	CIM (µg/ml) de ciprofloxacina para <i>Staphylococcus aureus</i> 1199B
-	8,0
6,25	8,0
12,5	4,0
25,0	2,0
50,0	1,0

Ejemplo 9

30 Disminución en la CIM de tetraciclina contra *Staphylococcus aureus* SA-K2192 (expresión en exceso de TetK) cuando se utilizó combinada con 3-(2", 3"-Dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-en-1-ona (CK-14)

35 La disminución en la concentración inhibidora mínima (CIM) de tetraciclina sola y en combinación con el compuesto

de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Staphylococcus aureus* SA-K2192, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de hasta cuatro veces en la CIM de tetraciclina combinada con el compuesto de chalcona a 50 µg/ml (Tabla 5).

5

Tabla- 5.

CIM de tetraciclina sola y en combinación con 3-(2", 3"-Dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-en-1-ona (CK-14) contra <i>Staphylococcus aureus</i> SA-K2192 (expresión en exceso de TetK)	
Conc de (CK-4) (µg/ml)	CIM (µg/ml) de tetraciclina para <i>Staphylococcus aureus</i> SA-K2192
-	32
6,25	32
12,5	16
25,0	16
50,0	8,0

Ejemplo 10

10 Disminución en la CIM de tetraciclina contra *Staphylococcus aureus* SA-K2191 (expresión en exceso de MsrA) cuando se utilizó combinada con 3-(2", 3"-Dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-en-1-ona (CK-14)

La disminución en la concentración inhibidora mínima (CIM) de eritromicina sola y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Staphylococcus aureus* SA-K2191, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de hasta cuatro veces en la CIM de eritromicina combinada con el compuesto de chalcona a 50 µg/ml (Tabla 6).

15

Tabla- 6.

CIM de eritromicina sola y en combinación con 3-(2", 3"-Dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-en-1-ona (CK-14) contra <i>Staphylococcus aureus</i> SA-K2191 (expresión en exceso de MsrA)	
Conc de (CK-4) (µg/ml)	CIM (µg/ml) de eritromicina para <i>Staphylococcus aureus</i> SA-K2191
-	64
6,25	64
12,5	32
25,0	32
50,0	16

20

Ejemplo 11

Potenciación de la actividad de Triclosan contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum* cuando se utilizó combinado con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4).

25

La disminución en la concentración inhibidora mínima (CIM) de triclosan solo y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum*, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de cuatro a ocho veces en la CIM de triclosan combinado con el compuesto de chalcona (Tabla 7).

30

Tabla-7

CIM de triclosan solo y en combinación con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4) contra <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> y <i>Fusobacterium nucleatum</i> .				
Organismos	CIM (µg/ml) de Triclosan			
	Solo	Con CK-4 (µg/ml)		
		6,25	12,5	25
<i>S. mutans</i>	4,0	2,0	1,0	0,5
<i>A. viscosus</i>	4,0	2,0	1,0	0,5
<i>F. nucleatum</i>	2,0	1,0	1,0	0,5

Ejemplo 12

Potenciación de la actividad de magnolol contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum* cuando se utilizó combinado con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4)

La disminución en la concentración inhibitoria mínima (CIM) de magnolol solo y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum*, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de hasta dieciséis veces en la CIM de magnolol combinado con el compuesto de chalcona (Tabla 8).

Tabla-8

CIM de magnolol solo y en combinación con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4) contra <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> y <i>Fusobacterium nucleatum</i> .				
Organismos	CIM ($\mu\text{g/ml}$) de Magnolol			
	Solo	Con CK-4 ($\mu\text{g/ml}$)		
		6,25	12,5	25
<i>S. mutans</i>	4,0	2,0	1,0	0,5
<i>A. viscosus</i>	4,0	1,0	0,5	0,25
<i>F. nucleatum</i>	2,0	1,0	1,0	0,5

Ejemplo 13

Potenciación de la actividad de 5,5'-dibutilbifenil-2,2'-diol contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum* cuando se utilizó combinado con 3-(4'-hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4)

La disminución en la concentración inhibitoria mínima (CIM) de 5, 5'-dibutilbifenil-2, 2'-diol solo y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum*, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de entre dos y cuatro veces en la CIM de 5,5'-dibutilbifenil-2, 2'-diol combinado con el compuesto de chalcona (Tabla 9).

Tabla-9

CIM de 5,5'-dibutilbifenil-2,2'-diol solo y en combinación con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4) contra <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> y <i>Fusobacterium nucleatum</i> .				
Organismos	CIM ($\mu\text{g/ml}$) de Butil magnolol			
	Solo	Con CK-4 ($\mu\text{g/ml}$)		
		6,25	12,5	25
<i>S. mutans</i>	4,0	4,0	2,0	1,0
<i>A. viscosus</i>	4,0	4,0	2,0	1,0
<i>F. nucleatum</i>	2,0	2,0	2,0	1,0

Ejemplo 14

Potenciación de la actividad de Honokiol contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum* cuando se utilizó combinada con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4).

La disminución en la concentración inhibitoria mínima (CIM) de honokiol solo y en combinación con el compuesto de chalcona anteriormente mencionado se llevó a cabo contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum*, usando el método descrito en el diseño del estudio. Se observó una reducción de entre cuatro y ocho veces en la CIM de honokiol combinado con el compuesto de chalcona (Tabla 10).

Tabla-10

CIM de honokiol sola y en combinación con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4) contra <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> y <i>Fusobacterium nucleatum</i> .				
Organismos	CIM ($\mu\text{g/ml}$) de Honokiol			
	Solo	Con CK-4 ($\mu\text{g/ml}$)		
		6,25	12,5	25
<i>S. mutans</i>	4,0	2,0	1,0	0,5
<i>A. viscosus</i>	4,0	2,0	1,0	0,5
<i>F. nucleatum</i>	2,0	1,0	1,0	0,5

5 Reducción en la dosis necesaria de ciprofloxacina cuando se utilizó combinada con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4) en un modelo de infección sistémica en ratón.

10 El estudio se llevó a cabo para observar la respuesta *in vivo* de ciprofloxacina combinada con inhibidor de la bomba de salida anteriormente citado. Ratones Swiss albinos se infectaron por vía intravenosa con *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (107 UFC/ratón). Los ratones infectados se dividieron en grupos, y cada grupo estaba compuesto por 6 ratones. El tratamiento consistió en una dosis inmediatamente después de la infección, seguido por la siguiente dosis tras un intervalo de 6 h. El resultado se registró como número de supervivientes cada día. Los ratones se observaron durante siete días, y se determinó la DE_{50} después de los siete días de observación. La DE_{50} de ciprofloxacina fue 9,2 mg/kg y en combinación con la CK-4, la DE_{50} para ciprofloxacina se redujo a 5,86 mg/kg.

15 Ejemplo 16

Reducción en la concentración de erradicación de biopelícula (CEB50) para agentes antibióticos cuando se utilizaron combinados con 3-(4'-Hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (CK-4)

20 El compuesto CK-4 se ensayó en primer lugar para evaluar si tenía eficacia antibiótica por sí mismo. Se llevó a cabo un ensayo de la CIM sobre dos agentes antibióticos conocidos, así como CK-4, usando *A. viscosus* como organismo de referencia. Los resultados se muestran en la Tabla 11 siguiente:

Tabla 11

25

Compuesto	CIM (<i>A. viscosus</i>)
CK-4	> 100 ppm
Triclosan	3,5 ppm
CPC	<1 ppm,

30 De la tabla anterior, es evidente que CK-4 tiene una CIM considerablemente más elevada que los dos agentes antibióticos habitualmente utilizados (triclosan y cloruro de cetil piridinio (CPC)). Esto indica que CK-4 solo no es un agente antibacteriano fuerte y que, a los niveles utilizados en las formulaciones, contribuye muy poco a la eficacia antibacteriana global.

35 *Actinomyces viscosus* (ATCC n° de catálogo de ATCC43146) se hizo crecer en caldo de soja tripticasa suplementado con extracto de levadura al 0,6% (TSB-YE) a 37°C, cultivo estático. Para ensayos con especies mixtas, la fuente de bacterias fue un cultivo continuo quimiostático inoculado con *A. viscosus*, *Lactobacillus casei* (ATCC n° de catálogo de ATCC334), *Streptococcus oralis* (ATCC n° de catálogo de ATCC35037), *Fusobacterium nucleatutti* (ATCC n° de catálogo de ATCC10953), y *Veilonella parvula* (ATCC n° de catálogo de ATCC17745). Este cultivo mixto se mantuvo en un medio especializado complejo en un quimiostato de cultivo continuo a 37°C.

40 Se llevaron a cabo ensayos CIM que empleaban *A. viscosus* como organismo de referencia. Los compuestos a ensayar se plaquearon en hileras duplicadas de la primera columna de una placa de cultivo de 96 pocillos estéril. Se llevaron a cabo ensayos diluciones en serie de dos veces en 0,5 x TBS en la placa. Se hizo crecer la bacteria *A. viscosus* durante la noche en TSB-YE a 37°C, cultivo estático. Los cultivos nocturnos de la bacteria se diluyeron hasta una $DO_{610} \sim 0,4$ en TSB 0,5 X. Se añadió un volumen de bacterias equivalente a la disolución de ensayo a cada pocillo de la placa de 96 pocillos. Las placas se incubaron durante la noche a 37°C para permitir el crecimiento bacteriano. Se leyó la DO_{610} de toda la placa en un lector de microplacas Perkin Elmer EnVision. Los valores de la absorbancia de los pocillos duplicados se promediaron y se compararon con los valores de los pocillos que contenían bacterias con medio solo. Los valores de la CIM se determinaron como la concentración de sustancia activa en el último pocillo cuyo crecimiento bacteriano quedó inhibido con respecto a los controles de medio. Todas las placas contuvieron dos hileras de Triclosan como control positivo.

50

Para evaluar la capacidad biopotenciadora de CK-4, se llevaron a cabo ensayos de inhibición de la formación de biopelícula por una sola especie. Las sustancias activas de interés se plaquearon en la primera columna de una placa de cultivo de 384 pocillos estéril, y se llevaron a cabo ensayos diluciones en serie de dos veces en 0,5 x TBS en la placa de cultivo. Los cultivos de primera generación de bacterias *A. Viscosus* se hicieron crecer durante la noche en TSB-YE. Los cultivos se diluyeron hasta una $DO_{610} \sim 0,2$ en TSB 0,5 X y se plaquearon en pocillos que contenían diluciones en serie de las sustancias activas. Las placas se incubaron durante 24 horas a 37°C para permitir el crecimiento y la formación de biopelículas.

Tras la incubación, los sobrenadantes se eliminaron de la placa y las biopelículas remanentes se tiñeron con violeta cristal de Grain al 0,03%. Las placas teñidas se leyeron en un lector de microplacas Perkin Elmer EnVision para absorbancia de 590 nm. Las absorbancias se compararon con la absorbancia de los pocillos tratados solamente con medio, y los resultados se notificaron como porcentaje de reducción en la formación de biopelícula comparado con el control de medios. La CEB_{50} se define como la menor concentración a la cual se produce una reducción mayor al 50% en la densidad de biopelícula (leída según la absorbancia del colorante usado para teñir la biopelícula) con respecto a control que solamente contiene medio. Un compuesto con un CEB_{50} inferior se considera más eficaz que uno con mayor nivel. Los resultados se muestran en la Tabla 12 siguiente para una variedad de agentes antibióticos conocidos.

Tabla 12

CEB ₅₀ de agentes antibióticos solos y con CK-4		
Antibiótico	CEB ₅₀ solo	CEB ₅₀ con CK-4
Citrato de cinc	41,67	20,83
Triclosan	1,95	0,98
THC	31,25	26,04
Catequina	26,04	26,04
CPC	1,95	0,49
Magnolia	3,91	1,95
Magnolol	3,91	1,95
Honokiol	5,21	2,60
Butil Magnolol	0,65	0,24
Propil Honokiol	0,49	0,65

Los resultados de este experimento revelan que la adición de CK-4 tiene el potencial de aumentar de forma intensa e inesperada la eficacia de algunos compuestos antibióticos, a pesar de no tener ninguna actividad antibiótica intensa por sí mismo. Este efecto resulta especialmente fuerte para el cloruro de cetil piridinio (CPC), que dio como resultado una disminución de casi cuatro veces en la CE_{50} , cuando se comparó con CPC solo, permitiendo de este modo el uso de concentraciones muy inferiores de antibiótico para conseguir la misma eficacia antibiótica (hasta un 75% menos de CPC cuando se usa junto con CK-4).

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un portador, un agente antibiótico y un compuesto seleccionado entre el grupo constituido por 3-(4'-hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-(2'-hidroxi-5'-metoxi-fenil)-prop-2-en-1-ona, 3-(4'-hidroxi-3'-metoxi-fenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona, 3-(2",3"-dimetoxi-fenil)-1-furan-2-il-prop-2-en-1-ona, 3-(2",5"-dimetoxi-fenil)-1-(1H-pirrol-2-il)-prop-2-en-1-ona, y mezclas de los mismos.
2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, es una composición de cuidado bucal, opcionalmente donde la composición está en la forma de un dentífrico seleccionado entre el grupo constituido por pasta de dientes, polvo dental, gel, enjuague, pastilla para chupar, goma de mascar, película, y mezclas de los mismos.
3. La composición de la reivindicación 2, donde el agente antibiótico comprende un agente antibacteriano.
4. La composición de la reivindicación 3, donde el agente antibacteriano se ha seleccionado entre el grupo constituido por quinolona, beta lactama, cloranfenicol, un glicopéptido, un aminoglicósido, un macrólido, rifamicina, una oxazolidonona, una cumermicina, un agente polifenólico, triclosan, un compuesto de amonio cuaternario, un compuesto de cinc, un éster de ácido borínico, y mezclas de los mismos.
5. La composición de la reivindicación 4, donde el agente polifenólico es triclosan, o comprende magnolol o sus derivados, o comprende honokiol o sus derivados.
6. La composición de la reivindicación 4, donde el compuesto de amonio cuaternario es cloruro de cetilpiridinio.
7. La composición de la reivindicación 1, donde el compuesto es 3-(4'-hidroxi- 3'-metoxi-fenil)- 1-fenil-prop- 2-en-1-ona.
8. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de una infección microbiana que comprende la administración por vía tópica a un mamífero necesitado de la misma, opcionalmente donde la composición se administra a la cavidad oral.
9. Una composición de acuerdo con la reivindicación 8 donde la infección microbiana está causada por una bacteria.
10. Una composición de acuerdo con la reivindicación 9 donde la composición está en la forma de un dentífrico seleccionado entre el grupo constituido por pasta de dientes, polvo dental, gel, enjuague, pastilla para chupar, goma de mascar, película, y mezclas de los mismos.
11. Una composición de acuerdo con la reivindicación 8 donde el agente antibiótico comprende un agente antibacteriano.
12. Una composición de acuerdo con la reivindicación 11 donde el agente antibacteriano se ha seleccionado entre el grupo constituido por quinolona, beta lactama, cloranfenicol, un glicopéptido, un aminoglicósido, un macrólido, rifamicina, una oxazolidonona, una cumermicina, un agente polifenólico, triclosan, un compuesto de amonio cuaternario, un compuesto de cinc, un éster de ácido borínico, y mezclas de los mismos.
13. Una composición de acuerdo con la reivindicación 12 donde el agente polifenólico es triclosan, o comprende magnolol o sus derivados, o comprende honokiol o sus derivados.
14. Una composición de acuerdo con la reivindicación 12 donde el compuesto es 3-(4'-hidroxi- 3'-metoxi-fenil)- 1-fenil-prop- 2-en-1-ona.
15. Una composición de acuerdo con la reivindicación 8 donde se reduce el recuento de microorganismos.