(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 620 442**

(51) Int. Cl.:

A01N 43/90 (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/409 (2006.01)
A61K 41/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2009** **PCT/US2009/052128**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2010** **WO2010014728**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2009** **E 09790946 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016** **EP 2317857**

(54) Título: **Uso de derivados de tetraquis(N-alquilpiridinio)-porfirina para la destrucción de microbios o la prevención de su crecimiento**

(30) Prioridad:

29.07.2008 US 84403 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.06.2017

(73) Titular/es:

Frontier Scientific, Inc. (100.0%)
P.O. Box 31 195 South 700 West
Logan, UT 84321, US

(72) Inventor/es:

PRESTWICH, GLENN;
BOMMER, JERRY, C. y
TESTA, CHARLES

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 620 442 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

Uso de derivados de tetraquis(N-alquilpiridinio)-porfirina para la destrucción de microbios o la prevención de su crecimiento

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica la prioridad sobre la solicitud provisional de EE.UU. de n.º de serie 61/084.403, presentada el 29 de julio de 2008.

Antecedentes

El uso de agentes antimicrobianos para destruir o prevenir el crecimiento de organismos no deseados ha sido ampliamente estudiado. En particular, se han examinado agentes antimicrobianos tales como fungicidas, antivíricos y compuestos antibacterianos. Aunque hay una serie de agentes antimicrobianos que son eficaces, tienen inconvenientes. Por ejemplo, pueden ser muy tóxicos y difíciles de manejar, además de no respetuosos con el medio ambiente, lo que limita su uso. Así pues, sería deseable tener un agente antimicrobiano que se pudiera usar en una serie de aplicaciones diferentes tales como, por ejemplo, aplicaciones acuáticas, protección de cultivos, y el tratamiento o la prevención de ciertas enfermedades causadas por microbios. En el presente documento, se describen métodos y composiciones que abordan las deficiencias de los agentes antimicrobianos actuales.

Se han desvelado derivados de porfirina que son útiles contra bacterias gram positivas y gram negativas tras la fotoactivación (véanse, por ejemplo, los documentos US 2003/050296 y WO 03/026646), a oscuras (véase, por ejemplo, el documento WO 01/47932) y, también, a oscuras y tras la radiación (véase, por ejemplo, Kassab, K. *et al* “Photochemical and Photobiological Sciencies”, Royal Society of Chemistry Cambridge 2002, 1, 560-564).

También se ha desvelado el uso de derivados de porfirina como agentes insecticidas en presencia y ausencia de luz (véase, por ejemplo, el documento WO 2004/080174).

Sumario

En el presente documento, se describen artículos, composiciones y métodos de destrucción o prevención del crecimiento de microbios. Se ha descubierto que una clase de porfirinas puede destruir o prevenir el crecimiento de microbios. Las porfirinas pueden usarse en una serie de aplicaciones diferentes en las que crecen microbios. Las ventajas de la invención, en parte, se expondrán en la siguiente descripción y, en parte, serán evidentes a partir de la descripción, o pueden aprenderse mediante la práctica de los aspectos descritos a continuación. Las ventajas descritas a continuación se realizarán y se obtendrán por medio de los elementos y de las combinaciones que se señalan en particular en las reivindicaciones adjuntas. Se ha de entender que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son meramente ilustrativas y explicativas, y no son restrictivas.

Breve descripción de las figuras

Las figuras adjuntas, que se incorporan y constituyen una parte de la presente memoria descriptiva, ilustran varios aspectos descritos más adelante.

La Figura 1 muestra imágenes globales de ratones tratados con diferentes concentraciones de lauril-metil-pirifrina (LMP) y TMP.
La Figura 2 muestra la puntuación del eritema de lauril-metil-pirifrina (LMP) y porfirina TMP en una zona erosionada de ratones.
La Figura 3 muestra la puntuación del eritema de lauril-metil-pirifrina (LMP) y porfirina TMP en una zona intacta de ratones.
La Figura 4 muestra la puntuación del edema de lauril-metil-pirifrina (LMP) y porfirina TMP en una zona erosionada de ratones.
La Figura 5 muestra la puntuación del edema de lauril-metil-pirifrina (LMP) y porfirina TMP en una zona intacta de ratones.

Descripción detallada

En la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, se hará referencia a una serie de términos y expresiones que se definirán con los siguientes significados:

Se ha de señalar que, como se usan en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular de "un", "una", "el" y “la” incluyen los referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así pues, por ejemplo, la referencia a "un microbio" incluye mezclas de dos o más de dichos organismos, y similares.

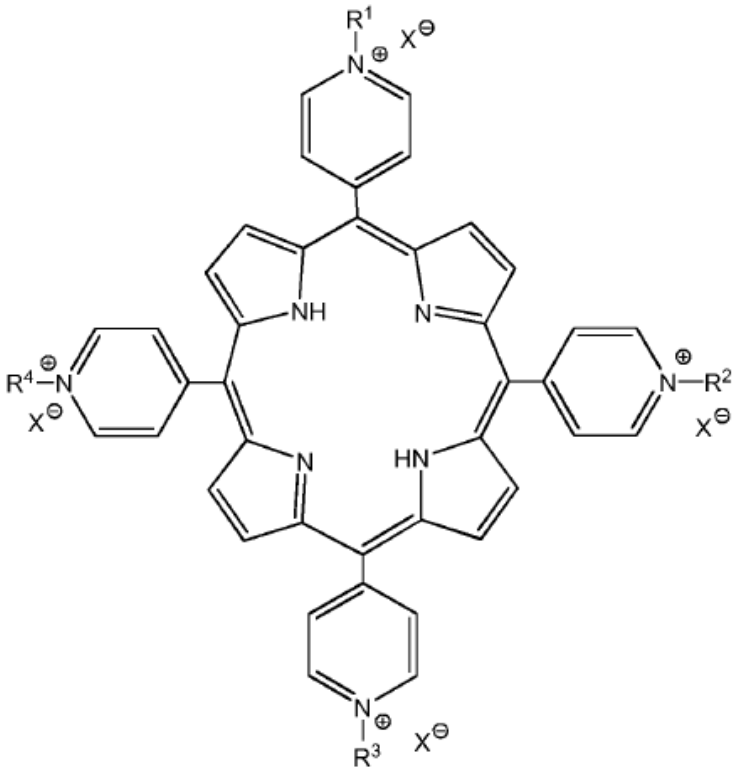
"Opcional" u "opcionalmente" significa que el hecho o la circunstancia descritos detrás pueden o no ocurrir, y que la descripción incluye casos en los que ocurre el hecho o la circunstancia y casos en los que no ocurre. Por ejemplo, la expresión "opcionalmente segundo desinfectante" significa que el segundo desinfectante puede o no estar presente.

Las referencias de la memoria descriptiva y las reivindicaciones finales de partes en peso de un elemento o componente particular en una composición o en un artículo indican la relación de peso entre el elemento o componente y cualquier otro elemento o componente de la composición o del artículo para la que se expresa una parte en peso. Por lo tanto, en un compuesto que contiene 2 partes en peso del componente X y 5 partes en peso del componente Y, X e Y están presentes en una proporción en peso de 2:5, y están presentes en dicha proporción independientemente de si hay componentes adicionales contenidos en el compuesto.

Un porcentaje en peso de un componente, a menos que se indique específicamente lo contrario, se basa en el peso total de la formulación o composición en la que se incluye el componente.

Las variables tales como R^1-R^4 y X usadas a lo largo de la solicitud son las mismas variables que se han definido previamente a menos que se indique lo contrario.

La expresión "grupo alquilo", como se usa en el presente documento, es un grupo hidrocarbonado saturado ramificado o no ramificado que tiene de 1 a 14 átomos de carbono.
En el presente documento, se describe una composición tópica que comprende la porfirina de fórmula I:



I

en la que R^1 es un grupo alquilo C_{12}, y R^2-R^4 son metilo; y

X^- es un anión;

para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad causada por un microbio en un mamífero; en la que el microbio se selecciona entre una bacteria y un hongo, y comprendiendo la composición tópica un vehículo farmacéutico.

Las porfirinas que tienen la fórmula I se pueden preparar usando técnicas conocidas en la materia. Por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 6.573.258 desvela técnicas de preparación de las porfirinas descritas en el presente documento, que se incorporan por referencia. En un aspecto, R^1 de la fórmula I es un grupo alquilo C_{12} de cadena lineal o ramificado. Como se muestra más adelante, en los Ejemplos, la longitud del grupo alquilo puede afectar a la capacidad de la porfirina para destruir o prevenir el crecimiento de microbios. En un aspecto, X es un haluro, sulfato, acetato, lactato, nitrato, fosfato, carbonato, bicarbonato o tosilato. La identidad del contraión puede variar dependiendo de cómo se sintetizó la porfirina. Por ejemplo, si la porfirina se sometió a alquilación con yoduro de

metilo, el contraión sería yoduro. También es posible usar técnicas conocidas en la materia para intercambiar el contraión de la porfirina con otros contraiones. Por ejemplo, se pueden usar resinas de intercambio iónico para reemplazar un contraión por otro en la porfirina.

En ciertos aspectos, las porfirinas del presente documento pueden destruir hasta el 100 % del microbio. En otros aspectos, las porfirinas del presente documento pueden prevenir el crecimiento del microbio. El término "prevenir", como se usa en el presente documento, incluye el cese total del crecimiento o una reducción de la velocidad de crecimiento. En general, las porfirinas descritas en el presente documento pueden destruir o prevenir el crecimiento de un microbio en cualquier entorno en el que puedan existir los organismos.

Las porfirinas pueden destruir o prevenir el crecimiento de una variedad de diferentes microbios. En ciertos aspectos, los microbios pueden ser patógenos y causar enfermedades debilitantes para los seres humanos, el ganado y los cultivos. En otros aspectos, los microbios pueden producir olores desagradables. Por lo tanto, los artículos, las composiciones y los métodos descritos en el presente documento pueden usarse también como desodorantes. Por ejemplo, los artículos y las composiciones pueden destruir o prevenir el crecimiento de bacterias tales como, por ejemplo, corinebacterias y micrococos, bacterias que causan olores desagradables.

En un aspecto, los artículos y las composiciones pueden destruir o prevenir el crecimiento de bacterias tales como, por ejemplo, bacterias gram positivas, bacterias gram negativas, o una combinación de las mismas. En un aspecto, las bacterias son del género *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Aerobacter*, *Burkholderia*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Flavimonas*, *Enterobacter*, *Candida*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Yersinia*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Francisella*, *Haemophilus*, *Stenotrophomonas*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Moraxella*, *Serratia*, *Neisseria*, *Brucella*, *Clostridium*, *Chlamydia* o cualquier combinación de las mismas. Los ejemplos de dichas bacterias incluyen, pero sin limitación, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la oxicilina, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Flavimonas*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, enterococos resistentes a la vancomicina, *Streptococcus pneumoniae*, *Yersinia pestis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Francisella tularensis*, *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Moraxella catarrhalis*, *Serratia marcescens*, *Neisseria meningitides*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Brucella suis*, *Clostridium difficile*, *Clostridium botulinum*, *Chlamydia trachomatis*, o cualquier combinación de las mismas.

En un aspecto, el microbio es un hongo del género *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Histoplasma*, *Pneumocystis* o *Stachybotrys.* Los ejemplos de dichos hongos incluyen, pero sin limitación, *Candida albicans*, *Candida ascalaphidarum*, *Candida amphixiae*, *Candida antarctica*, *Candida atlantica*, *Candida atmosphaerica*, *Candida blattae*, *Candida carpophila*, *Candida cerambycidarum*, *Candida chauliodes*, *Candida corydalis*, *Candida dosseyi*, *Candida dubliniensis*, *Candida ergatensis*, *Candida fructus*, *Candida glabrata*, *Candida fermentati*, *Candida guilliermondii*, *Candida haemulonii*, *Candida insectamens*, *Candida insectorum*, *Candida intermedia*, *Candida jeffresii*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida lusitaniae*, *Candida lyxosophila*, *Candida maltosa*, *Candida membranifaciens*, *Candida milleri*, *Candida oleophila*, *Candida oregonensis*, *Candida parapsilosis*, *Candida quercitrusa*, *Candida sake*, *Candida shehatea*, *Candida temnochilae*, *Candida tenuis*, *Candida tropicalis*, *Candida tsuchiyae*, *Candida sinolaborantium*, *Candida sojae*, *Candida viswanathii*, *Candida utilis*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus clavatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gattii*, *Histoplasma capsulatum*, *Pneumocystis jirovecii*, *Stachybotrys chartarum*. Estos microbios pueden producir una variedad de diferentes síntomas y enfermedades incluyendo, pero sin limitación, numerosos tipos de infecciones, aspergilosis (fiebre, tos, dolor torácico o falta de aire), meningitis y meningoencefalitis, histoplasmosis, neumonía, daño respiratorio y dolores de cabeza.

En otros aspectos, el microbio es un hongo acuático. En estos aspectos, el hongo acuático puede estar presente en sistemas acuáticos en los que el agua pueda ser consumida por o entrar en contacto con seres humanos o animales. Los ejemplos de hongos acuáticos incluyen, pero sin limitación, *Absidia corymbifera*, *Absidia ramosa* (sinónimo de *Absidia corymbifera*), *Acremonium falciforme*, *Acremonium kiliense*, *Acremonium recifei*, *Ajellomyces capsulatus* (forma sexual de Histoplasma), *Ajellomyces dermatitidis* (forma sexual de *Blastomyces dermatitidis*), *Arthrographis cuboidea*, *Arthrographis kalrae*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, grupo de *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, grupo de *Aspergillus terreus*, *Aspergillus ustus*, *Basidiobolus ranarum*, *Bipolaris*, *Blastomyces dermatitidis*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Blastoschizomyces pseudotrichosporon* (sinónimo de *Blastoschizomyces capitatus*), *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida lipolytica*, *Candida lusitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cladophialophora bantiana*, *Cladophialophora carrionii*, *Coccidioides immitis*, *Conidiobolus coronatus*, *Coniothyrium fuckelii*, *Cryptococcus norformans*, *Curvularia*, *Epidermophyton floccosum*, *Exophiala castellanii*, *Exophiala dopicola*, *Exophiala jeanselmei*, *Exophila pisciphila*, *Exophiala salmonis*, *Exophiala spinifera*, *Exserohilum*, *Filobasidiella neoformans* (forma sexual de *Cryptococcus norformans*), *Fonsecaea compacta*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Geotrichum candidum*, *Geotrichum capitatum* (sinónimo de *Blastoschizomyces capitatus*), *Geotrichum penicillatum*, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, *Hortaea werneckii*, *Lacazia loboi*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Leptosphaeria senegalensis*, *Madurella grisea*, *Madurella mycetomatis*, *Malassezia furfur*, *Microsporum audouinii*, *Microsporum canis*,

Microsporum distortum, *Microsporum gallinae*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum nanum*, *Mucor corymbifer* (sinónimo de *Absidia corymbifera*), *Nattrassia mangiferae*, *Neotestudina rosatii*, *Ochroconis gallopava*, *Onychocola Canadensis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Phialophora parasitica*, *Phialophora repens*, *Phialophora verrucosa*, *Piedraia hortae*, *Pneumocystis carinii*, *Pseudallesheria boydii*, *Pyrenochaeta romeroi*, *Rhinocladiella aquaspersa*, *Rhinosporidium seeberi*, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saprolegnia parasitica*, *Scedosporium apiospermum*, *Scedosporium prolificans*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Scopulariopsis brumptii*, *Scopulariopsis candida*, *Scytalidium dimidiatum*, *Sporothrix schenckii*, *Trichophyton megninii*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichosporon beigelii*, *Trichosporon capitatum* (sinónimo de *Blastoschizomyces capitatus*) o *Wangiella dermatitidis.*

En un aspecto, el microbio es un patógeno para la vida marina (por ejemplo, mamíferos, reptiles, anfibios, peces, cefalópodos, bivalvos, monovalentes, crustáceos o huevos de peces). Los ejemplos incluyen *Pfiesteria piscicida*, *Aphanomyces invadans*, *Ichthyophonus hoferi* (que da lugar a *icthyophonus*) o *Saprolegnia parasitica* (que da lugar a *saprolegniasis*), *Branchiomyces sanguinis* (que da lugar a *bracnchiomycosis*) o *Branchiomyces demigrans* (que da lugar a *bracnchiomycosis*).

En otros aspectos, el microbio puede ser una espora. Los ejemplos de dichas esporas incluyen, pero sin limitación, endosporas, esporangiosporas, zigosporas, ascosporas, basidiosporas, aeciosporas, urediosporas, teliosporas, oosporas, carposporas y tetrasposas.

En otro aspecto, el microbio puede ser una colección de organismos agregados en una biopelícula. Las biopelículas normalmente se forman sobre sustratos vivos o no vivos. Las biopelículas son particularmente relevantes en los hospitales y en otras aplicaciones biomédicas en las que ciertas biopelículas pueden causar enfermedades muy debilitantes que son difíciles de tratar.

Las porfirinas descritas en el presente documento pueden aplicarse directamente a mamíferos. En general, los animales son vulnerables a una variedad de microbios que producen enfermedades debilitantes. Las porfirinas descritas en el presente documento tienen una serie de aplicaciones veterinarias. Por ejemplo, las porfirinas pueden aplicarse en la pezuña de un ungulado tal como un equino, ovino, bovino o porcino para tratar infecciones.

En un aspecto, las porfirinas pueden usarse en aplicaciones biomédicas. Por ejemplo, el sustrato puede ser la piel de un sujeto. Las infecciones causadas por la introducción de bacterias y otros microbios presentes en la piel en el sujeto son un problema común y potencialmente grave. Esto es así, en especial, en los hospitales y otros centros de salud. Por ejemplo, cuando se realiza una administración IV en un paciente, las bacterias presentes en la piel se introducen en el paciente. Esto se conoce como una infección en el sitio de una vía. Aunque algunos desinfectantes son eficaces, muchos tienen inconvenientes. Por ejemplo, numerosos antibacterianos han sido usados en exceso o mal usados, lo que conduce a resistencia bacteriana contra aquellos antibacterianos en particular. Esta resistencia ha demostrado ser especialmente problemática en los hospitales, donde se han descubierto numerosas cepas de bacterias resistentes a múltiples fármacos en las dos últimas décadas.

Las porfirinas que tienen la fórmula I se pueden aplicar en o incorporar a una serie de artículos diferentes que, en última instancia, entrarán en contacto con la piel. Por ejemplo, el artículo puede ser una toallita, un vendaje, una cinta médica, una toallita antiséptica, una toalla de manos o una esponja que se haya puesto en contacto con la porfirina. En ciertos aspectos, las toallitas que se describen en el presente documento son artículos desechables de un solo uso. En otros aspectos, las toallitas son reutilizables. En ciertos aspectos, las toallitas que se describen en el presente documento son similares a los hisopos o las toallitas que contienen alcohol o betadina desechables. En este aspecto, la toallita puede ser de materiales naturales o artificiales. Por ejemplo, en un aspecto, la toallita puede ser de algodón. En otro aspecto, la toallita puede ser de poliéster.

Las porfirinas se pueden aplicar a los artículos usando una variedad de técnicas. En un aspecto, los artículos se pueden pulverizar con una solución de la porfirina, mientras que, en otros aspectos, los artículos se pueden sumergir en una solución de la porfirina. En ciertos aspectos, cuando el artículo es un vendaje o una cinta médica, el vendaje o la cinta médica se pueden componer de un material que permita el paso de la luz a través del vendaje o de la cinta médica y el contacto con la piel. Como se tratará más adelante, la luz puede pasar a través del material y activar la porfirina.

En otros aspectos, la porfirina se puede aplicar a un artículo que pretenda ser inyectado en la piel. Por ejemplo, las agujas y las lancetas usadas en las venopunciones, vías intravenosas y catéteres PICC se pueden recubrir o impregnar con la porfirina antes de la inyección, de manera que al penetrar en la piel, los agentes microbianos presentes en la piel mueran y no se incorporan a la piel.

En otros aspectos, las porfirinas descritas en el presente documento pueden usarse en composiciones tópicas. Las formulaciones para la administración tópica pueden incluir pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, pulverizaciones, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o deseables vehículos farmacéuticos convencionales, bases acuosas, en polvo u oleosas, espesantes y similares.

Se apreciará que las cantidades reales preferidas de porfirina presentes en los artículos o en las composiciones que se describen en el presente documento pueden variar de acuerdo con la porfirina específica que se esté utilizando, los artículos o las composiciones usados en particular, el modo de aplicación y la zona concreta del sujeto que se esté tratando. Los artículos y las composiciones que se describen en el presente documento se pueden usar en combinación con desinfectantes adicionales. Por ejemplo, los artículos y las composiciones pueden incluir un segundo desinfectante tal como, por ejemplo, clorhexidina, betadina (povidona-yodo), benzoína, alcohol isopropílico, alcohol etílico o cualquier combinación de los mismos.

Los artículos, las composiciones y los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para prevenir el desarrollo de una infección cutánea o tratar una infección cutánea existente. El término "prevenir", como se usa en el presente aspecto, varía desde una reducción de la velocidad de crecimiento de un microbio hasta el cese completo del microbio que puede causar una infección. En ciertos aspectos, los artículos y las composiciones que se describen en el presente documento pueden destruir hasta el 100 % de los microbios. Si ya hay una infección cutánea presente, los artículos y las composiciones que se describen en el presente documento pueden reducir la propagación y los síntomas de la infección (es decir, tratar la infección) mediante la destrucción de los microbios responsables de la infección. El término “desinfectar”, como se usa en el presente documento, con respecto a las aplicaciones cutáneas incluye la prevención y/o el tratamiento de una infección cutánea.

Los microbios tales como las bacterias y los hongos pueden producir una variedad de diferentes síntomas y enfermedades. Por ejemplo, pueden tratarse o prevenirse numerosos tipos de infecciones cutáneas, incluyendo las infecciones en sitios de vías, la aspergilosis (fiebre, tos, dolor torácico o falta de aire), meningitis y meningoencefalitis, histoplasmosis, neumonía, daño respiratorio y dolores de cabeza, mediante los artículos, las composiciones y los métodos descritos en el presente documento. Los artículos, las composiciones y los métodos descritos en el presente documento pueden destruir o prevenir el crecimiento de estos organismos.

Los artículos y las composiciones se pueden aplicar a cualquier superficie expuesta de la piel. El término "piel" incluye cualquier superficie expuesta sobre el sujeto que pueda ser susceptible a la infección causada por los microbios. Por ejemplo, las membranas mucosas expuestas tales como, por ejemplo, la vagina, el recto y el revestimiento interno de la nariz pueden ponerse en contacto con los artículos y las composiciones que se describen en el presente documento. En un aspecto, los artículos y las composiciones que se describen en el presente documento pueden aplicarse en los brazos, las piernas, las manos, los pies, el torso o la cabeza para desinfectar esta zona del sujeto. Por ejemplo, los artículos o las composiciones se pueden aplicar en la piel de un sujeto antes y/o después de que la piel haya sido perforada (por ejemplo, por vía intravenosa, catéter PICC, lanceta, etc.). Por lo tanto, los artículos y las composiciones que se describen en el presente documento son útiles en la prevención o el tratamiento de infecciones en sitios de vías. En otros aspectos, los artículos y las composiciones que se describen en el presente documento pueden prevenir o tratar una infección de una herida presente en la piel de un sujeto. Por ejemplo, se puede aplicar una toallita o un vendaje en una herida abierta (por ejemplo, un corte o una laceración en la piel) para desinfectar la herida.

En otro aspecto, un método de destrucción o prevención del crecimiento de un microbio usando (a) el contacto del microbio con una porfirina que tiene la estructura I, en la que R^1 es un grupo alquilo C_{12}, y R^2-R^4 son metilo; y X^- es un anión; y (b) la exposición de la porfirina a la luz. En ciertos aspectos, la porfirina puede ser estable en la oscuridad. Al exponerlos a la luz, son fotosensibilizadores. En presencia de oxígeno, la porfirina, tras la exposición a la luz, produce oxígeno singlete que puede reaccionar con un sustrato rico en electrones. Así pues, cuando la porfirina entra en contacto con el microbio seguido de la exposición a la luz, el microbio es inactivado por el oxígeno singlete. La intensidad y la duración de la luz pueden variar dependiendo de la cantidad de porfirina usada y del tipo de microbio diana. Por ejemplo, cuando la luz se deriva de una fuente de luz artificial, la luz tiene una intensidad de al menos 5 mW/cm^2, o de 5 mW/cm^2 a 500 mW/cm^2. En este aspecto, la duración de la exposición a la luz es de 1 segundo a 2 horas. Como alternativa, la fuente de luz puede ser la luz solar. Las porfirinas descritas en el presente documento pueden absorber todas las longitudes de onda visibles de la luz solar, con la absorción más fuerte en la región azul. En otros aspectos, las porfirinas pueden activarse en ausencia de luz.

Las porfirinas descritas en el presente documento se formulan en composiciones tópicas que se pueden aplicar fácilmente a una parte del cuerpo del sujeto (humano o animal). Como alternativa, la porfirina puede formularse en soluciones (por ejemplo, a base de agua) que pueden pulverizarse fácilmente sobre un sustrato.

Se entiende que cualquier aspecto dado en particular de las composiciones y los métodos desvelados puede compararse fácilmente con los ejemplos y las realizaciones específicos desvelados en el presente documento, incluyendo los reactivos basados en no polisacáridos expuestos en los ejemplos. Mediante la realización de dicha comparación, se puede determinar fácilmente la eficacia relativa de cada realización particular. En los ejemplos del presente documento, se desvelan las composiciones y los métodos particularmente preferidos, y se entiende que estas composiciones y estos métodos, aunque no son necesariamente limitantes, se pueden realizar con cualquiera de las composiciones y de los métodos que se desvelan en el presente documento.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completas de cómo se preparan y se evalúan los compuestos, las composiciones y los métodos que se describen y se reivindican en el presente documento, y se pretende que sean puramente ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención. Se han hecho esfuerzos para garantizar la exactitud con respecto a los números (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se han de tener en cuenta algunos errores y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, la temperatura está en ºC o está a temperatura ambiente, y la presión está en o cerca de la atmosférica. Existen numerosas variaciones y combinaciones de las condiciones de reacción, por ejemplo, concentraciones de los componentes, disolventes deseados, mezclas de disolventes, temperaturas, presiones, y otros intervalos de reacción y condiciones que se pueden usar para optimizar la pureza del producto y el rendimiento obtenido a partir del proceso descrito. Solo se requerirá una experimentación razonable y rutinaria para optimizar dichas condiciones del proceso.

Materiales y métodos

Productos químicos. La TMP (R^1-R^4 = Me; X = tosilato) y lauril-metil-pirifrina (LMP), R^1 = alquilo C_{12} lineal; R^2-R^4 = Me; X = tosilato) se obtuvieron en Frontier Scientific, Inc. (Logan, UT); el medio (DMEM con L-Glu, FBS, Pen/Estrep, EMEM con sales de Earl y el medio basal en BSS de Earle) se adquirieron en la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC). El medio EpiLife se adquirió en Invitrogen (Madison, WI).

Células. Se obtuvieron queratinocitos epidérmicos neonatales humanos (HEKn) en Invitrogen (Madison, WI).

Citotoxicidad a oscuras. Se sembraron células HEKn de tipo (100.000) en placas de plástico de 6 pocillos con 2 ml de medio completo por cada tipo de célula. Tras 24 h, se reemplazó el medio con una concentración creciente de porfirinas (0-300 µM) y se incubó durante otras 24 h (2). Al final del período de incubación, las células se lavaron con PBS, se retiraron de las placas mediante exposición a tripsina y se tiñeron con azul de tripano para determinar la supervivencia celular. La supervivencia de las células se normalizó con respecto al porcentaje de células viables de las muestras de control (sin tratar).

Fototoxicidad. Se prepararon las células HEKn como se ha descrito anteriormente para el ensayo de citotoxicidad a oscuras con el mismo tratamiento de porfirinas. Inmediatamente después de la exposición a las porfirinas, las células se expusieron durante 2 h a la luz ambiental fluorescente, y luego se devolvieron a la incubadora. Tras 24 h, se aplicó el ensayo de exclusión con azul de tripano y se evaluó la supervivencia de las células irradiadas con respecto a muestras de células no incubadas con porfirina ni irradiadas.

Ensayo de irritación cutánea en ratones. Se ensayaron *in vivo* la lauril-metil-pirifrina y la TMP, dos porfirinas catiónicas meso-sustituidas sintetizadas, para determinar el potencial de irritación dérmica de la piel de los ratones. Se prepararon los dos agentes de ensayo con tres concentraciones diferentes individualmente, 3 µM, 30 µM y 300 µM. Se usaron ácido fórmico al 10 % y PBS como control positivo y negativo respectivamente (n = 6). Los ratones Balb/c, que no se habían usado en experimentos previos y que habían resultado estar libres de cualquier irritación, traumatismo o signo clínico adverso de la piel antes del inicio de los estudios, fueron asignados al azar y agrupados para las condiciones diseñadas de ensayo. Se retiró el pelo de la parte trasera de los animales con una cortadora eléctrica al menos 4 horas antes de la aplicación de la muestra. Antes de la aplicación de los agentes de ensayo, cada ratón recibió cuatro abrasiones epidérmicas paralelas con una aguja estéril en un lado de la superficie de ensayo, mientras que la piel del lado opuesto permaneció intacta. En condiciones de anestesia, a continuación, se aplicó una muestra de 0,5 ml del artículo de ensayo en cada ratón mediante la introducción bajo una capa de gasa doble hasta una superficie de piel de aproximadamente 2,54 x 2,54 cm^2 (1 x 1 pulgada). Se reforzaron los parches con plástico, se cubrieron con una cinta no reactiva y se envolvió todo el sitio del ensayo con un aglutinante. Los animales serían devueltos a sus jaulas. Tras una exposición de 24 horas, se retiraron los aglutinantes y se limpió la piel para eliminar cualquier sustancia de ensayo que quedara. Se observaron los animales en busca de signos de eritema y edema a las 24 y 72 horas de la aplicación de la sustancia de ensayo y se puntuaron de acuerdo con la Tabla 1 de Criterios de Puntuación de Draize recomendados por la FHSA. Se calculó el Índice de Irritación Primario (P.I.I.) (suma de las reacciones puntuadas dividida entre 24 (dos intervalos de puntuación multiplicados por dos parámetros de ensayo multiplicados por seis ratones)) del artículo de ensayo una vez finalizado el ensayo. Un material que produce una puntuación de P.I.I superior o igual a 5,00 sería considerado positivo; el material sería considerado un irritante primario de la piel (Tabla 2).

TABLA 1

EVALUACIÓN DE DRAIZE[1] DE LAS REACCIONES DÉRMICAS

REACCIONES CUTÁNEAS	PUNTUACIÓN
Eritema y formación de escaras (zona más gravemente afectada graduada):	
Sin eritema	0
Eritema muy leve (apenas perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema de moderado a grave	3
Eritema grave (enrojecimiento de color remolacha) a ligera formación de escaras (lesiones en profundidad)	4
NOTA: las zonas de ensayo que reciben una puntuación de "4" para el eritema requieren una descripción adicional en cuanto al grado de la lesión tisular.	
Formación del edema (zona más gravemente afectada graduada):	
Sin edema	0
Edema muy leve (apenas perceptible)	1
Edema ligero (bordes de la zona bien definidos por un levantamiento definido)	2
Edema moderado (elevación de aproximadamente 1 mm)	3
Edema grave (elevado más de 1 mm y que se extiende más allá de la zona de exposición)	4

[1]Draize, J. H. 1959. “Dermal Toxicity”. Páginas 46-59 en Appraisal of the Safety of Chemicals in Food, Drugs and Cosmetics. The Association of Food and Drug Officials of the United States, Bureau of Food and Drugs, Austin, TX.

TABLA 2

EVALUACIÓN DEL ÍNDICE DE IRRITACIÓN PRIMARIO

ÍNDICE	EVALUACIÓN
0,00	Sin irritación
0,04-0,99	Irritación apenas perceptible
1,00-1,99	Irritación ligera
2,00–2,99	Irritación leve
3,00-5,99	Irritación moderada
6,00-8,00	Irritación grave

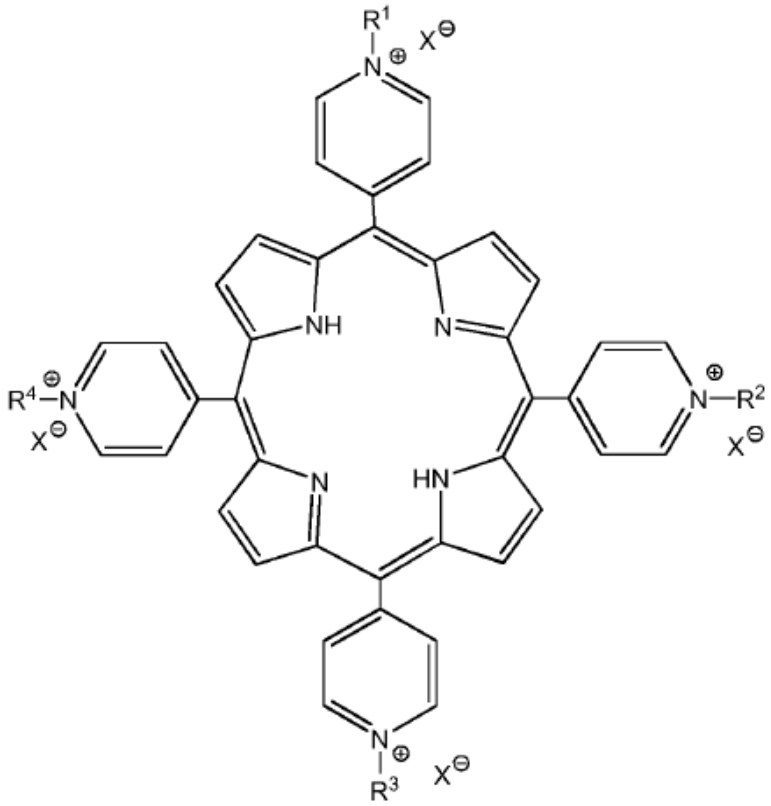
Resultados

Citotoxicidad de las porfirinas hacia diferentes tipos de células. Se evaluó la fototoxicidad de los derivados de porfirina lauril-metil-pirifrina y TMP en células HEKn. Se encontró que los compuestos eran no tóxicos o ligeramente tóxicos para las células a oscuras (> 60 % de tasa de supervivencia), hasta una concentración de 300 μM. Tras la exposición a la luz visible, las porfirinas mostraron citotoxicidad a todos los tipos de células, con tasas de supervivencia celular por debajo del 20 % a la concentración más alta estudiada.

Ensayo de irritación cutánea en ratones. En la Figura 1, se representan imágenes globales de ratones de diferentes grupos de tratamiento. Se expresaron los resultados individuales de la puntuación dérmica por eritema en la superficie erosionada (Figura 2); la superficie intacta (Figura 3); el edema de la zona erosionada (Figura 4); y la superficie intacta (Figura 5). Tras 24 horas, se observó un eritema muy leve en la mayor parte de lauril-metil-pirifrina 300 μM (6/6), TMP 30 μM (4/6) y TMP 300 μM (5/6) y lauril-metil-pirifrina 30 μM (2/6), con eritema bien definido en TMP 300 μM (6/6). Se observó un ligero edema en los ratones de ambos tratamientos de lauril-metil-pirifrina 300 μM y TMP 300 μM. Tras 72 horas, se observó un eritema muy leve en el tratamiento con lauril-metil-pirifrina 30 μM, y se observó una ligera diferencia con otros grupos de tratamiento. En la superficie intacta, no se observó eritema ni edema en ninguno de los ratones de lauril-metil-pirifrina y TMP, a excepción de TMP 300 μM con eritema y edema muy ligeros. Se calculó el índice de irritación primario de lauril-metil-pirifrina 3 μM en 0,00, 0,175 para lauril-metil-pirifrina 30 μM, 1,4 para lauril-metil-pirifrina 300 μM, 0,6 para TMP 3 μM, 1,1 para TMP 30 μM y 2,9 para TMP 300 μM. Por lo tanto, la lauril-metil-pirifrina 3 μM no tiene ningún efecto de irritación sobre la piel; la lauril-metil-pirifrina 30 μM y la TMP 3 μM tienen irritación apenas perceptible; la lauril-metil-pirifrina 300 μM y TMP 30 μM tienen ligera irritación; TMP 300 μM puede considerarse que tiene irritación leve.

REIVINDICACIONES

1. Una composición tópica que comprende la porfirina de fórmula I:



I

en la que R^1 es un grupo alquilo C_{12}, y R^2-R^4 son metilo; y

X^- es un anión;

para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad causada por un microbio en un mamífero; en la que el microbio se selecciona entre una bacteria y un hongo, y comprendiendo la composición tópica un vehículo farmacéutico.

2. La composición tópica para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que X comprende un haluro, sulfato, acetato, lactato, nitrato, fosfato, carbonato, bicarbonato o tosilato.

3. La composición tópica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que la porfirina se expone a la luz, en la que la luz es preferentemente luz artificial o luz solar.

4. La composición tópica para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que cuando la luz comprende luz artificial, la luz tiene una intensidad de al menos 5 mW/cm^2, preferentemente una intensidad de 5 mW/cm^2 a 500 mW/cm^2.

5. La composición tópica para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la porfirina se expone a la luz en condiciones aeróbicas.

6. La composición tópica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición tópica es un polvo.

7. La composición tópica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición tópica es una pomada.
8. La composición tópica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición tópica es una crema.

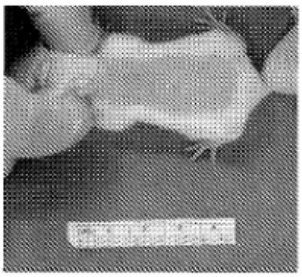
9. La composición tópica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición tópica es un gel.

10. La composición tópica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición tópica es una pulverización.

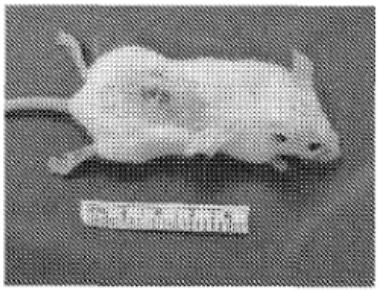
11. La composición tópica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el microbio es una bacteria.

12. La composición tópica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el microbio es un hongo.

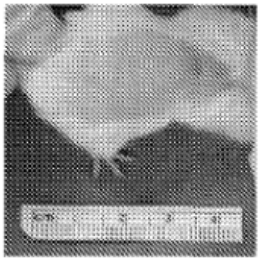
FIGURA 1



[Tratado_PBS_72 h]

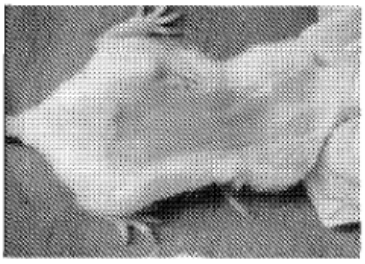


[ácido fórmico al 10 %_72 h_formación de escaras]



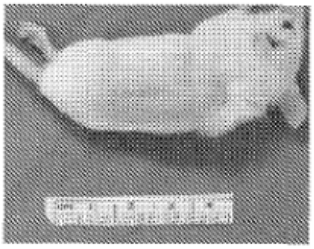
[LMP 3 µM_72 h]

[LMP 30 µM_72 h]

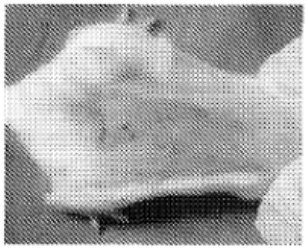


[LMP 300 µM_72 h]

[TMP 3 µM_72 h]

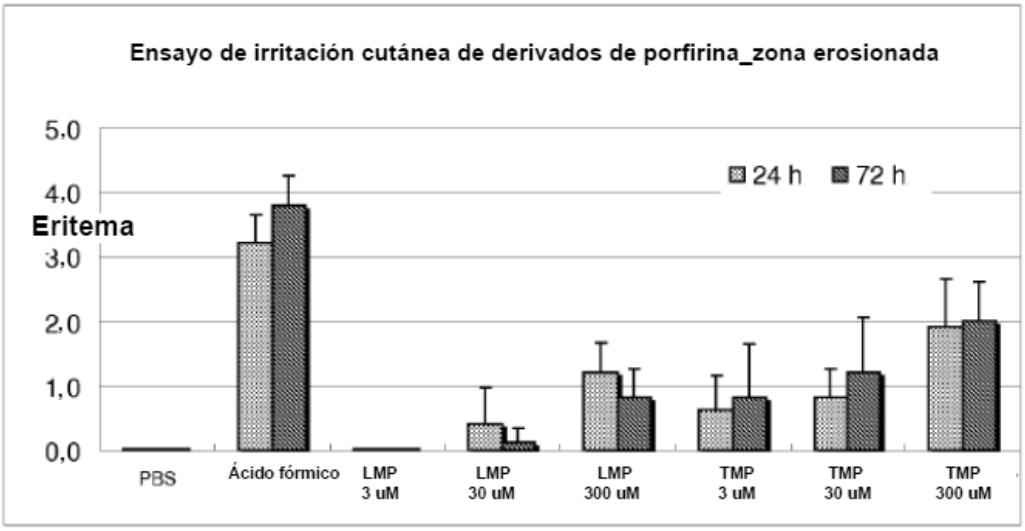


[TMP 30 µM_72 h]



[TMP 300 µM_72 h]

FIGURA 2



Reacciones de eritema cutáneo	Puntuación
Sin eritema	0
Eritema muy leve	1
Eritema bien definido	2
Eritema de moderado a grave	3
Eritema grave a ligera formación de escaras	4

FIGURA 3

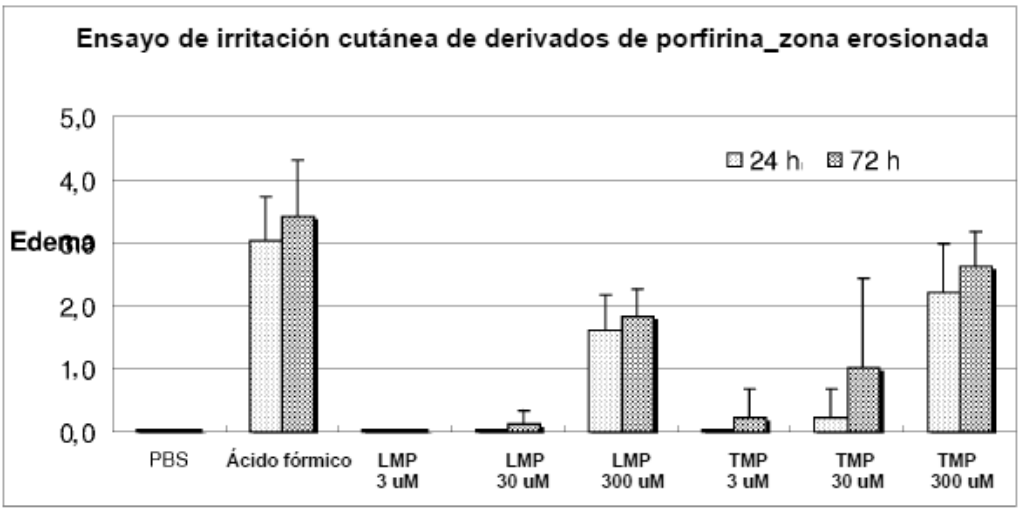
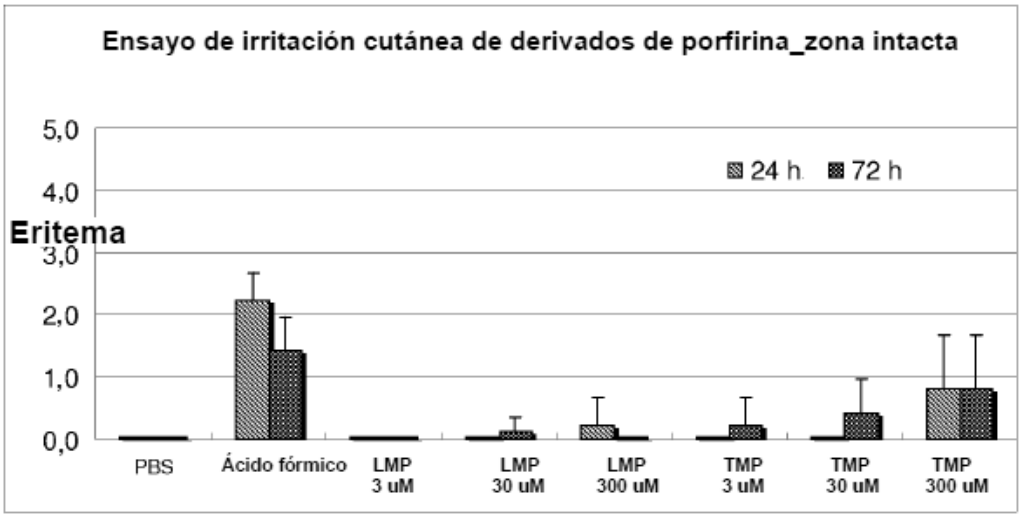
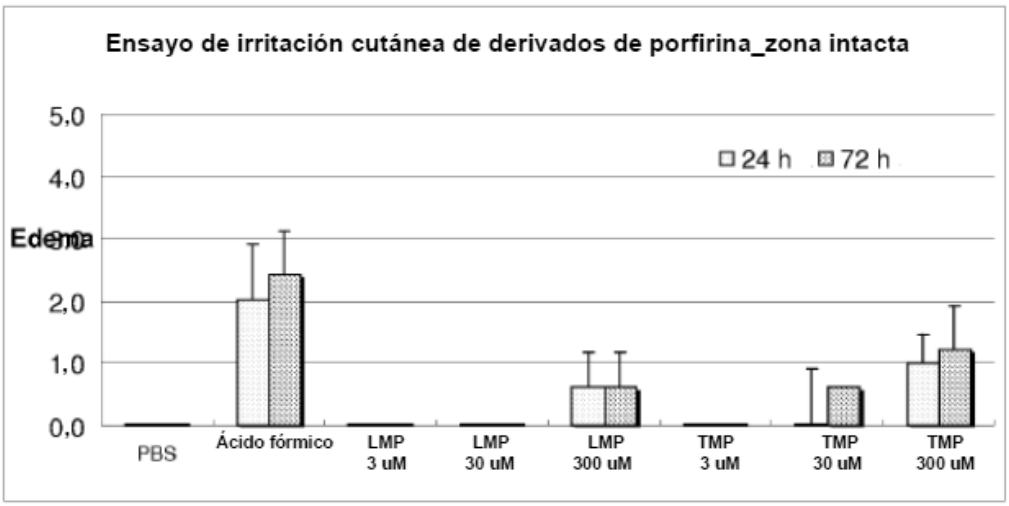


FIGURA 4



Reacciones de edema cutáneo	Puntuación
Sin edema	0
Edema muy leve	1
Edema leve	2
Edema moderado	3
Edema grave	4

FIGURA 5


Ensayo de irritación cutánea de derivados de porfirina_zona intacta
5,0
4,0
Edema
3,0
2,0
1,0
0,0
24 h
72 h
PBS
Ácido fórmico
LMP 3 uM
LMP 30 uM
LMP 300 uM
TMP 3 uM
TMP 30 uM
TMP 300 uM