(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 633 778**

(51) Int. Cl.:

***A61K 31/198*** (2006.01)
***A61K 31/255*** (2006.01)
***A61P 27/02*** (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.09.2013** **PCT/US2013/059810**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **20.03.2014** **WO14043576**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.09.2013** **E 13837849 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.05.2017** **EP 2895161**

(54) Título: **Método de tratamiento o profilaxis de infecciones del ojo**

(30) Prioridad:

**13.09.2012 US 201261700714 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
**25.09.2017**

(73) Titular/es:

**STARPHARMA PTY LIMITED (100.0%)**
**PO Box 2022**
**Preston, VIC 3072, AU**

(72) Inventor/es:

**FAIRLEY, JACINTH KINCAID;**
**BARRETT, COLIN PAUL y**
**PAULL, JEREMY ROBERT ARTHUR**

(74) Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**ES 2 633 778 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

Método de tratamiento o profilaxis de infecciones del ojo

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a macromoléculas para usar en métodos de tratamiento o prevención de infecciones microbianas del ojo o alivio o profilaxis de uno o más síntomas de infecciones microbianas del ojo, métodos para prevenir la propagación de infecciones microbianas del ojo y composiciones para usar en métodos de tratamiento o prevención de infecciones microbianas del ojo.

Antecedentes de la Invención

La conjuntivitis, que se conoce, además, como ojo rosado, es una infección de la capa más externa del ojo, la conjuntiva, de la superficie interna de los párpados o tanto de la conjuntiva como de la superficie interna de los párpados. Los virus, bacterias, alergenos o productos químicos pueden causar conjuntivitis. Las infecciones conjuntivales pueden conducir a la afectación e inflamación de otras partes del ojo, que incluyen la córnea, la esclerótica, las glándulas lacrimales, las glándulas meibomianas y los folículos de las pestañas.

La conjuntivitis causada por patógenos tales como virus (típicamente adenovirus, virus del herpes, virus coxsackie, pox virus y virus de Epstein Barr) y bacterias se transmite por contacto del ojo con partículas infectadas, gotas, lentes de contacto, equipos médicos u oftálmicos. El adenovirus puede transmitirse por las gotas respiratorias de una tos o estornudo de una persona que sufra de una infección respiratoria del adenovirus. Las lentes de contacto, instrumentos médicos u oftálmicos inadecuadamente esterilizados pueden causar, además, infección conjuntival. La infección por adenovirus puede propagarse rápidamente a través de escuelas y guarderías donde los niños entran en estrecho contacto entre sí. A su vez, los niños pueden infectar a otros miembros de la familia, que incluye hermanos y padres. Aunque cualquier microbio puede causar inflamación del ojo externo, se estimó que hasta el 92 % de los diagnósticos se deben a la queratoconjuntivitis epidémica asociada al adenovirus (EKC).

El herpes zóster oftálmico es, además, una complicación común de la varicela. De aproximadamente 1 millón de casos de varicela que se diagnostican cada año, aproximadamente 250.000 desarrollan herpes zóster oftálmico y la mitad de estos pacientes desarrollan más complicaciones del herpes zóster oftálmico.

La queratoconjuntivitis herpética puede resultar de la infección primaria y recurrente del Virus 1 del Herpes Simple (HSV-1) en adultos y niños. El HSV-1 se adquiere casi universalmente y es la forma más común de ceguera corneal en los países desarrollados. Además, el HSV-2 puede resultar en queratoconjuntivitis herpética, principalmente en neonatos, que contraen la infección al pasar a través del canal del parto de un individuo infectado.

Adicionalmente, no solamente los virus tales como el HSV-1, sino, además, las bacterias tales como *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia* spp. pueden infectar los ojos de los recién nacidos que al nacer pasan por el canal del parto de una madre infectada. Tal infección puede causar dolor y secreción conjuntival significativa y que, de no tratarse, puede causar ulceración corneal.

Mientras que algunos casos de conjuntivitis viral se resuelven dentro de 1 a 6 semanas sin tratamiento, la EKC, que es predominantemente un resultado de la infección con los subtipos de adenovirus 8, 19 y/o 37, es extremadamente contagiosa y puede progresar para implicar tanto a la córnea como a la conjuntiva. La participación de la córnea afecta la visión a corto plazo y a veces la visión a largo plazo. El deterioro visual, puede persistir durante meses si se desarrollan infiltrados corneales subepiteliales (nummuli), que contienen materia viral. Estos requieren generalmente tratamiento con corticosteroides por un período de 4 meses. La EKC, además, puede resultar en daños a las células responsables de la producción de lágrimas que se ubican en la conjuntiva lo que resulta en dificultades lagrimales a largo plazo tales como el síndrome del ojo seco. La EKC se extiende rápidamente a través de una población, particularmente en aquellas donde un gran número de personas se reúnen en proximidad cercana tales como en las escuelas, guarderías, hospitales, unidades de cuidado de ancianos, consultorios médicos, bases militares, oficinas y fábricas.

En pacientes sanos, la conjuntivitis puede resolverse con el tiempo. Sin embargo, en pacientes inmunodeprimidos o inmunosuprimidos, tales como los que tienen VIH o inmunodeficiencias hereditarias, pacientes con cáncer sometidos a quimioterapia, trasplante de órganos sólidos o receptores de trasplante de células madre, puede producirse una infección significativa y complicaciones potencialmente mortales.

Aunque la conjuntivitis, especialmente la conjuntivitis viral, afecta principalmente a un ojo, la transmisión al otro ojo es común, particularmente al tener en cuenta que una persona promedio toca involuntariamente sus párpados y conjuntiva tarsal aproximadamente 14 veces al día y esto aumenta en quienes se aplican cosméticos y/o usan lentes de contacto.

La conjuntivitis puede conducir a una visión borrosa, pérdida de la visión y en algunos casos dolor así como al síndrome continuo del ojo seco si ocurre una pérdida de células productoras de lágrimas.

Las terapias convencionales para la conjuntivitis incluyen el uso tópico de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, gotas para los ojos o ungüentos antibióticos y en la infección viral grave corticosteroides tópicos y/o tratamiento antiviral oral. Sin embargo, muchos de estos tratamientos no son eficaces o sólo son moderadamente eficaces y necesitan de administración frecuente o de administración dentro de las 72 horas posteriores a la aparición de los síntomas. Las gotas convencionales para los ojos incluyen, además, conservantes que pueden causar irritación ocular en aquellos que sufren de conjuntivitis y las soluciones sin conservar son adecuadas para un solo uso o deben ser refrigeradas. Las terapias convencionales tienen perfiles de toxicidad que limitan su uso. Además, no existen agentes antivirales eficaces disponibles para tratar tópicamente la conjuntivitis adenoviral. Las terapias convencionales tampoco son adecuadas para el uso profiláctico y por lo tanto no reducen o inhiben la propagación de la infección al otro ojo de un individuo o en aquellas poblaciones en riesgo de contraer una infección conjuntival.

Las terapias convencionales se adaptan típicamente al tipo de infección, bacteriana o viral y no son adecuadas para el tratamiento de la infección tanto viral como bacteriana simultáneamente. Sin embargo, a veces es difícil en la práctica distinguir si un paciente tiene una infección viral o bacteriana. Los médicos tratarán con antibióticos debido a la incapacidad de identificar la etiología y la ausencia de antivirales tópicos de baja toxicidad efectivos y consecuentemente existe mucha prescripción innecesaria de antibióticos. La coinfección con patógenos virales y bacterianos requiere, además, que se administren múltiples terapias.

La frecuencia de infección aumenta en los usuarios de lentes de contacto debido al aumento del contacto visual y a la presencia de un cuerpo extraño. Generalmente se requiere el uso de una suspensión para las lentes de contacto mientras se trata con las terapias convencionales ya que las lentes pueden actuar como un nido para el agente infeccioso, irritar la afección e impedir que los tratamientos alcancen o permanezcan en el área pertinente del ojo.

Dado que las infecciones del ojo tales como la conjuntivitis producen importantes efectos sociales y económicos que incluyen la pérdida de días escolares y la pérdida de días de trabajo, se necesitan terapias alternativas para el tratamiento y especialmente la profilaxis de las infecciones del ojo tales como la conjuntivitis.

Resumen de la Invención

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una macromolécula para usar en un método para tratar o prevenir una infección microbiana en un ojo de un sujeto que comprende administrar tópicamente al ojo una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

En una modalidad particular, la infección microbiana causa conjuntivitis. En algunas modalidades, la conjuntivitis es conjuntivitis viral, especialmente conjuntivitis viral causada por adenovirus, más especialmente conjuntivitis viral causada por los subtipos de adenovirus 8, 11, 19, 37, 53, 54, 56 y 64, más especialmente los subtipos 19 y 37.

En otro aspecto de la invención se proporciona una macromolécula para usar en un método para aliviar, reducir o detener la progresión de uno o más síntomas de una infección microbiana de un ojo en un sujeto que comprende administrar tópicamente al ojo una cantidad eficaz de un macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

En una modalidad particular, los síntomas aliviados son uno o más de entre enrojecimiento del ojo, picazón, irritación, fotofobia, dolor, deterioro de la visión, hinchazón, ojos llorosos y secreción.

En un aspecto adicional, se proporciona una macromolécula para usar en un método para tratar o prevenir una infección viral y/o bacteriana concurrente o indiferenciada en un ojo de un sujeto, que comprende administrar tópicamente al ojo una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

En aún otro aspecto de la invención, se proporciona una macromolécula para usar en un método para prevenir o reducir la gravedad de una infección microbiana en el segundo ojo de un sujeto que tiene una infección microbiana en su primer ojo, que comprende administrar tópicamente al segundo ojo una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

Aún en otro aspecto de la invención, se proporciona una macromolécula para usar en un método para reducir la propagación de una infección microbiana de un ojo en una población de sujetos en riesgo de contraer la infección microbiana de un ojo que comprende administrar tópicamente al menos a un ojo de al menos un sujeto dentro de la población una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación externa del dendrímero.

En otro aspecto de la invención se proporciona una macromolécula para usar en un método para tratar o prevenir conjuntivitis infecciosa en un sujeto, que comprende administrar tópicamente a un ojo del sujeto una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero durante más de 7 días.

Una composición que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero como ingrediente principal es útil en relación con cualquiera de los métodos de los aspectos anteriores y las modalidades de la invención. El dendrímero puede proporcionarse como un "ingrediente principal" de la composición. En este contexto, el dendrímero funciona como "un ingrediente principal" cuando está activo para al menos ayudar a lograr el resultado deseado del método.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una solución para lentes de contacto que comprende una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación externa del dendrímero.

En aún otro aspecto de la invención, se proporciona una composición que comprende una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable que proporcione pH y osmolalidad compatibles con el ojo.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un sistema de suministro microbicida que comprende una lente de contacto y una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero.

Descripción de la Invención

Los artículos “un” y “una” se usan en la presente descripción para referirse a uno o más de uno (es decir, para al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

A lo largo de esta descripción y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto lo requiera de cualquier otra manera, la palabra “comprender”, y variaciones tales como “comprende” y “que comprende”, se entenderán que implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas indicadas pero no a la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

Como se usa en la presente descripción, el término "aproximadamente" se refiere a una cantidad, nivel, valor, dimensión, tamaño, o cantidad que varía tanto como un 30 %, 25 %, 20 %, 15 % o 10 % respecto a una cantidad de referencia, nivel, valor, dimensión, tamaño, o cantidad.

En un primer aspecto de la presente invención se proporciona una macromolécula para usar en un método para tratar o prevenir una infección microbiana en un ojo de un sujeto que comprende administrar tópicamente al ojo una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

La infección microbiana puede infectar cualquier parte del ojo externo lo que incluye la conjuntiva, los párpados, la esclerótica, la córnea, el aparato lagrimal, las glándulas meibomianas, los folículos de las pestañas, la plica semilunaris y la carúncula lacrimal y afectar otras partes del ojo que pueden inflamarse como la córnea, que da lugar a una queratitis, y los párpados, que da lugar a una blefaritis. En modalidades particulares, la infección microbiana causa conjuntivitis infecciosa. La infección microbiana puede ser una infección de las células epiteliales o las células estromales tales como queratocitos, o células fibroblásticas.

La conjuntivitis puede ser cualquier inflamación de la conjuntiva y/o de la superficie interna de los párpados. Los microbios tales como un virus, bacterias u hongos pueden causar la conjuntivitis. En modalidades particulares, la

patología de la conjuntivitis se selecciona de entre conjuntivitis viral o conjuntivitis bacteriana, más especialmente conjuntivitis viral. La conjuntivitis puede ser crónica o aguda. En algunas modalidades, la conjuntivitis se selecciona de entre queratoconjuntivitis epidérmica, queratoconjuntivitis, conjuntivitis hemorrágica aguda, fiebre faringoconjuntival, ojo rosado, conjuntivitis aguda epidémica, conjuntivitis de piscina, tracoma, queratitis granular de la conjuntivitis, oftalmia egipcia, conjuntivitis bacteriana no gonocócica, conjuntivitis gonocócica, conjuntivitis por chlamydia, conjuntivitis rikettsial, filectensis (queratoconjuntivitis filiforme) y blefaroconjuntivitis, especialmente queratoconjuntivitis epidémica, conjuntivitis epidémica aguda, fiebre faringoconjuctival, ojo rosado, queratoconjuntivitis, conjuntivitis de piscina, conjuntivitis granular y conjuntivitis hemorrágica aguda. En algunas modalidades, la infección conjuntival se disemina a otras partes del ojo externo tales como la córnea, la esclerótica y/o las glándulas lacrimales.

En algunas modalidades, uno de los siguientes patógenos víricos causa la conjuntivitis viral: adenovirus que incluyen los subtipos de adenovirus 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 36, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54, 56 y 64, especialmente los subtipos de adenovirus 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 11, 14, 19, 21, 37, 53, 54, 56 y 64, más especialmente los subtipos de adenovirus 3, 4, 7, 8, 11, 19, 37, 53, 54, 56 y 64, especialmente 8, 19, 37 y 64, más especialmente 19 y 37, especies D de adenovirus, enterovirus tales como el enterovirus 8, enterovirus 19 y enterovirus 70, virus del herpes tales como el virus del herpes simple tipo uno, virus del herpes simple tipo dos, virus del herpes simple tipo tres (virus del herpes varicela zóster) y el virus del herpes simple tipo cinco (citomegalovirus), virus coxsackie tal como coxsackie A24 y virus coxsackie A28, rinovirus virus de la influenza, que incluye la influenza Tipo A, tales como H1N1, H7N7, H2N2, H3N2 y H5N1, influenza tipo B e influenza tipo C, influenza aviar e influenza porcina, especialmente adenovirus, virus del herpes y virus coxsackie, más especialmente adenovirus o virus del herpes, más especialmente adenovirus.

En modalidades particulares, la invención proporciona la macromolécula que se reivindica para usar en un método para tratar o prevenir la conjuntivitis o infección y la inflamación resultante de la conjuntiva junto con otros tejidos oculares tales como la esclerótica, párpados, córnea, causada por adenovirus. En otra modalidad particular, el método de la invención proporciona un tratamiento de la conjuntivitis causada por un virus del herpes.

En algunas modalidades, uno o más de los siguientes patógenos bacterianos causan la conjuntivitis bacteriana: *Neisseria* spp. tales como *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis, Streptococcus* spp. tales como *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyrogenes, Staphylococcus* spp. tales como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis, Haemophilus* spp. tales como *Haemophilus aegyptus* y *Haemophilus influenzae, Pseudomonas* spp. tal como *Pseudomonas aeruginosa, Rickettsia* spp. tal como *Rickettsia prowazekii, Moraxella lacunata, Listeria monocytogenes, Acinetobacter iwoffi, Escherichia coli, Bacillus cereus, Corynebacterium* tal como *Corynebacterium diphtheriae, Mycobacterium* spp. tales como *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium foruitum,* y *Chlamydia* spp. tales como *Chlamydia oculogenitalis, Chlamydia trachomatis, Chlamydia lymphogranulomatis* y *Chlamydia psittaci,* especialmente *Neisseria* spp., *Chlamydia* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Haemophilus* spp.

En algunas modalidades, uno o más de los siguientes patógenos fúngicos causan la conjuntivitis fúngica: *Aspergillus* spp. tal como *Aspergillus niger, Candida* spp. tal como *Candida albicans, Rhinosporidium seeberi, Coccidioides* spp. tal como *Coccidioides immitis* y *Sporothrix* spp. tal como *Sporothrix schenckii*, especialmente *Aspergillus niger* y *Candida albicans.*

Como se usa en la presente descripción, el término "sujeto" se refiere a cualquier sujeto susceptible a la conjuntivitis lo que incluye a los seres humanos, animales domesticados tales como gatos y perros, animales de granja lo que incluyen al ganado, ovejas, cabras, cerdos, pollos, gansos, llamas, ciervos, y lo similar, animales para ensayos de laboratorio tales como ratones, ratas, monos, conejos y conejillos de indias, animales confinados salvajes tales como los encontrados en parques zoológicos. En una modalidad particular, el sujeto es un ser humano, lo que incluye a los recién nacidos, niños y adultos.

En algunas modalidades, el sujeto no está inmunodeprimido. En otras modalidades, el sujeto está inmunodeprimido o inmunosuprimido. Los sujetos inmunodeprimidos incluyen aquellos que son inmunodeficientes tales como aquellos con VIH o inmunodeficiencias hereditarias y aquellos que tienen terapia que compromete la inmunidad tales como pacientes con cáncer que se tratan con quimioterapia o radioterapia. Los sujetos inmunosuprimidos incluyen aquellos que toman fármacos inmunosupresores, por ejemplo, receptores de trasplante de órganos sólidos o receptores de trasplante de células madre.

En algunas modalidades, el sujeto es un usuario de lentes de contacto. Las lentes de contacto usadas pueden ser lentes permeables a los gases (GP) o lentes de hidrogel blando de la Categoría 1 a la Categoría 4 (Categoría 1 = agua baja, no iónica; Categoría 2 = alta agua no iónica; Categoría 3 = agua baja iónica; Categoría 4 = agua alta, iónica). Existen muchas marcas de lentes de contacto; algunas de las principales marcas son Acuvue® Oasys® (Vistakon), Air Optix® Aqua (CIBA Vision), Biofinity® (Cooper Vision) y PureVision® (Bausch & Lomb).

El término "tratamiento", tal como se usa en la presente descripción, se refiere a alcanzar al menos parcialmente el resultado terapéutico deseado pero no implica necesariamente que el sujeto se trate hasta la recuperación total. El tratamiento incluye, además, la reducción o alivio de los síntomas de las infecciones oculares tales como la conjuntivitis infecciosa y la inflamación de los tejidos oculares relacionados, especialmente la córnea o la reducción de la gravedad de las infecciones oculares tales como la conjuntivitis infecciosa. El tratamiento incluye, además, la reducción de la carga viral o del antígeno viral y del período o la gravedad de la infección.

El término "prevención" se refiere a reducir el riesgo de contraer o desarrollar infecciones oculares tales como conjuntivitis infecciosa o a retrasar la aparición de infecciones oculares tales como la conjuntivitis infecciosa. La prevención no necesita ser completa y no implica que un sujeto no llegue a contraer o a desarrollar una infección ocular como la conjuntivitis infecciosa.

Una "cantidad eficaz" significa una cantidad necesaria para alcanzar al menos parcialmente la respuesta deseada, o para retrasar la aparición de, inhibir la progresión de o detener por completo una infección ocular tal como la conjuntivitis infecciosa. La cantidad varía en dependencia de la salud y condición física del sujeto que está en tratamiento, del grupo taxonómico del sujeto que está en tratamiento, del grado de protección requerido, de la formulación de la composición, de la dosis infecciosa, de la gravedad de la enfermedad y de otros factores relevantes. Se espera que la cantidad eficaz caiga dentro de un intervalo relativamente amplio que pueda determinarse mediante ensayos de rutina. Una cantidad eficaz para un paciente humano puede, por ejemplo, estar dentro del intervalo de aproximadamente 25 µg a 25 µg por dosis, especialmente de 150 µg a 6 mg, más especialmente de 0,5 mg a 2,5 mg por dosificación. Cuando está en solución o como parte de una composición, la macromolécula puede estar presente en una cantidad de 0,1 % p/p de la composición a 10 % p/p de la composición, especialmente de 0,5 % a 8 % p/p, más especialmente 1 % p/p a 5 % p/p de la composición.

En otro aspecto de la invención, se proporciona una macromolécula para usar en un método para aliviar, reducir o detener la progresión de uno o más síntomas de una infección microbiana de un ojo y de la inflamación asociada en un sujeto que comprende administrar tópicamente al ojo una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

En modalidades particulares, los síntomas son los síntomas de la conjuntivitis. Los síntomas de la conjuntivitis incluyen el enrojecimiento ocular, picazón ocular, inflamación ocular y párpados, inflamación de los párpados, irritación ocular o prurito, ojos llorosos, o lagrimeo (epífora), linfadenopatía preauricular, secreción, fotofobia, visión borrosa, hinchazón de la carúncula y la plica, nummuli, sequedad del ojo y astigmatismo. En modalidades particulares, el método de la invención alivia o reduce el enrojecimiento, picazón, irritación, fotofobia, deterioro de la visión, ortografía, dolor, ojos llorosos y secreción.

En algunas modalidades, el método de la invención reduce la gravedad o duración de uno o más síntomas. En otras modalidades, el método de la invención detiene la progresión de los síntomas, y evita así que se produzcan otros síntomas o evita que un síntoma empeore.

En un aspecto adicional, se proporciona una macromolécula para usar en un método para tratar o prevenir una infección vírica y/o bacteriana concurrente o indiferenciada de un ojo en un sujeto, que comprende administrar tópicamente al ojo una cantidad eficaz de una macromolécula o de un fármaco que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

En modalidades particulares, la infección viral y/o bacteriana concurrente o indiferenciada causa conjuntivitis. El término "concurrente" se refiere a la infección por más de un microbio simultáneamente. El término "indiferenciado" describe donde el médico tiene dificultad para hacer un diagnóstico específico de la causa o etiología de la infección.

En algunas modalidades, la infección concurrente incluye una infección viral primaria y una infección bacteriana secundaria. En algunas modalidades, la infección concurrente incluye una conjuntivitis viral causada por un patógeno viral que se selecciona de entre los que incluye los subtipos de adenovirus 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 36, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54, 56 y 64, especialmente los subtipos de adenovirus 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 11, 14, 19, 21, 37, 53, 54, 56 y 64, más especialmente los subtipos de adenovirus 3, 4, 7, 8, 11, 19, 37, 53, 54, 56 y 64 especialmente 8, 19, 37 y 64 y más especialmente 19 y 37, enterovirus tales como enterovirus 8, enterovirus 19 y enterovirus 70, virus del herpes tales como virus del herpes simple tipo uno, virus del herpes simple tipo dos, virus del herpes simple tipo tres, (virus del herpes varicela zóster) y virus del herpes simple tipo cinco (citomegalovirus), virus coxsackie tales como los virus coxsackie A24 y coxsackie A28, rhinovirus y virus influenza los que incluyen la influenza Tipo A, tales como H1N1, H7N7, H2N2, H3N2 y H5N1, influenza Tipo B e influenza Tipo C, influenza aviar y gripe porcina, y una conjuntivitis bacteriana causada por un patógeno bacteriano que se selecciona de entre *Neisseria* spp. tales como *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis, Streptococcus* spp. tales como *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyrogenes, Staphylococcus* spp. tales como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis, Haemophilus*

spp. tales como *Haemophilus aegyptus* y *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas* spp. tales como *Pseudomonas aeruginosa, Rickettsia* spp. tales como *Rickettsia prowazekii, Moraxella lacunata, Listeria monocytogenes, Acinetobacter iwoffi, Escherichia coli, Bacillus cereus, Corynebacterium* tales como *Corynebacterium diphtheriae, Mycobacterium* spp. tales como *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium foruitum,* y *Chlamydia* spp. tales como *Chlamydia oculogenitalis, Chlamydia trachomatis, Chlamydia lymphogranulomatis* y *Chlamydia psittaci.* En modalidades particulares, el patógeno viral se selecciona de entre adenovirus, especialmente adenovirus subtipos 8, 19 o 37, o virus del herpes y el patógeno bacteriano se selecciona de entre *Neisseria* spp., *Chlamydia* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Haemophilus* spp.

En algunas modalidades el tratamiento de la infección viral primaria evita que se produzca una infección bacteriana secundaria.

Ventajosamente, las macromoléculas de la invención tienen tanto actividad antiviral como antibacteriana y por lo tanto una terapia puede usarse para tratar o prevenir ambas infecciones en lugar de que se requieran múltiples terapias, o de que el médico necesite identificar la causa de la infección.

El uso prolongado o incorrecto de antibióticos convencionales puede resultar en el desarrollo de resistencia bacteriana y en la disminución de la efectividad en la eliminación de la infección. Las macromoléculas de la invención tienen ventajosamente una probabilidad reducida de inducir resistencia bacteriana.

Por lo tanto en otro aspecto de la invención, se proporciona una macromolécula para usar en un método para tratar o prevenir una conjuntivitis en un sujeto, que comprende administrar tópicamente a un ojo del sujeto una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero durante más de 7 días.

En algunas modalidades la prevención de la conjuntivitis es de al menos 14 días, por ejemplo, de 14 a 30 días. En algunas modalidades la administración de la macromolécula reduce el desarrollo de la resistencia bacteriana. En otras modalidades la prevención de la conjuntivitis infecciosa es a largo plazo para evitar la recurrencia de la infección en individuos propensos a una alta incidencia de conjuntivitis.

En un aspecto adicional de la invención, un sujeto con conjuntivitis o portador de una infección adenoviral conocida por causar conjuntivitis se trata para prevenir la propagación de la infección a otros individuos.

Cuando un sujeto muestra conjuntivitis, es a menudo en un ojo. Sin embargo, la infección en un ojo aumenta significativamente el riesgo de que la infección se extienda al otro ojo. En la mayoría de los casos, en ausencia de una higiene exigente, el otro ojo también se infecta, aunque a menudo en menor grado. Actualmente no hay terapia que reduzca el riesgo de infección en el segundo ojo.

Por lo tanto, aún en otro aspecto de la invención, se proporciona una macromolécula para usar en un método para prevenir o reducir la gravedad de la infección microbiana en un segundo ojo de un sujeto que tiene una infección microbiana en su primer ojo, que comprende administrar tópicamente al segundo ojo una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

Sin pretender limitarse a la teoría, las macromoléculas de la invención parecen impedir que los virus infecten o entren en las células, y reducen de este modo la probabilidad de infección del segundo ojo con el virus.

Aún en otro aspecto, se proporciona una macromolécula para usar en un método para reducir la propagación de la infección microbiana de un ojo en una población de sujetos en riesgo de contraer una infección microbiana de un ojo que comprende administrar tópicamente al menos a un ojo de al menos un sujeto dentro de la población una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

En modalidades particulares, la infección microbiana del ojo resulta en conjuntivitis. La conjuntivitis infecciosa, especialmente la conjuntivitis viral, se propaga fácilmente por contacto, lo que incluye el contacto mano-ojo, el contacto con gotas transportadas por el aire de tos o estornudos, instrumentos médicos u oftálmicos, o por lentes de contacto. La conjuntivitis infecciosa es un problema importante en poblaciones o grupos que están muy cerca, por ejemplo, escuelas, guarderías, bases militares, hospitales, consultorios médicos, clínicas oftálmicas, fábricas, oficinas, y lo similar. La rápida propagación de la conjuntivitis infecciosa en las escuelas y guarderías se conoce bien cuando los niños están en estrecho contacto y hay un bajo control sobre la higiene respiratoria y la etiqueta de la tos.

En algunas modalidades, la población de sujetos es una población de niños, especialmente escolares o niños atendidos en guarderías infantiles. En algunas modalidades, la población es una familia o población de hogares, que

incluyen a adultos y niños. En algunas modalidades, la población es una población de adultos, por ejemplo, en una oficina o fábrica. En algunas modalidades la población es una población de adultos en una base militar. En algunas modalidades, la población es una población hospitalaria, especialmente una población inmunocomprometida.

En algunas modalidades, se administra a una persona de la población la macromolécula de la invención. En otras modalidades, a todos los miembros de la población se les administra la macromolécula de la invención, independientemente de si hay síntomas de conjuntivitis o no. Aún en otras modalidades, a una proporción de la población, por ejemplo, del 1 al 99 % de la población se le administra la macromolécula de la invención, especialmente a al menos un 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 % o 10 % de la población se le administra la macromolécula de la invención.

La macromolécula o la formulación de la macromolécula pueden administrarse en un régimen de dosificación que proporcione el efecto deseado. Por ejemplo, la formulación puede administrarse al ojo de 1 a 6 veces al día, especialmente de 1 a 4 veces al día, o de 1 a 3 veces al día, más especialmente una vez al día, durante un período en el que los síntomas están presentes o mientras existe el riesgo de contraer una infección ocular que resulte en conjuntivitis. Por ejemplo, la dosificación puede ocurrir durante un período de 1 a 30 días, de 1 a 20 días, de 1 a 10 días, especialmente de aproximadamente 4 a 7 días.

La dosis preventiva puede darse una vez al día durante de 1 a 30 días, de 1 a 20 días, de 1 a 10 días, especialmente aproximadamente de 4 a 7 días o mientras el riesgo de contraer la infección microbiana esté presente. La dosis preventiva puede darse de 1 a 8 veces al día. La dosificación terapéutica puede darse de 1 a 6 veces al día, especialmente de 1 a 4 veces al día o de 1 a 3 veces al día, más especialmente una vez al día durante de 1 a 30 días, de 1 a 20 días, de 1 a 10 días, especialmente aproximadamente de 4 a 7 días o mientras persistan los síntomas de la infección microbiana tal como la conjuntivitis.

La formulación puede coadministrarse en los métodos de la invención con otra terapia para tratar la infección microbiana tal como un agente antiviral, un antibiótico, un agente antiinflamatorio o un corticosteroide. La coadministración en una sola composición puede ocurrir cuando la otra terapia es compatible con la macromolécula y es adecuada para la aplicación tópica en el ojo. Alternativamente, la otra terapia puede administrarse por separado ya sea simultánea o secuencialmente. Cuando se administra por separado, la otra terapia para tratar la infección microbiana tal como la conjuntivitis infecciosa puede administrarse por cualquier medio adecuado, lo que incluye la vía oral, tópica o por inyección.

Los agentes antivirales adecuados para la administración oral incluyen, pero no se limitan al, cidofovir, aciclovir, valaciclovir, famciclovir, ganciclovir, zalcitabina, alovudina, estaminidina, ribavirina, ciclosporina, 2',3'-didesoxicitidina (ddC), 6-aza-citidina, (*S*)-HPMPC, (S)-HPMPA y GMP 2-no-cíclico.

Los antibióticos adecuados incluyen la amicacina, azitromicina, cefliximа, cefoperazona, cefotaxima, ceftazadima, ceftizoxima, ceftrioxona, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, colistina, domeclociclina, eritromicina, gentamicina, mafenida, metaciclina, neomicina, norfloxacina, ofloxacina, oxitetraciclina, polimixina B, pirimetamina, rifaximina, sulfadiazina de plata, sulfacetamida, sulfasoxazol, tetraciclina y tobramicina.

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos adecuados incluyen salicilatos tales como aspirina, diflunisil y salsalato; derivados del ácido propiónico tales como ibuprofeno, dexibuprofeno, fenoprofeno, ketaprofeno, dexketoprofeno, flubiprofeno, oxaprozina y laxoprofeno; derivados de ácido acético tales como indometacina, tolmetina, sulindac, etodolac, keorolac, diclofenac y nabumetona; derivados de ácido enólico tales como piroxicam, maloxicam, tenoxicam, droxicam, lomoxicam e isoxicam; derivados de ácido fenámico tales como ácido mefanámico, ácido meclofenámico, ácido flufenámico y ácido tolfenámico; inhibidores de COX-2 tales como celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, parecoxib, lumiracoxib, etoricoxib y firocoxib; y otros como el licofelona y el clonixinato de lisina.

Los corticosteroides adecuados incluyen la hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, acetato de cortisona, prednisilona, metil prednisilona, prednisona, triamcinolore acetonida, alcohol de trimcinolona, mometasoma, aminonida, budesonida, desonida, fluocinida, acetato de fluocinolona, halcinonida, betametasona, dexametasona, fluocortolona, prednicarbato, cloberasoma-17-butirato y clobetasol-17-propionato.

La conjuntivitis puede contraerse por los recién nacidos cuando pasan a través del canal de parto de la madre cuando la madre tiene una infección viral o bacteriana vaginal, cervical o labial. Los recién nacidos pueden desarrollar los síntomas de la conjuntivitis viral causada por el virus del herpes simple o por una infección bacteriana causada por gonorrea o clamidia en un período de 1 a 5 días después del nacimiento. La prevención de la transmisión de la madre al recién nacido durante el nacimiento requiere el tratamiento de la madre con antibióticos o antivirales en un tiempo suficiente antes del nacimiento como para curar la infección o el brote. Esto no siempre es posible si no se sabe que la madre está infectada o si la infección se descubre inmediatamente antes o durante el parto.

En otro aspecto de la invención, se proporciona una macromolécula para usar en un método para prevenir o reducir la probabilidad de transmisión de la infección bacteriana o viral a los ojos de un recién nacido durante el paso a

través del canal de parto de su madre, que comprende administrar al canal de parto de la madre, una formulación tópica que comprende una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos de superficie de la generación más externa del dendrímero.

En algunas modalidades, la macromolécula se administra en forma de gel vaginal, pomada, forma, crema o loción, especialmente un gel. En algunas modalidades, la formulación en gel de la macromolécula comprende un agente modificador de la reología, especialmente un polímero Carbopol® tal como Carbopol® 971P. El modificador de la reología puede estar presente en una cantidad de 2-10 %, especialmente aproximadamente del 5 %. La formulación en gel de la macromolécula puede incluir, además, un agente quelante, tal como un ácido poliaminocarboxílico. Un agente quelante particularmente útil es el ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) y sus sales. Otros ingredientes que pueden incluirse en la formulación del gel incluyen conservantes tales como parabenos, por ejemplo, metilparabeno y propilparabeno o mezclas de estos, disolventes tales como agua, agentes de ajuste de pH tales como hidróxido y emolientes y humectantes tales como glicerina y propilenglicol. Una formulación adecuada para la aplicación vaginal es VivaGel®.

En algunas modalidades, la dosificación puede administrarse en un volumen de 100 a 500 mg, especialmente de 200 a 400 mg y más especialmente de aproximadamente 250 mg.

Los dendrímeros útiles en la invención pueden ser cualquier dendrímero adecuado que sea capaz de presentar una o más fracciones que contienen ácido sulfónico o sulfonato en su superficie. En algunas modalidades, el dendrímero se selecciona de entre dendrímeros de polilisina, poliglutamato, poliaspartato, poliamidoamina (PAMAM), poli (éterhidroxilamina), poliéter, poliéster o poli(propilenimida) (PPI) que tienen de 1 a 8 generaciones. La macromolécula comprende, además, uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos funcionales de la superficie de la generación más externa del dendrímero. Por ejemplo, cuando el dendrímero es un dendrímero de polilisina, poliamidoamina, poli (éterhidroxilamina) o poli (propilenimida), los grupos funcionales de superficie son grupos amino, y cuando el dendrímero es un dendrímero de poliglutamato o poliaspartato, los grupos funcionales superficiales son ácidos carboxílicos.

Los dendrímeros son macromoléculas poliméricas ramificadas compuestas por múltiples monómeros ramificados que se irradian desde un resto de núcleo central. El número de puntos de ramificación aumenta al pasar del núcleo del dendrímero a su superficie y se define por las capas sucesivas o "generaciones" de unidades de monómeros (o de construcción). Cada generación de unidades de construcción se numera para indicar la distancia desde el núcleo. Por ejemplo, la Generación 1 (G1) es la capa de unidades de construcción unidas al núcleo, la Generación 2 (G2) es la capa de unidades de construcción conectadas a la Generación 1, la Generación 3 (G3) es la capa de unidades de construcción conectadas a la Generación 2, la Generación 4 (G4) es la capa de unidades de construcción conectadas a la Generación 3, la Generación 5 (G5) es la capa de unidades de construcción conectadas a la Generación 4, y así sucesivamente.

La generación más externa de unidades de construcción proporciona la superficie del dendrímero y presenta grupos funcionales, a los que se une covalentemente el al menos un resto que contiene ácido sulfónico o sulfonato. El grupo que contiene ácido sulfónico o sulfonato puede unirse directamente al grupo funcional de superficie o puede unirse al grupo funcional de la superficie a través de un enlazador.

Los dendrímeros comprenden uno o más tipos de unidad de monómero (que se denomina en la presente descripción, además, unidad de construcción). En modalidades particulares, los dendrímeros comprenden un tipo de unidad de monómero. Cada "rama" que se extiende desde el núcleo de la molécula de dendrímero tiene al menos una capa o generación de unidades de construcción. Como se usa en la presente descripción, el término "rama" se refiere a al menos una generación de unidades de construcción para su unión a un grupo funcional en el núcleo. En ciertas modalidades, cada una o cualquier rama puede tener al menos dos capas o generaciones de unidades de construcción. En otras modalidades, cada una o cualquier rama puede tener al menos tres o cuatro capas o generaciones de unidades de construcción. En aún otras modalidades, cada una o cualquier rama puede tener independientemente cinco capas o seis o hasta ocho generaciones de unidades de construcción.

Los dendrímeros contemplados en la presente descripción pueden prepararse por métodos conocidos en la técnica y pueden prepararse de una manera convergente (donde, efectivamente, las ramas se preforman y después se unen al núcleo) o de una manera divergente (donde las capas o generaciones se construyen sucesivamente hacia fuera desde el núcleo). Ambos métodos se comprenderían bien por el experto en la técnica.

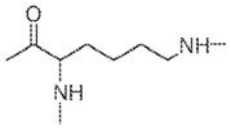
Los dendrímeros pueden comprender cualquier núcleo adecuado. Como se usa en la presente descripción, "núcleo" se refiere al resto sobre el cual se construyen generaciones de monómeros o unidades de construcción (ya sea a través de un proceso divergente o un proceso convergente) y puede ser cualquier resto que tenga al menos un sitio reactivo o funcional a partir del cual las capas de monómeros o unidades de construcción se generan sucesivamente (o al que se une una "rama" preformada). Algunos núcleos adecuados ilustrativos que se incluyen en la presente descripción incluyen aquellos que tienen 1, 2, 3 o 4 grupos reactivos que se seleccionan independientemente de entre grupos amino, carboxilo, tiol, alquilo, alquinilo, nitrilo, halo, azido, hidroxilamina, carbonilo, maleimida, acrilato o

hidroxi a los que las capas o generaciones de unidades de construcción o monómeros pueden unirse. Un resto de núcleo puede ser el mismo que una unidad de construcción o puede ser diferente.

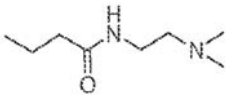
Los núcleos ilustrativos incluyen poliaminohidrocarburos, disulfuro que contiene poliaminas, poli(glicidil éteres), aminoetanol, amoníaco, arilmetilhalogenuros, piperazina, aminoetilpiperazina, poli(etilenimina), alquilen/arilen ditioles, ácido 4,4-ditiobutírico, mercaptoalquilaminas, tioéter de alquilaminas, isocianurato, heterociclos, macrociclos, poliglicidilmetacrilato, fosfina, porfinas, oxiranos, tioranos, oxetanos, aziridinas, azetidinas, multiazidofuncionalidades, siloxanos, oxazolinas, carbamatos o caprolactonas.

Algunos ejemplos no limitantes de restos del núcleo que se incluyen en la presente descripción incluyen al amoníaco y diamino $C_2$-$C_{12}$ alcanos tales como etilendiamina, 1,4-diaminobutano y 1,6-diaminohexano. Sin embargo, se apreciará que el núcleo no es necesariamente un resto lineal con un solo grupo reactivo en cada extremo. Los restos del núcleo ramificados o cíclicos, no lineales se incluyen, además, en la presente invención. Por ejemplo, las arilmetilaminas tales como benzhidrilamina (BHA), son núcleos adecuados.

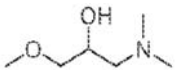
En algunas modalidades, las unidades de construcción del dendrímero se seleccionan de unidades de construcción de lisina:



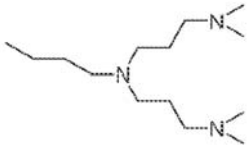
Unidades de construcción de amidoamina:



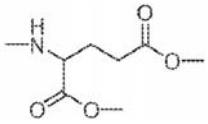
Unidades de construcción de éterhidroxiamina:



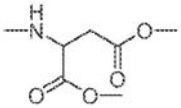
Unidades de construcción de propilenimina:



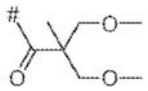
Unidades de construcción de ácido glutámico:



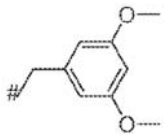
Unidades de construcción de ácido aspártico:



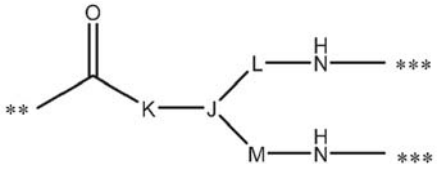
Unidades de construcción de poliéster:



Unidades de construcción de poliéter:

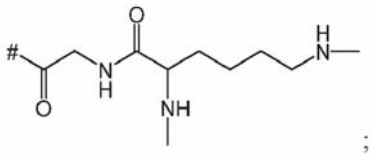


En algunas modalidades, la unidad de construcción puede ser lisina o un análogo de lisina de la fórmula: En algunas modalidades, el análogo de lisina o lisina se selecciona de un compuesto de la siguiente fórmula:



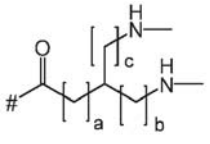
en donde K está ausente o se selecciona de entre -$C_{1-6}$alquilen-, -$C_{1-6}$alquilenNHC(O)-, -$C_{1-6}$ alquilenC(O)-, -$C_{1-3}$ alquilen-O-$C_{1-3}$alquilen-, -$C_{1-3}$ alquilen-O-$C_{1-3}$ alquilenNHC(O)- y -$C_{1-3}$alquilen-O-$C_{1-3}$ alquilenC(O)-;
J se selecciona de entre CH o N;
L y M están independientemente ausentes o se seleccionan de entre -$C_{1-6}$alquilen- o -$C_{1-3}$alquilenO$C_{1-3}$ alquilen; siempre y cuando L y/o M estén ausentes, J es CH;
** indica el enlace entre el análogo de lisina o la lisina y el núcleo del dendrímero o la generación anterior de unidades de construcción; y
*** indica el enlace entre el análogo de lisina o la lisina y la generación subsiguiente de análogos de lisina o lisina o forma los grupos amino superficiales del dendrímero.

Ejemplos de unidades de construcción de análogos de lisina incluyen los siguientes:
Glicil-Lisina **1** que tiene la estructura:



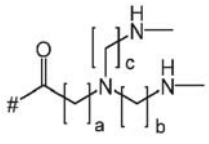
;

Análogo **2,** que tiene la estructura siguiente, donde a es un número entero 1 o 2; y b y c son independientemente los números enteros 1, 2, 3 o 4:



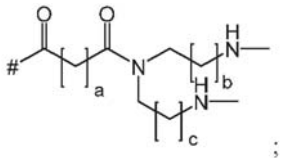
;

Análogo **3,** que tiene la estructura siguiente, donde a es un número entero 0, 1 o 2; y b y c son independientemente los números enteros 2, 3, 4, 5 o 6:



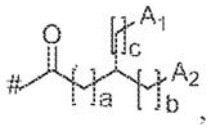
;

Análogo **4,** que tiene la estructura siguiente, donde a es un número entero 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y b y c son independientemente los números enteros 1, 2, 3, 4 o 5:

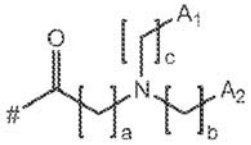


Otras unidades de construcción adecuadas incluyen:

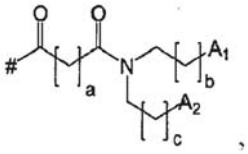
Análogo **5,** que tiene la estructura siguiente, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 4; $A_1$ y $A_2$ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre $NH_2$, $CO_2H$, OH, SH, X, alil-X, epóxido, aziridina, $N_3$ o alquino, donde X es F, Cl, Br o I,



Análogo **6,** que tiene la estructura siguiente, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 2 a 6; $A_1$ y $A_2$ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre $NH_2$, $CO_2H$, OH, SH, X, Alil-X, epóxido, aziridina, $N_3$ o alquino, donde X es F, Cl, Br o I,



Análogo 7, que tiene la estructura siguiente, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5; $A_1$ y $A_2$ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre $NH_2$, $CO_2H$, OH, SH, X, Alil-X, epóxido, aziridina, $N_3$ o alquino, donde X es F, Cl, Br o I,



en donde cada # representa el resto carbonilo del grupo carboxilo que forma un enlace amida con un átomo de nitrógeno del núcleo o un átomo de nitrógeno de una generación anterior de unidades de construcción;
y en donde cualquier grupo metileno de las unidades de construcción puede sustituirse por un grupo metilenoxi ($CH_2$-O) o etilenoxi($CH_2$-$CH_2$-O), siempre que esto no resulte en la formación de un resto carbonato (-O-C (O)-O-) o carbamato (-O-C(O)-N-) dentro de la unidad de construcción.

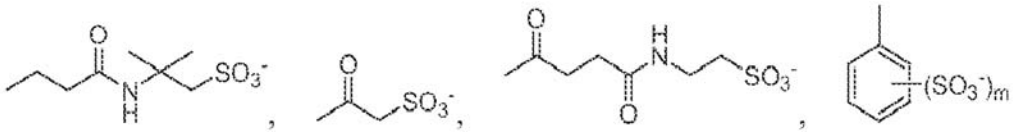
En una modalidad particular, el dendrímero es un dendrímero de polilisina que tiene unidades de construcción de lisina, especialmente un dendrímero de polilisina con un núcleo de benzhidrilamina.

El resto que contiene ácido sulfónico o que contiene sulfonato es cualquier resto que sea capaz de presentar el grupo ácido sulfónico o sulfonato en la superficie del dendrímero. En algunas modalidades, el resto que contiene ácido sulfónico o sulfonato tiene un grupo ácido sulfónico o sulfonato. En otras modalidades, el resto que contiene ácido sulfónico o sulfonato tiene más de un grupo ácido sulfónico o sulfonato, por ejemplo 2 o 3 grupos ácido sulfónico o sulfonato, especialmente 2 grupos ácido sulfónico o sulfonato. En algunas modalidades, el resto que contiene ácido sulfónico o sulfonato comprende un grupo arilo, tal como un grupo fenilo o un grupo naftilo, especialmente un grupo naftilo.

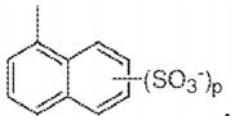
Cuando el resto que contiene sulfonato está presente, el resto puede estar presente en forma iónica ($-SO_3^-$) o en forma de una sal, por ejemplo, la sal sódica ($-SO_3Na$). Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales metálicas tales como las sales de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc, así como sales orgánicas hechas de aminas orgánicas tales como N,N'-dibenziletilendiamina, cloroprocaína, dietanolamina, etilendiamina, diciclohexilamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína, aminas cuaternarias tales como colina, y sales de sulfonio y fosfonio. En modalidades particulares, las sales se seleccionan entre sodio y potasio, especialmente sodio.

Los ejemplos de restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato adecuados incluyen, pero no se limitan a:

– $NH-(CH_2)_nSO_3^-$, $-(CH_2)_nSO_3^-$,

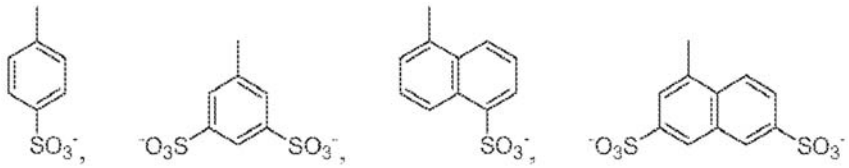


y

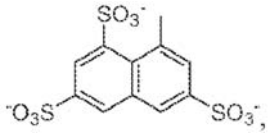


en donde n es 0 o un número entero de 1 a 20, m es un número entero entre 1 o 2 y p es un número entero de 1 a 3.

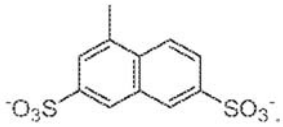
En algunas modalidades, el resto que contiene ácido sulfónico o sulfonato contiene un grupo arilo. En algunas modalidades, el resto que contiene ácido sulfónico o sulfonato se selecciona de entre:



y



especialmente

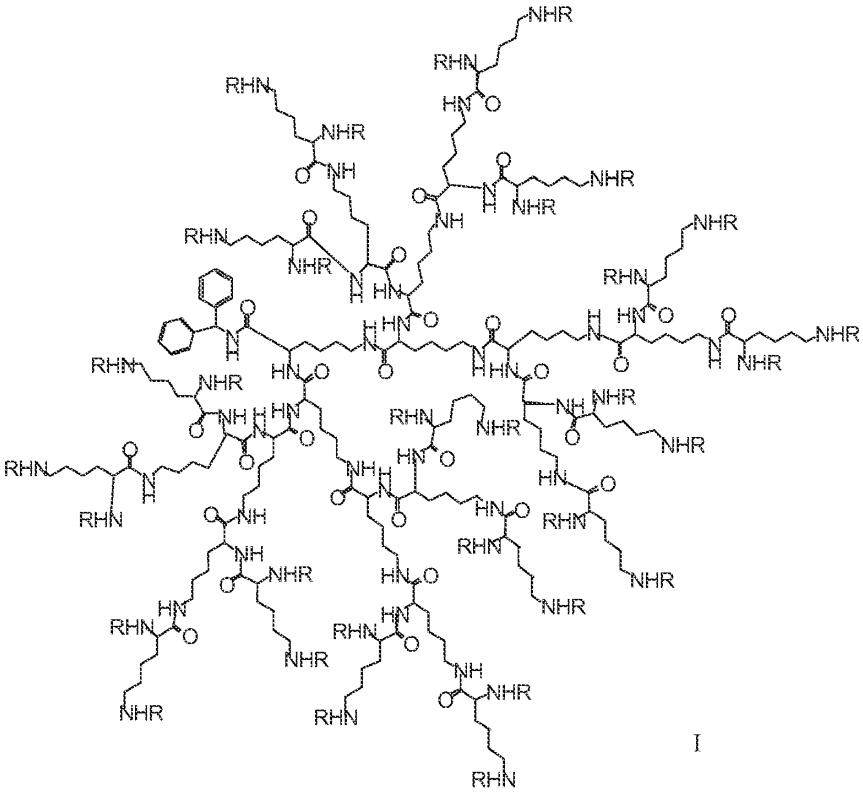


En algunas modalidades, el resto que contiene ácido sulfónico o sulfonato se une directamente al grupo amino superficial del dendrímero. En otras modalidades, el resto que contiene ácido sulfónico o sulfonato se une al grupo amino superficial del dendrímero a través de un grupo enlazador.

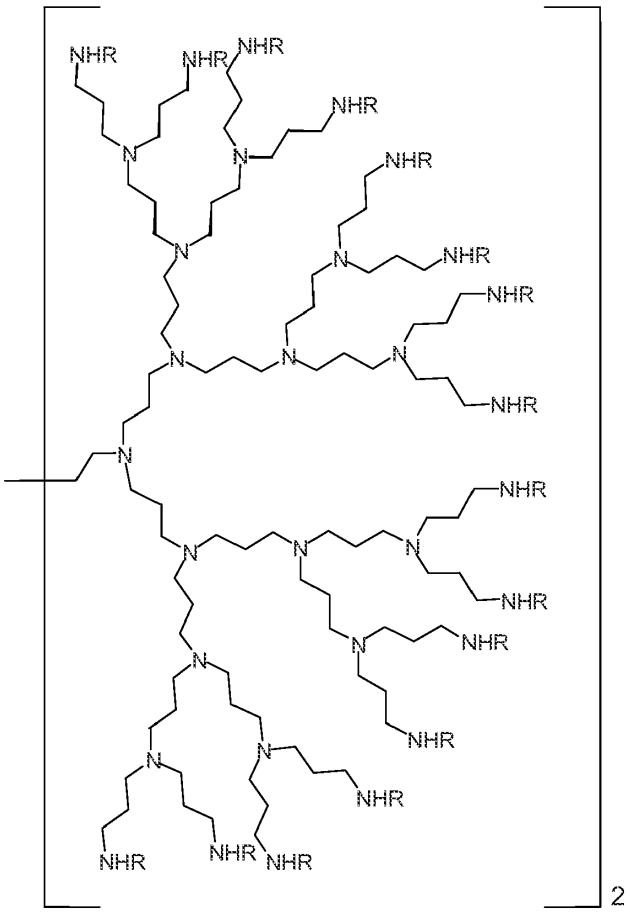
Los grupos enlazadores adecuados incluyen grupos alquileno o alquenileno en los que uno o más átomos de carbono no adyacentes se sustituyen opcionalmente por un átomo de oxígeno o azufre para proporcionar un éter, tioéter, poliéter o politioéter; o un grupo $-X1-(CH_2)_q-X_2$ o $-X-(CR_1R_2)_q-X-$ en donde $X_1$y $X_2$ se seleccionan independientemente de entre -NH-, -C(O)-, -O-, -S- y -C(S), $R_1$ y $R_2$ se seleccionan independientemente de entre hidrógeno o $-CH_3$, y q es 0 o un número entero de 1 a 10, y en el que uno o más grupos no adyacentes $(CH_2)$ pueden sustituirse por -O- o -S- para formar un éter, tioéter, poliéter o politioéter.
En una modalidad particular, el enlazador es

#-O-$CH_2$-C(O)-* en el que # designa la unión al resto que contiene ácido sulfónico y * designa la unión al grupo amino de superficie del dendrímero.

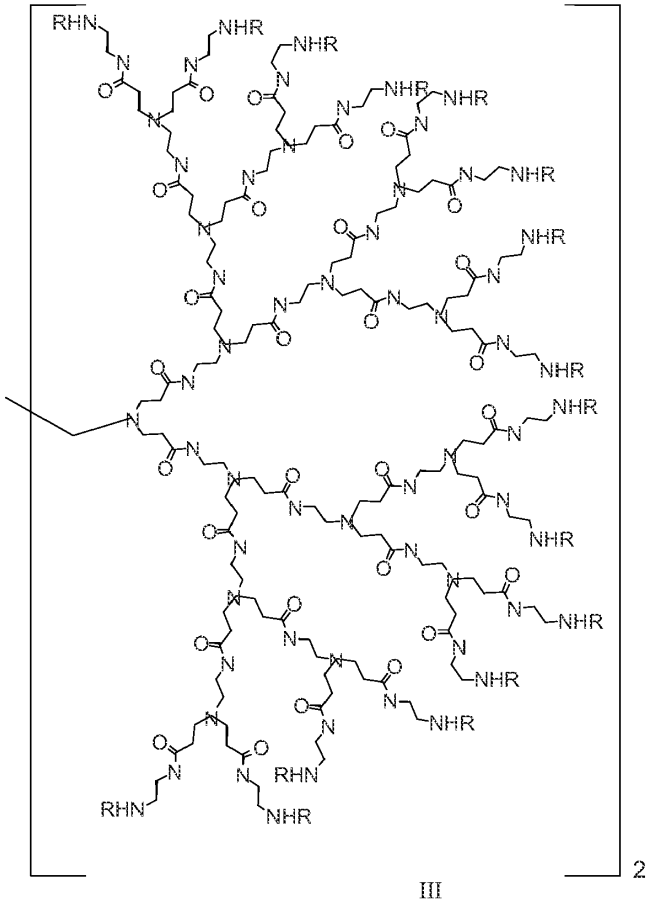
Los dendrímeros ilustrativos útiles en la invención incluyen las fórmulas I, II y III:




I

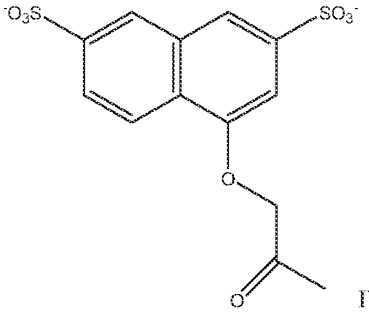



II



III

en las que cada grupo R se representa por una fórmula del grupo IV o hidrógeno:



IV

con la condición de que al menos un grupo R sea un grupo de la fórmula IV
o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

En modalidades particulares, más de un grupo R es un grupo de la fórmula IV, especialmente donde al menos 10 de los grupos R son grupos de la fórmula IV, al menos 15 de los grupos R son grupos de la fórmula IV, al menos 20 de los grupos R son grupos de la fórmula IV, al menos 25 de los grupos R son grupos de la fórmula IV o al menos 30 de los grupos R son grupos de la fórmula IV. En algunas modalidades, todos los grupos R son grupos de la fórmula IV.

Un dendrímero particular de la fórmula I tiene todos los grupos R como grupos de la fórmula IV (SPL7013). Un dendrímero particular de la fórmula II tiene todos los grupos R como grupos de la fórmula IV (SPL7320). Un dendrímero particular de la fórmula III tiene todos los grupos R como grupos de la fórmula IV (SPL7304).

La síntesis de dendrímeros de las Fórmulas I, II y III se describe en la patente núm. WO 02/079299.

Se sabe que las macromoléculas anteriores tienen baja toxicidad y no se absorben sistemáticamente cuando se aplican tópicamente. En algunas modalidades de la presente invención, la macromolécula tiene baja toxicidad y puede administrarse al ojo con poca o ninguna irritación en el ojo del sujeto.

La macromolécula de la invención puede suministrarse en cualquier formulación adecuada para la aplicación en el ojo, por ejemplo, soluciones, ungüentos, geles, lociones, en polímeros de liberación lenta o revestidos, unidos a o impregnados en lentes de contacto. Por "adecuado para la aplicación en el ojo" se entiende que cualquier componente de la formulación no produce un efecto perjudicial duradero en el ojo o el sujeto que se trate. Efectos transitorios tales como una irritación leve o "escozor" tras la administración pueden ocurrir sin efectos perjudiciales de larga duración. La macromolécula puede formularse como una solución acuosa simple. Alternativamente, la macromolécula puede formularse para tener uno o más de osmolalidad y pH fisiológicamente compatibles, por ejemplo, mediante la inclusión de sales y agentes amortiguadores, y otros componentes tales como conservantes, agentes gelificantes, agentes de control de viscosidad, agentes lubricantes oftálmicos, polímeros mucoadhesivos, surfactantes, antioxidantes y lo similar en una solución, gel, loción o ungüento.

Las macromoléculas de la presente invención se mantienen sobre o en el epitelio durante un período de tiempo, lo que permite que la macromolécula se difunda fuera del epitelio. Tal difusión proporciona una liberación lenta de los fármacos en el entorno ocular, lo que permite que la actividad antiviral de la macromolécula se suministre durante un período y no se elimine rápidamente por los fluidos oculares y la limpieza física. La macromolécula puede liberarse del epitelio durante un período de más de 10 minutos, más especialmente durante un período mayor de 1 hora, y más especialmente durante un período de más de 6 horas.

Aún en otro aspecto de la invención se proporciona una composición que comprende una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable que proporcione pH y osmolalidad compatibles con el ojo.

Las sales oftálmicamente aceptables adecuadas que pueden usarse como agentes de osmolalidad incluyen sales que tienen cationes de sodio, potasio o amonio e iones cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato o bisulfito. Los ejemplos de sales adecuadas incluyen al cloruro de sodio, cloruro de potasio, tiosulfato de sodio, bisulfato de sodio y sulfato de amonio.

Los agentes para ajustar el pH y/o los agentes amortiguadores oftalmológicamente adecuados incluyen ácidos tales como los ácidos acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico, bases tales como hidróxido sódico, fosfato sódico, borato sódico, citrato sódico, acetato sódico, lactato sódico y trishidroximetilaminometano, y amortiguadores tales como citrato dextrosa, bicarbonato sódico y cloruro de amonio.

Los conservantes adecuados incluyen compuestos de amonio estabilizados tales como cloruro de benzalconio, cloruro de cetiltrimetilamonio y cloruro de cetilpiridinio, compuestos mucúricos tales como acetato fenil mercúrico, imidazolidinil urea, parabenos tales como metil parabeno, etilparabeno, propilparabeno o butilparabeno; fenoxietanol, clorofenoxietanol, fenoxipropanol, clorobutanol, clorocresol, alcohol feniletílico, ácido etilendiamino tetraacético, ácido sórbico y sales de estos.

Los agentes gelificantes o agentes de control de la viscosidad adecuados incluyen agentes gelificantes que aumentan la viscosidad cuando entran en contacto con el fluido lacrimal, por ejemplo, lagrimeo causado por parpadeo o lágrimas. Tales agentes gelificantes pueden usarse para reducir la pérdida de la macromolécula por el drenaje lagrimal y permitir que la macromolécula tenga un aumento del tiempo de residencia y por lo tanto de la absorción en el ojo o capa epitelial de los párpados. Los agentes gelificantes adecuados incluyen la goma de gelano, especialmente goma de gelano acetilada baja, goma de alginato o quitosano. El agente de ajuste de la viscosidad puede incluir, además, un polímero filmógeno tal como una alquilcelulosa tal como metil celulosa o metilcelulosa, una hidroxialquilcelulosa tal como hidroxietilcelulosa o hidroxipropilmetilcelulosa, ácido hialurónico o sus sales, sulfato de condroitina o sus sales, polidextrosa, ciclodextrina, polidextrina, maltodextrina, dextrina, gelatina, colágeno, derivados de ácido poligalacturónico tales como pectina, gomas naturales tales como xantano, de algarrobo, acacia, tragacanto y carragenano, agar, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polietilenglicol, polímeros de acrilamida, ácido acrílico y policianacrilatos y polímeros de metacrilato de metilo y metacrilato de 2-hidroxietilo. El agente de control de la viscosidad o agente gelificante puede estar presente en una cantidad de 0,1 % a aproximadamente 6,5 % p/p de la composición, especialmente de aproximadamente 0,5 % a 4,5 % p/p de la composición.

Los agentes lubricantes adecuados incluyen al alcohol polivinílico, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona.

Los polímeros mucoadhesivos adecuados incluyen la hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, poli(metilmetacrilato), poliacrilamida, policarbofil, óxido de polietileno, alginato sódico y dextrina.

Los surfactantes aceptables oftálmicamente adecuados incluyen surfactantes no iónicos tales como glicéridos de ácidos grasos de polioxietileno y aceites vegetales que incluyen aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno (60), alquiléteres de polioxietileno y éteres alquilfenílicos tales como octoxinol 10 y octoxinol 40.

Los antioxidantes adecuados incluyen ácido ascórbico y metabisulfato de sodio.

Los ungüentos oftálmicos pueden incluir, además, uno o más espesantes tales como parafina líquida, parafina suave amarilla, parafina dura y/o grasa de lana.

La macromolécula de la invención puede estar presente en la formulación en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 10 % en peso, especialmente entre 0,5% y 8 % p/p o entre 1 % y 5 % p/p.

Aunque es posible que la composición de la invención pueda formularse con vehículos, diluyentes y excipientes que se usan comúnmente en la técnica como se discutió anteriormente en las formulaciones tópicas de los ojos, se conoce bien que un número de conservantes que se usan comúnmente tienen inconvenientes cuando se usan en formulaciones tópicas para los ojos. Por ejemplo, algunos conservantes causan irritación ocular y si se usan para terapias a largo plazo, pueden causar daño al ojo. Además, algunos conservantes no son eficaces contra algunas cepas de bacterias que causan el deterioro de las composiciones. Los ejemplos incluyen al cloruro de benzalconio, que es ineficaz contra algunos microbios tales como cepas de *P. aerugenosa* y *M. tuberculosis, T. rubrum* y *Trichophyton interdigitale,* y pueden ser incompatibles con soluciones amortiguadoras tales como las soluciones amortiguadoras de citrato y fosfato. Además, el cloruro de benzalconio puede ser dañino para el ojo y no es adecuado para soluciones de lavado de las lentes de contacto ya que causa toxicidad ocular si se usa a largo plazo. El acetato de fenil mercúrico no puede usarse como conservante en formulaciones de gotas para los ojos que se usen por un largo plazo porque puede ocurrir mercurialentis. Los parabenos se consideran generalmente inadecuados para formulaciones oftálmicas debido a su naturaleza irritante. En algunos casos las composiciones de gotas para los ojos se formulan sin conservantes para reducir la irritación. Sin embargo, tales formulaciones deben empaquetarse para un solo uso o refrigerarse una vez que se abren.

La formulación de la presente invención tiene la ventaja de que la macromolécula no sólo tiene actividad antiviral y antimicrobiana, sino que, además, tiene actividad conservante. Por lo tanto la composición de la invención puede formularse sin conservantes convencionales y ser estable a temperatura ambiente para el almacenamiento.

En su estado más simple, la formulación de la invención consiste en una solución acuosa de la macromolécula junto con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde el al menos un excipiente proporciona un pH de 7,0 a 7,6 y una osmolalidad de 240 a 310 mOsm/kg, especialmente una osmolalidad que es isotónica con las lágrimas. En otras modalidades, la formulación comprende una solución acuosa de la macromolécula junto con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, donde el al menos un excipiente proporciona un pH de 7,0 a 7,5 y una osmolalidad de 240 a 310 mOsm/kg pero se excluyen otros conservantes que no sean la macromolécula.

Los usuarios de lentes de contacto son particularmente susceptibles a la conjuntivitis debido a la inserción de cuerpos extraños en sus ojos. El riesgo de conjuntivitis puede reducirse al incluir una macromolécula de la presente invención en soluciones de lentes de contacto. Las soluciones de lentes de contacto incluyen soluciones de lavado, aclarado, almacenamiento, desinfección, rehumectación, lubricación, de uso general y soluciones medicinales concentradas. Las macromoléculas de la presente invención se mantienen en la lente de contacto y se difunden fuera de la lente y sobre el ojo para proporcionar una liberación lenta en el entorno ocular. La difusión desde la lente permite que la actividad antiviral de la macromolécula se suministre durante un período de tiempo más largo que sin las lentes.

Por lo tanto en otro aspecto de la invención se proporciona una solución para lentes de contacto que comprende una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero.

En algunas modalidades, la macromolécula puede estar presente en una cantidad del 0,5 % al 10 % de la solución, especialmente, la macromolécula puede estar presente en una cantidad del 1 % al 5 % de la solución, especialmente del 1 % al 5 %, y más especialmente del 1 % al 3 % de la solución. Cuando la solución se prepara como un aditivo concentrado, la macromolécula puede estar presente en una cantidad del 5 % al 25 % de la solución, especialmente del 10 % al 20 %.

Las macromoléculas de la presente invención se mantienen sobre o en la lente de contacto durante un período de tiempo, lo que permite que la macromolécula se difunda fuera de la lente. Dicha difusión proporciona una liberación lenta del fármaco en el medio ocular, lo que permite que la actividad antiviral de la macromolécula se suministre durante un período y no se elimine rápidamente por los fluidos oculares y la limpieza física. La macromolécula puede liberarse de la lente de contacto por un período de más de 10 minutos, más especialmente por un período mayor de 1 hora, y más especialmente por un período de más de 6 horas

La solución para lentes de contacto de la invención puede incluir, además, otros componentes tales como soluciones amortiguadoras, agentes de isotonicidad, demulcentes, agentes humectantes, surfactantes, agentes quelantes, enzimas, antisépticos, anestésicos y opcionalmente conservantes.

En algunas modalidades, el antiséptico se selecciona de entre polihexametilen biquanida (PHMB), N-alquil-2-pirrolidona, clorhexidina, policuaternio-1, hexetidina, bronopol, alexidina, bajas concentraciones de peróxido de hidrógeno, y sales oftalmológicamente aceptables de estos en una cantidad del 0,00001 al 0,01 o del 0,00001 al 0,1 % en peso de la composición.

Los agentes quelantes aceptables oftalmológicamente útiles en la presente invención incluyen compuestos de ácido aminocarboxílico o sales solubles en agua de estos, los que incluyen ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido nitrilotriacético, ácido dietilentriamina pentaacético, ácido hidroxietiletilendiaminotriacético, ácido 1,2-diaminociclohexanetetraacético, ácido etilenglicol tetraacético (EGTA), ácido aminodiacético y ácido hidroxietilamino diacético. Estos ácidos pueden usarse en forma de sus sales solubles en agua, particularmente sus sales de metales alcalinos. Los agentes quelantes que se prefieren especialmente son las sales di, tri y tetrasódicas del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), con la máxima preferencia EDTA disódico (edetato disódico).

Otros agentes quelantes tales como citratos y polifosfatos pueden usarse, además, en la presente invención. Los citratos que pueden usarse en la presente invención incluyen al ácido cítrico y sus sales de metales mono, di y trialcalinas. Los polifosfatos que pueden usarse incluyen pirofosfatos, trifosfatos, tetrafosfatos, trimetafosfatos, tetrametafosfatos, así como fosfatos más altamente condensados en forma de sales de metales alcalinos neutros o ácidos tales como las sales de sodio y potasio así como la sal de amonio.

El pH de la solución debe ajustarse para que sea compatible con el ojo y la lente de contacto, tal como entre 6,0 y 8,0, preferentemente entre 6,8 y 7,9 o entre 7,0 y 7,6. Las desviaciones significativas del pH neutro causarán cambios en los parámetros físicos (es decir, el diámetro) en algunas lentes de contacto.

Los agentes de tonicidad adecuados incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio, propilenglicol, glicerol o mezclas de estos. La tonicidad de la solución se ajusta típicamente a aproximadamente 240-310 miliosmoles por kilogramo de solución (mOsm/kg) para hacer la solución compatible con el tejido ocular y con las lentes de contacto hidrofílicas. En una modalidad, la solución contiene del 0,01 al 0,5 por ciento en peso de cloruro de sodio.

Los agentes inductores de la viscosidad adecuados pueden incluir lecitina o derivados de celulosa tales como hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroximetiletil celulosa, y metilcelulosa en cantidades similares a las de los surfactantes anteriores.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un sistema de suministro microbicida que comprende una lente de contacto y una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero.

La presente invención se describirá ahora más completamente con referencia a los ejemplos acompañantes.

**Ejemplos**

Ejemplo 1: Actividad antiadenoviral - Prevención de la penetración viral de las células

La penetración de adenovirus en las células se evaluó mediante el uso de un ensayo de reducción de título (Hayashi, K: Characterization of antiviral activity of a sesquiterpene, triptofordin C-2, J. Antimicrob. Chemother., 1996, 37(4), 759-68). La prevención de la penetración del virus en una célula mide la capacidad del agente activo para prevenir la penetración celular y consecuentemente evitar la infección.

Se usó un adenovirus subtipo 5 (ATCC #VR-5) con células HeLa (ATCC #CCL-2), se usó un adenovirus subtipo 8 (ATCC #VR-1640) con células A549 (ATCC #CCL-185), se usó un adenovirus subtipo 19 (ATCC #VR-254) con células Chang C (ATCC #CCL-20.2) y se usó un Adenovirus 37 (ATCC #VR-929) con células WI-38 (ATCC #CCL-75). Se usaron tipos de células epiteliales y de fibroblastos.

Las células se incubaron con diferentes concentraciones (10, 3, 0,5, 0,1, 0,02, 0,004 % p/v) de SPL7013 o sin SPL7013, en un medio libre de suero durante 60 minutos a 37 °C. Después de la incubación, se inocularon alícuotas de 0,1 MOI de virus y se permitió que se adsorbiera por las células durante 1 hora a 4 °C ± 2 °C. Después de la incubación, el virus libre se eliminó mediante un lavado con medio esencial mínimo de Eagle con los suplementos apropiados para cada línea celular y se incubó durante aproximadamente 30 minutos a 37 °C para permitir la penetración del virus. Las células se tripsinizaron después y el virus que penetró se determinó por titulación como sigue.

El virus recuperado se tituló en las líneas celulares susceptibles mediante la realización de diluciones de 1/10 a 1/100.000 y adición a las células en placas. Cuando el efecto citopático (CPE) fue aparente en el control del virus, las placas de titulación se clasificaron como positivas o negativas para el efecto citopático y en base a la dilución del virus aplicada a las diferentes placas, la dosis infectiva al 50 % ($TCID_{50}$) del cultivo de tejidos se calculó mediante el uso del método de Spearman-Kärber (Hubert, JJ (1984) Spearman-Karber Method in Bioassay. Hunt, Dubuque, IA, pp65, 66). La $TCID_{50}$ establece la dilución a la que el 50 % de las placas muestran un efecto citopático (infección). La comparación de la $TCID_{50}$ para la muestra sin SPL7013 con los valores de $TCID_{50}$ para las muestras con diferentes concentraciones de SPL7013 proporciona una medida del porcentaje de reducción de la infección que se alcanza por cada concentración de SPL7013. Esta reducción porcentual representa la actividad de SPL7013 contra la penetración de las células con adenovirus.

Se probó una sustancia de control (cidofovir) junto con el SPL7013 a 20 µg/mL, 2 µg/mL, 0,2 µg/mL y 0,02 µg/mL (Gordon YJ, Antiviral Research, 1991, 16(1), 11-16). Debido a que el cidofovir actúa más tarde en el ciclo de replicación viral, las células objetivo se infectaron primero con 0,1 MOI de virus y se incubaron 60 minutos a 37 °C ± 2 °C. Se eliminó el virus, se añadió cidofovir a las respectivas concentraciones y las células se incubaron hasta que el CPE alcanzó su máximo. Después se lisaron las células y se tituló el virus como se describió anteriormente.

La siguiente Tabla 1 enumera el porcentaje medio de reducción de dos experimentos realizados de SPL7013 contra diferentes adenoviridiae a diferentes concentraciones de SPL7013. La Tabla 2 enumera el porcentaje de reducción que se logra por el control positivo (cidofovir).

Tabla 1: Reducción porcentual de la penetración adenoviral en presencia de SPL7013

| **Subtipo** | **Concentración de SPL7013 (en %, p/v)** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **10** | **3,0** | **0,5** | **0,1** | **0,02** | **0,004** |
| Adeno-5 | 99,58 % | 98,67 % | 98,22 % | 82,22 % | 25,01 % | 0,00 % |
| Adeno-8 | 95,78 % | 97,63 % | 92,5 % | 90 % | 82,22 % | 68,38 % |
| Adeno-19 | 99,68 % | 99,44 % | 36,84 % | 94,38 % | 90,0 % | 76,29 % |
| Adeno-37 | 99,93 % | 99,76 % | 99,58 % | 96,84 % | 43,77 % | 25,01 % |

Tabla 2: Reducción porcentual de la replicación adenoviral en presencia de cidofovir

| **Subtipo** | **Concentración de cidofovir (en µg/mL)** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **20** | **2** | **0,2** | **0,02** |
| Adeno-5 | 90,00 % | 86,66 % | 82,22 % | 68,38 % |
| Adeno-8 | 99,00 % | 98,67 % | 98,22 % | 90,00 % |
| Adeno-19 | 94,38 % | 43,77 % | 0,00 % | 0,00 % |
| Adeno-37 | >99,99 % | 99,99 % | 57,83 % | 0.00 % |

Los valores de $IC_{50}$ se calcularon tanto para el SPL7013 como para el cidofovir y se calcularon sobre una base molar. El peso molecular que se usó para el SPL7013 es de 16582 g/mol y para el cidofovir de 279 g/mol. La Tabla 3 muestra los valores de $IC_{50}$para ambos compuestos.

Tabla 3: Valores de $IC_{50}$ determinados para el SPL7013 y el Cidofovir para cuatro subtipos de adenovirus

| **Cepa de adenovirus** | **$IC_{50}$ del Cidovofir (µM)** | **$IC_{50}$ del SPL7013 (µM)** |
|---|---|---|
| Adeno-5 | 0.559 | 72.4 |
| Adeno-8 | 0.112 | 12.1 |
| Adeno-19 | 52.4 | 3.62 |
| Adeno-37 | 0.112 | 29.6 |

Los ensayos demostraron que el SPL7013 inhibía la penetración del adenovirus y por lo tanto la infección de los subtipos seleccionados de adenovirus que se ensayaron a concentraciones iguales o superiores al 0,02 %. Se

observó la actividad antiinfecciosa máxima frente al adenovirus subtipo 37 donde se observó una inhibición de la penetración de más del 99,5 % a concentraciones de 0,5 % y superiores.
Ejemplo 2: Actividad antiadenoviral - Actividad virucida

Para un ensayo virucida (*Método de Prueba Estándar para Evaluar la Actividad de los Microbicidas contra los Virus en Suspensión,* ASTM E 1052), el SPL7013 se expuso a subtipos de adenovirus a diferentes concentraciones (0,5 %, 1,0 %, 3,0 % y 10,0 % p/v) durante diferentes cantidades de tiempo (30 s, 1 min, 5 min, 30 min, 1 h). Sólo unas pocas muestras se ensayaron a 30 s. Después de la exposición, el SPL7013 se neutralizó con suero fetal de ternera. Esta muestra neutralizada se diluyó después de 1/10 a 1/100.000. Estas diluciones se usaron para infectar las células objetivo (los detalles de las células y del virus son como se describen en el Ejemplo 1) en placas. Después de una incubación suficiente (5-14 días a 37 °C ± 2 °C), las placas se clasificaron como positivas o negativas para el efecto citopático y con base en la dilución del virus aplicada a las diferentes placas, se calculó la dosis infectiva del cultivo de tejidos ($TCID_{50}$) (ver Ejemplo 1 para el método). La comparación de la $TCID_{50}$para las muestras sin SPL7013 con los valores de $TCID_{50}$ para las muestras con SPL7013 permite calcular el % de virus que se eliminó por el SPL7013. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Actividad virucida de SPL7013 contra subtipos de adenovirus seleccionados (% de virus muertos)

| Virus | Concentración de SPL7013 | Tiempo de exposición | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 30 s | 1 min | 5 min | 30 min | 1 h |
| Adeno-5 | 0,5 % (p/p) | 0,00 % | 0,00 % | 0,00 % | 43,77 % | 82,88 % |
| Adeno-5 | 1,0 % (p/p) | | 0,00 % | 0,00 % | 0,00 % | 43,77 % |
| Adeno-5 | 3,0 % (p/p) | | 43,77 % | 0,00 % | 0,00 % | 43,77 % |
| Adeno-5 | 10,0 % (p/p) | | 0,00 % | 0,00 % | 43,77 % | 82,22 % |
| Adeno-8 | 1,0 % (p/p) | | 68,38 % | 68,38 % | 82,22 % | 96,84 % |
| Adeno-8 | 3,0 % (p/p) | | 43,77 % | 0,00 % | 0,00 % | 82,22 % |
| Adeno-8 | 10,0 % (p/p) | | 68,38 % | 82,22 % | 94,38 % | 90,00 % |
| Adeno-19 | 1,0 % (p/p) | | 0,00 % | 68,38 % | 0,00 % | 0,00 % |
| Adeno-19 | 3,0 % (p/p) | | 0,00 % | 68,38 % | 0,00 % | 0,00 % |
| Adeno-19 | 10,0 % (p/p) | | 0,00 % | 68,38 % | 43,77 % | 43,77 % |
| Adeno-37 | 0,5 % (p/p) | 68,38 % | 0,00 % | 43,77 % | 68,38 % | 68,38 % |
| Adeno-37 | 1,0 % (p/p) | | 0,00 % | 43,77 % | 43,77 % | 43,77 % |
| Adeno-37 | 3,0 % (p/p) | 68,38 % | 0,00 % | 43,77 % | 82,22 % | 68,38 % |
| Adeno-37 | 10,0 % (p/p) | | 0,00 % | 0,00 % | 43,77 % | 68,38 % |

El SPL7013 muestra la capacidad de matar hasta el 96,84 % del virus. La capacidad de SPL7013 para matar los adenovirus de conformidad con su capacidad para inhibir la penetración, proporcionan evidencia de la eficacia del SPL7013 para tratar y prevenir las infecciones adenovirales.

Ejemplo 3: Actividad antiadenoviral de las Macromoléculas

La actividad antiadenoviral de una selección de macromoléculas se evaluó mediante el siguiente método.

Para el ensayo citopático (CPE) se incubaron placas de células con el respectivo fármaco y subtipo de adenovirus a diferentes concentraciones del fármaco. Las células se incubaron hasta que se observó claramente un efecto citopático en las placas en las que las células y el virus se sembraron sin fármaco. En las placas donde se añadió el fármaco, se cuantificó el efecto citopático mediante el uso de un microscopio de luz y se expresó como 0 % (sin efecto) hasta 100 % (efecto tan fuerte como en las placas de control sin fármaco). Las lecturas del CPE se representaron frente a la concentración de fármaco y se determinó el valor de EC50 como la concentración de fármaco en la que se observó un CPE al 50 %.

El ensayo de neutralización de reducción de placa (NR) se usa para cuantificar la capacidad de un dendrímero para neutralizar/inactivar el virus. La solución de dendrímero a ensayar se diluye y se mezcla con una suspensión vírica. Esta se incuba para permitir que el dendrímero reaccione con el virus. Esta se vierte sobre una monocapa confluente de células huésped. La superficie de la capa celular se cubre en una capa de agar o carboximetil celulosa para evitar que el virus se propague. La concentración de unidades formadoras de placas puede estimarse por el

número de placas (regiones de células infectadas) que se forman después de unos pocos días. En dependencia del virus, las unidades formadoras de placa se miden por observación microscópica, anticuerpos marcados fluorescentemente o colorantes específicos que reaccionan con las células infectadas. La concentración de dendrímero para reducir el número de placas en un 50 % en comparación con el virus libre de dendrímero da el valor de EC50.

La ribavirina se incluyó como un control positivo. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Actividad antiadenoviral

| Compuesto de Prueba | Tipo de dendrímero | Cubierta del dendrímero | Generación del dendrímero | Adenovirus/Protocolo | $EC_{50}$(µg/mL) |
|---|---|---|---|---|---|
| $[BHALys][Lys]_{16}[CSNH\text{-}3,6\text{-}Naftil(SO_3Na)_2]_{32}$ | Lisina | BHALys | 4 | Adeno-5/CPE | 300 |
| $[BHALys][Lys]_{16}[CSNH\text{-}3,6\text{-}Naftil(SO_3Na)_2]_{32}$ | Lisina | BHALys | 4 | Adeno-5/CPE | 70 |
| $[NH_3][PAMAM]_2[CSNH\text{-}3,5\text{-}Fenil(SO_3Na)_2]_{24}$ | PAMAM | $NH_3$ | 4 | Adeno-5/NR | 150 |
| $[NH_3][PAMAM]_4NHCSNH\text{-}2\text{-}naftalen\text{-}5,7\text{-}(SO_3Na)_2]_{24}$ | PAMAM | $NH_3$ | 4 | Adeno-1/CPE | 20 |
| $[BHALys][Lys]_{32}$ácido desoxicólico$[NHCSNH\text{-}4\text{-}fenil\text{-}SO_3Na]_{63}$ | Lys | BHALys | 5 | Adeno-1/CPE | 20 |
| $[BHALys][Lys]_{32}$ácido desoxicólico$[NHCSNH\text{-}4\text{-}fenil\text{-}SO_3Na]_{63}$ | Lys | BHALys | 5 | Adeno-1/NR | 10 |
| Ribavirina | - | - | - | NR | 10 |

Ejemplo 4: Actividad virucida contra el virus del Herpes

La actividad virucida de SPL7013 frente al virus del herpes HSV-2 se evaluó mediante el uso del Método de Ensayo de la American Society for Testing and Materials para evaluar la actividad de microbicidas contra virus en suspensión (ASTM E1052).

Actividad virucida de SPL7013 al 0,5 % (5 mg/mL) contra el $HSV\text{-}2_{MS}$ y de SPL7013 al 5 % (50 mg/mL) contra el $HSV\text{-}2_G$.

Los resultados para el SPL7013 al 0,5 % se muestran en la Tabla 6A, (y los controles correspondientes en la Tabla 6B) y para el SPL7013 al 5 % se muestran en la Tabla 7.

Tabla 6A

| Dilución (-$Log_{10}$) | Tiempo de Exposición | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 30 segundos | 1 minuto | 5 minutos | 30 minutos | 60 minutos |
| -3 | ++++ | ++++ | 0+++ | 0+++ | 0++0 |
| -4 | ++++ | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 |
| -5 | +000 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 |
| -6 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 |
| -7 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 |
| TCID50 (log10) | 4.75 | 3.50 | 3.25 | 3.25 | 3.00 |
| Reducción Logarítmica (log 10) | 2.001 | 3.00 | 3.50 | 3.50 | 3.50 |
| Reducción del Porcentaje Promedio | 99,00 % | 99,90 % | 99,97 % | 99,97 % | 99,97 % |

Tabla 6B

| Dilución (-$Log_{10}$) | Control de Virus | | | | | Control de Neutralización | Citotoxicidad | Control de Células |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 30 segundos | 1 minuto | 5 minutos | 30 minutos | 60 minutos | | | |
| -3 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | 0000 | 0000 |
| -4 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | 0000 | |
| -5 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | | |
| -6 | ++++ | 0+++ | ++++ | 0+++ | ++++ | +++0 | | |
| -7 | +000 | 00+0 | 00+0 | 0+0+ | 0000 | 0000 | | |
| TCID50 (log10) | 6,75 | 6,50 | 6,75 | 6,75 | 6,50 | 6,25 | | |
| + CPE presente;<br>0 - CPE no detectado; | | | | | | | | |

Tabla 7

| Dilución | Virus del herpes simple tipo 2 + SPL7013 Lote 26-023-044-09 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Tiempo de Exposición | | | | | |
| | 30 segundos | 1 minuto | 5 minutos | 15 minutos | 30 minutos | 1 hora |
| Control de células | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 |
| $10^{-2}$ | 0000* | 0000* | 0000* | 0000* | 0000* | 0000* |
| $10^{-3}$ | 0000* | 0000* | 0000* | 0000* | 0000* | 0000* |
| $10^{-4}$ | 0000* | 00+0* | 0000* | 0000* | 0000* | 0000* |
| $10^{-5}$ | ++++ | ++++ | ++++ | 0++0 | 0000 | 0000 |
| $10^{-6}$ | +0+0 | 0000 | +000 | ++00 | 0000 | 0000 |
| $10^{-7}$ | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 | 0000 |
| $TCID_{50}$/0,1 mL | $10^{6.0}$ | $10^{5.5}$ | $10^{5.75}$ | $10^{5.5}$ | **≤$10^{3,5}$ | **≤$10^{3,5}$ |
| Reducción Porcentual | No Reducción | 68,4 % | 43,8 % | 82,2 % | ≥ 99,9 % | ≥ 99,7 % |
| Reducción del $Log_{10}$ | No Reducción | 0,5 $Log_{10}$ | 0,25 $Log_{10}$ | 0,75 $Log_{10}$ | ≥3,0 $Log_{10}$ | ≥2,5 $Log_{10}$ |
| (+) = Positivo para la presencia del virus de prueba<br>(0) = Ningún virus de prueba recuperado y/o no presente citotoxicidad<br>(*) = Células aparecen fijadas<br>(**) = $TCID_{50}$/0.1 mL resultados basados en el resultado del control de neutralización | | | | | | |

Ejemplo 5: Actividad Antibacteriana - Ensayo de eficacia de la conservación

Para evaluar las propiedades antimicrobianas de una solución de SPL7013 acuosa, se prepararon dos soluciones acuosas, una al 5 % p/v, y la segunda al 28 % p/v. Se llevaron a cabo ensayos estándar de eficacia de la conservación (de conformidad con la USP <51> "Antimicrobial Effectiveness Test") con el fin de retar la capacidad de cada solución para limitar el crecimiento microbiano durante un período de un mes.

Solución de SPL7013 al 5 % y 28 % p/p

El SPL7013 se preparó como una solución al 5 % o al 28 % p/p en agua, con la muestra en agitación para facilitar la disolución.

Métodos de Prueba

Las soluciones de retaron con los siguientes microorganismos microbianos:

- *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 9027
- *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538
- *Candida albicans*, ATCC 10231
- *Aspergillus niger*, ATCC 16404
- *Escherichia coli*, ATCC 8739

El inóculo de prueba se añade a cada muestra de tal manera que la concentración final después de la inoculación se encuentre entre 1 x $10^5$ y 1 x $10^6$ cfu por mL del producto (según se determina por el método del recuento de placas). Los recipientes inoculados se incuban a 22,5 ± 2,5 °C y se muestrean después de 14 y 28 días. En el muestreo, la concentración de cada microorganismo se determina mediante el método de recuento de placas.

Tabla 8: Reducción del $Log_{10}$ de los organismos después de la exposición a SPL7013

| Organismo | Conteo Inicial / cfu por g | Conteo Final / cfu por g | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | solución al 5 % p/v | | solución al 28 % p/v | |
| | | 14 días | 28 días | 14 días | 28 días |
| *P. aeruginosa* | $1,0 \times 10^6$ | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| *S. aureus* | $8,6 \times 10^5$ | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| *C. albicans* | $1,3 \times 10^6$ | $6,6 \times 10^5$ | $4,5 \times 10^5$ | $7,3 \times 10^4$ | 340 |
| *A. niger* | $8,0 \times 10^5$ | $7,0 \times 10^5$ | $4,1 \times 10^5$ | $1,0 \times 10^6$ | $8,9 \times 10^5$ |
| *E. Coli* | $7,9 \times 10^5$ | 15 (est) | 25 (est) | <10 | <10 |

Como se muestra en la Tabla 8, la solución al 5 % p/v de SPL7013 actuó como un bactericida contra *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* por un período de 14 días, sin que se observara un aumento subsiguiente en la concentración de microorganismos después de 28 días. La misma solución de prueba demostró un efecto estático con respecto a los inóculos de *Candida albicans* y *Aspergillus niger* después de 14 días.

Como se muestra adicionalmente en la Tabla 6, la solución al 28 % p/v de SPL7013 actuó como un bactericida contra *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* por un período de 14, y, además, contra *Candida albicans* por un período de 28 días. La misma solución de ensayo evitó el crecimiento del inóculo de *Aspergillus niger* durante la duración del ensayo.

Las propiedades antibacterianas de las dos soluciones de ensayo (5 % y 28 % p/v de SPL7013 en agua) cumplen ambas los criterios de aprobación del ensayo como conservantes en preparaciones tópicas.

Ejemplo 6: Unión de SPL 7013 al Tejido Epitelial

Para probar la retención de SPL7013 en el tejido epitelial expuesto al fluido, se aplicó el SPL7013 a una pequeña película de tejido que consta de múltiples capas estratificadas de células epiteliales, bajo una capa de fluido.

En este experimento se ensayaron dos formulaciones diferentes: SPL7013 a 30 mg/mL y 5 mg/mL en PBS, y gel de SPL7013 (0,5 % o 5 mg/mL) formulado con Fluido Lubrajel (United Guardian, Inc.). Se utilizó un estuche para el tejido epitelial (MatTek Corporation, Cat# VEC-100-FT) y se dosificaron/prepararon los tejidos como se indica en la Tabla 9.

Tabla 9: Régimen de dosificación para el tratamiento multidosis

| Tratamiento | Núm. de tejidos | Concentración* | Matriz | Cantidad añadida | Incubación |
|---|---|---|---|---|---|
| Dosificado | 3 | 30 mg/mL | PBS | 100 µL | 4 h a 37 °C |
| Dosificado | 3 | 5 mg/mL | PBS | 100 µL | 4 h a 37 °C |
| Dosificado | 3 | 5 mg/g | Lubrajel | 100 µL | 4 h a 37 °C |
| * La concentración se refiere al SPL7013 en la respectiva solución de dosificación/aglutinación | | | | | |

Los tejidos se trataron inicialmente mediante su colocación en placas de 6 pocillos que contenían 0,9 mL de medio específico y su incubación durante la noche a 37 °C. El medio se intercambió con 0,9 mL de medio fresco antes de la dosificación.

Los tejidos a dosificar se retiraron de la incubadora y se aplicaron 100 µL de la solución de dosificación. Los tejidos se devolvieron a la incubadora y se incubaron durante la cantidad de tiempo prescrita. Los tejidos se retiraron después de la incubadora y se recuperó cualquier solución de dosificación restante y se transfirieron a tubos de centrífuga de 1,5 mL previamente marcados. El tejido se sometió después a un protocolo de lavado riguroso en el que los tejidos se lavaron inicialmente bajo una corriente de PBS 15 veces seguido de una inmersión en PBS y de secado sobre tejido de papel.

Los tejidos se lisaron después mediante el uso del estuche de lisis de Thermo-Scientific (estuche de lisis de tejidos, Thermo Scientific, Cat# 78833). Brevemente, se añadieron 100 µL de reactivo CER I a cada tejido. Después, el tejido se homogeneizó repetidamente mediante pipeteo hacia arriba y hacia abajo. Después se agitó vigorosamente el tejido por 15 segundos, se incubó por 10 minutos, se añadieron 5,5 µL de reactivo de CER II, se agitó

vigorosamente, se volvió a incubar por 1 minuto, se sometió a vórtice, se centrifugó a 16.000 x g por 5 minutos y finalmente se transfirió el lisado a un tubo nuevo de 1,5 mL.

Todos los lisados se analizaron por cromatografía electrocinética micelar en condiciones básicas de pH. El método se usó previamente para el análisis de muestras farmacocinéticas de estudios de ensayos clínicos (Chen et al, J AIDS, 2009, 50(4), 375-380).

Para dar cuenta de la unión al plástico en blanco, se realizó un experimento de control donde 15 insertos de cultivo de tejidos desnudos se dosificaron idénticamente a los 5 protocolos de dosificación mostrados en la Tabla 9. Cada dosis se realizó por triplicado.

La Tabla 10 muestra los resultados del ensayo de unión al tejido y en blanco:

Tabla 10: Recobrados del SPL7013 del tratamiento multidosis de tejidos e insertos de control

| **SPL7013** | | | **SPL7013 (µg) recuperado** | | **SPL7013 (%) recuperado** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dosis** | **Matriz** | **Tiempo#** | **Tejido** | **Blanco** | **Tejido** | **Blanco** |
| 0,5 % | PBS | 4 h | 10,45 ± 2,97 | 0,7 ± 0,26 | 4,18 ± 1,19 | 0,28 ± 0,10 |
| 3 % | PBS | 4 h | 92,57 ± 13,51 | 6,59 ± 3,59 | 6,17 ± 0,90 | 0,44 ± 0,24 |
| 0,5 % | Lubrajel | 4 h | 9,06 ± 2,31 | 1,00 ± 0,69 | 2,91 ± 0,74 | 0,32 ± 0,22 |
| Los resultados son la media ± desviación estándar para tres tejidos que se usaron con cada solución de dosificación.<br>#La incubación se llevó a cabo a 37 °C en una incubadora humidificada con 5 % de $CO_2$ | | | | | | |

Se realizó un ensayo de unión en blanco en paralelo para determinar la cantidad de SPL7013 retenida por el vial de plástico solo. Una pequeña fracción de la cantidad dosificada de SPL7013 (<0,5 %) se retuvo por el inserto de cultivo de tejido solo.

Significativamente más SPL7013 se mantuvo en los tejidos dosificados con SPL7013 al 3 % en PBS. Estos resultados sugieren que el SPL7013 es capaz de unirse fuertemente a la superficie de las células epiteliales (sin ser lavado) o es capaz de penetrar en las capas superiores de las células epiteliales. Estos experimentos no pueden diferenciar si toda la unión ocurre solamente en la superficie o qué tan exitoso y profundo penetra el SPL7013 en los tejidos. Los resultados anteriores demostraron que el SPL7013 puede cruzar una monocapa de células polarizadas apical-basolateral. Aproximadamente del 1 al 6 % del SPL7013 aplicado fue capaz de cruzar la capa y el SPL7013 recuperado basolateralmente inesperadamente seguía activo como un agente infeccioso.

En conjunto, los resultados descritos aquí muestran que el SPL7013 posee la capacidad de penetrar en el tejido hasta un grado en el que el 5 % del compuesto dosificado se mueve hacia las capas superiores del epitelio presumiblemente a través de la adhesión a la superficie de las células epiteliales y/o de la difusión en espacios intersticiales proximales a la superficie del tejido. Las interacciones huésped-patógeno a menudo tienen lugar en esta ubicación, por lo tanto la capacidad de algunos SPL7013 de infiltrar el epitelio superior es probable que mejore la utilidad de los compuestos.

Estos datos apoyan, además, la falta de absorción sistémica de SPL7013 que se observó en todos los estudios clínicos y no clínicos hasta la fecha. Para que se produzca la absorción sistémica el fármaco necesitará penetrar capas de tejido sustancialmente más gruesas que las estudiadas aquí. Se supone que la cantidad de SPL7013 presente disminuye significativamente con el aumento del grosor del tejido y que ninguno o muy poco penetra lo suficiente para hacer contacto con los vasos circulatorios necesarios para la absorción sistémica.

El modelo de tejido consiste en una pequeña película de tejido que consta de múltiples capas de células epiteliales para imitar el tejido epitelial. Este tejido está en la parte inferior de un pequeño pocillo de plástico por encima del cual descansa una capa de fluido (es decir, medio). Estos estudios de unión mostraron que el SPL7013 se retiene por el tejido, a través de la adhesión a la superficie de las células epiteliales y/o de la difusión en los espacios intersticiales próximos a la superficie del tejido.

Ejemplo 7: Unión de SPL7013 a las Lentes de Contacto

Los experimentos se llevaron a cabo para evaluar la capacidad del SPL7013 para adherirse a las lentes de contacto para extender el período de suministro del SPL7013 al ojo y reducir o prevenir la infección en o adyacente a la lente.

Procedimiento de prueba para cada lente

Se prepararon cinco vasos de precipitado de lavado con 50 mL de agua Milli Q, junto con un vaso de precipitado más pequeño con 15 mL de agua Milli Q (vaso de precipitado de extracción). La lente de contacto se enjuagó con agua Milli Q y se dejó secar al aire brevemente. Las gotas residuales se extrajeron suavemente en el lado de un vaso de precipitado. La lente se colocó luego de un manera cóncava en un vaso de precipitado de ensayo separado (es decir, los bordes que se pegan hacia arriba). Se colocó 1 mL de SP7013 al 10 % en agua sobre la parte superior de la lente y se incubó la solución durante 20 minutos o 60 minutos en la Solución de Ensayo.

La lente se enjuagó al coger la lente con pinzas y dejar caer la lente en el primer recipiente de enjuagado. El recipiente se agitó con las pinzas por 5 segundos y se aseguró que las pinzas también se enjuagaran. La etapa anterior se repitió en el segundo recipiente de enjuagado. Se completaron un total de 5 enjuagues.

Liberación de material unido:

La lente se dejó caer luego en el vaso de precipitado de extracción (con 15 mL) de agua Milli Q y se sonicó por 10 min para liberar cualquier SPL7013 unido.

Preparación de las muestras:

La solución sonicada se transfirió a un matraz aforado de 20 mL y se llenó para marcar con agua. Una muestra de 1,5 mL se filtró en un vial de HPLC. Esta es la muestra "liberada".

La Solución de Ensayo residual se transfirió a un matraz aforado de 500 mL y se llenó para marcar con agua y se mezcló. Si no se produjo unión la concentración en el matraz de 500 mL será de 0,2 mg/mL. La solución se diluyó ¼ hasta 20 mL con agua. Esta es la muestra "no unida".

Todas las soluciones de enjuague se vertieron en un matraz aforado de 250 mL que se llenó después para marcar con agua y se mezcló. Esta es la muestra de "enjuague".

Análisis:

El análisis por HPLC se llevó a cabo en las muestras liberadas y no unidas y de enjuague que se corrieron en duplicado y se calibraron respecto a muestras de una solución madre de SPL7013 a 0,05 mg/mL. Se calculó el área media del pico de las muestras y se calculó la concentración de SPL7013 en las muestras mediante la fórmula:

C(muestra) = Área (muestra)/Área(estándar) x concentración del estándar

Se calculó la cantidad de SPL7013 liberado: m (liberado) = c (muestra liberada) x 20 mL y la cantidad de SPL7013 no unida se calculó: m (sin unir) = c (muestra sin unir) x 2000 mL. La cantidad de SPL7013 en las fracciones de enjuague se calculó como m (enjuague) = c (enjuague) x 250 mL.

Los resultados se muestran en la Tabla 11

Tabla 11

| **Experimento** | **Marca** | **Medio de Enjuague** | **Tiempo de incubación (min)** | **SPL7013 (mg) aplicado** | **Enjuague + Sin unir (mg)** | **Liberado (mg)** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Exp 1 (promedio de 2 experimentos) | Lentes Blandos Bausch & Lomb (alfafilcon A) | Milli-Q | 20 | 100 | 83.25 | 0.28 |
| Exp 3 (1 h de Incubación) | Lentes Blandos Bausch & Lomb (alfafilcon A) | Milli-Q | 60 | 100 | 90.50 | 0.70 |
| Exp 4 (lavado con PBS) | Lentes Blandos Bausch & Lomb (alfafilcon A) | PBS | 20 | 100 | 96.16 | 0.17 |
| Exp 5 (Diferentes materiales de lentes) | Cooper Vision (omafilcon A 40 %, Agua 60 %) | Milli-Q | 20 | 100 | 95.42 | 0.14 |

Como se muestra anteriormente, las lentes de contacto que se sometieron al ensayo conservaron SPL7013, que se liberó posteriormente mediante una sonicación corta. La etapa de sonicación modela la abrasión del ojo, así como el tiempo pasado en el ojo, y demostró que el SPL-7013 puede liberarse una vez unido a la lente. Se prevé que el SPL7013 unido se difundirá gradualmente fuera de la lente y sobre el ojo.

Ejemplo 8: Desarrollo de la Resistencia Bacteriana al SPL7013

Se evaluó el potencial de que emerja resistencia después de la exposición repetida de los patógenos objetivo a las concentraciones subinhibidoras de SPL7013 y otros agentes comparadores mediante el pase en serie. Además, se caracterizaron mutantes seleccionados (aislamientos con valores de MIC ≥ 4 veces superiores a la cepa parental) por pruebas confirmatorias de MIC, evaluación de la estabilidad del mutante después del pase sin fármaco y determinación de los patrones de corresistencia.

Materiales y métodos

Artículos de Prueba

| **Fármaco** | **Fuente** | **Núm. de Catálogo** | **Número de Lote** | **Solvente** |
|---|---|---|---|---|
| SPL7013 | Starpharma | | 26-023-044-09 | BHI + 3 % de Suero de Caballo |
| Clindamicina | Sigma | C5269 | 021M1533V | Agua |
| Metronidazol | Sigma | M3761 | 095K0693 | 50 % de DMSO |
| Rifaximina | Fluka | 33999 | SZBB035XV | 50 % de DMSO |

Todos los fármacos se ensayaron en un amplio intervalo de concentraciones (128 - 0,002 mg/mL) en base a la actividad esperada de los agentes frente a los organismos ensayados y para permitir la observación de MIC crecientes durante el curso del ensayo.

Para los mutantes seleccionados, se determinó la corresistencia a los antibióticos que se muestran a continuación:

| **Fármaco** | **Fuente** | **Núm. de Catálogo** | **Número de Lote** | **Solvente** |
|---|---|---|---|---|
| Penicilina | Sigma | P3032 | 071M0740V | Agua |
| Clorafenicol | Sigma | C0378 | 100M0061V | 95 % ETOH/Agua |
| Tetraciclina | Sigma | T3383 | 11M1693V | Agua |
| Gentamicina | Sigma | G3632 | 097K06887 | Agua |

Organismos

Los organismos de ensayo consistieron en organismos ATCC o aislamientos clínicos representativos:
*Gardnerella vaginalis* ATCC 14018 (MMX 4153)
*Prevotella bivia* MMX 3447
*Mobiluncus curtisii* ATCC 35241 (MMX 4145)
*Lactobacillus acidophilus* MMX 5716
*Bacteroides fragilis* ATCC 25285 (MMX 0123) y *G. vaginalis* ATCC 14018 (MMX 4153) sirvieron como organismos de control de calidad ensayados en este estudio.

Los aislamientos se subcultivaron en placas de agar Brucella complementado (Remel; Lenexa, KS; Núm. de Catálogo R01255; Núm. de Lote 146893, 174114, 164387) y se incubaron anaeróbicamente a 35 °C por 48 horas. Los mutantes seleccionados se evaluaron para la estabilidad tras un pase libre de fármaco por subcultivo tres veces sobre placas de agar Brucella complementado sin fármacos.

Medio de Prueba

Para todos los organismos, la placa de ensayo MIC y el medio de crecimiento fueron caldo de Infusión Cerebro Corazón (BHI; Becton Dickinson, Sparks, MD) complementado con suero de caballo al 3 % (Cleveland Scientific; Bath, OH;).

Metodología del Ensayo MIC

Se obtuvieron valores de MIC para todos los aislamientos y agentes de ensayo mediante el uso del método de dilución en caldo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, documento CLSI M11-A7) con la excepción de que se usó BHI que contenía suero de caballo al 3 % como medio de crecimiento en lugar de caldo de Brucella complementado.
Para los fármacos comparadores, los pocillos en las columnas 2-12 en una placa de microdilución estándar de 96 pocillos se llenaron con 90 µL de solución del fármaco a la dilución apropiada.

Se preparó un inóculo estandarizado de cada organismo según los métodos CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, documento CLSI M11-A7). Las placas se inocularon con 10 µL de inóculo estandarizado bajo condiciones anaeróbicas para producir una concentración celular final de aproximadamente 5 x $10^5$ cfu/mL.

Las placas se incubaron a 35 °C durante de 46 a 48 h. La MIC se registró como la concentración más baja de fármaco que inhibía el crecimiento visible del organismo.

Desarrollo de la Resistencia por Pases en Serie

Los contenidos de los pocillos que contenían la concentración más alta de fármaco en la que había crecimiento se sembraron en placas sobre agar Brucella y se incubaron anaeróbicamente durante 48 horas a 35 °C. El inóculo para el siguiente pase se preparó mediante el uso del crecimiento de esta placa de agar. Si se juzgaba que el pocillo en la concentración subinhibitoria más alta contenía solo crecimiento marginal, los contenidos del pocillo y una dilución más baja se colocaron, además, sobre agar Brucella para asegurar que podría prepararse un inóculo fresco de densidad suficiente para el pase siguiente. A partir de la placa, se hizo una suspensión de McFarland de 0,5 y se inocularon placas de ensayo de conformidad con el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, documento CLSI M11-A7). Un inóculo fresco de *B. fragilis* 0123 y *G. vaginalis* 4153 de las existencias congeladas se ensayó cada día con fines de control de calidad.

Todo el proceso se repitió a través de 10 pases en serie. El pase 1 definió el valor de la línea de base para cada organismo. Un cambio significativo en el valor de la MIC se definió como un aumento de 4 veces desde el valor de la línea de base.

Resultados y discusión

Contra *B. fragilis*, el 100 % de las MIC de metronidazol estaban dentro del intervalo, y las MIC de la clindamicina estaban dentro del intervalo con la excepción de tres días cuando la MIC se encontraba muy por debajo del intervalo aceptable. El SPL7013 no tuvo actividad en el intervalo de concentración evaluado contra *B. fragilis*, con MIC >128 mg/mL. Contra *G. vaginalis* ATCC 14018, una cepa QC propuesta para el SPL7013, las MIC del SPL7013 durante el pase en serie estaban dentro del intervalo propuesto de 0,25-1 mg/mL, con la excepción de tres días de ensayo cuando la MIC estaba bien por encima del intervalo propuesto.

*Pases en serie*

Durante los pases en serie de G. *vaginalis* ATCC 14018 (MMX 4153), las MIC para el SPL7013, metronidazol y rifaximina aumentaron varias veces por encima de las MIC que se observaron en la línea de base. Por el pase 9, la MIC del SPL7013 aumentó de 1 a 64 mg/mL (64 veces), mientras que para el metronidazol la MIC aumentó de 4 a > 128 µg/mL (> 64 veces) para el pase 7. Las MIC de Rifaximina aumentaron de 0,06 a 128 µg/mL (> 2000 veces) para el pase 9. En contraste, no hubo aumento en la MIC con clindamicina durante el pase.

Se observaron resultados similares con *M. curtisii* ATCC 35241 (MMX 4145) cuando se sometió a pases, con la excepción de que el desarrollo de la resistencia a la rifaximina no era evidente. Las MIC del SPL7013 aumentaron de 8 a 128 mg/mL (16 veces) para el pase 9 mientras que las MIC del metronidazol aumentaron de 8 a > 128 µg/mL (> 16 veces) para el pase 5. No se observaron aumentos aparentes en las MIC de la rifaximina ni de la clindamicina durante el pase.

Para *L. acidophilus* MMX 5716, las MIC de SPL7013 aumentaron 8 veces de 2 a 16 mg/mL para el pase 4 mientras que para las MIC de la rifaximina aumentaron 64 veces de 1 a 64 µg/mL para el pase 9. Las MIC de la clindamicina permanecieron sin cambios durante el pase.

Durante el pase de *P. bivia* MMX 3447, el organismo no se mantuvo viable más allá del pase 5. A través del pase 5, no se observó ningún aumento más allá de 2 veces de la MIC de la línea de base para el SPL7013 o el metronidazol. Para la rifaximina, las MIC aumentaron 4 veces para el pase 5 de 0,03 a 0,12 µg/mL.

Resumen

En resumen, hubo algunos aumentos en las MIC del SPL7013 durante el pase en serie con patógenos bacterianos objetivo y para *L. acidophilus.* Se observaron, además, aumentos en las MIC entre estos organismos con metronidazol y rifaximina, y con frecuencia eran mayores en magnitud y se desarrollaron más temprano que los observados con el SPL7013. No se observó resistencia a la clindamicina durante el pase en serie.

Con la excepción de *M. curtisii,* los incrementos en las MIC del SPL7013 se confirmaron después de volver a ensayar la MIC y parecían ser estables porque se mantenían elevados después del pase libre de fármaco. Los mutantes a la rifaximina y el metronidazol fueron estables, además, después del pase libre de fármaco. Después de la evaluación de los posibles mutantes de *M. curtisii*, las MIC para la rifaximina y el SPL7013 que se observaron durante el pase en serie no se confirmaron durante el reexamen de la MIC. Este resultado sugiere que los mutantes

de *M. curtisii* no se generaron durante el pase en serie con el SPL7013 o la rifaximina, y para el SPL7013 esto parece deberse en parte a una MIC artificialmente baja observada en la línea de base y durante el pase temprano. En contraste, los mutantes de *M. curtisii* al metronidazol surgieron durante el pase en serie y se mantuvieron estables.

No fue evidente una corresistencia de los mutantes derivados del SPL7013 a través de los agentes comparadores evaluados, lo que indica que la susceptibilidad disminuida al SPL7013 no afectó la actividad de los agentes que se dirigen a vías conocidas y bien caracterizadas dentro de las bacterias.

Ejemplo 9: Tratamiento *in vivo* de la infección adenoviral

Después de la anestesia general y de la escarificación corneal, se inocularon conejos hembras NZW en cada ojo con 50 µL of 3,0 x $10^7$PFU/mL (1,5 x $10^6$ PFU/ojo) de Ad5 McEwen. Aproximadamente 3 horas después de la inoculación, se tomó un hisopado de la película lagrimal y de las superficies corneales y conjuntivales en tubos que contenían 1 mL de medio de crecimiento, y se cultivó para los adenovirus.

Los conejos se dividieron después en 3 grupos: SPL7013 al 3 % (n=5), vehículo (n=5) y 0,5 % de cidofovir en solución salina como control positivo (n=4). Con inicio en el día 1, los animales se trataron en cada ojo con 37 µL de fármaco 8 veces al día, o 37 µL de control dos veces al día. Los hisopados de la película lagrimal y de las superficies corneal y conjuntival se tomaron una hora después del tratamiento.

Tolerabilidad Antiviral:

Al día 3, se evaluaron todos los ojos para la tolerabilidad ocular de las formulaciones mediante el uso del método de puntuación de Draize (Draize, J. H., Woodward, G. y Calvery, H. O. Methods for the study of irritation and toxicity of articles applied topically to the skin and mucous membranes. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1944; 82:377-390) y los resultados se interpretaron mediante la puntuación máxima media total (Kay JH, Calandra JC. Interpretation of eye irritation tests. J Soc Cos Chem. 1962;13:281-289). Los 3 grupos calificaron como Mínimamente Irritante.

En conclusión, el SPL7013 no muestra toxicidad ocular significativa. La macromolécula tiene baja toxicidad y puede administrarse al ojo con baja o ninguna irritación.

Eficacia Antiviral:

Los títulos del Ad5 se determinaron en monocapas de células de carcinoma de pulmón A549 mediante el uso de un ensayo de placa estándar. Los cultivos oculares se diluyeron y se inocularon en monocapas de A549, y el virus se adsorbió durante 3 horas. Después de la adsorción, se añadió 1 mL de medio más metilcelulosa al 0,5 % a cada pocillo, y las placas se incubaron a 37 °C en una atmósfera de $CO_2$ al 5 % con vapor de agua por 7 días, después se tiñeron con violeta de genciana al 0,5 %, y se contaron las placas.

Tabla 12 PFU de Ad5

| | % de cultivos Positivos a Ad5 (n=8-10) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Día 0 | Día 1 | Día 3 | Día 4 |
| 3 % de SPL7013 | 100 % | 80 % | 80 % | 60 % |
| Vehículo | 100 % | 90 % | 100 % | 100 % |
| 0,5 % de Cidofovir | 100 % | 100 % | 100 % | 75 % |

El SPL7013 actúa antes que el cidofovir, dentro de las 8 horas después de recibir la primera dosis, y es más eficaz que el cidofovir en la reducción del título viral.

**REIVINDICACIONES**

1. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero para usar en el tratamiento o prevención de una infección microbiana en un ojo de un sujeto que comprende la administración tópica al ojo.

2. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con la reivindicación 1, en donde el sujeto es un ser humano.

3. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con la reivindicación 2, en donde el ser humano usa o ha estado usando lentes de contacto.

4. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 3, en donde el tratamiento comprende aliviar, reducir la gravedad o duración o detener la progresión de uno o más síntomas de una infección microbiana.

5. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con la reivindicación 4, en donde el síntoma es uno o más de enrojecimiento del ojo, picazón, irritación, fotofobia, dolor, deterioro de la visión, hinchazón, ojos llorosos y secreción.

6. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 5, en donde la infección microbiana es una infección viral y/o bacteriana concurrente o indiferenciada.

7. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con la reivindicación 6, en donde la infección vírica tiene como causa un virus que se selecciona de entre adenovirus y virus del herpes y la infección bacteriana tiene como causa una bacteria que se selecciona de entre *Neisseria* spp., *Chlamydia* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Haemophilus* spp.

8. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, en donde la cantidad eficaz es de 0,5 mg a 2,5 mg, y en donde el sujeto es un ser humano.

9. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 8, en donde la macromolécula o sal farmacéuticamente aceptable de esta se administra de 1 a 6 veces por día.

10. Una composición adecuada para la aplicación al ojo que comprende una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos superficiales de la generación más externa del dendrímero y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable que proporcione pH y osmolalidad compatibles con el ojo.

11. Una composición de conformidad con la reivindicación 10, en donde la composición no incluye un conservante adicional y/o el dendrímero es el ingrediente principal.

12. Una solución para lentes de contacto que comprende una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero.

13. Un sistema de suministro microbicida que comprende una lente de contacto y una macromolécula o una sal farmacéuticamente aceptable de esta que comprende un dendrímero de 1 a 8 generaciones con uno o más restos que contienen ácido sulfónico o sulfonato unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero.

14. La composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 13, para usar en el tratamiento o prevención de una infección microbiana en un ojo de un sujeto.

15. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 9, o la composición, solución para lentes de

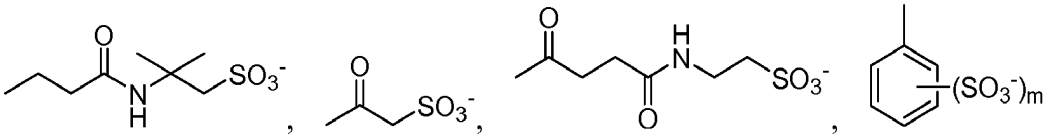
contacto o sistema de suministro de conformidad con la reivindicación 14, en donde la infección microbiana es conjuntivitis.

16. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con la reivindicación 15, o composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con la reivindicación 15, en donde la conjuntivitis es;
a) conjuntivitis viral causada por uno de los siguientes patógenos virales: adenovirus y virus del herpes, o
b) conjuntivitis bacteriana causada por uno o más de los siguientes patógenos bacterianos: *Neisseria* spp., *Chlamydia* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Haemophilus* spp.

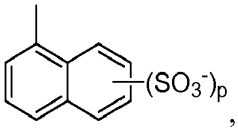
17. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con la reivindicación 15 o la reivindicación 16, o una composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con la reivindicación 15 o la reivindicación 16, en donde la infección microbiana tiene como causa un adenovirus subtipo 11, 8, 19, 37, 53, 54, 56 o 64, preferentemente 19 o 37.

18. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 15 a o la 17, o composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 15 a la 17, en donde la conjuntivitis se selecciona del grupo que consiste en conjuntivitis viral, conjuntivitis bacteriana, queratoconjuctivitis epidémica, conjuntivitis epidémica aguda, fiebre faringoconjuntival, ojo rosado, queratoconjuntivitis, conjuntivitis de la piscina, conjuntivitis granular y conjuntivitis hemorrágica aguda.

19. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 9, o de la 15 a la 18, o la composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 18, en donde el resto que contiene ácido sulfónico se selecciona entre:
$-NH(CH_2)nSO_3-$, $-(CH_2)nSO_3-$,

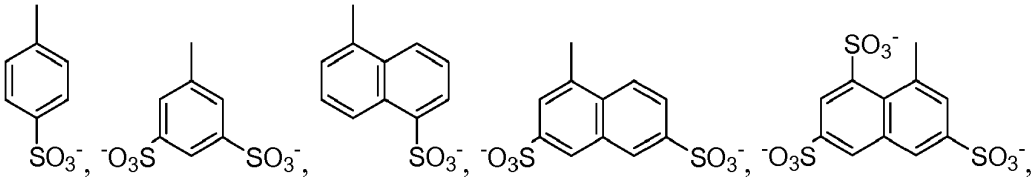


y

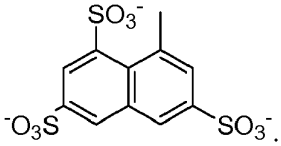


en donde n es cero o es un número entero de 1-20, m es un número entero 1 o 2 y p es un número entero de 1 a 3.

20. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con la reivindicación 19, o la composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con la reivindicación 19, en donde el resto que contiene ácido sulfónico se selecciona de entre:

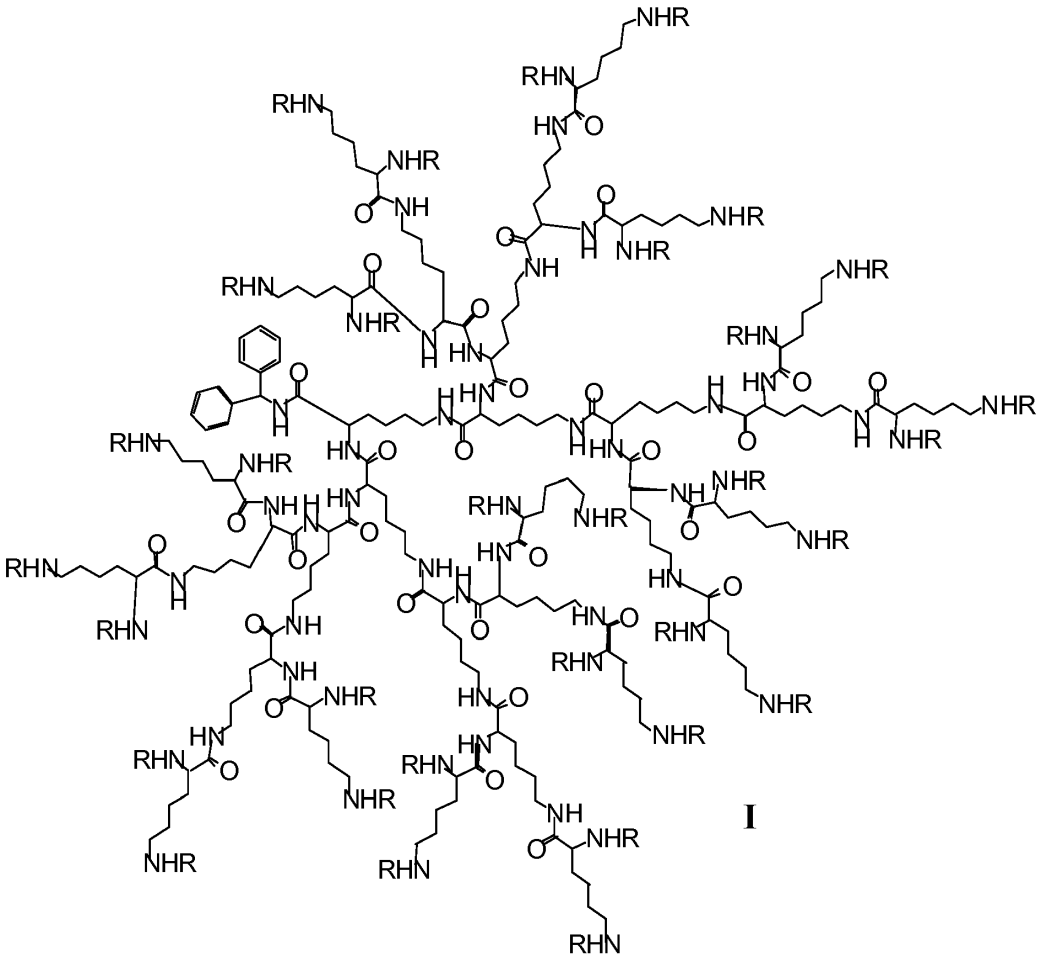


o



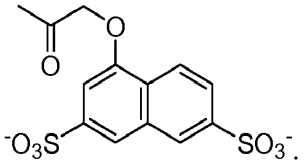
21. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 9, o de la 15 a la 20, o la composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 20, en donde el dendrímero tiene unidades de construcción de lisina.

22. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 9, o de la 15 a la 21, o la composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 21, en donde el dendrímero es



I

en donde R es



23. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 9, o de la 15 a la 22, o la composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 22, en donde la macromolécula o sal farmacéuticamente aceptable de esta se administra con un agente antiviral, un antibiótico, un antiinflamatorio o un corticosteroide.

24. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 9, o de la 15 a la 23, o la composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones de la 10 a la 23, en donde el antibiótico es amikacina, azitromicina, cefliximа, cefoperazona, cefotaxima, ceftazadime, ceftizoxima, ceftrioxona, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, colistina, domeclociclina, eritromicina, gentamicina, mafenida, metaciclina, neomicina, norfloxacina, ofloxacina, oxitetraciclina, polimixina B, pirimetamina, rifaximina, sulfadiazina de plata, sulfacetamida, sulfasoxazol, tetraciclina o tobramicina.

25. Una cantidad eficaz de una macromolécula o de una sal farmacéuticamente aceptable de esta para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 9, o de la 15 a la 24, o la composición, solución para lentes de contacto o sistema de suministro de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 24, en donde la macromolécula o la sal farmacéuticamente aceptable de esta se encuentra en una composición del 0,5 % p/p al 10 % p/p o del 1 % al 3 %.