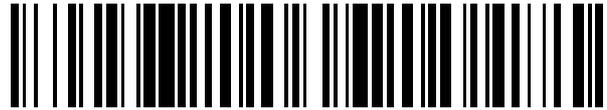


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 556 732**

51 Int. Cl.:

**C08F 16/34** (2006.01)  
**A61K 31/78** (2006.01)  
**A61P 31/04** (2006.01)  
**A01N 35/02** (2006.01)  
**A61P 7/02** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A01N 61/00** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**C08G 2/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2008 E 08782890 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2015 EP 2207819**

54 Título: **Polímeros anti-microbianos y sus composiciones**

30 Prioridad:

**07.11.2007 AU 2007906124**  
**14.12.2007 AU 2007906829**  
**11.07.2008 AU 2008903576**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**19.01.2016**

73 Titular/es:

**RECCE LIMITED (100.0%)**  
**3 Brodie-Hall Drive, Suite 3**  
**Bentley, WA 6102, AU**

72 Inventor/es:

**MELROSE, GRAHAM J. H.**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 556 732 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

Polímeros anti-microbianos y sus composiciones

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a polímeros anti-microbianos y sus composiciones. Los polímeros se derivan de la polimerización acuosa, catalizada por base, de acroleína y/o sus acetales con ácidos hidroxi-alcanoicos – opcionalmente en presencia de ácido ascórbico y/o anti-oxidante y/o alcohol. La presente invención está dirigida en parte a la fabricación de estos compuestos, y usos *in vitro* o *in vivo* de las composiciones derivadas de ellos, especialmente como agentes anti-microbianos en los tractos gastro-intestinales de seres humanos o animales.

**Fundamento de la técnica**

10 Un polímero “puro” es inherentemente una mezcla de diferentes moléculas. Estas moléculas tienen diferentes pesos moleculares, y a menudo, diferentes configuraciones – dependiendo de las condiciones de polimerización por las que se formó el polímero a partir de su(s) monómero(s). Como resultado, el modo de polimerización del monómero determina la estructura química y por lo tanto, todas las propiedades del polímero. No tiene fundamento y con mucha frecuencia es incorrecto asumir que todos los polímeros de un monómero son o bien iguales o reaccionan de la misma forma. En particular, la acroleína (2-propeno-1-al) tiene sitios de reacción alternativos y cada “poliacroleína” no es igual.

En esta invención, se describen polimerizaciones para dar una serie de polímeros nuevos y útiles de acroleína y/o sus acetales con ácidos hidroxi-alcanoicos, para dar así distintos polímeros de diferentes y deseadas propiedades físicas, químicas y anti-microbianas.

20 La polimerización de acroleína se presentó por primera vez<sup>1</sup> en 1843 – proporcionando un sólido, insoluble en todos los disolventes habituales, y de ningún uso significativo.

Mucho más tarde en 1987, Melrose et al<sup>2</sup> describió primero la fabricación, composiciones y usos de una serie de polímeros de acroleína como agentes anti-microbianos; demostrando una analogía estructural entre los polímeros y el agente de esterilización químico glutaraldehído (pentano-1,5-dial), los carbonilos se asignaron como los sitios anti-microbianos en los polímeros. Como el agua es el dominio de crecimiento de casi todos los micro-organismos, la solubilidad en agua o al menos una capacidad para dispersarse es esencial para la actividad anti-microbiana frente a estos micro-organismos; por lo tanto, normalmente, los polímeros también contenían co-monómeros hidrófilos, para hacer así a los polímeros más solubles en agua. Pero aún, la actividad anti-microbiana de los polímeros permanecía baja, debido a sus altos contenidos de co-monómero que solo contribuían a la hidrofiliidad.

30 En un intento de eludir esta insolubilidad limitante en agua – la técnica posterior<sup>3-7</sup> siempre necesita en primer lugar, la homo-polimerización aniónica del monómero de acroleína solo, para dar una poliacroleína insoluble. Por lo tanto, esto se continuó en segundo lugar, por filtración del polímero insoluble en agua resultante – después en tercer lugar, auto-oxidación prolongada del polímero por calentamiento en aire u oxígeno durante varios días, para dar el polímero de acroleína, poli(2-propenal, ácido 2-propenoico) que tiene un contenido de 0,1 a 5 moles de carboxilo (hidrófilo)/kg de polímero, de manera que alcanza la solubilidad en agua, sin embargo solo<sup>4</sup> a pH por encima de 5,5. En cuarto lugar, el polímero auto-oxidado puede tratarse con polietilenglicol (PEG) durante un intervalo que incluye condiciones tanto débilmente básicas como débilmente ácidas, para dar un polímero de acroleína que tiene hidrofiliidad aumentada, y grupos acetales derivados de la reacción con el polietilenglicol. Sin embargo, esta síntesis secuencial está considerablemente limitada, ya que su etapa de auto-oxidación es tan prolongada – y tenue, debido a la propensión bien conocida de los polímeros de acroleína a volver a gomas insolubles durante la filtración, y especialmente en el calentamiento – una propiedad<sup>8</sup> que había inhibido su uso durante más de cien años. Como consecuencia directa de estas desventajas, este procedimiento no puede repetirse, con éxito, en una base regular.

45 Así, es un (primer) objetivo de esta invención, proporcionar polímeros de acroleína nuevos, anti-microbianos y solubles en agua, mediante una ruta sintética práctica – y en particular, haciendo esto, evitar la necesidad de proceder a través de una etapa de auto-oxidación de polímero.

En el tracto gastro-intestinal de los seres humanos, la bacteria *Helicobacter pylori*<sup>10</sup> puede albergarse en la placa dental; también rodeada por polímeros naturales protectores, se encuentra en el estómago de aproximadamente el 50% de las personas del mundo. En los seres humanos, está asociada inequívocamente con úlceras de estómago y duodeno y cáncer; digno de atención, la bacteria se desarrolla en los pH ácidos del estómago. La terapia para pacientes infectados incluye necesariamente un régimen de una serie de diferentes antibióticos – ya que cada vez más se está frustrando por cepas de *H. pylori* que son resistentes a antibióticos conocidos. En los animales, aunque con menos certeza, otras *Helicobacter* se han asociado también con la enfermedad gastro-intestinal.

55 Siempre, los polímeros solubles de acroleína han mostrado un intervalo excepcionalmente amplio de actividad antimicrobiana – incluso frente a gérmenes resistentes a antibiótico – y esto se explica por el contenido en los polímeros de grupos carbonilo que reaccionan de forma destructiva e indiscriminada con proteínas siempre

presentes en las membranas externas de todos los micro-organismos. Particularmente, Melrose et al<sup>7</sup> han presentado actividad anti-microbiana del polímero de acroleína, poli(2-propenal, ácido 2-propenoico) frente a *H. pylori*, in vitro a pH 4 o pH 7 – aunque la solubilidad en agua y la actividad anti-microbiana del polímero se reduce en gran medida a los bajos pH asociados con los contenidos estomacales (esto es, por debajo de pH 4).

5 De hecho, si se analiza, cada polímero de acroleína que es soluble en disolventes acuosos – ha demostrado actividad anti-microbiana. Sin embargo, es un principio central de esta invención que ha sido siempre un compromiso exigente a esta propiedad anti-microbiana latente de todos los polímeros de acroleína: es la solubilidad. Particularmente, la carencia de solubilidad compromete la manifestación de las propiedades esenciales y ampliamente anti-microbianas del polímero durante intervalos de bajo pH en agua.

10 Así, es un segundo objetivo de esta invención proporcionar nuevos polímeros procedentes de acroleína, de manera que los polímeros sean solubles durante los intervalos de bajo pH encontrados en el estómago de los seres humanos, y asociados con el crecimiento de especialmente, *H. pylori*.

15 Se sabe bien<sup>3-7, 9</sup>, que la acroleína puede ser una fuente de irritación extrema para los seres humanos o animales. Se reconoce generalmente que cualquier molécula que tiene peso molecular menor que 800, pasa razonablemente de forma libre a través de las membranas naturales (piel o intestinos); por consiguiente, el monómero irritante de acroleína, oligómeros de bajo peso molecular de acroleína o sus acetales tienen la propensión de penetrar las membranas protectoras en los seres humanos o animales y por tanto, entrar en el sistema vascular, provocando irritación.

20 Por lo tanto, es un tercer objetivo de esta invención proporcionar polímeros a partir de acroleína que son nuevos, solubles en agua a todos los pH y anti-microbianos – y que tienen también estructuras con menos propensiones a migrar a través de las membranas.

25 La memoria WO 2005/044874 describe un método para la fabricación de lo que se denomina como polímeros de acroleína solubles, microbiológicamente activos y estables. De forma importante, el polímero descrito no se deriva directamente de la acroleína y está sometido a los problemas conocidos asociados con la filtración inicial de una acroleína derivada y está limitado en consecuencia por la formación de emulsiones y gomas. Estas cuestiones se han resaltado en la técnica anterior<sup>4</sup>. Los polímeros producidos por este método no son significativamente anti-microbianos y las concentraciones mortales mínimas (MKC) descritas en la memoria se sabe que implican un tiempo de exposición de 24 hrs. El método de fabricación descrito incluye un número de limitación además del anotado inmediatamente anterior. Estos incluyen condiciones de auto-oxidación/calentamiento severo a 65°C y superiores (que se describen como esenciales), derivación en condiciones ácidas, una necesidad para el posterior tratamiento del polímero con base para alcanzar la estabilidad, degradación esencial del polímero como es evidente por el color marrón del mismo, y el polímero derivado de esta manera es poli-acetal adicional y contiene carboxilo considerable como es evidente a partir de su disolución en disolución de carbonato sódico (normalmente aproximadamente a pH 11) dando solo un pH de 8 como resultado de la neutralización del carboxilo.

35 Esta exposición del fundamento solo se pretende para facilitar un entendimiento de la presente invención. La exposición no es un conocimiento o admisión de que cualquier material al que se hace referencia es o fue parte del conocimiento general común como en la fecha de prioridad de la solicitud.

En esta memoria:

- 40 (a) A menos que se designe específicamente, siempre, un “alcohol” describe cualquier compuesto que tenga uno o más grupos hidroxilo, que incluyen hidroxi-derivados de alcanos, alquenos, alquinos, compuestos aromáticos, heterociclos, azúcares, polímeros naturales o sintéticos;
- 45 (b) A menos que se designe específicamente, siempre, un “ácido hidroxi-alcanoico” o “alcohol que contiene grupos carboxilo(s)” incluye análogos de ácido hidroxi-carboxílico relacionados con alcanos, alquenos, alquinos, compuestos aromáticos, heterociclos, azúcares, polímeros naturales o sintéticos – y además de referirse a compuestos mono-funcionales en uno o ambos de estos grupos funcionales – pueden incluir además dichos componentes que contienen más de un grupo hidroxilo y/o más de un grupo carboxilo y/u otros grupos que no interfieren materialmente con la funcionalidad de los grupos tanto hidroxilo como carboxilo;
- (c) A menos que se designe específicamente, siempre, “acetal” puede describir mono-acetal y/o di-acetal;
- 50 (d) A menos que se designe específicamente, siempre, “polimerización”, puede describir homo-polimerización y/o co-polimerización;
- (e) A menos que se designe específicamente, siempre, “monómero olefínico que contiene grupo(s) carboxilo” describe un monómero de olefina capaz de polimerización y que contiene uno o más grupos carboxilo en cualquier estado de ionización;
- 55 (f) A menos que se designe específicamente, siempre, “acroleína” puede describir y/o puede incluir no solo el monómero de acroleína libre, sino también en el mismo contexto, el residuo de acroleína en un polímero;

- (g) Mientras *H. pylori* se trata en particular en esta memoria, la invención es aplicable a otros *Helicobacter* u otros micro-organismos, especialmente entre otros, bacterias, hongos, levaduras, virus y/o protozoos;
- (h) Mientras la presente invención se describe con referencia a la acroleína, no se va a entender como limitada a ella, sino que más bien incluye derivados de acroleína (tal como, metacroleína).

5 A lo largo de la memoria y las reivindicaciones, a menos que el contexto solicite otra cosa, la palabra “comprender” o variaciones tales como “comprende” o “que comprende”, se entenderá que implica la inclusión de un número entero o grupo de números enteros indicados aunque no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros.

#### Descripción de la invención

10 De acuerdo con la presente invención se proporcionan polímeros derivados directamente del monómero de acroleína que son esencialmente solubles en agua y/o medios acuosos.

Preferiblemente, los polímeros de la presente invención son solubles a un pH de menos de aproximadamente 4.

Aún preferiblemente, no se emplea etapa de auto-oxidación intermedia en la preparación de los polímeros de la presente invención.

15 Todavía más preferiblemente, los polímeros de la presente invención son esencialmente anti-microbianos.

Todavía aún más preferiblemente, los polímeros de la presente invención tienen un peso molecular promedio de más de aproximadamente 1000 Daltons. Los polímeros pueden prepararse de manera que tengan menos propensiones a migrar a través de las membranas como resultado de tener altos niveles de polaridad y/o hidrofiliidad debido a grupos carboxilo incluidos, tanto en ácidos hidroxil-alcanoicos unidos a los polímeros como grupos acetales, como en residuos de monómero en los polímeros – y por lo cual estos polímeros de peso molecular promedio mayor que 1000 Daltons se inhiben considerablemente de pasar a través de las membranas que se designan para ser transmisibles a todas las moléculas hasta el peso molecular de 1000 Daltons.

20 Los polímeros de la presente invención pueden prepararse adicionalmente o más de manera que tengan menos propensiones para migrar a través de las membranas como resultado de tener dentro, estructuras que resultan de la reacción entre alcohol (y/o su ión) y carbonos próximos al carbonilo en residuos de acroleína en los polímeros – y por lo cual estos polímeros de peso molecular promedio mayor que 1000 Daltons se inhiben considerablemente de pasar a través de las membranas que se designan para ser transmisibles a todas las moléculas hasta peso molecular de 1000 Daltons.

25 Los polímeros de la presente invención tienen preferiblemente un contenido de carboxilo de entre aproximadamente 0,1 y 25 moles/kg de polímero.

30 De acuerdo con la presente invención se proporciona además una composición, que es una disolución, gel, emulsión o suspensión de materia que comprende al menos en parte polímeros como se definen anteriormente.

De acuerdo con la presente invención se proporciona aún adicionalmente una composición anti-microbiana *in vitro* y/o *in vivo* que comprende al menos en parte polímeros como se definen anteriormente.

35 De acuerdo con la presente invención se proporciona todavía aún adicionalmente un método para la síntesis de los polímeros definidos anteriormente, habiéndose preparado los polímeros de manera que incorporan estructuras de acetal que resultan de la reacción entre acroleína (monómero o residuo) y ácido hidroxil-alcanoico (y/o su ión), o de manera que se incorporan dentro, estructuras que resultan de la reacción entre alcohol (y/o su ión) y carbonos próximos al carbonilo en residuos de acroleína en los polímeros.

40 El método puede comprender además la polimerización, en disolución acuosa básica en presencia de un catalizador básico, de acroleína, y/o acroleína más alcohol, y/u otro nucleófilo orgánico, y/o acetal de acroleína con un ácido hidroxil-alcanoico – opcionalmente, en disolución con otro monómero, y/o ácido ascórbico (y/o su ión) y/u otro antioxidante y/u otro ácido.

45 El medio acuoso básico es preferiblemente hidróxido sódico acuoso a un pH de entre 9 a 14, más preferiblemente entre pH 10 a 13.

El ácido hidroxil-alcanoico es preferiblemente ácido tartárico y/o ácido ascórbico. El acetal se forma preferiblemente por catálisis ácida, más preferiblemente usando ácido sulfúrico diluido. El alcohol es preferiblemente un polialquilenglicol. El polialquilenglicol es preferiblemente polietilenglicol.

50 El polietilenglicol preferiblemente tiene peso molecular promedio de 200 a 10.000 Daltons. La relación de polietilenglicol:acroleína o acroleína incorporada como su acetal, es preferiblemente mayor que 1:1 v/v, preferiblemente mayor que 4:1 v/v.

Preferiblemente, el monómero es ácido acrílico, más preferiblemente a una relación de ácido acrílico:acroleína o acroleína incorporada como su acetal en el intervalo de 0,05 a 0,10:1 en p/p. El nucleófilo orgánico es preferiblemente un ácido carboxílico. La relación de ácido ascórbico:acroleína o acroleína incorporada como su acetal está preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 0,01 a 10:1,00 en p/p. Aún preferiblemente, la relación de ácido ascórbico:acroleína o acroleína incorporada como su acetal está en el intervalo de 0,1 a 2,0:1,0 en p/p – y preferiblemente 0,6:1,0 en p/p.

De acuerdo con la presente invención se proporciona aún adicionalmente métodos para el tratamiento del cáncer, trastornos de coagulación, y/o trastornos inflamatorios, comprendiendo cada método la administración a un sujeto de una cantidad farmacéuticamente aceptable de un polímero como se describe anteriormente, o una composición que lo contiene.

De acuerdo con la presente invención se proporciona todavía aún adicionalmente el uso de un polímero como se describe anteriormente en la preparación de un medicamento para el tratamiento de uno o más de cáncer, trastornos de coagulación y/o trastornos o procesos inflamatorios.

Se supone en esta memoria, que la insolubilidad completa, ubicua, de polímeros que resultan de polimerizaciones de la técnica anterior de monómero de acroleína<sup>3-7</sup> – puede inhibirse o prevenirse (y las propiedades anti-microbianas manifestarse) por cualquiera o una combinación de dos o tres métodos; en primer lugar, se supone que la totalidad de la insolubilidad solo es coherente con reticulado inter-molecular en los polímeros:

Método 1: Como este reticulado estuvo teniendo lugar a pH alcalinos, se concluyó que los reticulados de formación rápida no podrían ser acetal, ya que estos se forman solo bajo condiciones ácidas<sup>11</sup>; por tanto, las uniones que provocan insolubilidad serían probablemente de origen radical y podrían inhibirse durante o después de la polimerización por ácido ascórbico, (que tiene las propiedades de un anti-oxidante soluble en agua y también, de un ácido).

Así, este primer método, que usa ácido ascórbico y/o su ión (véase Ejemplo 5(a) a continuación), de acuerdo con los objetivos uno y dos de esta invención se ha usado con éxito – sin una etapa de auto-oxidación – para proporcionar polímeros que son nuevos, anti-microbianos y solubles en agua a todos los pH.

Es importante anotar que las tres de las “poliacroleínas” derivadas de la técnica anterior (véase Ejemplo 1 a continuación) y el polímero de la polimerización anterior de acroleína en presencia de ácido ascórbico (Ejemplo 5(a)) – son muy diferentes: obviamente, el polímero final de cualquier síntesis se deriva de un precursor diferente – el polímero de la técnica anterior, de un segundo polímero intermedio (Ejemplo 1) – el polímero de esta invención, directamente desde el monómero (Ejemplo 5(a)); además, el polímero de la técnica anterior es insoluble por debajo de pH 4, tiene un contenido en carbonilo de 380% y está fuertemente coloreado, indicando conjugación considerable en la molécula – mientras el polímero de esta invención es soluble a todos los pH por debajo de pH 4, tiene un contenido en carbonilo de solo 40% y está sin color significativo o aparentemente, conjugación. El primer polímero intermedio de la técnica anterior es totalmente insoluble y es de forma demostrable, una “poliacroleína” diferente. Mientras la “poliacroleína” de la técnica anterior, denominada el segundo polímero intermedio (y que se deriva de la auto-oxidación del primer polímero intermedio) es esencialmente anti-microbiano (solo una pequeña cantidad se necesita para la inhibición del crecimiento microbiano) – el polímero de esta invención es inicialmente, ocho veces menos anti-microbiano; el tratamiento de este segundo polímero intermedio de la técnica anterior con base y polietilenglicol, aumentó en dos veces la cantidad de polímero necesario para la inhibición (Ejemplo 1) – el tratamiento similar de la poliacroleína de la presente invención, produjo el efecto contrario, disminuyendo cuarenta veces la cantidad de polímero necesario para la inhibición (Ejemplo 5); además, este segundo polímero intermedio es además obviamente diferente del polímero totalmente soluble en esta memoria, por tanto no es soluble por debajo del pH 5,5.

Método 2: Si, durante la polimerización iónica por nucleófilo orgánico básico, se incluye especialmente alcohol – se supone que la formación de enlaces intermoleculares que provocan insolubilidad del polímero puede inhibirse mediante impedimento estérico entre moléculas separadas – como resultado de la unión de alcohol o su ión por reacción tipo Michael<sup>11A</sup> para activar (en el sentido de propensión activa para perder hidrógeno unido), los carbonos próximos a los grupos carbonilo en los polímeros – formando así grupos laterales voluminosos en las moléculas de polímero separadas que inhiben el reticulado y la insolubilidad.

Así, este segundo método, que usa alcohol (véanse los Ejemplos 6 y 7 a continuación) de acuerdo con los objetivos uno y dos de esta invención se han usado con éxito – sin una etapa de auto-oxidación – para proporcionar polímeros que son nuevos, anti-microbianos y solubles en agua a todos los pH.

La prevención exitosa del reticulado y su insolubilidad resultante de polímeros de acroleína de esta forma, en esta memoria (Ejemplos 6 y 7), fue inicialmente inesperada, por la razón de que anteriormente, las polimerizaciones entre acroleína y alcohol siempre han dado polímeros *insolubles*<sup>9</sup>. Además, dada la inmediatez de las precipitaciones del polímero en la técnica anterior<sup>4</sup>, es adicionalmente inesperado que la reacción provocada por el alcohol durante la polimerización en esta memoria sea suficientemente rápida, de manera que evita cualquier precipitación o incluso turbidez.

La diferencia entre el polímero derivado de esta forma en esta memoria (Ejemplo 7), y el polímero (también tratado con alcohol) en la técnica anterior<sup>5</sup> (Ejemplo 1) es evidente: En primer lugar, el polímero de esta invención (el primero) se ha sintetizado directamente del monómero de acroleína – el polímero de la técnica anterior (el último) se ha sintetizado a partir de poli(2-propenal, ácido 2-propenoico); en segundo lugar, el primero, que se ha preparado enteramente bajo condiciones básicas no puede ser de estructura acetal<sup>1B</sup> – mientras, el último preparado bajo condiciones que incluyen tratamiento ácido, se ha asignado una estructura acetal con el alcohol; en tercer lugar, el primero es soluble a pH por debajo de 4 – el último no; en cuarto lugar, el primero es incoloro – el último es rojo oscuro, que indica considerable insaturación en la molécula; en quinto lugar, el primero tiene un contenido en carbonilo de 20% - el último tiene 380%; en sexto lugar, el primero es muchas veces más activo de forma anti-microbiana, inhibiendo los microbios mezclados a 100 ppm y matando 10<sup>6</sup> E. coli en 3 minutos – mientras que para el último, los parámetros fueron 500 ppm y 3 horas, respectivamente.

Adicionalmente, el polímero (Ejemplo 6) de la presente invención tiene diferencias similares al polímero de la técnica anterior (Ejemplo 1).

En resumen, además de ser muchas veces más anti-microbiano que el polímero “súper-activado” de la técnica anterior<sup>5</sup> – los polímeros de la presente invención son solubles en agua durante un amplio intervalo de pH, mientras que el polímero de la técnica anterior no lo es.

Método 3: Si, antes de la polimerización, al menos una parte de la acroleína se convirtió a su derivado acetal con un ácido hidroxi-alcanoico – se supone que la formación de los enlaces inter-moleculares que provocan la insolubilidad pueden inhibirse, especialmente bajo condiciones básicas, como resultado de la repulsión inter-molecular entre los carboxilos ionizados en las moléculas de polímero de la presente invención.

Por consiguiente, de acuerdo con los objetivos uno y dos de esta invención se proporciona un tercer método – sin una etapa de auto-oxidación – para la preparación de polímeros que son nuevos, anti-microbianos y solubles en agua a todos los pH, derivados de la polimerización de acroleína, sus derivados y/o sus acetales con ácido hidroxi-alcanoico (véase el Ejemplo 3 a continuación) – opcionalmente, realizado adicionalmente en presencia de ácido ascórbico, dando además el método en rendimiento considerable, polímeros que son solubles en agua a todos los pH, y anti-microbianos (véase el Ejemplo 4 a continuación).

Además, los nuevos polímeros anti-microbianos de acroleína proporcionados por los tres métodos tienen niveles prácticos de estabilidad bajo pH y tiempo de residencia simulados en el estómago.

Intencionadamente en esta memoria, otra ventaja importante en la formación de los acetales con ácido hidroxi-alcanoico es que vuelve a los polímeros más hidrófilos, provocando que los polímeros tengan menos propensiones a migrar a través de membranas biológicas *in vivo*; se sabe bien en la técnica que la hidrofiliidad aumentada ralentiza la migración.

Por consiguiente, de acuerdo con un tercer objetivo de la presente invención, se proporcionan polímeros de acroleína que son nuevos, anti-microbianos, solubles a todos los pH – y que tienen una propensión reducida a migrar a través de membranas biológicas.

Los polímeros derivados de la co-polimerización de un acetal, según la presente invención tienen un contenido en carboxilo de aproximadamente 0,1 a 15 moles/Kg de polímero – preferiblemente aproximadamente 5 a 10 moles de carboxilo/Kg de polímero. Es decir, normalmente, los nuevos polímeros tienen mayores contenidos de carboxilo que los de la técnica anterior – y una propensión reducida para migrar a través de membranas biológicas.

Durante la diálisis, estos polímeros se inhibieron de viajar a través de la membrana que se diseña para ser permeable a todas las moléculas hasta 10.000 Daltons.

En esta memoria, para estimaciones de actividad anti-microbiana, se eligió un ensayo de inhibición de crecimiento de micro-organismos en leche, ya que la leche contiene una amplia gama de diferentes micro-organismos, y contiene materiales proteínicos que normalmente, enlazan fácilmente con y desactivan los polímeros de acroleína. Los Ejemplos proporcionados a continuación muestran que esta invención proporciona polímeros esencialmente anti-microbianos – en estas exigentes condiciones. Además, los polímeros se estimaron frente a bacterias que producen diarrea, *Escherichia coli*.

Los polímeros de los Ejemplos 4 y 7 a continuación son dos polímeros preferidos de la presente invención – ambos se preparan sin una etapa de auto-oxidación – son solubles a todos los pH – y tienen estructuras diseñadas para dar la mínima migración a través de las membranas respecto a la de los polímeros de acroleína de la técnica anterior. Adicionalmente, un resumen de resultados de estas estimaciones para estos polímeros, y el mejor polímero de la técnica anterior (Ejemplo 1) muestra que se proporciona también en esta memoria, polímeros que son considerablemente más anti-microbianos que cualquier polímero de acroleína de la técnica anterior:

Tabla 1: Comparación de agentes anti-microbianos poliméricos (Véase la sección “Ejemplos” para los detalles de los métodos).

Ejemplo	Cantidad mínima para la muerte total (ppm)	Tiempo para matar <i>E. coli</i> (min.)
4	250	180
7	50	3
1	500	180

### Mejor(es) modo(s) para llevar a cabo la invención

En orden cronológico, el método de la presente invención comprende los siguiente, etapas resumen:

- 5 1. Opcionalmente, conversión parcial, usando catalizador ácido, de monómero de acroleína a su derivado acetal con un ácido hidroxi-alcanoico;
2. Polimerización en disolución acuosa básica y proporcionando un catalizador básico, de acroleína, y/o acroleína más alcanol y/u otro(s) nucleófilo(s) orgánico(s) (y/o su ión), y/o el producto de la Etapa 1 anterior – opcionalmente, en disolución con otro(s) monómero(s), y/o ácido ascórbico (y/o su ión) y/u otro antioxidante y/u otro ácido; y
3. Ajuste de la disolución resultante a pH 7 con ácido.

- 10 Adicionalmente, al comienzo de la Etapa 3 (antes del ajuste a pH 7), será evidente que todos los preparados de esta invención son susceptibles de diálisis frente al agua, especialmente, esto elimina totalmente cualquier fracción de bajo peso molecular que pueda penetrar las membranas, in vivo. Sin embargo, cuando se aplica esta técnica al polímero (véase el Ejemplo 4 a continuación), se observó alguna pérdida de actividad anti-microbiana; de forma alternativa, esto puede prevenirse por diálisis frente a disolución de tartrato sódico, ajustado a pH 6. Una
- 15 disminución en el contenido de carbonilo acompaña a esta alternativa y a la recuperación de actividad anti-microbiana – y sugiere que este polímero de acetal tiene un sitio diferente que provoca la actividad anti-microbiana, distinto del carbonilo.

- La combinación de métodos (de los Ejemplos 4 y 7 a continuación) en el Ejemplo 8, tratado a continuación, representa una metodología preferida adicional de la presente invención, y da un polímero de considerable actividad anti-microbiana. Sin embargo, una combinación análoga de los métodos de los Ejemplos 4 y 6 da un polímero de actividad anti-microbiana solo insignificante (véase el Ejemplo 9 a continuación). El elemento común de los Ejemplos 8 y 9 es que los carbonilos de los polímeros de ambos están impedidos por la formación de acetal (por inclusión del método común de formación de acetal del Ejemplo 4); la razón para su diferencia es evidente cuando se concluye que el sitio de actividad anti-microbiana en el polímero del Ejemplo 7 es en sus átomos de carbono restantes y
- 20 activos con los que el PEG reacciona – mientras en el polímero del Ejemplo 6, todos los carbonos activos se hacen reaccionar con PEG, y los grupos carbonilo permanecen exclusivamente como el único sitio de actividad anti-microbiana. (Siguiendo las condiciones de diálisis alternativas del polímero derivado en el Ejemplo 4 – el polímero resultante que es el agente anti-microbiano más activo, tiene el menor contenido en carbonilo; esto también indica un sitio alternativo de actividad a los grupos carbonilo). Por consiguiente, es evidente que el método de la presente
  - 25 invención tiene la ventaja adicional de proporcionar polímeros que tienen dos sitios anti-microbianos diferentes – por ejemplo, de los Ejemplos 4 o 7 – o del Ejemplo 6, respectivamente. Particularmente, esto presenta una defensa alternativa frente a gérmenes desarrollando resistencia anti-microbiana. En la Etapa 1, normalmente se usa un exceso estequiométrico de acroleína sobre ácido hidroxi-alcanoico, de manera que en la Etapa 2, se da co-polimerización entre el acetal de acroleína y la acroleína en exceso restante.

- 35 En la Etapa 1, el ácido hidroxi-alcanoico es, por ejemplo, ácido tartárico, ácido láctico, ácido glicérico, ácido glicólico, ácido cítrico o ácido 2-hidroxi-butanoico – u otro ácido hidroxi-carboxílico derivado conceptualmente de la oxidación selectiva de un diol, un alcano-diol, un poliol, un poli(oxialqueno), un azúcar u otra molécula que contiene múltiples hidroxilos, tal como etano-1,2-diol, glicerol o polietilenglicol. Un análogo de tiol de un ácido hidroxi-alcanoico, por ejemplo, glutatión, puede usarse también.

- 40 En la Etapa 1, entre otra evidencia en esta memoria, la formación de acetal se confirma contrastando las propiedades de polímeros sin acetal (Ejemplos 1 y 5(a)) con polímeros que contienen acetal (Ejemplos 3 y 4, respectivamente).

- Como forman acetales cíclicos con acroleína – que están más favorecidos (que los acetales lineales) en su reacción de formación de equilibrio<sup>13</sup> – los ácidos hidroxi-alcanoicos preferidos son ácido tartárico o ácido ascórbico, especialmente el primero. En límites prácticos, en polímeros, el acetal de ácido tartárico era estable a pH 2 a 37°C durante 4 horas – condiciones asociadas con el periodo de residencia de contenidos en el estómago.

En la Etapa 2, la base preferida es disolución acuosa de hidróxido sódico – que tiene un pH entre 10 y 13.

- 5 En la Etapa 2, el nucleófilo orgánico preferido es un alcohol, aunque puede usarse un ácido carboxílico; un alcohol más preferido es un polialquilenglicol, especialmente polietilenglicol; el peso molecular preferido del polietilenglicol está en el intervalo 200-2000 Daltons. Para una relación de peso dada de acroleína a alcohol, mayores pesos moleculares del alcohol dan más impedimento y, polímeros que tienen menos propensiones para migrar a través de membranas; de forma inversa, pueden preferirse alcoholes de menor peso molecular para que los polímeros de acroleína penetren los polímeros naturales que rodean los gérmenes diana. La relación preferida de polietilenglicol:acroleína (o su acetal) es mayor que 1:1 en p/p – y más preferiblemente, mayor que 4:1 en p/p.
- 10 En la Etapa 2, y de acuerdo con la exposición anterior, una relación estequiométrica relativamente baja de grupos hidroxilo con el polietilenglicol (provocada por un alto peso molecular y/o una baja concentración del polietilenglicol) dejará carbonos activos sin reaccionar en el polímero resultante – y favorecerá la actividad anti-microbiana en este sitio en el polímero; la inversión favorecerá actividad la anti-microbiana en los grupos carbonilos en el polímero.
- 15 En la Etapa 2, si se usan tanto ácido tartárico como polietilenglicol – PM 2000 del último, sin calentamiento se prefiere más (véase el Ejemplo 8 a continuación).
- 20 En la Etapa 2, se prefiere ácido ascórbico (y/o su ión); pueden usarse antioxidantes solubles en agua distintos de los conocidos en la técnica. El ácido ascórbico (neutralizado con base para evitar la formación de acetal) – cuando se usa sin aumento de alcohol como el medio de prevención de la insolubilidad, debería usarse a más de aproximadamente 0,15 partes en peso por cada 1,00 partes de acroleína o acroleína incorporada como su acetal. El ácido ascórbico puede contribuir como un antioxidante, alcohol o ácido carboxílico, para inhibir el reticulado entre polímeros.
- 25 En la Etapa 2, el co-monómero opcional (si se usa) es normalmente un monómero olefínico que contiene grupos carboxílicos – preferiblemente, ácido acrílico a aproximadamente 0,05 a 0,10 partes en peso por cada 1,0 partes de acroleína o acroleína incorporada como su acetal. Además, el co-monómero puede contener más de un grupo carboxilo por ejemplo ácido maleico. El propósito normal en la inclusión de monómero es proporcionar o bien repulsión entre las moléculas (o sus iones) durante la polimerización, y/o hidrofiliidad en el polímero producto.
- 30 Los polímeros de esta invención se han proporcionado o bien como sus disoluciones acuosas (véanse los Ejemplos 2, 5, 8) – o después de diálisis, aislados como los polímeros de líquido seco (véanse los Ejemplos 4, 6, 7).
- 35 Los polímeros de esta invención tienen estabilidad física y anti-microbiana que los hacen prácticos por sus usos previstos – y en particular, bajo las condiciones (pH 2/37°C/4 horas) que simulan el tiempo de residencia en el estómago.
- 40 Estando libre de la etapa de auto-oxidación extendida – en contraste a la técnica anterior, se proporciona ahora, síntesis de polímeros solubles en agua y esencialmente anti-microbianos, susceptibles a los ahorros enormemente mejorados de fabricación de flujo continuo (sobre la fabricación por cargas necesaria de la técnica anterior).
- 45 Será evidente que los ejemplos en esta memoria contienen métodos de laboratorio; de forma industrial, se variarán considerablemente, en formas que son fácilmente evidentes para los expertos en la técnica – y que permanecen en el espíritu y alcance de la presente invención.
- A lo largo de la descripción de la presente invención, en todos los métodos, el disolvente es o bien acuoso o enteramente agua. Sin embargo, los preparados son susceptibles a las técnicas heterogéneas – que incluyen técnicas de emulsión, dispersión o suspensión.
- También es evidente que las reacciones descritas en esta memoria, con monómero de acroleína libre y/o sus derivados, especialmente con ácidos hidroxi-alcanoicos – son susceptibles de las mismas reacciones con residuos de acroleína fijos en los polímeros.
- Será evidente para los expertos en la técnica que los polímeros de esta invención pueden formularse en composiciones de liberación controlada y/o con otros materiales como sólidos, disoluciones, emulsiones, suspensiones o geles, en composiciones adecuadas para el uso en el cuidado de la salud de seres humanos o animales, especialmente en el tracto gastro-intestinal.

### Ejemplos

Ejemplo 1; técnica anterior<sup>5</sup>; preparación de poli(2-propenal, ácido 2-propenoico)

Con agitación continuada a temperatura ambiente, en orden cronológico:

1. Se añadió acroleína recién destilada y libre de inhibidor (15 g) a agua (180 g); y
- 50 2. El pH se ajustó a 10,5 por adición de hidróxido sódico acuoso (ca 5 ml; 0,8% en p/p).

Después de 30 minutos, el precipitado insoluble del primer polímero intermedio (que se había formado en los primeros minutos) se filtró, después se secó al aire, en primer lugar a temperatura ambiente durante 1 día (peso seco 7,62 g; rendimiento de polimerización de 50%; ablandamiento a alrededor de 80°C) y después por incrementos de calor sucesivos a 75°C durante 2 días, seguido por calentamiento a 85°C durante 1 día. Este segundo polímero intermedio resultante se disolvió en disolvente acuoso básico para dar una disolución rojo oscura – aunque precipitó a pH por debajo de 6; el ensayo microbiológico mostró, mínimamente, inhibición a 250 ppm de polímero.

Una muestra de este segundo polímero intermedio, auto-oxidado (5 g) se disolvió parcialmente por agitación y calentamiento a 65°C en polietilenglicol (60 g; PM ca 200), y después carbonato de hidrógeno y sodio acuoso (30 g; 1% en p/p). La disolución rojo oscura resultante (pH 8) se calentó a 100°C durante 4 horas para dar una disolución (pH final 6) del (tercer) polímero de acroleína necesario, a saber, poli(2-propenal, ácido 2-propenoico).

El ensayo microbiológico (véanse todas las metodologías, a continuación) mostró, mínimamente, inhibición a 500 ppm de polímero, y muerte de *E. coli* después de 180 minutos; los productos de oxidación se indicaron por un resultado de ensayo de carbonilo de 380% en el polímero; el polímero precipitó a partir de la disolución, por debajo de pH 4.

La invención se ilustra por los siguientes ejemplos, que no deberían considerarse como restrictivos al alcance de la invención:

#### Estimación de actividad anti-microbiana

(a) Ensayo microbiológico: Inhibición de microorganismos: Muestras duplicadas, en disoluciones al 50% en serie, se fabricaron en disolución acuosa (5 ml) y cada una se añadió a tubos de ensayo tapados separados que contenían leche entera pasteurizada (20 ml) en que se ha disuelto sacarosa (3 g). Cada muestra resultante en los tubos de ensayo se colocó en un baño de agua a 32-38°C, durante 20-24 horas; un tubo de ensayo “positivo” se preparó y contuvo agua (5 ml) en vez de disolución de muestra (5 ml). El pH de los contenidos de cada uno se midió antes y después de estos protocolos. Se notó “inhibición” cuando hubo más de 0,5 de diferencia de pH entre los contenidos de un ensayo y el “positivo”; los resultados se presentan como ppm en p/p de polímero (asumiendo que la polimerización ha seguido en el 100% de rendimiento).

Esencialmente, este ensayo mide la capacidad anti-microbiana para inhibir un amplio intervalo de micro-organismos, y se diseña para tener importancia en las circunstancias de un agente anti-microbiano en presencia de constituyentes alimentarios, a temperaturas corporales. La seguridad del ensayo se considera que está en 1 dilución.

(b) Muerte de *Escherichia coli*: Por duplicado, se disolvieron muestras en bicarbonato sódico acuoso al 1% de manera que dan una disolución de polímero (0,125% en p/p del polímero – asumiendo el 100% de polimerización). Una muestra de la disolución (20 ml) se mezcló con 0,1 ml de 10x $10^6$  de *E. coli* hemolítico viable (serotipo O149, K88). A intervalos de tiempo de 0, 3, 10, 30 y 180 minutos, una alícuota (por duplicado) se puso en un plato en platos de agar en sangre y los conteos se estimaron semi-cuantitativamente.

#### Estimación de carbonilo

Esta estimación se basa en un método establecido por Smith<sup>14</sup>. La muestra acuosa (1 g) se pesó con una precisión de 0,01 g – se añadió agua (9 g), y después la disolución de la muestra se llevó a pH 6,00 mediante la adición tanto de ácido clorhídrico 0,01M como hidróxido sódico acuoso 0,01M, como sea apropiado.

Una disolución al 1% de hidrocloreto de hidroxilamina (50 ml) se llevó a pH 6,00 con hidróxido sódico acuoso 0,01M.

La disolución de muestra y disolución de reactivo anteriores se mezclaron y se dejaron a temperatura ambiente durante 30 minutos; los reactivos se valoraron por retroceso con hidróxido sódico acuoso 0,01M (V ml) a pH 6,00.

Entonces, el contenido de carbonilo en % en p/p de la muestra original (W g) – estimado como acroleína, es igual a:  $(V \times 0,10 \times 5,6)/(W \times f)$  donde f es la fracción en peso (expresada como decimal) de polímero en la muestra acuosa (asumiendo un rendimiento de polimerización de 60% que en esta memoria, se encontró en la práctica, y dio resultados de contenido de carbonilo en polímeros, comparables y similares a la técnica anterior). Los resultados de determinaciones duplicadas se promediaron.

#### Análisis cuantitativo de disoluciones de polímero por diálisis.

Por duplicado, la disolución acuosa de polímero (1,00 g) se dializó en cámaras de micro-diálisis de un único lado, agitadas magnéticamente (SIGMA-ALDRICH) frente a agua (1 L) durante 4 a 5 horas – usando membranas de acetato de celulosa de baja unión (SIGMA-ALDRICH) – como sea aplicable, de permeabilidad de peso molecular superior tanto de 1.000 Daltons como 10.000 Daltons. Los dializados se secaron a temperatura ambiente a peso constante, para recuperar la fracción de polímero.

#### Simulación *in vitro* de condiciones de residencia ácidas en el estómago

Por duplicado, la muestra acuosa (1,00 g) se disolvió en agua (9 g) y después se hizo pH 2 mediante la adición de ácido clorhídrico al 10%; también por duplicado, como el blanco, la muestra se trató de forma similar – pero sustituyendo el mismo volumen de agua por el ácido clorhídrico.

- 5 Todos se calentaron a 37°C/4 horas – después, se ajustó a pH 6,00, antes del análisis de sus propiedades físicas, químicas o microbiológicas.

#### Ejemplo 2

Con agitación continuada a temperatura ambiente, en orden cronológico:

1. Se añadió lentamente acroleína recién destilada (5 g; inhibida con hidroquinona al 0,1% en p/p) a una disolución acuosa de ácido ascórbico (8,25 g) en agua (33 g) que contenía ácido sulfúrico al 1% (0,25 ml);
- 10 2. Después de 2 horas, la disolución se añadió lentamente durante 30 minutos a agua (100 ml) que se mantuvo a un pH de ca. 11 mediante adiciones graduales de hidróxido sódico acuoso al 10%; y
3. Después de 30 minutos más, el pH de la disolución clara de polímero se ajustó a 7 con ácido clorhídrico al 10%.

El ensayo microbiológico mostró inhibición mínimamente a 250 ppm de polímero.

#### Ejemplo 3

- 15 Con agitación continuada a temperatura ambiente, en orden cronológico:

1. Se añadió lentamente acroleína recién destilada (5 g; inhibida con hidroquinona al 0,1% en p/p) a una disolución acuosa de ácido tartárico (7 g) en agua (33 g) que contenía ácido sulfúrico al 1% (0,25 ml);
2. Después de 2 horas, la disolución se añadió lentamente durante 30 minutos a agua (100 ml) que se mantuvo a un pH de ca. 11 por adiciones graduales de hidróxido sódico acuoso al 10%; y
- 20 3. Después de 30 minutos más, el pH se ajustó a 7 con ácido clorhídrico al 10% y un precipitado menor de polímero se filtró, se lavó con un poco de agua, y se secó (1,75 g; el polímero no se ablandó por debajo de 125°C). La mayoría del polímero permaneció en disolución; su cantidad de inhibición mínima fue 250 ppm de polímero.

#### Ejemplo 4

Con agitación continuada a temperatura ambiente, en orden cronológico:

- 25 1. Se añadió lentamente acroleína recién destilada (5 g; inhibida con hidroquinona al 0,1% en p/p) a una disolución acuosa de ácido tartárico (7 g) en agua (30 ml) que contenía ácido sulfúrico al 1% (0,25 ml);
2. Después de 2 horas, la disolución se añadió lentamente durante 30 minutos a ácido ascórbico (5 g) en agua (30 ml) que se había traído, y después se mantuvo a un pH de ca. 11 por adiciones graduales de hidróxido sódico acuoso al 10%; y
- 30 3. Después de 30 minutos más, el pH se ajustó con ácido clorhídrico al 10% para dar una disolución clara, casi incolora, de pH 7,5.

- 35 Cuando se analizó hasta pH 1, el polímero permaneció soluble. El ensayo microbiológico mostró inhibición mínimamente a 250 ppm de polímero – que fue igual después del almacenaje a 7°C/6 meses. Todo el *E. coli* se mató después de 180 minutos (véase el método, anteriormente). La disolución de polímero se dializó usando una membrana de bien 1.000 Dalton o 10.000 Dalton para aislar el polímero líquido seco (rendimiento de polimerización de 60%) que inhibió a 500 ppm. De forma alternativa, la muestra inhibió a 500 ppm-1000 ppm después de la exposición a la simulación de condiciones de residencia en el estómago a pH 2/37°C/4 horas.

- 40 El contenido en carbonilo en el polímero fue 25% - tanto antes como después de la exposición a la simulación de condiciones de residencia en el estómago a pH 2/37°C/4 horas. El contenido en carbonilo del polímero fue 55%, e inhibió mínimamente a 2000 ppm después de diálisis frente a agua, pH 6; el contenido en carbonilo del polímero fue 5% después de diálisis frente a disolución acuosa de tartrato sódico (16% en p/p; pH 6) y el ensayo microbiológico mostró inhibición mínimamente a 500 ppm de polímero.

#### Ejemplo 5

Con agitación continuada, en orden cronológico:

- 45 (a) Se añadió lentamente acroleína recién destilada (5 g; inhibida con hidroquinona al 0,1% en p/p) a una disolución acuosa a pH 11 de ácido ascórbico (5 g) en agua (19 ml) más hidróxido sódico acuoso al 10% (12 ml); una alícuota adicional de la disolución de hidróxido sódico (1 ml) se añadió para mantener el pH a 11

durante la adición. Una pequeña alícuota de esta disolución clara, ligeramente dorada, no inhibió cuando se analizó en el ensayo microbiológico hasta 2000 ppm de polímero.

- (b) Después de 15 minutos, se añadió polietilenglicol 200 (60 ml), y después la disolución clara se calentó a 50 a 60°C durante 1 hora. El pH se ajustó entonces a 8 con ácido clorhídrico al 10%.

- 5 Una pequeña parte de la disolución clara no precipitó/enturbió hasta pH 1; el ensayo microbiológico mostró inhibición mínimamente a 50 ppm de polímero; el contenido en carbonilo en el polímero fue 40%.

#### Ejemplo 6

Con agitación continuada a temperatura ambiente, en orden cronológico:

- 10 1. Se añadió lentamente acroleína recién destilada (5 g; 89 mMoles; inhibida con hidroquinona al 0,1% en p/p) a agua (20 ml) más polietilenglicol (60 ml; 330 mMoles; PM 200), se dejó a pH 12 a 13 por la adición de hidróxido sódico acuoso al 10% (2 gotas); y

2. Después de 30 minutos, se añadió agua (10 ml) a la disolución clara, incolora, y el pH se ajustó a 7 con varias gotas de ácido clorhídrico al 10%.

- 15 Cuando se analizó hasta pH 1, el polímero permaneció soluble. El ensayo microbiológico mostró inhibición mínimamente a 50 ppm de polímero. La recuperación de residuos de líquido seco después de diálisis de la disolución de polímero, usando membranas de 1.000 Dalton, dio pesos que indican una relación 1:1 de residuos PEG:acroleína.

#### Ejemplo 7

Con agitación continuada a temperatura ambiente, en orden cronológico:

- 20 1. Se añadió lentamente acroleína recién destilada (5 g; 89 mMoles; inhibida con hidroquinona al 0,1% en p/p) a agua (30 ml) más polietilenglicol (30 g; 15 mMoles; PM 2000), se dejó a pH 12 a 13 por la adición de hidróxido sódico acuoso al 10% (2 gotas); y

2. Después de 60 minutos, el pH de la disolución clara se ajustó a 7 con varias gotas de ácido clorhídrico al 10%.

- 25 Cuando se analizó hasta pH 1, el polímero permaneció soluble. El ensayo microbiológico mostró inhibición mínimamente a 100 ppm de polímero, y que se reprodujo después del almacenaje a 7°C/6 meses. Todo el *E. coli* se mató después de 3 minutos (véase el método, anteriormente). La inhibición del polímero fue 250 ppm después del tratamiento en la simulación (véase anteriormente) a pH 2/37°C/4 horas. La diálisis de la disolución de polímero, usando membrana de 10.000 Dalton, después recuperación, dio polímero líquido, seco, de peso que indica un 60% de rendimiento de polimerización y aproximadamente relación 1:6 de PEG:acroleína en el polímero. El residuo de diálisis del polímero mostró inhibición microbiológica a 250 ppm; el contenido de carbonilo se determinó como 20%.

#### Ejemplo 8

Con agitación continuada a temperatura ambiente, en orden cronológico:

1. Se añadió lentamente acroleína recién destilada (5 g; 89 mMoles; inhibida con hidroquinona al 0,1% en p/p) a una disolución acuosa de ácido tartárico (2,5 g) en agua (25 ml) que contenía ácido sulfúrico al 1% (0,25 ml);

- 35 2. Después de 2 horas, la disolución anterior se añadió lentamente durante 15 minutos a ácido ascórbico (1 g) más polietilenglicol (30 g; 15 mMoles; PM 2000) en agua (30 ml), se dejó anteriormente a pH 12 – y después se mantuvo la reacción a pH 12 a 13 durante la adición (mediante incrementos adicionales de disolución acuosa de hidróxido sódico al 10%); y

- 40 3. Después de 30 minutos el pH de la disolución clara, dorada clara de polímero se ajustó a 7 con ácido clorhídrico al 10%.

El ensayo microbiológico (véase anteriormente) mostró una cantidad de inhibición mínima a 250 ppm de polímero. El polímero permaneció soluble en ácido clorhídrico diluido de pH 1. La diálisis de la disolución de polímero frente a agua, pH 2, dio lugar a una disolución que tenía una cantidad de inhibición mínima de 500 ppm de polímero; la recuperación de polímero seco dio pesos que indicaron una relación de 1:11 de PEG:acroleína en el polímero.

#### 45 Ejemplo 9

Con agitación continuada a temperatura ambiente, en orden cronológico:

1. Se añadió lentamente acroleína recién destilada (5 g; 89 mMoles; inhibida con hidroquinona al 0,1% en p/p) a una disolución acuosa de ácido tartárico (2,5 g) en agua (25 ml) que contenía ácido sulfúrico al 1% (0,25 ml);

2. Después de 2 horas, la disolución anterior se añadió lentamente durante 15 minutos a ácido ascórbico (1 g) más polietilenglicol (30 g; 300 mmoles; PM 200) en agua (30 ml), se dejó anteriormente a pH 12 – y después se mantuvo la reacción a pH 12 a 13 durante la adición (mediante incrementos adicionales de disolución acuosa de hidróxido sódico al 10%); y

- 5 3. Después de 30 minutos el pH de la disolución dorada, clara, de polímero se ajustó a 7 con ácido clorhídrico al 10%.

El ensayo microbiológico (véase anteriormente) no mostró una cantidad de inhibición mínima a 2000 ppm de polímero. El polímero permaneció soluble en ácido clorhídrico diluido de pH 1. La recuperación de polímero, después de la diálisis frente a agua, pH 7, dio pesos que indicaron una relación 1:3 de PEG:acroleína.

- 10 Se prevé que los polímeros de la presente invención, como un resultado directo de las propiedades de los mismos evidentes anteriormente, resultarán efectivos en el tratamiento de cáncer, trastornos de coagulación e inflamación. A su vez, se prevé que los polímeros de la presente invención resultarán útiles y efectivos cuando se usen en composiciones anti-cancerígenas, anti-coagulantes y anti-inflamatorias en una cantidad farmacéuticamente aceptable.
- 15 Las modificaciones y variaciones tal como serán evidentes a los destinatarios expertos se considera que caen en su alcance.

**Referencias**

1. J. Redtenbacher, *Ann.*, **47**, 113 (1843).
2. G. J. H. Melrose, C. M. Kleppe, J. W. Langley, J. M. Stewart y J. Van Dyk, publicación de patente internacional WO 88/04671.
- 5 3. G. J. H. Melrose, publicación de patente internacional WO 96/38186.
4. G. J. H. Melrose y A. J. Huxham, publicación de patente internacional WO 00/03723.
5. G. J. H. Melrose, G. Daly y A. J. Huxham, publicación de patente internacional WO 01/60874 A1.
6. J. A. Staton y G. J. H. Melrose, publicación de patente internacional WO 02/26211 A1.
- 10 7. G. J. H. Melrose, A. J. Huxham, D. M. G. Tilbrook y V. L. Wycoco, publicación de patente internacional WO 03/061672 A1.
8. R. F. Fischer en C. W. Smith, "Acrolein", John Wiley and Sons, Inc., 1962, Capítulo 14, página 225.
9. P. Werle, H. P. Krimmer, M. Trageser y F. R. Kunz, Patente de los Estados Unidos 6.060.571.
10. C. Liu y J. M. Crawford en V. Kumar, A. K. Abbas y N. Fausto, "Robbins and Cotran Pathologic Bases of Disease", Elsevier Inc. 7ª Edición (Internacional) 2005, capítulo 17, página 8.
- 15 11. M. B. Smith y J. March, "March's Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure" John Wiley and Sons, Inc., 5ª Edición, 2001. A: capítulo 15, página 975; B: capítulo 16, página 1180.
12. G. Odian, "Principles of Polymerisation", John Wiley and Sons, Inc., 2ª Edición 1981, Capítulo 5, página 460.
13. R.C. Morris en Referencia 8, Capítulo 7, Página 110.
14. E.D. Peters en Referencia 8, Capítulo 16, Página 256.

**REIVINDICACIONES**

1. Polímeros de acroleína antimicrobianos obtenibles mediante polimerización acuosa, catalizada por base, de:
  - (a) acroleína y/o su acetal derivado de ácido hidroxi-alcanoico, y;
  - (b) polietilenglicol.
- 5 2. Polímeros de acroleína antimicrobianos según la reivindicación 1 que comprenden estructuras que resultan de la reacción entre polietilenglicol y carbonos próximos al carbonilo en residuos de acroleína en los polímeros.
3. Polímeros de acroleína antimicrobianos según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde el polietilenglicol tiene un peso molecular promedio de 200 a 10.000 Daltons.
- 10 4. Polímeros de acroleína antimicrobianos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde el peso molecular del polietilenglicol está en el intervalo de 200 a 2000 Daltons.
5. Polímeros antimicrobianos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que tienen un peso molecular de más de aproximadamente 1000 Daltons.
- 15 6. Polímeros de acroleína antimicrobianos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en donde los polímeros de acroleína se derivan de polimerización acuosa, catalizada por base, de un acetal de acroleína derivado de ácido hidroxi-alcanoico, en donde el ácido hidroxi-alcanoico se selecciona del grupo que consiste en ácido tartárico, ácido ascórbico, ácido láctico, ácido glicérico, ácido glicólico, ácido cítrico y ácido 2-hidroxi-butanoico.
7. Polímeros de acroleína antimicrobianos según la reivindicación 6 en donde el acetal es un acetal cíclico de acroleína y el ácido hidroxi-alcanoico se selecciona del ácido tartárico y ácido ascórbico.
8. Un método para la síntesis de polímeros de acroleína que comprende polimerizar:
  - 20 (a) acroleína y/o su acetal derivado de ácido hidroxi-alcanoico y (b) polietilenglicol;
 en donde la polimerización se realiza en disolución acuosa básica en presencia de un catalizador básico.
9. Un método según la reivindicación 8 en donde el polietilenglicol tiene un peso molecular promedio de 200 a 10.000 Daltons.
- 25 10. Un método según la reivindicación 8 en donde la relación de polietilenglicol:acroleína o acetal de acroleína es mayor que 1:1 en p/p.
11. Un método según la reivindicación 8 o la reivindicación 9 en donde la disolución acuosa básica es hidróxido sódico acuoso que tiene un pH entre 10 y 13.
12. Un método según la reivindicación 8 en donde el acetal se forma por un método que comprende la conversión parcial, usando un catalizador ácido, de monómero de acroleína a su derivado acetal con un ácido hidroxi-alcanoico.
- 30 13. Un método según la reivindicación 12 en donde el ácido hidroxi-alcanoico se selecciona del grupo que consiste en ácido tartárico, ácido láctico, ácido glicérico, ácido glicólico, ácido cítrico y ácido 2-hidroxi-butanoico.
14. Polímeros antimicrobianos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para usar en el tratamiento de trastornos gastrointestinales microbianos.
15. Polímeros antimicrobianos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para usar en el tratamiento del cáncer.

35