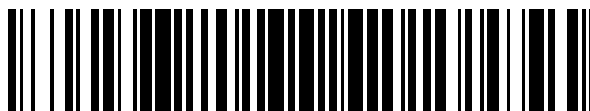


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 590 919**

51 Int. Cl.:

<b>A01N 33/12</b>	(2006.01)
<b>A01N 35/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/00</b>	(2006.01)
<b>G02C 7/04</b>	(2006.01)
<b>A61F 9/00</b>	(2006.01)
<b>G02B 1/04</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.12.2013 PCT/GB2013/053388**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2014 WO14096852**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.12.2013 E 13821910 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016 EP 2936215**

54 Título: **Lentes de contacto oftálmicas antimicrobianas**

30 Prioridad:

**21.12.2012 US 201261740599 P**

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

**24.11.2016**

73 Titular/es:

**COOPERVISION INTERNATIONAL HOLDING  
COMPANY, LP (100.0%)  
Suite 2, Edghill House Wildey Business Park  
St. Michael, BB**

72 Inventor/es:

**ZHU, PETER;  
MORRIS, CAROL ANN;  
LUK, ANDREW;  
MALTSEVA, INNA;  
BACK, ARTHUR;  
ROGERS, VICTORIA;  
KHONG, KATHLEEN;  
ZHANG, YUN y  
YE, YING**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 590 919 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

Lentes de contacto oftálmicas antimicrobianas

5 **Antecedentes**

El ámbito de la divulgación son dispositivos oftálmicos antimicrobianos elaborados a partir de hidrogeles y de  $\epsilon$ -polilisina.

- 10 La  $\epsilon$ -polilisina es un homopolímero de aproximadamente 25-35 residuos de L-lisina en el que los grupos amino y carboxilo en  $\epsilon$  de la L-lisina están unidos. Es un polímero natural producido por especies de *Streptomyces*. Tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana y se ha usado ampliamente como conservante alimentario en Japón y como aditivo en diversos productos de consumo. Se ha descrito su uso en soluciones de mantenimiento de lentes de contacto (véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU. nº 6.187.264 y la Publ. de Pat. de EE.UU. nº 2005/0074467). Se han notificado hidrogeles elaborados a partir de  $\epsilon$ -poli-L-lisina-injerto-metacrilamida (Zhou et al., *Biomaterials* 32 (2011) 2704-2712). Los envases para lentes de contacto que incluyen un receptáculo precintado que contiene una lente de contacto hecha de un copolímero de hidrogel de silicona en una solución estéril que comprende un agente estabilizante que puede formar un complejo iónico o un puente de hidrógeno con el copolímero de hidrogel, se han descrito en la Publ. de Pat. de EE.UU. nº 2007/0149428. Un sistema de envasado y el método para el almacenamiento de una lente de hidrogel iónica que usa una solución de envasado acuosa que incluye un polímero de fosforilcolina, y que adicionalmente puede incluir un agente tamponante, se ha descrito en la Publ. de Pat. de EE.UU. nº 2009/0100801. Otros antecedentes de publicaciones incluyen la Publ. de Pat. de EE.UU. nº 2012/0074352, la Publ. de Pat. de EE.UU. nº 2011/0071091, la Publ. de Pat. de EE.UU. nº 2005/0074467, la Publ. de Pat. de EE.UU. nº 2004/0135967, la Patente de EE.UU. nº 4.168.112, la Patente de EE.UU. nº 7.282.214, la Patente de EE.UU. nº 7.402.318, la Pat. EP nº 1328303B1 y la Publ. PCT nº WO94/13774.

**Sumario**

- 30 En un aspecto, la invención proporciona una lente de contacto antimicrobiana sumergida en una solución de envasado y precintada en un envase, comprendiendo dicha lente de contacto un hidrogel y una cantidad antimicrobianamente eficaz de polilisina  $\epsilon$  ( $\epsilon$ PLL de acuerdo con la reivindicación 1). Ventajosamente, la lente de contacto comprende un primer componente polimérico que es un hidrogel y un segundo componente polimérico que comprende la cantidad antimicrobianamente eficaz de polilisina  $\epsilon$  ( $\epsilon$ PLL). La  $\epsilon$ PLL (o el segundo componente polimérico) está unida no covalentemente al hidrogel (o primer componente polimérico). En un aspecto adicional más, la invención proporciona un método para la administración de la  $\epsilon$ PLL en el tejido ocular de un paciente en necesidad de la misma, comprendiendo dicho método la administración al paciente de la lente de contacto de la invención. En otro aspecto, la invención proporciona una composición para su uso en el tratamiento o la profilaxis de una infección microbiana que comprende un hidrogel y  $\epsilon$ PLL. Ventajosamente, la composición está en forma de una lente de contacto de la invención.

40

**Descripción detallada**

- 45 En el presente documento se divulgan dispositivos oftálmicos antimicrobianos. El dispositivo oftálmico comprende un hidrogel y una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ -polilisina ( $\epsilon$ PLL) unida no covalentemente al hidrogel. La  $\epsilon$ PLL es, o es una parte de, un componente polimérico, es decir, es distinta del componente polimérico que forma el hidrogel. Mientras que el componente polimérico de hidrogel (el primer componente polimérico) y el componente polimérico que comprende la  $\epsilon$ PLL (el segundo componente polimérico) pueden estar, y ventajosamente están, unidos no covalentemente entre sí, por ejemplo, mediante interacciones físicas o electrostáticas, no están unidos covalentemente entre sí y permanecen como componentes individuales distintos de la lente de contacto. En el presente documento se ejemplifican lentes de contacto, sin embargo, de acuerdo con la presente divulgación, pueden elaborarse otros tipos de dispositivos oftálmicos elaborados a partir de hidrogeles, tales como insertos oculares, vendajes oculares y lentes intraoculares. El dispositivo oftálmico se proporciona sin usar (es decir, es un dispositivo nuevo que no ha sido usado previamente por un paciente) precintado en un envase, tal como un envase alveolado, un vial de vidrio u otro recipiente adecuado, que contiene una solución de envasado en la que está sumergido el dispositivo oftálmico.

55

- 60 El hidrogel puede ser elaborado mediante la polimerización de una mezcla monomérica para formar un producto de polimerización, e hidratando el producto de polimerización para obtener el hidrogel. Según se usa en el presente documento, el término "mezcla monomérica" se refiere a una mezcla de monómeros polimerizables junto con cualquier ingrediente adicional, incluyendo ingredientes no polimerizables, que son sometidos a unas condiciones de polimerización para formar un producto de polimerización. El término "producto de polimerización" se refiere a un polímero seco, es decir, no hidratado, que después se pone en contacto con uno o más líquidos para hidratarlo y extraer cualquier monómero u oligómero no unido del polímero y formar el hidrogel. El término "monómero" se refiere a cualquier molécula capaz de reaccionar en una reacción de polimerización con otras moléculas que son iguales o diferentes, para formar un polímero o un copolímero. Por lo tanto, el término engloba prepolímeros y macrómeros polimerizables, por lo que no hay ninguna restricción de tamaño en el monómero salvo que se indique

65

de otro modo.

Los métodos para la elaboración de los dispositivos oftálmicos de hidrogel son bien conocidos en la materia. Algunos ejemplos de métodos se describen en la Patente de EE.UU. nº 6.867.245, a favor de Iwata et al., en la Patente de EE.UU. nº 8.129.442 a favor de Ueyama et al., en la Patente de EE.UU. nº 4.889.664 a favor de Kindt-Larsen et al., en la Patente de EE.UU. nº 3.630.200 a favor de Higuchi y en la Patente de EE.UU. nº 6.217.896 a favor de Benjamin. En el caso de las lentes de contacto, los denominados "hidrogeles convencionales" se forman normalmente a partir de una mezcla monomérica que comprende un monómero hidrófilo tal como metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) o alcohol vinílico, opcionalmente junto con otros monómeros, y que no contiene siloxano (es decir, una molécula que comprende al menos un grupo Si-O). Un hidrogel de silicona se forma a partir de una mezcla monomérica que comprende al menos un monómero de siloxano polimerizable. Algunos ejemplos de hidrogeles convencionales incluyen etafilcon A, nelfilcon A, ocufilcon D, omafilcon A, omafilcon D y polimacon. Algunos ejemplos de hidrogeles de silicona incluyen balafilcon A, comfilcon A, enfilcon A, lotrafilcon A y senofilcon A. Los hidrogeles mencionados anteriormente, y cualquier otro hidrogel adecuado no mencionado específicamente en el presente documento, pueden usarse en el dispositivo oftálmico antimicrobiano de la presente divulgación. En un ejemplo específico, el dispositivo oftálmico antimicrobiano es una lente de contacto de hidrogel de silicona. En varios ejemplos, la lente de contacto de hidrogel de silicona es una lente de contacto de uso prolongado que un paciente puede usar de forma continua durante al menos 24 horas, 5 días, 7 días o 14 días. En otro ejemplo, la lente de contacto es una lente de uso diario, que un paciente utiliza durante el día y almacena cada noche en una solución destinada al almacenamiento de la lente de contacto. En otro ejemplo más, la lente de contacto es una lente diaria desechable que es utilizada por un paciente durante las horas de vigilia, eliminada y desechada antes de dormir y sustituida por una lente nueva sin usar cada día. A lo largo de esta divulgación, una referencia a "ejemplos", "un ejemplo", "un ejemplo específico" o una frase similar pretende introducir una característica o características del hidrogel, de la lente de contacto, de la  $\epsilon$ PLL, de la solución de envasado, de la composición polimerizable, del método de elaboración, etc. (dependiendo del contexto) que puede ser combinada con cualquier combinación de los ejemplos descritos anteriormente o posteriormente (es decir, las características), salvo que una combinación de características en particular sea mutuamente excluyente, o si el contexto lo indica de otro modo.

La  $\epsilon$ PLL (nº de CAS 28211-04-3) está disponible en el mercado normalmente en forma de un homopolímero que varía entre aproximadamente 25 y aproximadamente 35 residuos de lisina (LYS). Pueden usarse todas las fracciones del homopolímero de  $\epsilon$ PLL natural. Alternativamente, puede eliminarse una fracción seleccionada de la  $\epsilon$ PLL y desecharse antes de su uso. Por ejemplo, puede unirse una  $\epsilon$ PLL que consiste en un homopolímero que tiene al menos 27 residuos de LYS, o al menos 29 residuos de LYS, al hidrogel. En otro ejemplo, la  $\epsilon$ PLL unida al hidrogel puede consistir en no más de 33 residuos de LYS, o en no más de 31 residuos de LYS. En otro ejemplo más, la  $\epsilon$ PLL, o la porción de la  $\epsilon$ PLL del segundo componente polimérico, unida al hidrogel, consiste en homopolímeros que varían desde 27 hasta 33 residuos de LYS. Según se usa en el presente documento, el término  $\epsilon$ PLL también incluye derivados de la  $\epsilon$ PLL, siempre que la forma derivatizada del homopolímero conserve su actividad antimicrobiana. El segundo componente polimérico puede incluir  $\epsilon$ PLL o un derivado de la misma incorporado en un compuesto mayor. Por ejemplo, antes de la incorporación en el hidrogel, puede unirse una fracción química a la  $\epsilon$ PLL para impartir una propiedad deseada. En un ejemplo, la  $\epsilon$ PLL puede estar unida covalentemente a una fracción hidrófoba para mejorar su miscibilidad con una mezcla monomérica hidrófoba usada en la elaboración del hidrogel o para ralentizar su velocidad de liberación desde el hidrogel. En otro ejemplo, la  $\epsilon$ PLL puede estar unida a otro polímero, proporcionando un copolímero en bloque de funcionalidad doble, tal como una  $\epsilon$ PLL unida a un polímero hidrófilo que mejora la comodidad de una lente de contacto mientras proporciona un efecto antimicrobiano. En otros ejemplos, la  $\epsilon$ PLL consiste en un homopolímero de L-lisina épsilon, es decir, no está derivatizado. Según se usa en el presente documento, el término "componente polimérico que incluye una  $\epsilon$ PLL" incluye un homopolímero de L-lisina épsilon, un polímero derivatizado de L-lisina épsilon, un copolímero en bloque que incluye un polímero de L-lisina épsilon y otro polímero, y un componente que incluye una porción no polimérica (por ejemplo, una fracción hidrófoba) unida a un polímero de L-lisina épsilon, por ejemplo, como constituyente de un componente polimérico que está presente en el hidrogel. Debe apreciarse que las referencias a la " $\epsilon$ PLL" en lo sucesivo son normalmente una abreviatura de "componente polimérico que comprende  $\epsilon$ PLL". Mientras que el término " $\epsilon$ PLL" puede referirse en algunos contextos a homopolímeros de L-lisina épsilon o a derivados de la misma únicamente, cuando el contexto lo permita, en lo sucesivo debe entenderse que el término " $\epsilon$ PLL" se refiere tanto a los polímeros de L-lisina épsilon y como a los componentes poliméricos que incluyen  $\epsilon$ PLL como se ha definido anteriormente. De forma análoga, las referencias al "hidrogel" se refieren al componente del hidrogel polimérico.

La lente de contacto comprende un hidrogel y una cantidad antimicrobianamente eficaz de polilisina épsilon ( $\epsilon$ PLL). Normalmente, la  $\epsilon$ PLL está presente en el hidrogel. Ventajosamente, la  $\epsilon$ PLL está unida al hidrogel a través de un mecanismo no covalente en el que la  $\epsilon$ PLL conserva su actividad antimicrobiana. La expresión "unida a" no pretende limitar la forma en la que el dispositivo oftálmico comprende la  $\epsilon$ PLL. Por ejemplo, se considera que la  $\epsilon$ PLL está unida a un hidrogel si está físicamente entrelazada en la red polimérica del hidrogel, y/o es recogida y retenida en los poros del hidrogel en virtud de un gradiente de concentración entre el hidrogel y la solución de envasado en la que está sumergido inicialmente el hidrogel, y/o es retenida por el hidrogel debido a interacciones hidrófobas. Según se usa en el presente documento, el término "unida no covalentemente" incluye una unión mediante interacciones electrostáticas, incluyendo un puente iónico entre los grupos cargados negativamente presentes en el hidrogel y los grupos amino cargados positivamente presentes en la  $\epsilon$ PLL. La  $\epsilon$ PLL puede estar unida al hidrogel, por ejemplo,

mediante interacciones físicas o electrostáticas. No es necesario que la  $\epsilon$ PLL esté presente uniformemente por todo el hidrogel. Por ejemplo, la  $\epsilon$ PLL puede estar presente principalmente en la superficie del hidrogel, o puede estar presente en una mayor concentración en la superficie del hidrogel, o puede estar presente en una mayor concentración en el grueso del hidrogel. El componente polimérico que incluye la  $\epsilon$ PLL y el componente de hidrogel siguen siendo distintos cuando se unen entre sí en la lente de contacto de la invención y no están unidos entre sí por enlaces covalentes, por ejemplo, como parte de una única molécula o integrados en la misma matriz reticulada.

El hidrogel comprende opcionalmente grupos cargados negativamente. Los grupos cargados negativamente se unen iónicamente a la  $\epsilon$ PLL y facilitan la unión no covalente de la  $\epsilon$ PLL al hidrogel. Ventajosamente, el hidrogel comprende grupos cargados negativamente que se unen iónicamente a la  $\epsilon$ PLL. En un ejemplo, el hidrogel comprende grupos cargados negativamente a los que se unen iónicamente los grupos de amina primaria de la  $\epsilon$ PLL. Un hidrogel con grupos cargados negativamente puede prepararse mediante la inclusión de un monómero aniónico en la mezcla monomérica usada para la elaboración del producto de polimerización, que es hidratado para formar el hidrogel. Alternativamente, los grupos cargados negativamente pueden añadirse después de que se haya formado el producto de polimerización, según se describe adicionalmente a continuación. Algunos grupos cargados negativamente adecuados incluyen grupos carboxilato, fosfato, fosfonato, fosfónico, sulfonato, sulfato y sulfito. Los hidrogeles que comprenden grupos carboxilato son particularmente adecuados para su uso en la presente invención.

Algunos monómeros aniónicos adecuados para su uso en mezclas monoméricas pueden comprender uno o más grupos carboxilato, fosfato, fosfonato, fosfónico, sulfonato, sulfato, sulfito y combinaciones de los mismos. Dichos grupos están normalmente cargados negativamente a un pH de 7. Algunos ejemplos no limitantes de monómeros aniónicos que contienen ácido carboxílico que pueden usarse incluyen ácido (met)acrílico, ácido acrílico, ácido itacónico, ácido crotonico, ácido cinámico, ácido vinilbenzoico, ácido fumárico, ácido maleico, monoésteres del ácido fumárico, y N-viniloxycarbonil-L-alanina; algunos monómeros aniónicos que contienen un grupo fosfato incluyen acrilato fosfato de 2-hidroxietilo, acrilato fosfato de 4-hidroxibutilo y fosfato de vinilo; y algunos monómeros que contienen grupos sulfonato incluyen sulfonato de estireno, ácido 2-acrilamido-2-metilpropansulfónico, sulfonato de vinilo y metacrilato de sulfoetilo. En un ejemplo en particular, el monómero aniónico que contiene el ácido carboxílico es el ácido (met)acrílico. El término "monómero aniónico" también incluye monómeros que pueden experimentar una hidrólisis para proporcionar una carga negativa a un pH de aproximadamente 7. Por ejemplo, puede incluirse metacrilato de trimetilsililo (TMSMA) en una mezcla monomérica y polimerizarse. Cuando el producto resultante de la polimerización está hidratado, el grupo trimetilsililo se hidroliza para generar el ácido metacrílico (es decir, la estructura de un monómero del ácido metacrílico polimerizado).

Ventajosamente, se incluyen uno o más monómeros aniónicos en la mezcla monomérica en una cantidad como para proporcionar al hidrogel de la invención un contenido iónico de entre aproximadamente un 0,1 %, un 0,3 %, un 0,5 %, un 1,0 % o un 1,5 % y aproximadamente un 2,0 %, un 2,2 %, un 2,5 % o un 3,0 %. Según se usa en el presente documento el % de contenido iónico se determina mediante la Fórmula I:

$$\sum (a_n \times b_n / c_n) \times 89 = \% \text{ de contenido iónico} \quad (I)$$

en la que  $a_n$  es el porcentaje en peso, según se define a continuación, del monómero iónico n usado en la mezcla monomérica,  $b_n$  es el número de grupos cargados negativamente del monómero n a un pH de 7 (por ejemplo, el número de grupos carboxilato, fosfato, fosfonato, fosfónico, sulfonato, sulfato y sulfito en el monómero), y  $c_n$  es el peso molecular del monómero iónico n. Si se usa más de un monómero aniónico en una mezcla monomérica, el % de contenido iónico del hidrogel es la suma del % de contenido iónico proporcionado por cada monómero aniónico n. El porcentaje en peso del monómero aniónico n en la mezcla monomérica es relativo al peso de todos los componentes de la mezcla monomérica que se incorporan en el hidrogel. En otras palabras, los ingredientes de la mezcla monomérica que no se incorporan en el producto final del hidrogel, tales como los diluyentes que se eliminan del hidrogel durante el proceso de elaboración, no están incluidos en la determinación del porcentaje en peso. La Fórmula I ajusta las diferencias en el peso molecular y en la carga relativa al ácido (met)acrílico, un monómero aniónico usado habitualmente en las lentes de contacto de hidrogel convencionales, que tiene un peso molecular de 89 y un grupo iónico. Por lo tanto, por ejemplo, el contenido iónico de un hidrogel preparado a partir de una composición que comprende un 2,0 % en peso de N-viniloxycarbonil-L-alanina (PM = 159, 1 grupo iónico) y ningún otro monómero aniónico se calcula como sigue:  $(2,0 / 159) \times (89) = 1,1$  % de contenido iónico. El contenido iónico de un hidrogel preparado a partir de una composición que comprende un 2,0 % en peso de ácido itacónico (PM = 130, 2 grupos iónicos) y ningún otro monómero aniónico se calcula como sigue:  $(2,0 \times 2 / 130) \times 89 = 2,7$  % de contenido iónico. El contenido iónico de la lente de hidrogel proporciona la capacidad de una lente de captar y liberar la  $\epsilon$ PLL. Hemos averiguado que puede conseguirse una liberación sostenida de la  $\epsilon$ PLL equilibrando el contenido iónico del hidrogel de la lente en los intervalos descritos anteriormente.

A lo largo de esta descripción, cuando se proporciona una serie de intervalos de límite inferior y una serie de intervalos de límite superior, se contemplan todas las combinaciones de los intervalos proporcionados como si cada combinación estuviera mencionada específicamente. Por ejemplo, en la lista anterior de porcentajes de contenido iónico, se contemplan todos los 20 posibles porcentajes de contenido iónico (es decir, el 0,1-2,0 %, el 0,3-2,0 %... el 1,5 %-2,5 % y el 1,5 %-3,0 %). Además, a lo largo de esta divulgación, cuando una serie de valores se presenta con

un calificativo que precede al primer valor, se pretende que el calificativo preceda implícitamente a cada valor posterior de la serie salvo que el contexto lo indique de otro modo. Por ejemplo, para los valores indicados anteriormente, se entiende que el calificativo "desde aproximadamente" precede implícitamente a los valores 0,3, 0,5, 1,0 y 1,5, y el calificativo "hasta aproximadamente" precede implícitamente a los valores 2,2, 2,5 y 3,0. En un ejemplo específico, el contenido iónico del hidrogel está en el intervalo del 1,5 % al 2,2 %, o del 1,6 % al 2,0 %. Sorprendentemente, hemos averiguado que las lentes de contacto de hidrogel que tienen un contenido iónico en este intervalo pueden liberar de forma sostenida una cantidad antimicrobianamente eficaz de la  $\epsilon$ PLL durante al menos 7 días.

Alternativamente, o además de la inclusión de los monómeros aniónicos en la mezcla monomérica, pueden incorporarse grupos cargados negativamente en un hidrogel después de que la mezcla monomérica haya polimerizado. Por ejemplo, puede usarse un tratamiento con plasma para unir los monómeros aniónicos a la superficie del producto de polimerización o del hidrogel (véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU. nº 4.143.949 a favor de Chen et al. y la Publ. de EE.UU. nº 2008/0245474 a favor de Claude et al.). En otro método se incluye un monómero que comprende un grupo funcional reactivo, tal como un grupo hidroxilo o un grupo amino, en la mezcla monomérica. El producto de polimerización resultante puede conjugarse posteriormente a través de los grupos funcionales reactivos cargados negativamente con un compuesto.

La  $\epsilon$ PLL puede unirse a un hidrogel simplemente sumergiendo el producto de polimerización o el hidrogel en una solución de envasado que comprende la  $\epsilon$ PLL. Si el hidrogel contiene grupos cargados negativamente, como se ha descrito anteriormente, puede unirse iónicamente con los grupos de amina primaria de la  $\epsilon$ PLL. Algunos hidrogeles sin grupos cargados negativamente también pueden captar una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL desde una solución de envasado. Por ejemplo, debido al gradiente de concentración de la  $\epsilon$ PLL entre la solución de envasado y el hidrogel, el hidrogel puede captar y retener una cantidad eficaz de  $\epsilon$ PLL debido a interacciones hidrófobas o a otras interacciones físicas. Por ejemplo, hemos averiguado que el omafilcon A, que no tiene grupos cargados negativamente, puede captar una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL desde PBS que comprende 500 ppm de  $\epsilon$ PLL. También hemos averiguado que el omafilcon A, un hidrogel elaborado a partir de una mezcla monomérica que comprende HEMA y un monómero bipolar, la metacrililoiloxetil fosforilcolina (MPC), capta una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL desde PBS que comprende 500 ppm de  $\epsilon$ PLL. El hidrogel comprende opcionalmente grupos fosforilcolina. Los grupos bipolares de fosforilcolina se unen iónicamente a la  $\epsilon$ PLL y facilitan la unión no covalente de la  $\epsilon$ PLL al hidrogel. Ventajosamente, el hidrogel comprende grupos fosforilcolina que se unen iónicamente a la  $\epsilon$ PLL.

En un ejemplo, la solución de envasado, justo antes de entrar en contacto con el hidrogel o el producto de polimerización, comprende  $\epsilon$ PLL en unas cantidades de al menos entre 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm o 300 ppm hasta aproximadamente 600 ppm, 800 ppm, 1.000 ppm 1.500 ppm o 2.000 ppm. Según se usa en el presente documento, una solución que comprende 500 ppm de  $\epsilon$ PLL contiene 500  $\mu$ g/ml de  $\epsilon$ PLL. Mientras que las concentraciones de  $\epsilon$ PLL en estos intervalos serán muy eficaces frente a los patógenos oculares implicados con más frecuencia en la queratitis bacteriana inducida por lentes de contacto, unas concentraciones mayores de 2.000 ppm no son tóxicas ni irritan el tejido ocular y pueden usarse en los ejemplos en los que se desee una mayor concentración de  $\epsilon$ PLL. Después de haber sumergido el hidrogel o el producto de polimerización en la solución de envasado, alguna, la mayor parte o toda la  $\epsilon$ PLL se une no covalentemente al hidrogel, reduciendo así la concentración de  $\epsilon$ PLL en la solución. Después de sumergir el hidrogel en la solución de envasado, el envase se cierra herméticamente y se esteriliza. Algunos métodos de esterilización adecuados incluyen un tratamiento en autoclave, radiación gamma, radiación de haz de electrones, radiación ultravioleta, etc. En algunos ejemplos, el hidrogel y la solución de envasado pueden elaborarse y combinarse mediante el uso de unas condiciones estériles, de forma que no es necesaria una etapa de esterilización posterior al envasado.

Hemos averiguado que al disminuir la fuerza iónica de la solución de envasado con respecto a la que se usa convencionalmente para las lentes de contacto, puede aumentarse significativamente la captación y/o la retención de la  $\epsilon$ PLL por parte de los hidrogeles, dando como resultado un aumento en la bioactividad. Por ejemplo, las lentes de contacto de omafilcon A, cuando se envasan y se tratan en autoclave junto con 500 ppm de  $\epsilon$ PLL en PBS con una fuerza iónica de aproximadamente 0,2, captan aproximadamente 5  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL/lente. Cuando se ensayan en el ensayo de bioactividad *in vitro* sustancialmente según se describe en el siguiente Ejemplo 5 mediante el uso de una incubación de 24 horas con un inóculo bacteriano de  $10^4$ , las lentes dieron como resultado una eliminación completa de *Pseudomonas aeruginosa* (PA), una eliminación menor de un log de *Staphylococcus aureus* (SA), y ninguna eliminación detectable de *Serratia marcescens* (SM). Por el contrario, las mismas lentes de omafilcon A envasadas y tratadas en autoclave en tampón TRIS con un 2 % de sorbitol, que tiene una fuerza iónica de aproximadamente 0,02, captaron aproximadamente 120  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL/lente y dieron como resultado una eliminación de aproximadamente 4 log de SM. Por lo tanto, en varios ejemplos, la solución de envasado tiene una fuerza iónica menor de aproximadamente 0,15, 0,10 o 0,05 según se calcula mediante la ecuación:

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n C_i Z_i^2$$

en la que  $c$  es la concentración molar del ion  $i$  ( $\text{mol dm}^{-3}$ ),  $z_i$  es el número de carga de ese ion, y la suma tiene en cuenta todos los iones de la solución de envasado.

Para reducir la fuerza iónica manteniendo a la vez una osmolalidad apropiada en el intervalo de desde aproximadamente 200, 250 o 270 mOsm/kg hasta aproximadamente 310, 350 o 400 mOsm/kg, el cloruro de sodio, que se usa habitualmente como agente de tonicidad en las soluciones de envasado de las lentes de contacto, puede ser sustituido por un agente de tonicidad no electrolito, tal como sorbitol, como se ha indicado anteriormente. Otros agentes de tonicidad no electrolitos que pueden usarse en la solución de envasado incluyen manitol, glucosa, glicerol, propilenglicol, xilitol e inositol. Adicionalmente o como alternativa, la fuerza iónica de una solución de envasado puede reducirse mediante la sustitución del tampón de fosfato o de borato usado en las soluciones de envasado convencionales de las lentes de contacto por un tampón con una fuerza iónica menor, tal como TRIS y/o tricina. El siguiente Ejemplo 8 demuestra adicionalmente que la reducción de la fuerza iónica de una solución de envasado que comprende  $\epsilon$ PLL puede dar como resultado un aumento en la captación de  $\epsilon$ PLL por parte del hidrogel.

En algunos ejemplos, la solución de envasado consiste, o consiste esencialmente, en una solución acuosa de un tampón, un agente de tonicidad, y opcionalmente  $\epsilon$ PLL. En otros ejemplos, la solución de envasado contiene agentes adicionales tales como uno o más agentes antimicrobianos adicionales, un agente de comodidad, un polímero hidrófilo o un tensioactivo u otro aditivo que impida que la lente se adhiera al recipiente. La solución de envasado normalmente tiene un pH en el intervalo de entre aproximadamente 6,8 o 7,0 hasta aproximadamente 7,8 u 8,0.

Otra forma mediante la cual la  $\epsilon$ PLL puede unirse a un hidrogel es mediante la inclusión de la  $\epsilon$ PLL en la mezcla monomérica. Después de la polimerización de la mezcla monomérica, la  $\epsilon$ PLL está enredada en la red polimérica del hidrogel y, debido a que no está unida covalentemente al hidrogel, puede migrar a través de los poros del hidrogel hacia la superficie, donde puede proporcionar un efecto antimicrobiano.

La  $\epsilon$ PLL también puede unirse a un hidrogel sumergiendo un producto de polimerización en una solución acuosa que comprende  $\epsilon$ PLL en unas condiciones y durante un tiempo suficiente para que el producto de polimerización se hidrate y capte una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL. Alternativamente, el producto de polimerización puede ser hidratado para formar un hidrogel, y después sumergido en una solución que comprende  $\epsilon$ PLL en unas condiciones y durante un tiempo suficiente para que el hidrogel capte una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL. El hidrogel resultante puede envasarse en una solución de envasado que está exenta de  $\epsilon$ PLL o que contenga  $\epsilon$ PLL adicional.

Una "cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL", según se usa en el presente documento, es una cantidad de  $\epsilon$ PLL que da como resultado una eliminación de al menos dos log de *Pseudomonas aeruginosa* (PA) en comparación con un hidrogel de control cuando se ensaya después de 24 horas de incubación con  $10^4$  UFC de PA (es decir, un inóculo bajo) mediante el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro*. Según se usa en el presente documento, un "ensayo de bioactividad *in vitro*" significa un ensayo sustancialmente según se describe en el siguiente Ejemplo 5, y un "hidrogel de control" significa un hidrogel que no comprende  $\epsilon$ PLL pero que por lo demás es sustancialmente idéntico al hidrogel que contiene la  $\epsilon$ PLL que se está ensayando en el ensayo de bioactividad *in vitro*. Además, una referencia en el presente documento a una "eliminación log" frente a un organismo significa la eliminación log obtenida mediante el uso del ensayo de bioactividad *in vitro* después de una incubación de 24 horas con  $10^4$  UFC del organismo, salvo que se indique de otro modo. En algunos ejemplos, el hidrogel que contiene la  $\epsilon$ PLL da como resultado una eliminación de al menos cuatro log de PA. En algunos ejemplos adicionales, el hidrogel que contiene la  $\epsilon$ PLL da como resultado una eliminación de al menos cuatro log de PA cuando se ensaya en el ensayo de bioactividad *in vitro* después de una incubación de 24 horas con  $10^7$  UFC del organismo (es decir, un inóculo alto). En otros ejemplos adicionales más, la PA viva no es detectable en el hidrogel que contiene la  $\epsilon$ PLL cuando se ensaya en el ensayo de bioactividad *in vitro* después de una incubación de 24 horas con un inóculo bajo de PA o incluso con un inóculo alto de PA, mientras que la lente de control favorece el crecimiento de PA. En dichos ejemplos, se dice que el hidrogel antimicrobiano da como resultado una eliminación completa de PA. En varios ejemplos, el hidrogel antimicrobiano da como resultado una eliminación de al menos al menos un log o de dos log de *Serratia marcescens* (SM) y/o de *Staphylococcus aureus* (SA) mediante el uso de un inóculo bajo, o incluso con un inóculo alto. Según se usa en el presente documento, SA, SM y PA se refieren a las cepas de estas bacterias recogidas en la Tabla 3 del Ejemplo 5, o a cepas equivalentes que tienen sustancialmente la misma sensibilidad a los agentes antimicrobianos que las cepas recogidas en la Tabla 3.

El hidrogel puede conservar una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL después de haber sido sometido a las condiciones de liberación *in vitro* de  $\epsilon$ PLL descritas en el siguiente Ejemplo 4, denominadas en lo sucesivo "ensayo de liberación *in vitro*". Según se usa en el presente documento, el momento de liberación de la  $\epsilon$ PLL está referido al ensayo de liberación *in vitro*. Por lo tanto, por ejemplo, un hidrogel que se dice que da como resultado la eliminación de dos log de PA después de 24 horas de liberación de  $\epsilon$ PLL, significa que cuando el hidrogel se somete al ensayo de liberación de  $\epsilon$ PLL *in vitro* durante 24 horas y a continuación se ensaya la bioactividad *in vitro*, da como resultado una eliminación de dos log de PA. En algunos ejemplos, el hidrogel da como resultado la eliminación de al menos dos log de PA, de SM y/o de SA después de 48 horas, de 72 horas, de 96 horas, de 120 horas o incluso de 168

horas de liberación de la  $\epsilon$ PLL. Mientras que los dispositivos oftálmicos antimicrobianos descritos en el presente documento son adecuados para todas las modalidades de uso, los hidrogeles que conservan una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL después de 48 horas de liberación de  $\epsilon$ PLL pueden ser particularmente adecuados para un uso prolongado. Opcionalmente, puede usarse un ensayo en biopelícula sustancialmente según se describe en el siguiente Ejemplo 6 para medir la eficacia antimicrobiana de un hidrogel después de la liberación de la  $\epsilon$ PLL. En varios ejemplos, un hidrogel antimicrobiano comprende al menos aproximadamente un 0,05 % en peso, un 0,1 % en peso, un 0,2 % en peso, un 0,5 % en peso o un 1,0 % en peso de  $\epsilon$ PLL y hasta aproximadamente un 2,0 % en peso, un 3,0 % en peso o un 4,0 % en peso de  $\epsilon$ PLL, en los que el % en peso de  $\epsilon$ PLL se basa en el peso seco total del hidrogel. Para las lentes de contacto de hidrogel, una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL unida no covalentemente es de al menos entre aproximadamente 5  $\mu$ g, 10  $\mu$ g, 25  $\mu$ g, 50  $\mu$ g, 100  $\mu$ g o 150  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL y hasta aproximadamente 300  $\mu$ g, 400  $\mu$ g, 500  $\mu$ g o 600  $\mu$ g. Mientras que una cantidad de  $\epsilon$ PLL en estos intervalos normalmente será más eficaz frente a los patógenos oculares implicados con más frecuencia en la queratitis bacteriana inducida por lentes de contacto, unas cantidades mayores de 600  $\mu$ g no son tóxicas ni irritantes para el tejido ocular y pueden usarse en los ejemplos en los que se desee una mayor cantidad de  $\epsilon$ PLL.

En algunos ejemplos, el hidrogel tiene un perfil de liberación en el que la liberación de la  $\epsilon$ PLL está sostenida durante al menos 2 horas, dando como resultado una actividad antimicrobiana sostenida. Según se usa en el presente documento, una referencia a una cantidad de  $\epsilon$ PLL liberada se refiere a la cantidad de  $\epsilon$ PLL liberada desde un hidrogel durante un periodo de tiempo dado según se ensaya en un ensayo de liberación *in vitro*. Se dice que un hidrogel muestra una "liberación sostenida" de  $\epsilon$ PLL durante al menos un periodo de tiempo dado si existe un aumento significativo en la cantidad de  $\epsilon$ PLL entre el final de ese periodo de tiempo dado y el siguiente periodo de tiempo de un ensayo de liberación *in vitro*. Por ejemplo, si un hidrogel libera 30  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL entre 0-2 horas, y libera 10  $\mu$ g adicionales de  $\epsilon$ PLL entre 2-4 horas, según se determina mediante el uso del ensayo de liberación *in vitro*, se dice que el hidrogel sostiene la liberación de la  $\epsilon$ PLL durante al menos 2 horas. En algunos ejemplos, el hidrogel sostiene la liberación de la  $\epsilon$ PLL durante al menos 4 horas, 6 horas, 8 horas o 24 horas. Normalmente, la velocidad de liberación inicial de la  $\epsilon$ PLL es relativamente alta. Esto es ventajoso porque proporciona una explosión de liberación de  $\epsilon$ PLL tras la introducción inicial del dispositivo oftálmico, cuando es más probable que se produzca la introducción de patógenos debido a la manipulación. El contenido iónico del hidrogel y la concentración de  $\epsilon$ PLL en la solución de envasado pueden equilibrarse para proporcionar unos perfiles de liberación deseables de  $\epsilon$ PLL. En un ejemplo, el hidrogel libera al menos 1  $\mu$ g, 5  $\mu$ g, 10  $\mu$ g, 20  $\mu$ g, 30  $\mu$ g o 40  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL y hasta aproximadamente 60  $\mu$ g, 80  $\mu$ g o 100  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL en 2 horas. En un ejemplo adicional, el hidrogel muestra una liberación sostenida de  $\epsilon$ PLL, liberando las cantidades mencionadas anteriormente de  $\epsilon$ PLL en 2 horas y liberando 1  $\mu$ g, 5  $\mu$ g, 10  $\mu$ g o 20  $\mu$ g adicionales y hasta aproximadamente 30  $\mu$ g, 40  $\mu$ g o 60  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL entre 2 y 4 horas. En algunos ejemplos, el hidrogel tiene un perfil de liberación en el que la liberación de  $\epsilon$ PLL se sostiene durante al menos 12 horas, es decir, el hidrogel muestra una liberación significativa de  $\epsilon$ PLL entre los puntos temporales de 12 y 24 horas, según se determina mediante el uso del ensayo de liberación *in vitro*. Por lo tanto, una lente de contacto que comprende el hidrogel puede continuar teniendo un efecto antimicrobiano cuando se usa durante una noche. Sorprendentemente, hemos averiguado que las lentes de contacto de hidrogel que tienen un contenido iónico de entre aproximadamente un 1,6 % y aproximadamente un 2,0 % envasadas en una solución que comprende entre aproximadamente 200 y aproximadamente 1.000 ppm de  $\epsilon$ PLL pueden someterse a una liberación *in vitro* durante 7 días y seguir siendo antimicrobianamente eficaces. Esto se demuestra en el Ejemplo 6.

El hidrogel puede comprender opcionalmente un segundo agente antimicrobiano para mejorar sus propiedades antimicrobianas. Hemos averiguado que la incorporación de un segundo agente antimicrobiano en el hidrogel puede dar como resultado un efecto antimicrobiano sinérgico. Por ejemplo, una lente de contacto de hidrogel de silicona iónica que comprende aproximadamente 10  $\mu$ g de poliquaternium-1 (PQ-1), y ningún otro agente antimicrobiano, no tiene una actividad significativa frente a SA o SM, según se determina mediante el uso de un ensayo de bioactividad después de una incubación de 24 horas con un inóculo de  $10^7$  (descrito en el Ejemplo 7). El mismo tipo de lente de contacto que comprende aproximadamente 200  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL y ningún otro agente antimicrobiano, da como resultado una eliminación de aproximadamente 2 log de SA y una eliminación de aproximadamente 1,5 log de SM. Cuando la lente de contacto comprende tanto 10  $\mu$ g de PQ-1 como 200  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL, pueden dar como resultado una eliminación de aproximadamente 2,5 log de SA y una eliminación de 4 log de SM. Se dice que la lente de contacto comprende una cantidad que PQ-1 que aumenta sinérgicamente su actividad antimicrobiana frente a SA y a SM debido a que la actividad antimicrobiana frente a estos organismos es significativamente mayor que la actividad combinada de las lentes que comprenden  $\epsilon$ PLL y nada de PQ-1 con respecto a las lentes que comprenden PQ-1 y nada de  $\epsilon$ PLL. El ensayo de biopelícula *in vitro* del Ejemplo 6 también puede usarse para ensayar el aumento sinérgico en la actividad antimicrobiana proporcionado por un segundo agente antimicrobiano. Algunos ejemplos de otros segundos agentes antimicrobianos que pueden ser incorporados en el hidrogel incluyen otros péptidos antimicrobianos (por ejemplo, defensina), polihexametilén biguanida (PHMB), alexidina, y similares. En un ejemplo específico, el hidrogel comprende un componente aniónico, la  $\epsilon$ PLL, y una cantidad de un segundo agente antimicrobiano para que aumente sinérgicamente la actividad antimicrobiana frente a SA o a SM según se determina mediante un ensayo de biopelícula *in vitro*.

Los dispositivos oftálmicos antimicrobianos descritos en el presente documento no son irritantes ni tóxicos para el tejido ocular con el que están destinados a entrar en contacto. Por ejemplo, las lentes de contacto, que entran en contacto con el segmento anterior del ojo, no son irritantes para el epitelio de la córnea ni de la conjuntiva. El ensayo

de citotoxicidad *in vitro* según con la ISO 10993 (ANSI / AAMI / ISO 10993-5: evaluación biológica de dispositivos médicos - Parte 5: ensayos de citotoxicidad *in vitro*, 1999) está reconocido como predictivo de la biocompatibilidad *in vivo* de dispositivos oftálmicos. En resumen, en el caso de las lentes de contacto, las lentes se extraen de su solución de envasado, y sin aclarar ni lavar, se colocan mediante un contacto directo junto con 0,8 ml de MEM con un 5 % de suero fetal en una monocapa confluyente de células L929. Después de una incubación a 37 °C durante 24 horas con un 5 % de CO<sub>2</sub>, la citotoxicidad se puntúa según la zona de muerte celular bajo o alrededor de la lente de acuerdo con los métodos de puntuación citopática de las directrices de la USP (USP <87> Biological Reactivity; United States Pharmacopeia 32 / National Formulary 27, United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, 2009). Según se usa en el presente documento, un hidrogel se considera "oftálmicamente aceptable" si tiene una puntuación del grado citopático de dos o menos mediante el uso de este ensayo. Deseablemente, el dispositivo oftálmico tendrá una puntuación de grado citopático de uno o de cero, y proporcionará una eliminación de al menos cuatro log de *Pseudomonas aeruginosa* cuando se ensaya en un ensayo de bioactividad *in vitro* mediante el uso de un inóculo de 10<sup>4</sup> y una incubación de 24 horas.

Hemos averiguado que puede conseguirse la incorporación de una cantidad antimicrobianamente eficaz de εPLL en una lente de contacto sin que afecte negativamente a las propiedades físicas de la lente, tales como la claridad óptica, el módulo, la humectabilidad, etc. Por ejemplo, las lentes de contacto descritas en el presente documento son ópticamente claras, tienen una transmitancia de la luz a entre 380 nm y 780 nm de al menos el 93 %, el 95 % o el 97 % medida según la ISO 18369.

En vista de lo anterior, se apreciará que pueden usarse los métodos de elaboración convencionales para la elaboración de los dispositivos oftálmicos antimicrobianos descritos en el presente documento. Por lo tanto, un aspecto de la presente divulgación es un método para la elaboración de una lente de contacto antimicrobiana sin usar, comprendiendo dicho método: polimerizar una mezcla monomérica para proporcionar un producto de polimerización con forma de lente; opcionalmente hidratar el producto de polimerización para formar un hidrogel; sumergir el hidrogel o el producto de polimerización en un envase que contiene una solución de envasado; y precintado el envase, en el que la cantidad antimicrobianamente eficaz de εPLL está unida no covalentemente al hidrogel. En un ejemplo, la εPLL está presente en la solución de envasado en la que está sumergido el hidrogel. Por lo tanto, en un aspecto de la presente divulgación es un método de elaboración de una lente de contacto antimicrobiana de hidrogel envasada que incluye la etapa de poner en contacto un producto de polimerización con forma de lente o una lente de contacto de hidrogel con una solución de envasado que comprende la εPLL. El contacto del producto de polimerización con forma de lente con la solución de envasado puede dar como resultado, por ejemplo, tanto la hidratación de la lente de contacto como la unión de la εPLL al hidrogel resultante. La solución de envasado, que se pone en contacto con el producto de polimerización con forma de lente o con la lente de contacto de hidrogel, puede incluir, por ejemplo, entre aproximadamente 50 ppm y aproximadamente 10.000 ppm, especialmente entre aproximadamente 100 ppm y aproximadamente 600 ppm de εPLL. En otro ejemplo, la εPLL es un componente de la mezcla monomérica. En otro ejemplo más, la εPLL está unida al hidrogel en una etapa del proceso posterior a la polimerización, tanto al producto de polimerización hidratado con al no hidratado, antes de la inmersión en la solución de envasado. El método de elaboración puede comprender opcionalmente la etapa adicional de esterilizar el envase precintado, por ejemplo, con un autoclave. Generalmente, el producto elaborado final incluye al menos un recipiente precintado que contiene una lente de contacto sin usar sumergida en una solución de envasado acuosa para lentes de acuerdo con los ejemplos descritos anteriormente. El recipiente precintado puede ser un envase alveolado precintado herméticamente, en el que un pocillo cóncavo que contiene una lente de contacto está recubierto por una lámina metálica de plástico adaptada para ser desprendida con el fin de abrir el envase alveolado. El recipiente precintado puede ser cualquier material de envasado inerte adecuado que proporcione un grado de protección razonable a la lente, tal como un material plástico tal como un polialquileno (por ejemplo, polietileno o polipropileno), PVC, poliamida, y similares.

En el caso de lentes de contacto destinadas a un uso diario, en el que la lente se retira y se almacena en una solución de mantenimiento polivalente para lentes de contacto (MPS) durante una noche, la actividad antimicrobiana de la lente puede ser recargada o mejorada mediante uno o más agentes antimicrobianos presentes en la MPS que se incorporan en la lente de contacto durante el almacenamiento de una noche. Algunos ejemplos de dichos agentes antimicrobianos incluyen εPLL (para recargar la εPLL liberada desde la lente de contacto durante el día), PQ-1, PHMB, alexidina, y similares. Por lo tanto, en el presente documento se proporcionan métodos para recargar o mejorar la actividad antimicrobiana de las lentes de contacto antimicrobianas descritas en el presente documento después de haber sido utilizadas. El método comprende el almacenamiento de la lente de contacto utilizada en una solución de mantenimiento polivalente para lentes de contacto (MPS) que comprende εPLL adicional y/o un segundo agente antimicrobiano, en la que la εPLL adicional y/o el segundo agente antimicrobiano se incorporan en la lente de contacto durante el almacenamiento. En un ejemplo específico, la lente de contacto comprende un componente aniónico que se une iónicamente a la εPLL y/o un segundo agente antimicrobiano. En un ejemplo adicional, la lente de contacto es una lente de contacto de hidrogel de silicona de uso diario que tiene un contenido iónico de entre aproximadamente un 1 % y aproximadamente un 2 % y el método comprende el almacenamiento durante una noche de la lente de contacto en el MPS que comprende PQ-1 o εPLL.

La composición y las lentes de la invención que comprenden un hidrogel y εPLL pueden usarse en el tratamiento o en la profilaxis de una infección microbiana, especialmente por PA, SM, SA u otra infección microbiana descrita en el

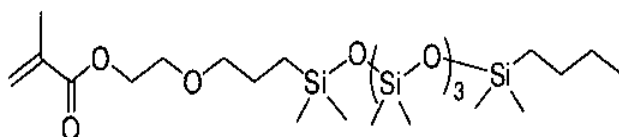


presente documento o que pueda ser tratada mediante el uso de εPLL. La composición y las lentes de la invención pueden ser especialmente adecuadas para el tratamiento o la profilaxis de una infección microbiana en el tejido ocular, y/o para la reducción del riesgo de acontecimientos adversos en un paciente al que se administra la composición o la lente de la invención. Se apreciará que los dispositivos oftálmicos elaborados a partir de los anteriores hidrogeles antimicrobianos, y como se detalla adicionalmente en la siguiente sección de ejemplos, pueden usarse en un método para reducir el riesgo de acontecimientos adversos por causa microbiana en un paciente, según se determina mediante el uso de un estudio clínico. Algunos ejemplos de acontecimientos adversos por causa microbiana incluyen un enrojecimiento ocular agudo por lente de contacto (CLARE), una úlcera periférica por lente de contacto (CLPU), una queratitis infiltrante (IK) y una queratitis microbiana (MK). En un ejemplo, el dispositivo oftálmico es una lente de contacto que da como resultado una reducción media de las bacterias oculares patógenas adheridas de al menos el 50 %, el 80 % o el 90 % adheridas a la lente en comparación con una lente de control que carece de εPLL pero que por lo demás es sustancialmente idéntica a la lente de prueba, cuando se determina la reducción de las bacterias patógenas oculares mediante el uso de un sistema de identificación microbiano VITEK® 2 (bioMérieux SA) al finalizar un estudio clínico. En un ejemplo, el estudio compara el número de bacterias oculares patógenas adheridas de la lente de ensayo y de control cuando las lentes se usan diariamente durante una o más semanas (por ejemplo, 7, 14, 21, 28 etc.) y se almacenan cada noche en el MPS. En otro estudio, las lentes son usadas de forma continua por los sujetos durante al menos 24 horas, 48 horas, 5 días, 7 días, 14 días o 30 días.

Los siguientes Ejemplos ilustran ciertos aspectos y ventajas de la presente invención, que debería entenderse que no está limitada por los mismos.

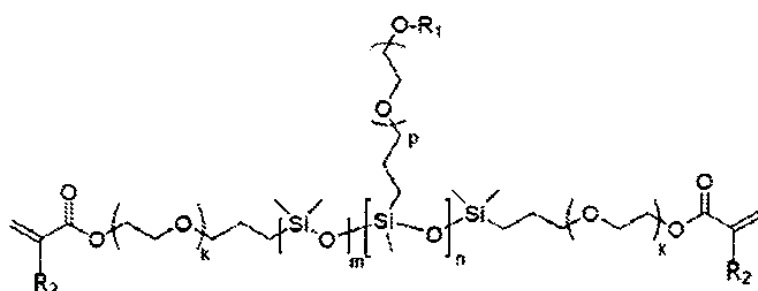
**Ejemplo 1: preparación de lentes de contacto de hidrogel de silicona aniónico**

Se elaboraron seis formulaciones de hidrogel de silicona, A-F, pesando y mezclando entre sí los productos químicos recogidos en la siguiente Tabla 1 en las partes relativas (en peso) indicadas, y se filtraron mediante el uso de un filtro de 0,2 - 5,0 micrones. El siloxano monofuncional recogido en la Tabla 1 tiene la estructura II mostrada a continuación. Los métodos para la elaboración de este monómero de siloxano se describen en la Patente de EE.UU. nº 8.168.735 a favor de Ichinohe.



II.

El macrómero de siloxano bifuncional recogido en la Tabla 1 tiene la estructura III mostrada a continuación, en la que n es aproximadamente 90, m es aproximadamente 5 y p es aproximadamente 7. 0. Los métodos para la elaboración de este macrómero se describen en la Patente de EE.UU. nº 8.129.442 a favor de Ueyama et al.



III.

Tabla 1

Formulación química #	Partes en peso					
	A	B	C	D	E	F
ácido (met)acrílico	0	1,4	1,8	2,4	3,0	1,8
monómero de siloxano monofuncional	26	26	26	26	26	29
macrómero de siloxano bifuncional	10	10	10	10	10	8
N-vinil-N-metilacetamida	45	45	45	45	45	45
metacrilato de metilo	12	12	12	12	12	8
1,4-butanodiol vinil éter	5	5	5	5	5	--
dietilenglicol vinil éter	--	--	--	--	--	5
metacrilato de etilenglicol metil éter	--	--	--	--	--	6
metacrilato de etilenglicol	2	2	2	2	2	--
dimetacrilato de etilenglicol	--	--	--	--	--	0,6

Formulación química #	Partes en peso					
	A	B	C	D	E	F
dimetacrilato de trietilenglicol	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	--
trietilenglicol divinil éter	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
Norbloc (CAS no, 96478-09-0)	--	--	--	--	--	1,7
Difenil (P-vinilfenil) fosfina (nº de CAS 40538-11-2)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Azul reactivo 247 (nº de reg. de CAS 109561-07-1)	--	--	--	--	--	0,01
Vazo-64 (nº de reg. de CAS 78-67-1)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2-Aliloxi etanol	--	--	--	--	--	0,8

Las mezclas monoméricas polimerizables resultantes se moldearon por vaciado en conjuntos de moldes de lentes de contacto de polipropileno y se curaron térmicamente en un horno de nitrógeno mediante el uso de los métodos convencionales. Cada lente curada se retiró de su molde y se hidrató y se lavó mediante el uso de múltiples intercambios de agua desionizada para eliminar los componentes sin reaccionar y que han reaccionado parcialmente del hidrogel.

### Ejemplo 2: ensayo de captación *in vitro*

En los siguientes ejemplos se usó  $\epsilon$ PLL a una concentración del 25 % en agua (Chisso Corporation, Tokyo, Japón) como material de partida de la  $\epsilon$ PLL. Las lentes de la Formulación F preparadas según el Ejemplo 1 se transfirieron a viales de vidrio de 6 ml que contienen bien 1,2 ml de PBS (lente de control) o bien 1,2 ml de  $\epsilon$ PLL a 500 ppm en PBS. Salvo que se indique de otro modo, las referencias del presente documento a PBS significan PBS 29 mM a un pH de 7,5 con una fuerza iónica de aproximadamente 0,21 (0,78 % en peso de NaCl, 0,05 % en peso de fosfato de sodio monobásico y 0,36 % en peso de fosfato de sodio dibásico). Los viales se precintaron y se trataron en el autoclave a 120 °C durante 30 minutos. Adicionalmente, también se trataron en el autoclave los viales que contienen 1,2 ml de  $\epsilon$ PLL a 500 ppm en PBS sin ninguna lente (vial de control). Las cantidades de  $\epsilon$ PLL presente en la solución tratada en el autoclave del vial con la lente de ensayo y del vial con el control se determinaron mediante una cromatografía de exclusión por tamaños catiónica mediante el uso de un volumen de inyección de muestra de 20  $\mu$ l, una Eprogen CATSEC300 5 $\mu$  de 250 x 4,6 MM, a la temperatura ambiente, y un caudal de 1,0 ml/min mediante el uso de NaCl 0,2 M / TFA al 0,1 % en H<sub>2</sub>O en isocrático.

La cantidad de  $\epsilon$ PLL captada por las lentes se calculó restando la cantidad de  $\epsilon$ PLL presente en la solución tratada en el autoclave de la cantidad de  $\epsilon$ PLL presente en el vial de control. La captación media era de aproximadamente 200  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL/lente.

### Ejemplo 3: efecto del contenido iónico de la lente de contacto sobre la captación de $\epsilon$ PLL

En este estudio se usaron tres lentes de cada una de las Formulaciones A, y C-E preparadas según el Ejemplo 1. Las lentes se sumergieron en 1,2 ml de  $\epsilon$ PLL a 500 ppm en PBS durante 48 horas según se describe en el Ejemplo 3. El exceso de solución se retiró de cada lente mediante un punteo suave con un tejido absorbente. Cada lente se sumergió en un pocillo individual de una placa de 12 pocillos que contiene 1,2 ml de  $\epsilon$ PLL a 500 ppm en PBS. Las placas se agitaron durante 48 horas a 100 rpm a una temperatura de 25  $\pm$  2 °C. La cantidad de  $\epsilon$ PLL captada por cada lente se calculó restando la concentración final de  $\epsilon$ PLL de la concentración inicial y multiplicando por 1,2 (ml de PBS). Las lentes de la Formulación A captaron aproximadamente 5  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL, las lentes de C captaron aproximadamente 220  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL, las lentes de D captaron aproximadamente 340  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL y las lentes de E captaron aproximadamente 420  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL.

### Ejemplo 4: ensayo de liberación *in vitro* - efecto del contenido iónico sobre la liberación de $\epsilon$ PLL

En este estudio se usaron las lentes de las Formulaciones B-E preparadas según el Ejemplo 1. El exceso de solución se retiró de cada lente mediante un punteo suave con un tejido absorbente. Cada lente se sumergió en 1 ml de solución salina estándar ISO 10344 (0,83 % de cloruro de sodio, 0,0467 % de fosfato de sodio monobásico y 0,4486 % de fosfato de sodio dibásico) en un pocillo de una placa de 12 pocillos y se cubrió. Las placas se agitaron a 100 rpm a 37  $\pm$  2 °C. A las 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas se retiró la solución de cada pocillo se sustituyó por 1 ml de solución salina estándar ISO 10344 reciente. Se usó una HPLC para determinar la cantidad de  $\epsilon$ PLL liberada desde cada lente. La Tabla 2 muestra la cantidad acumulada media (en  $\mu$ g) de  $\epsilon$ PLL liberada desde cada lente en cada punto temporal, así como el porcentaje acumulado de  $\epsilon$ PLL liberado con respecto a la cantidad total  $\epsilon$ PLL captada por la lente.

>Tabla 2

Tiempo (h)	B		C		D		E	
	$\mu$ g	%	$\mu$ g	%	$\mu$ g	%	$\mu$ g	%
2	28 $\pm$ 3	24	27 $\pm$ 4	13	17 $\pm$ 1	5	13 $\pm$ 3	3
4	48 $\pm$ 2	28	40 $\pm$ 8	20	34 $\pm$ 5	11	20 $\pm$ 2	5
6	57 $\pm$ 3	43	60 $\pm$ 13	29	50 $\pm$ 5	16	20 $\pm$ 2	5

Tiempo (h)	B		C		D		E	
	µg	%	µg	%	µg	%	µg	%
8	58 ± 2	50	67 ± 6	33	50 ± 4	16	20 ± 2	5
12	58 ± 2	50	81 ± 6	40	50 ± 4	16	20 ± 2	5
24	62 ± 6	53	88 ± 5	43	50 ± 4	16	21 ± 2	5

Únicamente las lentes de la Formulación C, que tenían un 1,7 % de componente iónico (proporcionado a partir del ácido (met)acrílico) sostuvieron la liberación de la εPLL a lo largo de la duración total del ensayo. Por el contrario, las lentes de la Formulación B, con un 1,35 % de contenido iónico, liberaron aproximadamente la misma cantidad de εPLL durante las primeras 6 horas, pero se produjo poca liberación, si la hubo, después de 6 horas. Interesantemente, las lentes de la Formulación D, que tenían un 2,3 % de componente iónico y capturaron aproximadamente un 50 % más de εPLL que las lentes de la Formulación C, liberaron menos εPLL que las lentes de la Formulación C. Al igual que las lentes de la Formulación B, se produjo poca liberación, si la hubo, de εPLL después de 6 horas. Aún más sorprendente, las lentes de la Formulación E, que tenían un 2,85 % de contenido iónico, y capturaron aproximadamente dos veces tanta εPLL como las lentes de la Formulación C, liberaron la cantidad más pequeña de εPLL en los puntos temporales de 2 y 4 horas, y liberaron poca, si alguna, εPLL después de 4 horas. Los resultados demuestran que puede conseguirse una liberación sostenida de εPLL equilibrando el contenido iónico de la lente.

Para utilizar el ensayo de liberación *in vitro* para ensayar la liberación de εPLL más allá del punto temporal de 24 horas, se retiró la solución salina y se sustituyó cada 24 horas (es decir, a las 48 horas, a las 72 horas, a las 96 horas, etc.) y las placas agitaron a 100 rpm a 37 ± 2 °C, como se ha descrito anteriormente.

#### Ejemplo 5: ensayo de bioactividad *in vitro*

**Preparación de las suspensiones bacterianas:** se prepararon cultivos a partir de una única colonia en cultivo de cada una de las especies bacterianas mostradas en la siguiente Tabla 3 en 50 ml de caldo de soja con tripticasa (TSB) durante una noche a 37 °C en un agitador rotatorio. Se centrifugó 1 ml de cada cultivo, y el sedimento bacteriano se resuspendió en 1,0 ml del diluyente mostrado en la Tabla 3, en el que PBST es PBS 19 mM a un pH de 7,3 (0,83 % en peso de NaCl, 0,03 % en peso de fosfato de sodio monobásico y 0,24 % de fosfato de sodio dibásico) con un 0,05 % de Tween. Para cada especie bacteriana se preparó una suspensión de aproximadamente 10<sup>8</sup> UFC/ml diluyendo la suspensión bacteriana para conseguir la densidad óptica indicada en la Tabla 3.

Tabla 3.

Especie bacteriana	Cepa	DO <sub>660</sub>	Medio/diluyente
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PA)	ATCC 9027	~ 0,1	PBS con un 0,05 % de Tween (PBST)
<i>Serratia marcescens</i> (SM)	ATCC 6538	~ 0,2	0,05 % de TSB en PBST
<i>Staphylococcus aureus</i> (SA)	ATCC 13880	~ 0,3	2,0 % de TSB en PBST

Cada suspensión se diluyó adicionalmente aproximadamente a 10<sup>4</sup> UFC/ml (inóculo bajo) o a 10<sup>7</sup> UFC/ml (inóculo alto) mediante el uso de los diluyentes anteriores, para elaborar los inóculos bacterianos para el ensayo de bioactividad de las lentes.

**Ensayo de bioactividad de las lentes:** cada lente se aclaró con 2,5 ml de PBS estéril durante unos pocos segundos, y se transfirió a un pocillo individual de una placa de 24 pocillos que contiene 1,0 ml de inóculo bacteriano. Las placas se incubaron a 37 °C con una agitación suave. Los inóculos originales se incubaron durante la duración del experimento para confirmar las concentraciones de cada muestra en cada punto temporal de recuperación. En el punto temporal ensayado, cada lente se retiró de su pocillo y se transfirió a un pocillo de una placa de 12 pocillos que contiene 2,5 ml de PBST estéril. La placa se hizo girar suavemente durante aproximadamente 30 segundos. Esta etapa se repitió una vez para cada lente. Dicha etapa de lavado 2x se denomina en el presente documento etapa de lavado bacteriano.

**Recuperación de las bacterias:** cada lente lavada se puso en un tubo de microcentrifuga que contiene 1 ml de caldo de neutralización Dey-Engley (DE) y las bacterias adheridas se eliminaron mediante una combinación de ultrasonidos durante aproximadamente 2 minutos y una agitación vorticial durante aproximadamente 10 minutos. Se elaboraron diluciones sucesivas para cada suspensión celular recuperada mediante el uso de caldo de neutralización DE, y las diluciones adecuadas se colocaron en placas en TSA. Las placas se incubaron durante una noche a 37 °C y se contaron las UFC.

**Conversión de los recuentos de UFC a bacterias vivas recuperadas por lente:** las UFC de cada placa se multiplicaron por el factor de dilución (FD) así como por el factor de dilución de placa (FDP). Las UFC totales recuperadas con una muestra dada se convirtieron después al log<sub>10</sub>. Para calcular la eliminación log de una lente antimicrobiana, se restó el log de las UFC/lente de la lente antimicrobiana del de la lente de control. Por ejemplo, si el valor medio del log<sub>10</sub> de una lente antimicrobiana es de 1,05 y el valor medio del log<sub>10</sub> de la lente de control por

lo demás idéntica que carece del agente antimicrobiano activo es de 5,52, la eliminación log es de  $5,52 - 1,05 = 4,47$ .

**Ejemplo 6: ensayo de biopelícula *in vitro* - las lentes iónicas que contienen εPLL mostraron una actividad antimicrobiana prolongada**

5 **Preparación de las lentes lavadas:** las lentes que contienen εPLL de la Formulación F, preparadas según se ha descrito en el Ejemplo 2, se extrajeron de sus viales y se colocaron en viales nuevos que contienen 5 ml de PBST (medio de liberación). Los viales se colocaron en un agitador a 37 °C. Se usó una RP-HPLC según se ha descrito en el Ejemplo 2 para determinar la cantidad de εPLL en el medio de liberación en diversos puntos temporales. En cada punto temporal las lentes se cambiaron a medio de liberación nuevo, bien 5 ml (a las 0, 6 y 24 h) o 1 ml (todos los puntos temporales después de las 24 h). Las lentes de control (es decir, sin εPLL) también se ensayaron para confirmar la ausencia de picos interferentes de material liberado distinto a la εPLL. La Tabla 4 muestra la cantidad acumulada media (en µg) de εPLL liberada desde cada lente en cada punto temporal ensayado, así como el porcentaje acumulado de εPLL liberada con respecto a la cantidad total de εPLL captada por la lente.

15

**Tabla 4:**

Time (h)	Vol	µg	%
0	5 ml	--	--
6	5 ml	85 ± 8	39 ± 4
24	5 ml	115 ± 6	52 ± 3
48	1 ml	120 ± 6	55 ± 3
72	1 ml	123 ± 6	56 ± 3
96	1 ml	126 ± 7	57 ± 4
168	1 ml	129 ± 7	59 ± 3
192	1 ml	130 ± 8	59 ± 4
216	1 ml	132 ± 8	60 ± 4

20

Se liberó aproximadamente un 50 % de la εPLL durante las primeras 24 horas. La liberación de εPLL se redujo gradualmente apreciablemente después de 48 horas. Entre los días 7 y 8 solo se liberó aproximadamente 1 µg de εPLL, y las lentes conservaron aproximadamente 70 µg de εPLL.

25

**Adhesión bacteriana y lavado:** se usaron las lentes del punto temporal de la hora 0 y del punto temporal de la hora 168 para ensayar si apoyaban la formación de una biopelícula. Las lentes se aclararon durante 5 segundos con 2,5 ml de PBS estéril, después se transfirieron a un pocillo individual de una placa de 24 pocillos que contiene 1,0 ml de inóculo bacteriano aproximadamente a  $10^7$  UFC/ml, preparado según se ha descrito en el Ejemplo 5. Las placas se incubaron durante 2 horas a 37 °C con una agitación rotatoria suave. El resto del inóculo, es decir, el que no se incubó con las lentes, también se incubó en el agitador durante la duración de cada experimento para determinar las ufc/ml del inóculo a  $t = 2$  h y a  $t = 24$  h. Después de 2 horas de incubación, cada lente se lavó mediante el uso de la etapa de lavado bacteriano etapa descrita en el Ejemplo 5, después se colocó en un inserto de una placa de 24 pocillos para la formación de una biopelícula como se describe a continuación. La concentración del inóculo (a  $t = 0$  h y 2 h) se confirmó mediante diluciones sucesivas, colocando en placas con TSA, incubando durante una noche a 37 °C y contando las colonias.

30

35

**Formación de biopelícula / crecimiento:** se colocaron insertos de acero inoxidable fungiformes hechos a medida, representados en la FIG. 1, en cada pocillo de una placa de 24 pocillos. La porción de tapa de cada inserto tenía un diámetro de aproximadamente 14 mm y una curvatura para que encajara con la superficie posterior de una lente de contacto. La altura de cada inserto es de aproximadamente 11 mm. A cada pocillo se añadió un ml de medio estéril/diluyente. Cada lente lavada precargada (como se ha descrito anteriormente) se puso en la parte superior (porción de tapa) de un inserto, con el lado convexo hacia arriba. El tamaño de los insertos y el volumen de los medios son tales que la periferia de la lente colocada está en contacto con el medio/diluyente y la porción central de la lente está en la interfase de líquido/aire. Las placas se precintaron holgadamente para impedir la evaporación y se incubaron durante 24 horas a 37 °C, con una agitación rotatoria. Después de la incubación, cada lente se sometió a la etapa de lavado bacteriano según se ha descrito en el Ejemplo 5. Se recuperaron las bacterias de las lentes lavadas y se calculó la eliminación log como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 5. Cada  $t=24$  h la concentración del inóculo se confirmó como se ha descrito anteriormente para los puntos temporales  $t = 0$  y  $t = 2$  h.

45

Los efectos antimicrobianos del lavado del punto temporal de la hora 0 y del lavado de la hora 168 se muestran en la Tabla 5:

50

Tabla 5.

	Especie	Log		Reducción Log
		Ctrl	εPLL	
0 h	PA	5,8	0,9	5,0
	SM	4,5	1,0	3,5
	SA	4,5	0,8	3,7
168 h	PA	5,5	0,6	4,9
	SM	5,5	3,8	1,7
	SA	5,5	3,1	2,4

5 La Tabla 5 demuestra que las lentes ensayadas en el punto temporal de la hora 168 muestran bioactividad frente a la especie bacteriana ensayada. Estas lentes liberan únicamente 1 µg de εPLL a lo largo de un periodo de 24 horas.

#### Ejemplo 7: la εPLL y el PQ-1 son sinérgicos

10 Las lentes de la Formulación F, preparadas según el Ejemplo 1, se transfirieron a viales de vidrio de 6 ml que contienen 1,2 ml de PBS bien con 500 ppm de εPLL (lentes de ensayo) o bien sin εPLL (lentes de control), se precintaron y se trataron en autoclave. Las lentes se extrajeron de sus viales y se colocaron en los pocillos individuales de la placa de 24 pocillos que contiene PBS o PBS más PQ-1 a una concentración de 10 µg/ml (tanto para la lente de ensayo como para la de control) o, únicamente para las lentes de control, 30 µg/ml o 100 µg/ml. Las placas se incubaron durante 72 horas a la temperatura ambiente.

15 Las lentes preparadas en PBS sin εPLL se ensayaron mediante el uso del ensayo de bioactividad descrito en el Ejemplo 5 mediante el uso de inóculos altos ( $10^7$ ). La siguiente Tabla 6 muestra la destrucción log conseguida por el PQ-1 a tres concentraciones diferentes después de una incubación de 24 horas con las bacterias.

20

Tabla 6

Organismo	destrucción log a 10 µg/ml de PQ-1	destrucción log a 30 µg/ml de PQ-1	destrucción log a 100 µg/ml de PQ-1
PA	-0,23	0,16	3,43
SA	-0,54	1,47	3,04
SM	-0,55	0,55	0,31

La ausencia de actividad antimicrobiana de las lentes envasadas en PBS que contiene 30 µg/ml de PQ-1 frente a PA y SM se confirmó mediante el uso de un ensayo de biopelícula *in vitro* descrito en el Ejemplo 6.

25 Por otro lado, las lentes que contienen εPLL que se incubaron con 10 µg/ml de PQ-1 tenían un aparente efecto antimicrobiano sinérgico frente a SA a las 2 horas, que continuó a las 6 y a las 24 horas. Se observó un aumento similar en la actividad antimicrobiana frente a SM a las 6 y a las 24 horas. El ensayo no demostró un aumento en la actividad frente a PA debido a que la εPLL sola es muy eficaz frente a este organismo, incluso en unos puntos temporales tempranos. La Tabla 7 muestra la destrucción log de cada lente y compuesto antimicrobiano individual, así como la de la combinación de εPLL y PQ-1. Dado que el efecto combinado es mayor que la suma de la destrucción log para cada compuesto por separado, la acción antimicrobiana de PQ-1 y εPLL se considera sinérgica, al menos frente a SA y SM.

30

Tabla 7

A	B	C	D	E	F
Organismo	Tiempo (h)	destrucción log a 10 µg/ml de PQ-1	destrucción log de la εPLL	destrucción log predicha de PQ-1 + εPLL	destrucción log real de PQ-1 + εPLL
PA	2	--	2,63	--	2,37
PA	6	--	4,04	--	3,30
PA	24	-0,23	≥ 4,04	3,81	≥ 4,04
SA	2	--	-0,06	--	1,45
SA	6	--	0,37	--	2,06
SA	24	-0,74	1,85	1,11	2,64
SM	2	--	0,19	--	0,80
SM	6	--	0,74	--	1,18
SM	24	0,55	1,63	2,18	3,82

**Ejemplo 8: efecto de la fuerza iónica de la solución de envasado sobre la captación de εPLL por parte de lentes de contacto iónicas de hidrogel de silicona.**

Las lentes de la formulación F preparadas según el Ejemplo 1 se transfirieron a viales de vidrio de 6 ml que contienen 1,2 ml de εPLL a 500 ppm bien en PBS o bien en agua desionizada. Después los viales se precintaron y se trataron en el autoclave. Según se determinó mediante el uso de los métodos descritos en el Ejemplo 2, las lentes envasadas en PBS captaron una media de 233 μg de εPLL desde la solución de envasado, lo que representaba un 39 % de la εPLL total disponible en la solución de envasado. En sorprendente contraste, las lentes envasadas en agua desionizada captaron una media de 575 μg de εPLL, lo que representaba un 96 % de la εPLL disponible. El estudio se repitió sustituyendo el agua desionizada por los tampones de TRIS/sorbitol mostrados en las siguientes Tablas 8 y 9:

**Tabla 8:** tampón TRIS 19 mM (a pH 7,30) con un 2 % de sorbitol

Componentes	Peso objetivo (g)	%
TRIS (hidroximetil) amino metano (C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> )	0,23	0,02
Clorhidrato de trizma (C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> · HCL)	2,75	0,27
Sorbitol (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> )	20,00	1,96
H <sub>2</sub> O desionizada	1000,00	97,75
Total	1022,98	100,00

**Tabla 9:** tampón TRIS 19 mM (a pH 7,30) con un 5 % de sorbitol

Componentes	Peso objetivo (g)	%
TRIS (hidroximetil) amino metano (C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> )	0,23	0,02
Clorhidrato de trizma (C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> · HCL)	2,75	0,26
Sorbitol (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> )	50,00	4,75
H <sub>2</sub> O desionizada	1000,00	94,97
Total	1052,98	100,00

De media, las lentes envasadas en los tampones de TRIS/sorbitol de las Tablas 8 y 9 captaron 408 μg y 386 μg de εPLL, respectivamente.

Aunque la divulgación del presente documento se refiere a ciertos ejemplos ilustrados, debe entenderse que estos ejemplos se presentan a modo de ejemplo y no a modo de limitación. Debe interpretarse que la intención de la anterior descripción detallada, aunque se analicen algunos ejemplos ejemplares, es cubrir todas las modificaciones, alternativas y equivalentes de los ejemplos que pudieran estar en el espíritu y el ámbito de la invención según se define mediante la divulgación adicional.

La invención proporciona adicionalmente:

1. Un envase precintado que contiene una lente de contacto antimicrobiana sumergida en una solución de envasado, comprendiendo dicha lente de contacto un hidrogel y una cantidad antimicrobianamente eficaz de polilisina épsilon (εPLL). Opcionalmente, la polilisina épsilon está unida no covalentemente al hidrogel.
2. El envase de 1, en el que el hidrogel comprende silicona.
3. El envase de 1 o 2, en el que el hidrogel comprende grupos cargados negativamente. Los grupos cargados negativamente se unen ventajosamente iónicamente a la εPLL.
4. El envase de uno cualquiera de 1 a 3, en el que el hidrogel comprende un producto de polimerización hidratado de una mezcla monomérica que comprende un monómero aniónico.
5. El envase de 4, en el que el hidrogel tiene un contenido iónico de entre aproximadamente el 0,5 % y aproximadamente el 2,5 %, siendo el contenido iónico la suma del % del contenido iónico proporcionado por cada monómero aniónico n según se determina mediante la Fórmula I:

$$\Sigma (a_n \times b_n / c_n) \times 89 = \% \text{ de contenido iónico} \quad (I)$$

en la que  $a_n$  es el porcentaje en peso del monómero iónico n usado en la mezcla monomérica con respecto al peso de todos los componentes de la mezcla monomérica que se incorpora en el hidrogel,  $b_n$  es el número de grupos cargados negativamente del monómero n a un pH de 7 (por ejemplo, el número de grupos carboxilato, fosfato, fosfonato, fosfónico, sulfonato, sulfato y sulfito en el monómero), y  $c_n$  es el peso molecular del monómero iónico n.

6. El envase de 4, en el que el hidrogel tiene un contenido iónico de entre aproximadamente el 1,5 % y

aproximadamente el 2,2 %.

7. El envase de 4, en el que el hidrogel tiene un contenido iónico de entre aproximadamente el 1,6 % y aproximadamente el 2,0 %.

5 8. El envase de 1 a 7, en el que el hidrogel comprende grupos fosforilcolina. Los grupos fosforilcolina se unen ventajosamente iónicamente a la  $\epsilon$ PLL.

9. El envase de 1 a 8, en el que la solución de envasado tiene una fuerza iónica de menos de aproximadamente 0,15.

10. El envase de 1 a 9, en el que la lente de contacto comprende al menos 10  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL.

10 11. El envase de 1 a 9, en el que la lente de contacto de la reivindicación 1 comprende al menos 100  $\mu$ g de  $\epsilon$ PLL.

12. Un método para reponer o mejorar la actividad antimicrobiana de una lente de contacto después de que haya sido usada, que comprende almacenar la lente de contacto usada en una solución de mantenimiento polivalente para lentes de contacto (MPS) que comprende  $\epsilon$ PLL adicional y/o un segundo agente antimicrobiano, en el que la  $\epsilon$ PLL adicional y/o el segundo agente antimicrobiano se incorporan en la lente de contacto durante el almacenamiento. La lente de contacto puede definirse, por ejemplo, como en uno cualquiera de los anteriores 1 a 8, 10 u 11.

15 13. Un método para la elaboración de una lente de contacto antimicrobiana sin usar, comprendiendo dicho método: polimerizar una mezcla monomérica para proporcionar un producto de polimerización con forma de lente; opcionalmente hidratar el producto de polimerización para formar un hidrogel; sumergir el producto de polimerización o el hidrogel en un envase que contiene una solución de envasado; precintado el envase; y opcionalmente esterilizar el envase precintado en un autoclave, en el que una cantidad antimicrobianamente eficaz de  $\epsilon$ PLL está unida no covalentemente al hidrogel.

20 14. El método de 13, en el que el producto de polimerización tiene un contenido iónico de entre aproximadamente el 1 y aproximadamente el 2 %, y en el que la solución de envasado comprende entre aproximadamente 100 ppm y aproximadamente 1.000 ppm de  $\epsilon$ PLL.

25 15. Un método para la elaboración de una lente de contacto antimicrobiana de hidrogel envasada que incluye la etapa de poner en contacto un producto de polimerización con forma de lente o una lente de contacto de hidrogel con una solución de envasado que comprende  $\epsilon$ PLL.

30 16. El método de 15 en el que la solución de envasado comprende entre aproximadamente 50 ppm y aproximadamente 10.000 ppm de  $\epsilon$ PLL, especialmente entre aproximadamente 100 ppm y aproximadamente 600 ppm de  $\epsilon$ PLL.

17. El método de 15 o 16 en el que el hidrogel de la lente de contacto antimicrobiana de hidrogel envasada es según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una lente de contacto antimicrobiana sin usar sumergida en una solución de envasado y precintada en un envase, comprendiendo dicha lente de contacto un hidrogel y una cantidad antimicrobianamente eficaz de al menos 5 µg de polilisina épsilon (εPLL) unida no covalentemente al hidrogel, en la que la lente y la solución de envasado están en unas condiciones estériles durante el envasado.
2. La lente de contacto de la reivindicación 1, en la que el hidrogel comprende silicona.
- 10 3. La lente de contacto de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, en la que el hidrogel comprende grupos cargados negativamente que se unen iónicamente a la εPLL.
4. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el hidrogel comprende un producto de polimerización hidratado de una mezcla monomérica que comprende un monómero aniónico.
- 15 5. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el hidrogel tiene un contenido iónico de entre el 0,5 % y el 1,5 %, en la que el hidrogel tiene un contenido iónico de entre el 1,5 % y el 2,2 %, o en la que el hidrogel tiene un contenido iónico de entre el 1,6 % y el 2,0 %.
- 20 6. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el hidrogel comprende grupos fosforilcolina que se unen iónicamente a la εPLL.
7. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la solución de envasado comprende desde 50 ppm hasta 10.000 ppm de εPLL antes de entrar en contacto con el hidrogel, especialmente desde 100 ppm hasta 600 ppm de εPLL antes de entrar en contacto con el hidrogel.
- 25 8. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la solución de envasado tiene una fuerza iónica de menos de 0,15.
- 30 9. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes que da como resultado una eliminación de al menos cuatro log de *Pseudomonas aeruginosa* cuando se ensaya en un ensayo de bioactividad *in vitro* mediante el uso de un inóculo de 10<sup>4</sup> y una incubación de 24 horas; una destrucción de al menos dos log de *Serratia marcescens* y/o de *Staphylococcus aureus*; una destrucción de al menos dos log de *Pseudomonas aeruginosa* después de 24 horas de liberación *in vitro* de εPLL; y/o una destrucción de al menos dos log de *Pseudomonas aeruginosa* después de 48 horas de liberación *in vitro* de εPLL.
- 35 10. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende al menos 10 µg de εPLL, especialmente al menos 100 µg de εPLL.
- 40 11. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el hidrogel sostiene la liberación de εPLL durante al menos 2 horas, especialmente durante al menos 12 horas.
12. La lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es una lente de contacto de uso prolongado adecuada para ser utilizada de forma continua por un paciente durante al menos 5 días.
- 45 13. Un método para reponer o mejorar la actividad antimicrobiana de la lente de contacto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes una vez que ha sido usada, que comprende las etapas de:
  - a. usar la lente de contacto sin usar que comprende un hidrogel y una cantidad antimicrobianamente eficaz de al menos 5 µg de εPLL unida no covalentemente al hidrogel,
  - b. almacenar la lente de contacto usada en una solución de mantenimiento polivalente para lentes de contacto (MPS) que comprende εPLL adicional y/o un segundo agente antimicrobiano, y comprendiendo la MPS opcionalmente poliquaternium-1, en la que la εPLL adicional y/o el segundo agente antimicrobiano se incorporan en la lente de contacto durante el almacenamiento.
- 55 14. Un método para la elaboración de una lente de contacto antimicrobiana sin usar, comprendiendo dicho método: polimerizar una mezcla monomérica para proporcionar un producto de polimerización con forma de lente; opcionalmente hidratar el producto de polimerización para formar un hidrogel; sumergir el producto de polimerización o el hidrogel en un envase que contiene una solución de envasado; precintar el envase; y bien esterilizar el envase precintado, opcionalmente en un autoclave, o bien elaborar y combinar el hidrogel y la solución de envasado en unas condiciones estériles, en el que una cantidad antimicrobianamente eficaz de al menos 5 µg de εPLL está unida no covalentemente al hidrogel.
- 60 15. El método de la reivindicación 14, en el que el producto de polimerización tiene un contenido iónico de entre el 1 y el 2 %, y en el que la solución de envasado comprende desde 100 ppm hasta 1.000 ppm de εPLL.
- 65



16. Un método para la elaboración de una lente de contacto antimicrobiana de hidrogel envasada que incluye la etapa de poner en contacto un producto de polimerización con forma de lente o una lente de contacto de hidrogel con una solución de envasado que comprende  $\epsilon$ PLL.
- 5 17. El método de la reivindicación 16, en el que la solución de envasado comprende entre aproximadamente 50 ppm y 10.000 ppm de  $\epsilon$ PLL, especialmente desde 100 ppm hasta 600 ppm de  $\epsilon$ PLL.
18. El método de la reivindicación 16 o de la reivindicación 17, en el que el hidrogel de la lente de contacto antimicrobiana de hidrogel envasada es según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6.