



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 715 509

61 Int. Cl.:

A61K 8/36 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01) A61K 8/06 (2006.01) A61K 31/015 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 29.01.2016 E 16153502 (6)
 Fecha y número de publicación de la concesión europea: 23.01.2019 EP 3199143

(54) Título: Composiciones acuosas de compuestos de ácido perílico

Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: **04.06.2019**

(73) Titular/es:

B.R.A.I.N. BIOTECHNOLOGY RESEARCH AND INFORMATION NETWORK AG (100.0%) Darmstädter Strasse 34-36 64673 Zwingenberg, DE

(72) Inventor/es:

REHDORF, JESSICA y KLEBER, ALICE

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

DESCRIPCIÓN

Composiciones acuosas de compuestos de ácido perílico.

La presente invención se refiere a composiciones de compuestos de ácido perílico, usos terapéuticos y no terapéuticos de los compuestos y composiciones, así como a un método de preparación de la composición.

5 Técnica anterior

15

25

30

Existe una necesidad constante en la industria de sustancias que tengan propiedades conservantes que se puedan usar en cantidades muy bajas. Estas sustancias deben ser fáciles de producir, estables y disponibles en alta calidad. Cientos o incluso miles de conservantes diferentes son conocidos en la técnica.

El ácido perílico se puede producir por conversión de limoneno usando una cepa bacteriana tolerante a los solventes de *Pseudomonas putida*. Un ejemplo de dicho proceso de producción se da en Speelmans G et al., Appl Microbiol Biotechnol (1998) 50: 538-544.

El ácido perílico y algunos derivados son conocidos de la técnica. El documento DE 103 08 278 A1 describe el ácido perílico y su aplicación como un ingrediente activo contra microorganismos, incluyendo bacterias, levaduras y hongos. El uso del ácido perílico como conservante también se describe. Sin embargo, ninguna indicación del valor de pH de las composiciones se describe en el documento DE 103 08 278 A1. Las composiciones usadas en este documento se basan en dimetilsulfóxido y no en agua. Por consiguiente, los resultados mostrados en este no pueden proporcionar ninguna información útil para el uso práctico de composiciones que contienen ácido perílico y sus derivados. Las composiciones específicas o sales útiles de ácido perílico no se describen.

El documento US 2010/0305214 A1 describe el uso de ácido perílico para aumentar la reparación del tejido y disminuir la inflamación en el tejido. Los ejemplos se refieren únicamente al alcohol perílico y al limoneno. No se describen composiciones específicas.

El documento DE 103 35 634 A1 describe composiciones que pueden contener ácido perílico. Sin embargo, no se describe que las composiciones tengan un pH en el intervalo desde 2 a < 6.5. Además, el documento carece de divulgación específica de ácido perílico en un determinado producto. En su lugar, el ácido perílico se describe solo como uno de los varios posibles ingredientes.

Tres problemas principales han impedido el uso generalizado de compuestos de ácido perílico en la técnica. Los compuestos de ácido perílico tienen una solubilidad limitada en agua y tuvieron que usarse en cantidades bastante altas para ser efectivos y la estabilidad del compuesto activo fue limitante. De este modo, las altas cantidades requeridas para lograr el efecto deseado no podrían disolverse en composiciones acuosas debido a la baja solubilidad en agua del compuesto. Un enfoque que se ha intentado anteriormente es la derivación del ácido perílico para mejorar la eficacia y/o solubilidad del mismo.

Es un objeto de la invención proporcionar composiciones que sean resistentes al deterioro microbiano durante un período muy largo mientras que contienen solo muy pequeñas proporciones de conservantes.

Los inventores de la presente invención han encontrado ahora que las composiciones de esta invención aumentan eficazmente la actividad de los compuestos de ácido perílico, su solubilidad en agua y la vida útil de las composiciones que contienen los compuestos. Los inventores también han demostrado que los compuestos de ácido perílico específicos tienen una estabilidad muy alta en comparación con otros compuestos de ácido perílico. De este modo, las composiciones de esta invención pueden contener cantidades relativamente pequeñas de compuestos de ácido perílico.

40 Descripción de la invención

Composiciones

En un aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende

- al menos un compuesto de ácido perílico seleccionado del grupo que consiste en ácido perílico, una o más sales de ácido perílico, uno o más ésteres hidrolizables de ácido perílico, yo uno o más éteres hidrolizables de ácido perílico, y
- agua,

45

50

en la que la composición tiene un pH en el intervalo desde 2 a < 6.5.

Ahora se ha encontrado sorprendentemente que los compuestos de esta invención tienen una actividad significativamente incrementada cuando se usan al nivel de pH apropiado y los compuestos prolongan efectivamente la vida útil de los productos que contienen los compuestos al nivel de pH apropiado. Hasta ahora, los compuestos de ácido perílico no se han usado ampliamente en composiciones debido a la falta de estabilidad a largo plazo del

compuesto de ácido perílico y siendo necesarias grandes cantidades de compuesto para lograr los efectos deseados. La estabilidad a largo plazo de los compuestos de ácido perílico es particularmente importante cuando el compuesto se usa como conservante. Los conservantes se usan para impartir estabilidad a largo plazo a las composiciones. Por consiguiente, los propios compuestos deben ser estables. Se ha encontrado ahora que establecer el valor de pH en una composición en un intervalo según la presente invención proporciona estabilidad a largo plazo a la composición, mientras que los compuestos de ácido perílico se pueden usar en cantidades comparativamente bajas. En particular, el rendimiento antimicrobiano de los compuestos de ácido perílico de esta invención se incrementa hasta tal punto que la solubilidad limitada de los compuestos no restringe el uso del compuesto en el intervalo desde pH deseado.

Por supuesto, la estabilidad a largo plazo se otorga a la composición incluso si el compuesto de ácido perílico no se usa para ese propósito específico. La composición se beneficiará de la función conservadora del compuesto en cualquier caso.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

El intervalo de pH deseado también proporciona una solubilidad mejorada y una eficacia antimicrobiana de los compuestos de ácido perílico. Si el pH se establece en el intervalo desde pH de la invención, se logra una combinación equilibrada de alta actividad antimicrobiana y solubilidad. En esta descripción, todas las mediciones se realizan a 20 °C a menos que el método indique o requiera lo contrario.

Las composiciones de esta invención contienen preferiblemente el compuesto de ácido perílico en una cantidad desde 0.00011 a 10% (p/v), más preferiblemente desde 0.0001% a 2% (p/v) y más preferiblemente desde 0.001 a 1% (p/v). Más preferiblemente, el compuesto está contenido en cantidades que varían desde 0.01% a 0.8% (p/v) de la composición total. Los inventores han encontrado que los compuestos de ácido perílico de esta invención se pueden usar en concentraciones muy bajas en el intervalo desde pH de esta invención porque la actividad antimicrobiana se incrementa en gran medida. Por ejemplo, la presente invención permite el uso de compuestos de ácido perílico con una actividad antimicrobiana muy alta a una concentración del compuesto de ácido perílico de menos del 2% (p/v), particularmente menos del 1% (p/v) o incluso menos del 0.8% (p/v). En realizaciones preferidas, la cantidad de compuesto de ácido perílico es incluso menos del 0.5% (p/v) o menos del 0.2% (p/v).

Los inventores han descubierto ahora que la eficacia antimicrobiana de los compuestos de ácido perílico es notablemente dependiente del pH. Si se usa una cierta cantidad de compuesto de ácido perílico, será más eficaz en un intervalo de pH de 2 a <6.5, incluso más eficaz a un pH de 3 a <6.5 o de 4 a <6.5 y más eficaz a un pH de 4.5 a 6.5. Un pH deseable es al menos 2, más particularmente al menos 3, preferiblemente al menos 4 y más preferido al menos 4.5. A un pH por debajo del valor deseado, la eficacia del compuesto disminuirá fuertemente de nuevo. Si el pH es demasiado alto, la eficacia también disminuirá. De este modo, el pH debería ser menos del 6.5, y más preferiblemente menos de o igual a 6. Por consiguiente, si se usa al pH más efectivo, la cantidad total de compuesto de ácido perílico en las composiciones se pueden reducir.

En realizaciones preferidas, la cantidad máxima de compuesto de ácido perílico (p/v) usada en las composiciones se determina según la siguiente ecuación: cpa = 0.1% (p/v) * InpH ± 25%

El uso de esta ecuación para encontrar la cantidad correcta de compuesto de ácido perílico para una composición específica conducirá a una eficacia optimizada del compuesto. Es sorprendente que el rendimiento del ácido perílico antimicrobiano muestre una dependencia tan extraordinaria del pH. En realizaciones preferidas, la cantidad de compuesto de ácido perílico usado en las composiciones de esta invención está en el área desde 0.0001 a 0.2% (p/v) en un intervalo de pH desde 4.5 a 5.5. Esto ilustra que la cantidad de ácido perílico se puede ajustar a valores extremadamente bajos en el intervalo desde pH optimizado. En la técnica anterior, se han sugerido concentraciones de hasta el 10% en peso. Sin embargo, tales cantidades altas no son solubles en agua.

El compuesto de ácido perílico se selecciona del grupo que consiste en ácido perílico, sales de ácido perílico, ésteres hidrolizables de ácido perílico y/o éteres hidrolizables de ácido perílico. En una realización preferida, el compuesto de ácido perílico se selecciona de ácido perílico y sus sales, en particular sus sales de metales alcalinos. Un compuesto de ácido perílico preferido es el ácido perílico. El compuesto de ácido perílico se selecciona preferiblemente de las sales de ácido perílico, en particular las sales de amonio, metales alcalinos y metales alcalinotérreos. Los presentes inventores han encontrado que las sales de ácido perílico, en particular las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, exhiben una estabilidad superior a largo plazo. En realizaciones preferidas, el compuesto de ácido perílico se selecciona de ácido perílico, perilato de sodio, perilato de potasio, perilato de magnesio y mezclas de los mismos. En realizaciones particularmente preferidas, el compuesto de ácido perílico se selecciona de ácido perílico y perilato de sodio.

Las sales de ácido perílico también tienen la ventaja de que sirven como un sistema de solución reguladora en la composición, en particular cuando el ácido perílico está presente en la composición junto con una sal de ácido perílico tal como una sal de amonio, metal alcalino y/o alcalinotérreo. En realizaciones preferidas, no es necesario que se añada ningún otro de solución reguladora a la composición, en particular si se usan las propiedades de solución reguladora del ácido perílico. Preferiblemente, las composiciones de esta invención no contienen ninguna solución reguladora, en particular ninguna solución reguladora de bicarbonato. Cuando el pH de la composición se establece a valores óptimos, se maximiza la capacidad amortiguadora de los compuestos de ácido perílico.

El compuesto de ácido perílico se usa preferiblemente en forma de su enantiómero R, su enantiómero S o cualquier mezcla de los mismos, incluidas las mezclas racémicas.

Se cree que el valor de pH de las composiciones de esta invención proporciona una mayor actividad, solubilidad y estabilidad del compuesto de ácido perílico. El pH de las composiciones de esta invención es preferiblemente de ácido, esto es, pH 2, a menos de pH 6.5. Se cree que el pH proporciona una porción relevante del compuesto de ácido perílico que está protonado y, por lo tanto, más hidrofóbico que la forma desprotonada del compuesto de ácido perílico. Así, el compuesto puede pasar más fácilmente a través de las membranas de las células. Aún en este intervalo, una cantidad relevante está desprotonada y la molécula cargada tiene buena solubilidad en agua. El intervalo de pH de esta invención proporciona una composición optimizada con respecto a la solubilidad, eficacia y estabilidad del compuesto de ácido perílico. Los inventores han realizado muchos experimentos para encontrar la concentración donde el compuesto de ácido perílico tiene una buena solubilidad en agua y todavía muestra una alta actividad antimicrobiana contra bacterias, hongos y levaduras relevantes. Los experimentos en la sección experimental a continuación muestran la actividad de los compuestos de ácido perílico y composiciones contra una selección de microorganismos. Las pruebas de eficacia de conservación muestran que la actividad es suficiente para ejercer un fuerte efecto de conservación.

5

10

15

20

40

45

50

55

60

Los inventores han encontrado que se puede lograr una optimización adicional con respecto a las propiedades de conservación mejoradas ajustando el valor de pH en un intervalo desde pH 3 a <6.5. Ajustar el valor de pH a valores menos ácidos aumenta la cantidad de compuesto de ácido perílico desprotonado en la composición. Los inventores descubrieron que esto aumenta aún más la vida útil de las composiciones que contienen compuestos de ácido perílico como conservantes, ya que la solubilidad aumenta a un pH más alto mientras se mantiene la eficacia del compuesto de ácido perílico en un nivel alto. Un intervalo de pH optimizado es de 4 a <6.5, en particular desde 4.5 a 6.5, o hasta 6. También se ha encontrado que la solubilidad y la eficacia del compuesto de ácido perílico aumentan a los valores de pH indicados. El grado en que la eficacia de los compuestos de ácido perílico aumenta por el ajuste del pH es notable y sorprendente.

Las composiciones de esta invención contienen agua. Los microorganismos necesitan agua para crecer. De este modo, las composiciones que contienen agua son propensas al deterioro microbiano. Las composiciones de esta invención proporcionan una forma de conservar el agua que contiene composiciones de una manera eficaz. Las composiciones preferidas de esta invención son a base de agua. En el contexto de esta invención, "a base de agua" significa que el agua es el ingrediente principal en la composición, esto es, el ingrediente que está presente en la proporción más alta cuando se compara con los otros ingredientes en la composición. En realizaciones preferidas, la cantidad de agua en las composiciones de esta invención es al menos el 10% en peso, o al menos el 20% en peso de la composición, más preferido al menos el 30% en peso, más preferido al menos el 40% en peso, más preferido al menos 50% en peso o al menos 70% en peso, o incluso al menos 75% en peso.

En realizaciones particulares, las composiciones de esta invención son composiciones en las que el agua o una solución acuosa forman una fase continua. Esto es cierto para suspensiones acuosas y emulsiones de aceite en agua y emulsiones de agua en aceite. Estas emulsiones son muy difíciles de proteger contra el deterioro microbiano. Los compuestos de ácido perílico de esta invención son excelentes conservantes para tales composiciones, si se usa un pH apropiado. Otras composiciones que están dentro del alcance de esta invención son composiciones que contienen surfactantes.

En realizaciones preferidas, la composición de esta invención se selecciona de productos alimenticios, envases de alimentos, bebidas, alimentos para animales, productos medicinales, productos farmacéuticos, productos cosméticos, productos para el hogar, productos fitosanitarios, productos industriales y técnicos. Los productos alimenticios apropiados incluyen productos alimenticios que contienen agua, en particular productos lácteos tales como yogur, cuajada, queso, requesón, queso rallado; pero también mermelada, gelatina. El envase de alimentos apropiado incluye un envase de alimentos que contiene agua y un envase de alimentos que se ha tratado superficialmente con las composiciones de la invención. También incluye carcasas, sobres, cubiertas, cáscaras y envoltorios dentro de los cuales se pueden envasar los alimentos. Las realizaciones preferidas incluyen envases de alimentos para queso y productos de embutidos, incluyendo las cáscaras de queso y las cubiertas de embutidos. Las bebidas apropiadas incluyen bebidas carbonatadas y no carbonatadas, en particular limonada, cerveza, agua con gas, agua mineral, bebidas energéticas, leche, jugo de frutas, jugo de verduras, batidos y yogur para beber, pero también vino, vino espumoso, vino de fruta, licor y espíritu. Los alimentos para animales apropiados incluyen alimentos para animales que contienen agua y alimentos para mascotas. Los dispositivos médicos apropiados incluyen dispositivos médicos de clase lla. Las realizaciones preferidas incluyen productos medicinales que contienen agua, en particular apósitos para heridas y productos de limpieza de heridas y soluciones para lentes de contacto. Los productos farmacéuticos apropiados incluyen productos farmacéuticos que contienen agua. Las realizaciones preferidas incluyen gotas para los ojos, gotas para la nariz, aerosoles, infusiones, invecciones, soluciones, emulsiones, dispersiones, pastas, geles, ungüentos, cápsulas y formulaciones efervescentes. Los productos cosméticos preferidos incluyen productos cosméticos que contienen agua. Las realizaciones preferidas incluyen cremas, lociones, ungüentos, barras desodorantes, pulverizadores de bomba, pasta de dientes, enjuaque bucal, champú, jabón, gel de ducha, aerosoles, pulverizadores, soluciones, emulsiones, dispersiones y pastas. Los productos para el hogar preferidos incluyen productos para el hogar que contienen agua, en particular aquellos

usados para la limpieza o el mantenimiento de aparatos domésticos que usan agua como lavadoras, lavavajillas, secadoras, máquinas de café, cocinas de vapor, etc. Las realizaciones preferidas incluyen detergentes, agentes de lavado y agentes de limpieza. Los productos técnicos preferidos incluyen productos técnicos que contienen agua. Las realizaciones preferidas incluyen pinturas, lacas, lubricantes, recubrimientos, materiales de construcción, masa de sellado, adhesivos, pasta y pegamento.

5

35

40

45

50

Las composiciones de esta invención comprenden preferiblemente limoneno en una concentración de menos del 50 mM, preferiblemente menos del 25 mM y más preferiblemente menos del 10 mM. En realizaciones preferidas, las composiciones de esta invención no comprenden limoneno en cantidades detectables.

Las composiciones de esta invención contienen preferiblemente muy pocos microorganismos. Las composiciones de esta invención contienen el compuesto de ácido perílico con el fin de proporcionar una excelente calidad microbiana. Por lo tanto, la cantidad total de bacterias presentes en las composiciones está preferiblemente por debajo de 10.000, más preferiblemente por debajo de 10.000, lo más preferiblemente por debajo de 100 cfu/mL, esto es particularmente cierto para las bacterias *Pseudomonas putida*.

Las composiciones pueden comprender adicionalmente al menos una sustancia potenciadora de la actividad que potencia la actividad antimicrobiana del compuesto de ácido perílico. Se ha encontrado que la combinación del compuesto de ácido perílico y la sustancia que mejora la actividad en las composiciones de la presente invención está acompañada por un sorprendente efecto sinérgico, de modo que se puede lograr una inhibición eficaz del crecimiento microbiano a concentraciones extremadamente bajas tanto de compuesto de ácido perílico como de la sustancia potenciadora de la actividad.

20 Preferiblemente, la cantidad (p/v) de sustancia potenciadora de la actividad en las composiciones de la presente invención es al menos el 10% de la cantidad de compuesto de ácido perílico en las composiciones. Más preferiblemente, la cantidad (p/v) de sustancia potenciadora de la actividad en las composiciones de la presente invención es al menos tan alta como la cantidad (p/v) del compuesto de ácido perílico en las composiciones. Más preferiblemente, la cantidad de sustancia potenciadora de la actividad es al menos dos veces más alta, más 25 preferiblemente al menos tres veces más alta, más preferiblemente al menos cuatro veces más alta, más preferiblemente al menos cinco veces más alta, incluso más preferiblemente al menos diez veces más alta como la cantidad de compuesto de ácido perílico en las composiciones. Sin embargo, la cantidad de sustancia potenciadora de la actividad tampoco debe ser demasiado alta. Preferiblemente, la cantidad de sustancia potenciadora de la actividad en las composiciones es como máximo 1000 veces, más preferiblemente como máximo 500 veces, más 30 preferiblemente como máximo 100 veces, más preferiblemente como máximo 50 veces, más preferiblemente como máximo 35 veces, más preferiblemente como máximo 20 veces tan alta como la cantidad de compuesto de ácido perílico en las composiciones.

La proporción preferida de la cantidad (p/v) de sustancia potenciadora de la actividad en las composiciones a la cantidad (p/v) de compuesto de ácido perílico en las composiciones puede variar dependiendo de la sustancia potenciadora de la actividad. Por ejemplo, cuando la sustancia potenciadora de la actividad es un 1,2-diol, la proporción de la cantidad de sustancia potenciadora de la actividad de compuesto de ácido perílico está preferiblemente en el intervalo desde 0.1 a 50, más preferiblemente desde 1 a 10 Cuando la sustancia potenciadora de la actividad es un ácido carboxílico, la proporción de la cantidad de sustancia potenciadora de la actividad a la cantidad de compuesto de ácido perílico está preferiblemente en el intervalo desde 1 a 100, más preferiblemente desde 5 a 50. Cuando la sustancia potenciadora de la actividad es un alcohol aromático, la proporción de la cantidad de sustancia potenciadora de la actividad de compuesto de ácido perílico está preferiblemente en el intervalo desde 2 a 200, más preferiblemente desde 5 a 50.

Preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad es un compuesto orgánico. Preferiblemente, el compuesto orgánico comprende al menos dos átomos de carbono, más preferiblemente al menos tres átomos de carbono, más preferiblemente al menos cinco átomos de carbono, más preferiblemente al menos cinco átomos de carbono, más preferiblemente al menos seis átomos de carbono, más preferiblemente al menos ocho átomos de carbono. Sin embargo, el compuesto orgánico no debe ser demasiado grande. De lo contrario, la solubilidad del compuesto orgánico podría ser demasiado baja. Por lo tanto, el compuesto orgánico comprende preferiblemente como máximo 16 átomos de carbono, más preferiblemente como máximo 12 átomos de carbono, más preferiblemente como máximo 10 átomos de carbono.

Preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad comprende al menos un residuo de oxígeno terminal. En una realización, las sustancias potenciadoras de la actividad podrían ser monoalcoholes, preferiblemente monoalcoholes aromáticos. Los monoalcoholes preferidos se seleccionan entre 2-fenoxietanol, 2-feniletanol y alcohol bencílico.

Sin embargo, resultó que, más preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad comprende al menos dos residuos de oxígeno terminales. Preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad comprende exactamente dos residuos de oxígeno terminales. En realizaciones alternativas, la sustancia potenciadora de la actividad comprende más de dos residuos de oxígeno terminales. En tales realizaciones alternativas, la sustancia potenciadora de la actividad comprende de preferencia exactamente tres residuos de oxígeno terminales. En

realizaciones alternativas menos preferidas, la sustancia potenciadora de la actividad comprende preferiblemente seis residuos de oxígeno terminales, más preferiblemente cinco residuos de oxígeno terminales, más preferiblemente cuatro residuos de oxígeno terminales.

Un residuo de oxígeno terminal según la presente invención es un residuo de oxígeno que se une covalentemente a exactamente un átomo de carbono dentro del compuesto orgánico. Los residuos terminales de oxígeno también podrían unirse a hidrógeno. Sin embargo, preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad comprende como máximo dos grupos hidroxilo. El siguiente esquema muestra ejemplos de residuos de oxígeno terminales, en los que R representa un grupo arbitrario unido al (a los) residuo (s) de oxígeno terminal a través de enlaces carbono a oxígeno.

$$O = R$$
 R
 $O \rightarrow H$

10

20

25

5

En contraste con los residuos de oxígeno terminales, los residuos de oxígeno que se unen covalentemente a dos átomos de carbono se denominan residuos de oxígeno de puente según la presente invención. El siguiente esquema muestra un residuo de oxígeno de puente, en donde R y R' representan grupos arbitrarios unidos al residuo de oxígeno de puente a través de enlaces carbono a oxígeno.

15 R-O-R'

Preferiblemente, los residuos de oxígeno terminales están presentes en la sustancia potenciadora de la actividad en estrecha proximidad. "Estar presente en estrecha proximidad" significa según la presente invención que los residuos de oxígeno terminales están unidos a átomos de carbono que están separados como máximo por dos, más preferiblemente como máximo por un átomo de carbono que no está unido a un residuo de oxígeno terminal. Más preferiblemente, los residuos de oxígeno terminales están unidos a átomos de carbono adyacentes o incluso al mismo átomo de carbono. Los residuos de oxígeno terminales que están unidos a átomos de carbono adyacentes o al mismo átomo de carbono dentro de la sustancia potenciadora de la actividad forman un grupo de oxígeno terminal (grupo TO) junto con los átomos de carbono correspondientes y los residuos de hidrógeno opcionales según la presente invención. Los inventores plantean la hipótesis de que la presencia de un grupo TO es importante para lograr el efecto sinérgico deseado. Los ejemplos de grupos TO se muestran en el siguiente esquema, en el que R representa un grupo arbitrario unido al grupo TO mediante un enlace carbono a oxígeno. Los ejemplos específicos de grupos TO incluyen el grupo diol vecinal, las α-hidroxil cetonas y el grupo ácido carboxílico.

$$H = 0$$
 $O = H$
 $O = 0$
 $O = 0$

30

35

Preferiblemente, los residuos de oxígeno terminales están presentes en la sustancia potenciadora de la actividad en forma de al menos un grupo TO. Según la presente invención, un grupo TO comprende al menos dos residuos de oxígeno terminales, que están presentes en posición geminal o en posición vecinal, esto es, residuos de oxígeno terminal unidos a los mismos átomos de carbono (geminal) o adyacentes (vecinales) dentro del sustancia potenciadora de la actividad. En realizaciones alternativas, los residuos de oxígeno terminales no están presentes en forma de grupos TO. En tales realizaciones alternativas, los residuos de oxígeno terminales están presentes en

forma aislada, esto es, los residuos de oxígeno terminales están unidos a átomos de carbono que no están directamente unidos entre sí.

Preferiblemente, el grupo TO se selecciona del grupo que consiste en el grupo málico, el grupo glicol y el grupo carboxilo como se explica a continuación. Más preferiblemente, el grupo TO se selecciona del grupo que consiste en el grupo glicol y el grupo carboxilo. Preferiblemente, el grupo glicol es un grupo glicol terminal.

5

10

20

40

45

50

55

Por consiguiente, la sustancia potenciadora de la actividad se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en 1,2-dioles, ácidos carboxílicos y derivados de los mismos. Más preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad se selecciona del grupo que consiste en alcano-1,2-dioles, ácidos carboxílicos y derivados de los mismos. Más preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad se selecciona del grupo que consiste en hexano-1,2-diol, octano-1,2-diol, decano-1,2-diol, ácido levulínico, ácido p-anísico, ácido propiónico, ácido pelargónico, ácido málico, benzoato de sodio y sorbato de potasio. Incluso más preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad se selecciona del grupo que consiste en octano-1,2-diol, ácido levulínico, benzoato de sodio y sorbato de potasio.

Preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad comprende exactamente un grupo TO. En realizaciones alternativas, la sustancia potenciadora de la actividad comprende al menos dos grupos TO, de preferencia exactamente dos grupos TO. Preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad comprende como máximo tres grupos TO.

Según la presente invención, un grupo TO con residuos de oxígeno terminales en posición vecinal podría comprender tres residuos de oxígeno terminales. Por ejemplo, un grupo carboxilo (C(O)OH) podría estar unido a un átomo de carbono que está unido a un grupo hidroxilo. Una sustancia potenciadora de la actividad preferida que comprende dicho grupo TO es el ácido málico. Por lo tanto, dicho grupo TO se denomina "grupo málico" según la presente invención.

Sin embargo, preferiblemente, los grupos TO comprenden exactamente dos residuos de oxígeno terminales según la presente invención. Un grupo TO especialmente preferido con residuos de oxígeno terminales en posición vecinal es el grupo glicol (C(OH)C(OH)). Especialmente de preferencia, el grupo TO es un grupo glicol terminal, esto es, un grupo glicol, en el que al menos uno de los átomos de carbono no está unido a un segundo átomo de carbono. Preferiblemente, las sustancias potenciadoras de la actividad que comprenden un grupo glicol no comprenden ningún residuo de oxígeno terminal adicional. Las sustancias potenciadoras de actividad preferidas que comprenden dicho grupo TO son 1,2-dioles. Las sustancias potenciadoras de actividad especialmente preferidas son los alcano-1,2-dioles. Preferiblemente, los alcanos-1,2-dioles tienen al menos 6 átomos de carbono. Preferiblemente, los alcanos-1,2-dioles tienen como máximo 12 átomos de carbono. Preferiblemente, los alcanos-1,2-dioles se seleccionan del grupo que consiste en hexano-1,2-diol, octano-1,2-diol y decano-1,2-diol. Más preferiblemente, el alcano-1,2-diol es el octano-1,2-diol.

Más preferidos que los grupos TO con residuos de oxígeno terminales en posición vecinal son los grupos TO con residuos de oxígeno terminales en posición geminal. Más preferido, el grupo TO con residuos de oxígeno terminales en posición geminal es un grupo carboxilo. Preferiblemente, la sustancia potenciadora de la actividad comprende como máximo dos grupos carboxilo, más preferiblemente como máximo un grupo carboxilo.

Las sustancias potenciadoras de actividad preferidas se seleccionan de ácidos orgánicos, particularmente ácidos carboxílicos, y derivados de los mismos. Según la presente invención, los derivados de ácidos carboxílicos se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en sales de ácidos carboxílicos, ésteres hidrolizables de ácidos carboxílicos y/o éteres hidrolizables de ácidos carboxílicos. En una realización preferida, los derivados de ácidos carboxílicos son sales de los mismos, en particular sus sales de metales alcalinos. Los derivados de ácidos carboxílicos se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en sales de amonio, metales alcalinos y metales alcalinotérreos de los mismos. Las sales de sodio, potasio, amonio, calcio y magnesio son las más preferidas. En realizaciones particularmente preferidas, los derivados de ácidos carboxílicos son sales de sodio o potasio de los mismos.

Preferiblemente, los ácidos carboxílicos son monoácidos. Preferiblemente, los ácidos carboxílicos tienen un peso molecular de más de 50 g/mol, más preferiblemente más de 65 g/mol, más preferiblemente más de 75 g/mol, más preferiblemente más de 100 g/mol. Preferiblemente, los ácidos carboxílicos tienen un peso molecular de menos de 250 g/mol, más preferiblemente menos de 200 g/mol, más preferiblemente menos de 160 g/mol, más preferiblemente menos de 150 g/mol.

Preferiblemente, los ácidos carboxílicos tienen un pKa de al menos 2.5 más preferiblemente al menos 3.0, más preferiblemente al menos 3.5, más preferiblemente al menos 4.0. Preferiblemente, los ácidos carboxílicos tienen un pKa de como máximo 6.5, más preferiblemente, como máximo 6,0, más preferiblemente como máximo, 5.5, más preferiblemente como máximo 5.0.

Preferiblemente, los ácidos carboxílicos se seleccionan del grupo que consiste en ácido levulínico, ácido p-anísico, ácido propiónico, ácido pelargónico, ácido málico, ácido benzoico y ácido sórbico. Más preferiblemente, los ácidos

carboxílicos se seleccionan del grupo que consiste en ácido levulínico, ácido p-anísico, ácido propiónico, ácido pelargónico, ácido benzoico y ácido sórbico. Incluso más preferiblemente, los ácidos carboxílicos se seleccionan del grupo que consiste en ácido levulínico, ácido benzoico y ácido sórbico.

Usos de compuestos de ácido perílico y composiciones.

- Las composiciones de esta invención son útiles para un gran número de aplicaciones. En un aspecto de esta invención, los compuestos de ácido perílico como se definen en este documento se pueden usar para la conservación, para la prevención contra el deterioro microbiano, para el tratamiento terapéutico contra la infección microbiana, para el tratamiento cosmético y/o el cuidado contra la infección microbiana, como fungicidas, o como herbicidas.
- Con independencia del uso específico, los compuestos de ácido perílico se usarán preferiblemente en una cantidad desde 0.00001% a 10% (p/v), más preferiblemente desde 0.0001% a 2% (p/v), más preferiblemente desde 0.001% a 1% y la más preferida desde 0.01% a 0.8% (p/v) de la composición total dentro de la cual se usa. La cantidad máxima puede ser tan baja como <0.5% (p/v) o <0.2% (p/v).
- El producto o composición en o sobre el que se usa el compuesto o composición de ácido perílico tiene preferiblemente un valor de pH de 2 a <6.5, preferiblemente en un intervalo de pH 3 a <6.5. Ajustar el valor de pH a valores menos ácidos aumenta la cantidad de compuesto de ácido perílico desprotonado en la composición. Los inventores descubrieron que esto aumenta aún más el efecto de conservación de los compuestos de ácido perílico en las composiciones. Un intervalo de pH optimizado es desde 4 a <6.5, en particular desde 4.5 a 6.5, o hasta 6. También se ha encontrado que la solubilidad del compuesto de ácido perílico aumenta a los valores de pH indicados.

Conservación

25

30

35

55

En realizaciones preferidas, los compuestos de ácido perílico de esta invención se usan para la conservación. Esto puede incluir la conservación de composiciones según esta invención. Las composiciones que se pueden conservar usando el compuesto de ácido perílico de esta invención incluyen productos alimenticios, envases de alimentos, bebidas, alimentos para animales, productos medicinales, productos farmacéuticos, productos cosméticos, productos para el hogar, productos fitosanitarios, productos industriales y técnicos.

Los productos alimenticios que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen productos alimenticios que contienen agua, en particular productos lácteos tales como yogur, cuajada, queso, requesón, queso rallado; pero también mermelada, y gelatina. Otras realizaciones incluyen la conservación de alimentos marinos tales como langostas, ostras, mejillones, pescados y camarones. Para lograr el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden preferiblemente al producto alimenticio o se aplican al producto alimenticio.

Los envases de alimentos que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen carcasas, sobres, cubiertas, cáscaras y envoltorios dentro de los cuales los alimentos pueden estar o envasarse. Las realizaciones preferidas incluyen envases de alimentos para queso y productos de embutidos, incluyendo las cáscaras de queso y las cubiertas de embutidos. Con el fin de lograr el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden o aplican preferiblemente a los envases de alimentos.

- Las bebidas que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen bebidas carbonatadas y no carbonatadas, en particular limonada, cerveza, agua con gas, agua mineral, bebidas energéticas, leche, jugo de frutas, jugo de vegetales, batidos y yogur para beber, pero también vino, vino espumoso, vino de frutas, licor y espíritu. Con el fin de conseguir el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden preferiblemente a la bebida.
- Los alimentos para animales que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen alimentos para animales que contienen agua. Las realizaciones preferidas incluyen alimentos para animales en particular alimentos para mascotas. Para lograr el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden preferiblemente al alimento para animales.
- Los dispositivos médicos que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen dispositivos médicos de clase lla. Las realizaciones preferidas incluyen productos medicinales que contienen agua, en particular apósitos para heridas y productos de limpieza de heridas y soluciones para lentes de contacto. Para lograr el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden o se aplican preferiblemente al producto medicinal.

Los productos farmacéuticos que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen productos farmacéuticos que contienen agua. Las realizaciones preferidas incluyen gotas para los ojos, gotas para la nariz, aerosoles, infusiones, inyecciones, soluciones, emulsiones, dispersiones, pastas, geles,

ungüentos, cápsulas y formulaciones efervescentes. Para lograr el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden preferiblemente al producto farmacéutico.

Los productos cosméticos que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen productos cosméticos que contienen agua. Las realizaciones preferidas incluyen cremas, lociones, ungüentos, pasta de dientes, barras desodorantes, pulverizadores de bomba, enjuague bucal, champú, jabón, gel de ducha, aerosoles, pulverizadores, soluciones, emulsiones, dispersiones y pastas. Para lograr el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden preferiblemente a la composición cosmética.

- Los productos para el hogar que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen productos para el hogar que contienen agua, en particular aquellos usados para la limpieza o el mantenimiento de aparatos domésticos que usan agua, tales como lavadoras, lavavajillas, secadoras, máquinas de café, cocinas de vapor. Las realizaciones preferidas incluyen detergentes, agentes de lavado y agentes de limpieza. Para lograr el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden preferiblemente al producto para el hogar.
- Los productos técnicos que se pueden conservar usando los compuestos de ácido perílico de esta invención incluyen productos técnicos que contienen agua. Las realizaciones preferidas incluyen pinturas, lacas, lubricantes, recubrimientos, materiales de construcción, masa de sellado, adhesivos, pasta y pegamento. Con el fin de lograr el efecto de conservación deseado, el compuesto de ácido perílico y/o las composiciones de esta invención se añaden preferiblemente al producto técnico.
- Los compuestos de ácido perílico de esta invención son particularmente útiles para la conservación de productos que contienen agua. Preferiblemente, el contenido de agua en las composiciones, en las que el compuesto o composición de ácido perílico se usa para fines de conservación es al menos 10% en peso, preferiblemente al menos 20% en peso, más preferido al menos 40% en peso, más preferido al menos el 60% en peso, o al menos el 70% en peso y más preferido al menos el 75% en peso. En realizaciones particulares, los productos que contienen agua son composiciones en las que el agua o una solución acuosa forman una fase continua. Esto es cierto para suspensiones acuosas y emulsiones de aceite en agua y emulsiones de agua en aceite. Las emulsiones de aceite en agua son muy difíciles de proteger contra el deterioro microbiano. Los compuestos de ácido perílico de esta invención son excelentes conservantes para tales composiciones, si se usa un pH apropiado. Otros productos que contienen agua que están dentro del alcance de esta invención son composiciones que contienen surfactantes.
- En realizaciones preferidas, los compuestos de ácido perílico o las composiciones de esta invención se usan como conservantes en emulsiones. Las emulsiones son medios difíciles con respecto a la conservación porque comprenden una fase lipófila e hidrófila. Muchos conservantes son lipófilos y, por lo tanto, se acumulan en la fase oleosa de una emulsión. Sin embargo, la fase que es más propensa al deterioro bacteriano es la fase acuosa o hidrófila. Los inventores han descubierto que, debido al ajuste del pH al intervalo deseado, la eficacia de conservación del conservante de la invención se maximiza en las emulsiones.

Usos antimicrobianos

5

Los compuestos de ácido perílico y las composiciones de esta invención se pueden usar como agentes y composiciones antimicrobianos. Se ha demostrado que los compuestos y composiciones de esta invención son activos contra bacterias, levaduras y mohos. Por consiguiente, es una realización preferida de esta invención usar los compuestos y composiciones de ácido perílico como agentes antimicrobianos. El uso de antimicrobianos incluye el uso terapéutico y el uso no terapéutico.

Uso terapéutico

40

45

55

- En una realización, los compuestos o composiciones de ácido perílico se usan como un agente antimicrobiano en un método terapéutico. En otras palabras, las composiciones y compuestos de esta invención se prefieren para uso en un método terapéutico. El método incluye preferiblemente la etapa de administrar a un sujeto una cantidad eficaz del compuesto de ácido perílico o de la composición de esta invención. La administración puede ser tópica, local y/o sistémica. El sujeto puede ser humano o no humano. Los sujetos preferidos son los mamíferos, en particular los humanos. En realizaciones preferidas, el método terapéutico no incluye terapia contra el cáncer. En realizaciones preferidas, las composiciones de esta invención no incluyen composiciones para uso en el tratamiento del cáncer.
- Las afecciones patológicas que se pueden tratar con los compuestos de ácido perílico y las composiciones de esta invención incluyen infecciones micóticas, infecciones bacterianas e inflamación. Las condiciones patológicas preferidas incluyen pie de atleta, hongos en las uñas, eccema, rosácea y caries.
 - El uso terapéutico incluye la aplicación de antimicrobianos contra infecciones nosocomiales, incluidas las causadas por MRSA, MRSE, ESBL y VRE. En otra realización, el uso de los compuestos y composiciones contra infecciones nosocomiales, incluidas las causadas por MRSA, MRSE, ESBL y VRE, no es terapéutico, pero incluye la aplicación como limpiadores o desinfectantes.

Uso no terapéutico

5

10

En una realización, los compuestos o composiciones de ácido perílico se usan como un agente antimicrobiano en un método no terapéutico. El método incluye preferiblemente la etapa de administrar a un sujeto o aplicar a un objeto una cantidad eficaz del compuesto de ácido perílico o de la composición de esta invención. La administración a un sujeto puede ser tópica, local y/o sistémica. La aplicación a un objeto puede ser superficial, por mezcla, recubrimiento, inmersión o impregnación.

El sujeto puede ser humano o no humano. Los sujetos preferidos son los mamíferos, en particular los humanos. Los compuestos y composiciones de esta invención se pueden usar para mejorar el equilibrio de la piel y el control del sebo. Las afecciones no patológicas que se pueden tratar con los compuestos de ácido perílico y las composiciones de esta invención incluyen afecciones cosméticas como halitosis, caspa, rosácea, piel de poros grandes e impuros, cuperosa, olor corporal y acné.

El uso no terapéutico incluye la aplicación del compuesto o composición de ácido perílico a un objeto. El objeto puede ser muebles, madera, piedra, metal, material de construcción, superficies en autos, fábricas y casas, filtros en aires acondicionados y otros.

Los compuestos y las composiciones de ácido perílico de esta invención también se pueden usar como herbicidas y fungicidas, en particular en productos fitosanitarios.

Los compuestos y composiciones de esta invención se pueden usar como desinfectantes en hospitales, restaurantes, hoteles, lavanderías, hogares, industrias, cría de animales, etc.

Método

La invención también incluye un método de preparación de una composición según esta invención que incluye las etapas de preparación de una mezcla de un compuesto de ácido perílico y agua, y opcionalmente ajustar el pH a un valor que se prefiere para las composiciones de esta invención, en particular desde 2 a <6.5, preferiblemente en un intervalo de pH 3 a <6.5. Ajustar el valor de pH a valores menos ácidos aumenta la cantidad de compuesto de ácido perílico desprotonado en la composición. Los inventores descubrieron que esto aumenta aún más el efecto de conservación sobre las composiciones mientras mantiene la eficacia del compuesto de ácido perílico en niveles altos. Un intervalo de pH optimizado es de 4 a <6.5, en particular desde 4.5 a 6.5, o hasta 6. También se ha encontrado que la solubilidad del compuesto de ácido perílico aumenta a los valores de pH indicados.

Ejemplos

Sales de ácido perílico, en particular perilato de sodio

- La invención comprende la aplicación de sales alcalinas de ácido perílico, particularmente de perilato de sodio, para estabilizar diversas composiciones en el intervalo desde pH 2 a <6.5 que contienen agua como constituyente principal, y para abordar diferentes campos de aplicación donde el deterioro/crecimiento microbiano es un problema. Más allá, el perilato de sodio muestra una alta estabilidad a largo plazo tanto en sistemas sólidos como en sistemas a base de agua, especialmente cuando se exponen a estrés térmico.
- En comparación con el ácido perílico libre, el empleo de perilato de sodio y otras sales alcalinas del ácido perílico conduce a una mayor solubilidad en sistemas a base de agua a pH neutro. Debido a la falta de protones, las sales alcalinas no influyen en el pH en sistemas a base de agua no regulada, de este modo no es necesario ajustar el pH después de la adición del compuesto. Por lo tanto, el perilato de sodio permite la aplicación de concentraciones más altas y, de este modo, abre posibilidades de formulación alternativas. Además, como la sal de un ácido débil (pK_a = 4.96), perilato de sodio y otras sales alcalinas poseen un efecto de regulación, que puede soportar la regulación del pH de un producto final.

1.1 Actividad in vitro

45

50

55

La actividad antimicrobiana del perilato de sodio se examinó in vitro usando el método de microdilución adaptado de la norma DIN EN ISO 20776-1: 2006. Se usaron ácido R-perílico y ácido S-perílico como compuestos de referencia. Todos los experimentos se realizaron en placas de 96 pocillos en un volumen final de 200 μL. Las soluciones madre de los compuestos investigados se prepararon en de solución reguladora 25 mM. El procedimiento se realizó de la siguiente manera: se mezclaron 4 μL de la solución stock particular con 196 μL de medio de cultivo que contenía un inóculo definido de la cepa diana respectiva. Se realizaron controles estériles (no inoculados) y controles de crecimiento (solución reguladora en lugar de compuesto añadido). Todas las concentraciones de compuestos se probaron por triplicado. Se examinaron las siguientes cepas: *Escherichia coli* ATCC®8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®9027, *Stapyhlococcus aureus* ATCC®6538, *Candida albicans* ATCC®10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC®16404. Se usaron los siguientes medios de cultivo: caldo Mueller-Hinton II (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*), peptona de dextrosa de levadura (*Candida albicans*) y dextrosa de patata (*Aspergillus brasiliensis*). Todos los medios de cultivo se regularon con solución reguladora MES 25 mM. Para el ensayo de compuestos, las placas se incubaron a 37 °C (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

y *Staphylococcus aureus*), a 28 °C (*Candida albicans*) y a 25 °C (*Aspergillus brasiliensis*). Las placas fueron evaluadas después de 24 h y 72 h, respectivamente. La concentración inhibitoria mínima se define como la concentración en la que no se observó crecimiento microbiano después de 24 horas y 72 horas de incubación a la temperatura especificada.

Tabla 1 Determinación de la concentración mínima de inhibición (MIC,% pN) de perilato de sodio frente a cinco organismos de deterioro clásicos en condiciones ácidas (pH <6.5) y alcalinas (pH> 7.5) usando el método de microdilución adaptado según DIN EN ISO 20776 -1: 2006. Los experimentos se realizaron en placas de micropocillos en un volumen final de 200 μL. Los valores de MIC se dan según el siguiente código de letra. A > 1% pN, B = 0.5-1% pN, C = 0.1-0.5% pN, D < 0.1% pN.

					MIC en % piv	N/C					
Cepas microbianas		Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	s aeruginosa	Staphyloco	Staphylococcus aureus	Candida	Candida albicans	Aspergillus	Aspergillus brasiliensis	
Hd	>7.5	<6.5	>7.5	<6.5	>7.5	5.9>	>7.5	<6.5	>7.5	<6.5	
Perilato de sodio	В	C	A	В	В	Q	С	D	n.a.	O	
Ácido R-perílico	В	C	٧	В	В	Q	О	Q	n.a.	Q	
Ácido S-Perílico	В	O	۷	В	В	۵	O	۵	n.a.	٥	
n.a.: no aplicable (A. brasiliensis no crece a pH> 7.0); n.d.: no determinado	A. brasiliensis	no crece a pH>	> 7.0); n.d .: no de	terminado							

1.2 Actividad del producto/Eficacia de la conservación

La eficacia de conservación del perilato de sodio en un producto final se determinó usando dos formulaciones diferentes:

- a) una emulsión de aceite-agua pH 5.5 (ejemplo para un producto cosmético),
- 5 b) una solución de glucosa a base de agua a pH 3.5 (ejemplo de un refresco no carbonatado).

Mediante esto, un inóculo definido de las cepas de ensayo se añadió directamente a las formulaciones. Con el fin de examinar la conservación del producto por perilato de sodio o ácido perílico, las formulaciones se incubaron a temperatura ambiente durante 4 a 16 semanas, respectivamente. Las muestras se tomaron cada 7 días y las unidades formadoras de células (cfu) se contaron en placas de agar.

Entre otras, se usaron las siguientes cepas para determinar la eficacia del perilato de sodio en una emulsión de aceite-agua: Escherichia coli ATCC®8739, Pseudomonas aeruginosa ATCC®9027, Stapyhlococcus aureus ATCC®6538, Candida albicans ATCC®10231, y Aspergillus brasiliensis ATCC®16404.

Composición de una emulsión aceite-agua (cantidades de ingredientes según el código FDA):

Ingredientes	Cantidad [%
Agua	añadir 100
Humectante	E
Espesante	F
Aceite	С
Emulsionante	E
Perilato de sodio	F-G
Compuesto activo	E-F

Tabla 2. Pruebas de eficacia en la conservación de una emulsión cosmética de aceite en agua típica a pH 5-6 suplementada con perilato de sodio usando cinco cepas de prueba microbiana clásicas. Todas las formulaciones se inocularon con una concentración celular definida y se incubaron durante un tiempo de 28 días a temperatura ambiente en condiciones estandarizadas. Después de 7, 14, 21 y 28 días, se tomaron muestras y se calcularon las unidades formadoras de colonias (cfu).

Emulsión O/W perilato de sodio		CFU	/mL en el punto	de tiempo de m	uestreo	Etapas log reducidas
Cepa microbiana	ТО	T7	T14	T21	T28	Después de T28
E. coli	1,680,000	53,500	190	370	1,430	3
P. aeruginosa	580,000	45,000	11,500	805	235	3
S. aureus	130,000	0	0	0	0	6
C. albicans	68,000	8,260	1,925	4,100	630	2
A. brasiliensis	11,000	13,000	2,270	2,900	170	2
Placebo emulsión O/W	CFU/mL en el punto de tiempo de muestreo					
Cepa microbiana	T0	Т7	T14	T21	T28	

E. coli	1,000,000	2,392,000	3,584,000	4,093,000	3,338,000	0	
P. aeruginosa	75,000	1,056,000	3,156,000	3,306,000	n.d.	0	
S. aureus	110,000	15,700	29,750	n.d.	63,250	0.5	
C. albicans	17,000	1,504,000	1,600,000	2,025,000	4,145,000	0	
A. brasiliensis	500	960	855	765	680	0	
n.d.: no determina	n.d.: no determinado						

Entre otras, se usaron las siguientes especies para determinar la eficacia del perilato de sodio en una formulación de glucosa a base de agua: *Saccharomyces* sp., *Schizosaccharomyces* sp., *Asaia* sp., *Lactobacillus* sp., y *Aspergillus* sp.

5 Composición de una formulación de glucosa a base de agua (cantidades de ingredientes según el código de la FDA):

Ingredientes Cantidad [%]

Zumo de manzana (estéril) A

Agua A-B

Glucosa E

Perilato de sodio G

Ácido cítrico Ajuste del pH

Tabla 3. Ilustración de la reducción celular usando perilato de sodio en una formulación acuosa típica (matriz de zumo) para bebidas de pH 2.5-4 suplementada con perilato de sodio. La prueba de eficacia de la conservación se realizó usando cinco cepas de prueba microbiana: Saccharomyces sp., Schizosaccharomyces sp., Asaia sp., Lactobacillus sp., y Aspergillus sp. Todas las formulaciones se inocularon con una concentración celular definida y se incubaron a temperatura ambiente en condiciones estandarizadas. Después de 7, 14, 21 y 28 días, se tomaron muestras y se calcularon las unidades formadoras de colonias (cfu) y se muestran en este documento.

Formulación acuosa Perilato de sodio		CI	FU/mL en el punto	de tiempo de mue:	streo
Cepa microbiana	T0	T7	T14	T21	T28
Saccharomyces sp.	10	23,900	52,900	530,000	470,000
Schizosaccharomyces sp.	55	350	3,265	4,990	n.d.
<i>Asaia</i> sp.	45	17,250	8,940	725	685
Lactobacillus sp.	10	10	56	340	910
Aspergillus sp.	10	0	0	0	0
Formulación acuosa Placebo	CFU/mL en el punto de tiempo de muestreo				streo
Cepa microbiana	T0	Т7	T14	T21	T28
Saccharomyces sp.	10	1,700,00 0	4,850,00 0	5,850,00 0	2,700,00 0

Schizosaccharomyces sp.	60	2,385,00 0	3,450,00 0	2,400,00 0	500,000
Asaia sp.	43	1,108,00 0	250,000	179,000	170,000
Lactobacillus sp.	10	3,770	459	750	1,700
Aspergillus sp.	5	110	35	41	41
n.d.: no determinado					

1.3 Estudios de formulaciones

5

10

La formulación de perilato de sodio se realizó con dos tipos diferentes de formulaciones cosméticas básicas: una emulsión de agua de aceite y una formulación que contiene surfactante. Para una evaluación exhaustiva, las formulaciones preparadas se almacenaron a 4 °C, 22-25 °C (temperatura ambiente) y 40 °C. Adicionalmente, las formulaciones respectivas se sometieron a una prueba de esfuerzo (cambio de temperatura diariamente: 4 °C, temperatura ambiente, 40 °C), se centrifugaron y/o se congelaron varias veces. La estabilidad del producto se evaluó luego con respecto a los siguientes criterios: estabilidad física, cambio de color, olor y precipitación. Las evaluaciones se realizaron mensualmente durante un período de 6 meses. En resumen, todas las formulaciones con perilato de sodio fueron físicamente estables, no mostraron una decoloración en comparación con un placebo respectivo, ni una precipitación. Todos los datos están compilados en la tabla 4.

Tabla 4. Recopilación de los estudios de formulación y evaluación de la estabilidad de los mismos. Los datos mostrados en este documento han sido registrados después de 9 meses de observación. Todas las formulaciones se evaluaron comparando los criterios con una formulación de placebo que no contenía perilato de sodio.

	Criterios de evaluación					
Estabilidad física	Decoloracióna	Olor ^a	Precipitación			
I			I			
Estable	No	Corresponde	No observado			
Estable	No	Corresponde	No observado			
Estable	No	Corresponde	No observado			
Pasa	No	Corresponde	No observado			
Pasa	No	Corresponde	No observado			
Pasa	No	Corresponde	No observado			
Pasa	No	Corresponde	No observado			
Formulación que contiene surfactante						
Estable	No	Corresponde	No observado			
Estable	No	Corresponde	No observado			
Estable	No	Corresponde	No observado			
Pasa	No	Corresponde	No observado			
Pasa	No	Corresponde	No observado			
Pasa	No	Corresponde	No observado			
Pasa	No	Corresponde	No observado			
	Estable Estable Estable Pasa Pasa Pasa e surfactante Estable Estable Estable Estable Estable Estable	Estabilidad física Estable No Estable No Estable No Pasa No P	Estable No Corresponde Corresponde Pasa No Corresponde Estable No Corresponde Corresponde Corresponde Pasa No Corresponde Corresponde Estable No Corresponde Corresponde Corresponde Pasa No Corresponde Corresponde Corresponde Pasa No Corresponde Corresponde Pasa No Corresponde Corresponde Pasa No Corresponde			

4°C	Estable	No	Corresponde	No observado
22-25°C (rt)	Estable	No	Corresponde	No observado
40°C	Estable	No	Corresponde	No observado
Prueba de estrés	Pasa	No	Corresponde	No observado
4°C, rt, 40°C	Pasa	No	Corresponde	No observado
Centrifugación	Pasa	No	Corresponde	No observado
Congelación	Pasa	No	Corresponde	No observado

a En comparación con una formulación de placebo que no contiene perilato de sodio.

Composición de las formulaciones:

Emulsión aceite-agua

Ingredientes	Cantidad [%p/v]
Agua	80.88
Glicerol	2
Polímero cruzado de acrilato de alquilo	0.27
Estearato de sacarosa	2.5
Palmitato de etilhexilo	6
Dicaprilil éter	2
Isononanoato de cetearilo	3
Goma xantana	0.25
Arginina	3.0
Compuesto de ácido perílico	0.1

5 Emulsión agua en aceite

Ingredientes	Cantidad [%p/v]
Agua	63.5
Sorbitol	4
Alantoína	0.2
Sulfato de magnesio	1
Poliglicerol-2 Dipolihidroxiestearato	4
Oleato de glicerilo	2
Caprilato de propilheptilo	4
Laurato de hexilo	3

Isononanoato de cetearilo	6
Triglicérido cáprico	6
Aceite persea gratissima	2
Cera alba	2.5
Acetato de tocoferol	0.4
Estearato de zinc	1
Pantenol	0.3
Compuesto de ácido perílico	0.1

Formulación que contiene surfactante

Ingredientes	Cantidad [%p/v]
Agua	58.2
Laureth sulfato de sodio	30
Cocoamidopropilbetaina	5
Cocoanfoacetato de sodio	0.8
Glicerol	0.3
Lauril glucósido	0.2
Cocoil glutamato de sodio	0.5
Lauril glucosa carboxilato de sodio	0.2
Ácido cítrico	1.2
Cloruro de sodio	3.5
Compuesto de ácido perílico	0.1

1.4 Investigación de la estabilidad

15

El perilato de sodio se preparó añadiendo un volumen definido de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M al ácido perílico para dar una solución acuosa de pH 7.0. El agua se eliminó por evaporación dando como resultado un sólido incoloro. Para investigar la estabilidad del perilato de sodio, el compuesto se almacenó durante 12 meses a 4 °C, 22-25 °C (se asemeja a la temperatura ambiente) y 50 °C. A ciertos intervalos de tiempo, todas las muestras se examinaron y evaluaron cualitativamente usando cromatografía de capa fina y cuantitativamente usando cromatografía de gases y líquidos. Los resultados se compararon con la estabilidad del ácido R-perílico. Dentro del período de investigación no se pudieron detectar productos de degradación del perilato de sodio. Estos experimentos resaltan la estabilidad a largo plazo del perilato de sodio.

Tabla 5. Recuperación del perilato de sodio medido por cromatografía líquida (HPLC). Columna: Phenomenex Luna C18. Método: 70% de acetonitrilo y 30% de agua, isocrático. Los valores de recuperación se calcularon según una curva de calibración realizada con perilato de sodio en el intervalo desde 0.05-2 mM en acetonitrilo. La detección se llevó a cabo mediante luz UV (detector DAD) a 217 y 240 nm.

	Recuperación en %		
Temp. de almacenamiento	4°C	22-25°C (RT)	50°C
T _{inicial}	99.6	99.3	99.3
T _{2 meses}	99.7	99.1	99.4
T _{4 meses}	99.2	99.5	99.2
T _{8 meses}	99.2	99.7	99.2
T _{12 meses}	99.4	99.3	99.3

Descripción de las figuras

- Figura 1A: Un diagrama de las proporciones de perilato de sodio y sus productos de degradación (DP1 a DP6) después de 12 meses de almacenamiento a temperatura ambiente.
- 5 Figura 1B: un diagrama de las proporciones de perilato de sodio y sus productos de degradación (DP1 a DP6) después de 12 meses de almacenamiento a 50 °C.
 - Figura 2: un diagrama de las proporciones de ácido perílico y sus productos de degradación (DP1 a DP6) después de 12 meses de almacenamiento a temperatura ambiente.
- Figura 3: El gráfico ilustra la relación del rendimiento de los compuestos de ácido perílico y la influencia del valor de pH en el rendimiento del compuesto. Se puede ver que el rendimiento, esto es, la eficacia antimicrobiana, de una cantidad dada de compuesto de ácido perílico variará significativamente con el cambio del valor del pH. El máximo rendimiento se observa entre pH 4 y 6.

REIVINDICACIONES

- 1. Una composición que comprende
- al menos un compuesto de ácido perílico, seleccionado del grupo que consiste en ácido perílico, una o más sales de ácido perílico, uno o más ésteres hidrolizables de ácido perílico y/o uno o más éteres hidrolizables de ácido perílico, y
- agua,

20

en la que la composición tiene un pH en el intervalo desde 2 a < 6.5.

- 2. Composición según la reivindicación 1, que comprende el compuesto de ácido perílico en una cantidad desde 0.00001 a 10% p/v.
- 3. Composición según la reivindicación 1 o 2, en la que el compuesto de ácido perílico está presente en una cantidad que no excede el valor de CPA como se determina según la siguiente ecuación:

$$c_{PA} = 0.1\% (p/v) * InpH ± 25\%$$

- 4. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que la cantidad de compuesto de ácido perílico es desde 0.0001 a 2% p/v.
- 5. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que el compuesto de ácido perílico se selecciona de las sales de ácido perílico, en particular las sales de amonio, metales alcalinos y metales alcalinotérreos.
 - 6. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que el compuesto de ácido perílico se selecciona de perilato de sodio, perilato de potasio, perilato de amonio, perilato de calcio, perilato de magnesio y mezclas de los mismos.
 - 7. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que el pH es al menos 3.
 - 8. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que el pH es desde 4.5 a 6.5.
 - 9. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que la cantidad de agua es al menos el 10% en peso con respecto a la cantidad total de la composición.
- 25 10. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que la cantidad de agua es al menos el 30% en peso con respecto a la cantidad total de la composición.
 - 11. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que el compuesto de ácido perílico se usa en forma de su enantiómero R, su enantiómero S o cualquiera de sus mezclas, incluidas las mezclas racémicas.
- 30 12. Composición según al menos una de las reivindicaciones precedentes, en la que la composición es un producto alimenticio, envases de alimentos, bebidas, alimentos para animales, productos medicinales, productos farmacéuticos, productos cosméticos, productos para el hogar, productos fitosanitarios, productos industriales o técnicos.
- 13. Composición según al menos una de las reivindicaciones 1 a 12 para uso en un método de tratamiento terapéutico en el que el método incluye el tratamiento de una infección microbiana.
 - 14. Uso de la composición según al menos una de las reivindicaciones 1 a 12, o uso de un compuesto de ácido perílico, seleccionado del grupo que consiste en ácido perílico, una o más sales de ácido perílico, uno o más ésteres hidrolizables de ácido perílico, yo uno o más éteres hidrolizables de ácido perílico,

como un agente antimicrobiano en un método no terapéutico, o como un conservante,

- 40 en el que el compuesto o la composición se usa a un pH desde 2 a < 6.5.
 - 15. Método de preparación de una composición según al menos una de las reivindicaciones 1 a 13, que incluye las etapas de
 - preparación de una mezcla de un compuesto de ácido perílico y agua o de un compuesto de ácido perílico y una composición que contiene agua, y
- opcionalmente ajuste el pH a un valor desde 2 a < 6.5.

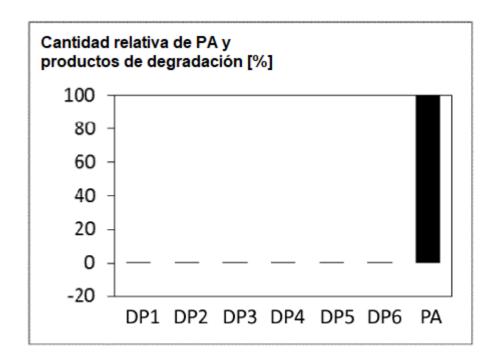


FIG.1A

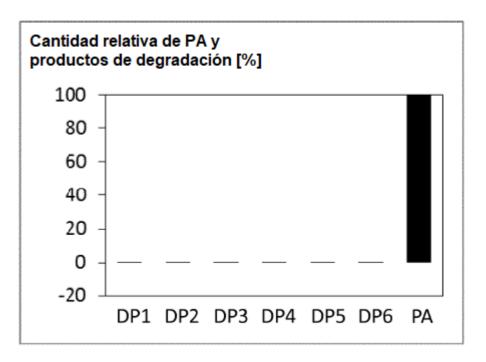


FIG.1B

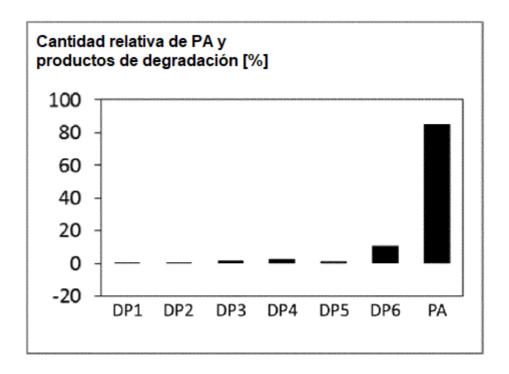


FIG.2

