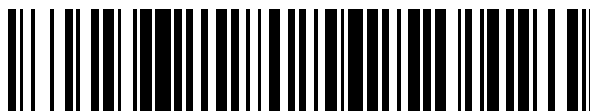


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 717 204**

51 Int. Cl.:

A61K 31/575 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.11.2010** **PCT/FR2010/052492**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.06.2011** **WO11067501**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.11.2010** **E 10799097 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019** **EP 2506856**

54 Título: **Compuestos aminoesteroideos para una aplicación tópica local para la descolonización cutáneo-mucosa de Staphylococcus aureus**

30 Prioridad:

02.12.2009 FR 0958575

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

19.06.2019

73 Titular/es:

**ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE
MARSEILLE (100.0%)
80 Rue Brochier
13005 Marseille, FR**

72 Inventor/es:

**BRUNEL, JEAN-MICHEL;
RAOULT, DIDIER y
ROLAIN, JEAN-MARC**

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 717 204 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).

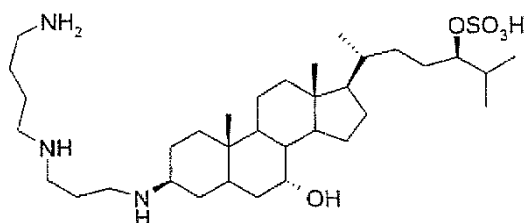
DESCRIPCIÓN

Compuestos aminoesteroideos para una aplicación tópica local para la descolonización cutáneo-mucosa de *Staphylococcus aureus*.

La presente invención se refiere a nuevos compuestos aminoesteroideos antibacterianos de tipo poliamino colestano o colesteno y a la utilización de estos derivados aminoesteroideos antibacterianos de tipo poliamino colestano o colesteno para una aplicación por vía tópica local para la descolonización cutáneo-mucosa rápida de *Staphylococcus aureus*, en particular en forma de pomada o de crema.

Las infecciones por estafilococos dorados son transmitidas frecuentemente por unos portadores crónicos asintomáticos. Estos portadores crónicos tienen unas reservas cutáneas o mucosas, en particular la mucosa nasal. La descontaminación de la mucosa nasal se ha vuelto una condición previa cada vez más común e importante en las hospitalizaciones ya que la colonización de la nariz por los estafilococos dorados está asociada a un riesgo incrementado de aumento de las infecciones hospitalarias, en particular vesiculares y osteoarticulares, en particular en caso de operación quirúrgica sobre el paciente portador de esta colonización nasal que puede autoinfectarse por contaminación peroperatoria. Se han utilizado en el pasado varios tipos de productos para intentar erradicar los estafilococos presentes en las narinas, en particular unos antibióticos. Se han utilizado unos productos que contienen rifampicina y después fucidina pero los estafilococos se han vuelto resistentes muy rápidamente a estos antibióticos para los cuales se seleccionan fácilmente unos mutantes. Desde hace unos veinte años, el producto más utilizado es una pomada con mupirocina, que es un producto con actividad antibiótica, que no se utiliza en ninguna otra indicación. El hecho de que este producto no sea utilizado en otras indicaciones modera la ecología de la resistencia de los estafilococos para las infecciones generales por vía sistémica (sanguínea). El aumento de la resistencia a la mupirocina no tenía el riesgo de tener consecuencias sobre el tratamiento terapéutico de las infecciones sistémicas por estafilococo dorado con otros antibióticos. Por otro lado, la ausencia de prescripción de mupirocina en otras circunstancias diferentes a la erradicación de los estafilococos en las fosas nasales ha evitado una prescripción masiva de este producto y por lo tanto ha retrasado la aparición de mutantes resistentes. La mupirocina permite dividir la concentración de bacterias *Staphylococcus* en un modelo de colonización *in vitro* de $5 \cdot 10^2$ (CFU/ml) al cabo de 24 horas (referencia 18). Como los resultados *in vivo* son menos favorables, en la práctica, para la mupirocina, se aplica una pomada que contiene el compuesto a una concentración del 1%, 2 veces/día, por la mañana y por la noche, durante 48 horas, antes de una operación quirúrgica, para obtener una descolonización del 99,9% de las bacterias *Staphylococcus aureus*, en particular en las fosas nasales, y se prosigue el tratamiento durante 3 días, después de la operación quirúrgica. Desafortunadamente, aparecen ahora unos mutantes resistentes a la mupirocina que tienen el riesgo de extenderse de manera extremadamente rápida debido por un lado a la capacidad de transferencia lateral de esta resistencia entre las cepas y, por otro lado, el uso intensivo de la mupirocina actualmente para la prevención de las infecciones estafilocócicas. Recientemente, la utilización de lisostafina ha resultado muy eficaz (comparativamente a la mupirocina) para la descolonización nasal, pero presenta asimismo una limitación de uso ya que han aparecido unas cepas resistentes.

En 1993, la escualamina (Fórmula Ia), un esteroide natural, aislada mayoritariamente de los tejidos de un pequeño tiburón *Squalus acanthias*, resultó ser una sustancia muy activa que presenta esencialmente una actividad antiangiogénica contra las células y una actividad antiviral y antibacteriana.



Fórmula Ia

Químicamente, la escualamina Ia es una molécula original que presenta un carácter anfífilo. Comprende así una parte central apolar (un esqueleto de tipo colestano) y dos extremos polares (una cadena poliamina y un grupo sulfato).

Inicialmente, este poliaminoesterol hidrosoluble había suscitado el interés por sus propiedades antiangiogénicas y antimicrobianas sobre una variedad de bacterias Gram positivas ((*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) y Gram negativas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), unos hongos (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*) y unos protozoos.

Como la fuente natural de la escualamina está limitada, se han investigado unos derivados sintéticos análogos aminoesteroideos de la escualamina. Se han descrito en particular unos derivados o análogos que comprenden una cadena poliaminada en posición 3 o 7 de ciclos 10, 13 dimetilo, 17 octano colestano o colesteno,

eventualmente hidroxilados en posición 7 o respectivamente 3. En particular, se han descrito unos derivados como presentando una actividad antibacteriana similar a la escualamina frente a diversas bacterias Gram positivas y Gram negativas multirresistentes (referencias 6 y 9 a 14). Además, se ha sugerido en particular una aplicación de estos derivados para un tratamiento curativo de las infecciones pulmonares por vía aerosol. Sin embargo, las Concentraciones Mínimas Inhibidoras (CMI) de la escualamina y de estos compuestos aminoesteroideos contra estos microorganismos son demasiado elevadas para poder considerar una utilización por vía general o por vía aerosol sin toxicidad.

Es por esta razón por la que estos compuestos aminoesteroideos se han considerado en la actualidad sólo a título de agente citotóxico anti-angiogénico para el tratamiento de tumores (referencia 17).

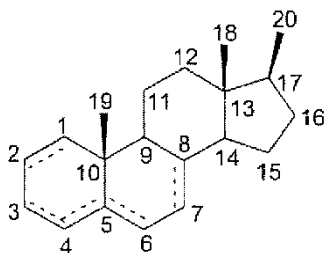
Además, en las diferentes publicaciones anteriores (referencias 9 a 14), no se había elucidado el mecanismo de acción de la actividad antibacteriana *in vitro* de la escualamina y sus derivados sintéticos análogos aminoesteroideos y, sobre todo, no se había observado que estos compuestos no inducían ninguna resistencia a la bacteria *Staphylococcus aureus* y no inducían, tampoco, ninguna toxicidad cutáneo-mucosa por aplicación tópica local.

El objetivo de la presente invención es proporcionar nuevas moléculas anti *Staphylococcus aureus* aptas para ser aplicadas por vía tópica para una acción local de descolonización cutáneo-mucosa de la bacteria *Staphylococcus aureus*, en particular en el marco de un tratamiento profiláctico de una infección postoperatoria oportunista en un órgano del paciente accesible durante la operación quirúrgica, tal como la mucosa nasal, y eso sin inducir ninguna toxicidad cutáneo-mucosa.

Se entiende en la presente memoria por "descolonización" cutáneo-mucosa, que no se trata del tratamiento curativo de una infección por *Staphylococcus aureus* en un paciente, sino de una erradicación por lo menos transitoria de la bacteria presente sobre la piel o una mucosa corporal de manera asintomática en un portador sano.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar unas moléculas anti *Staphylococcus aureus* no utilizadas por vía general o sistémica, que no inducen ninguna resistencia de la bacteria *Staphylococcus aureus* y que tienen una actividad de descolonización superior y/o más rápida que la de otros compuestos conocidos utilizados en la descolonización cutáneo-mucosa de la bacteria *Staphylococcus aureus*, en particular con respecto a la mupirocina.

Para ello, la presente invención proporciona un compuesto aminoesteroideo análogo de la escualamina tal como se define en una de las reivindicaciones 1 a 5, así como una composición para una utilización en un método de tratamiento terapéutico tal como se define en una de las reivindicaciones 6 a 15, en particular una composición para una utilización en un método de tratamiento terapéutico que consiste en una descolonización cutáneo-mucosa de *Staphylococcus aureus*, respondiendo dicho compuesto aminoesteroideo análogo de la escualamina a una fórmula general que comprende un esqueleto de fórmula (I) siguiente, en el que se injertan 2 cadenas -NHR, siendo R una cadena hidrocarbonada eventualmente sustituida que comprende por lo menos un grupo -NH, tal como se describe a continuación:



en la que:

- o bien todos los enlaces duplicados en líneas de puntos entre los carbonos de las posiciones 7-8, 5-6, 4-5, y 3-4 representan un enlace simple, siendo el esqueleto el de un 10, 13, 17 trimetil colestano,
- o bien uno de los enlaces duplicados en líneas de puntos entre los carbonos de las posiciones 7-8, 5-6, 4-5, y 3-4 representa un doble enlace y los otros enlaces duplicados en líneas de puntos son unos enlaces simples, siendo el esqueleto el de un 10, 13, 17 trimetil colesteno.

Según la presente invención, dicho nuevo compuesto responde a la fórmula general constituida por un dicho esqueleto de fórmula (I) que comprende:

- a) 2 cadenas idénticas -NHR sobre los carbonos en posiciones 3 y, respectivamente, 20, y R representa -
 $[(CH_2)_n-(NR_1)_k-(CH_2)_m]_p-NH_2$

con:

- siendo n y m unos números enteros idénticos o diferentes de 1 a 7,
- $k = 0$ o 1,
- siendo p un número entero de 1 a 4,
- estando R_1 seleccionado de entre H, un alquilo de C1 a C3, un fenilo y un grupo -COOalk, siendo alk un alquilo de C1 a C3, estando R_1 eventualmente sustituido por OH, NH_2 , SH, u OSO_3H ,

con, preferentemente, cuando $k = 0$, entonces $p = 1$, o cuando $k = 1$, entonces $p = 2$, y

- b) los carbonos en las otras posiciones de dicho esqueleto de fórmula (I) que comprende un radical R_0 idéntico o diferente seleccionado de entre H, NH_2 , SH, o R_1 , siendo R_0 preferentemente H u OH pero con 1 solo R_0 siendo OH.

Se entiende en la presente memoria por aplicación tópica local, un procedimiento que consiste en aplicar el compuesto sobre la piel o una mucosa para obtener un efecto local atravesando la dermis o la mucosa para ser absorbido exclusivamente por la dermis o la mucosa, siendo dicho compuesto formulado como loción, crema, ungüento, pasta o pomada, con la exclusión por lo tanto de los aerosoles, en el caso de una aplicación por vía nasal o bucal, para evitar cualquier absorción pulmonar.

Preferentemente, la utilización según la invención se refiere a una aplicación sobre la mucosa nasal. Sin embargo, la utilización considerada no se limita a una aplicación sobre la mucosa nasal sino también a diferentes sitios sobre la piel, en particular a nivel de los pliegues cutáneos y, más particularmente, a nivel de las axilas.

En un modo preferido de realización, se utilizan dichos compuestos según la invención para un tratamiento preventivo o profiláctico preoperatorio que tiene como objetivo prevenir una infección postoperatoria por *Staphylococcus aureus* en un paciente portador sano que sufrirá una operación quirúrgica.

Según la presente invención, se ha descubierto y demostrado que la escualamina y sus derivados sintéticos análogos aminoesteroideos no inducen ninguna resistencia para la bacteria *Staphylococcus aureus*. Esta propiedad está confirmada por el hecho, demostrado asimismo según la presente invención, que la actividad bactericida de la escualamina y sus derivados sintéticos análogos aminoesteroideos sobre *Staphylococcus aureus* se desprende de un mecanismo de acción fisicoquímico de tipo detergente que hace estallar y que destruye la pared de la bacteria y que estos compuestos no actúan por lo tanto como unos antibióticos. En efecto, se sabe que los antibióticos actúan por inhibición de un proceso esencial en la multiplicación bacteriana codificado por una diana genómica bloqueando o bien la replicación del genoma, o bien inhibiendo la síntesis de un factor proteico tal como una enzima necesaria para la supervivencia y/o el crecimiento de la bacteria, en particular la síntesis de la pared. Las bacterias pueden resistir a estos mecanismos de acción de los antibióticos a través de mutaciones génicas que inducen la aparición de una resistencia al antibiótico en causa. Este tipo de mutaciones que confieren una resistencia son por el contrario improbables frente al mecanismo de acción bactericida directo por destrucción fisicoquímica de la pared bacteriana. A causa de este mecanismo de acción bactericida de la escualamina y sus derivados sintéticos análogos aminoesteroideos según la invención, su actividad permanece conservada incluso si se trata únicamente de una distribución cutáneo-mucosa de la bacteria, sin inducir ninguna resistencia a estos compuestos por parte de la bacteria *Staphylococcus*.

Por otro lado, los compuestos de escualamina y derivados aminoesteroideos presentan una naturaleza anfífila. En efecto, químicamente, comprenden una parte central apolar (un esqueleto de tipo colestano o colesteno) y un extremo polar (una cadena poliamina y un grupo hidroxilo). Resulta por ello que son susceptibles de ser incorporados en un excipiente lipófilo, siendo al mismo tiempo capaces de ser liberados progresivamente y de interactuar con la piel y una mucosa debido a su componente hidrófila, pero esta acción sigue siendo local, es decir sin absorción del compuesto en el organismo por vía percutánea y evitando así inducir una toxicidad.

Así, se ha demostrado que estos compuestos presentan una actividad *in vivo* de descolonización cutánea de una colonización de *S. aureus* en aplicación tópica local sobre el ratón y esto sin inducir ninguna toxicidad por lesiones cutáneas ni mortalidad subsiguiente del ratón. Además, se ha demostrado con la ayuda de ensayos comparativos que otros compuestos conocidos por tener una actividad de descolonización anti-*Staphylococcus aureus* (ácido fusídico, vancomicina y mupirocina) presentaban una actividad claramente menor y menos rápida que la de la escualamina y análogos de la escualamina. Algunos resultados de los ensayos *in vitro* e *in vivo* sobre el ratón se reportan en la descripción detallada a continuación.

Más particularmente, los compuestos análogos de escualamina según la invención son útiles para la descolonización cutáneo-mucosa de *Staphylococcus aureus* en por lo menos el 99,90% de las bacterias *Staphylococcus aureus* (a saber una división de por lo menos 10^3 de la concentración bacteriana), preferentemente en por lo menos 99,99% (a saber una división de por lo menos 10^4 de la concentración bacteriana), no más de 24 horas, preferentemente no más de 1 hora, después solamente de una sola aplicación, siendo mantenida esta descolonización, también preferentemente, durante por lo menos 48 horas. Los compuestos análogos de escualamina según la invención tienen por lo tanto una actividad superior y más rápida de descolonización con respecto a otros compuestos conocidos, como la mupirocina, en un modelo de colonización cutánea en el ratón después de una sola aplicación en forma de pomada.

En este caso, según la invención, se obtiene una actividad superior y más rápida que la de otros compuestos conocidos por que se reduce una concentración inicial de bacterias *Staphylococcus aureus* de más de 10^4 CFU/ml, en un moldeo de colonización cutánea en el ratón, a menos de 10^1 CFU/ml en menos de 24 horas, más precisamente aún, a menos de 1 CFU/ml en menos de 1 hora, después de una sola aplicación de una pomada que contiene los compuestos según la invención a una concentración del 1%.

En la práctica, las colonizaciones cutáneo-mucosas de *Staphylococcus aureus*, en particular en las fosas nasales, no exceden nunca 10^5 CFU/ml y, más generalmente, no exceden nunca 10^4 CFU/ml.

En la práctica, los compuestos según la invención presentan una actividad bactericida *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*, es decir que se es capaz de reducir en por lo menos 99,9% un inóculo bacteriano inicial de 10^5 CFU/ml incubado durante 24 horas a las concentraciones utilizadas (Referencia 15: Daniel Amsterdam. Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In Antibiotics in Laboratory Medicine. 5ª edición. Editor Victor Lorian. Lippincott Williams and Wilkins 2005. Philadelphia, USA), y la concentración de bacterias se reduce a menos de 10^2 CFU/ml al cabo de 48 horas después de una sola aplicación de pomada en el tiempo $t = 0$.

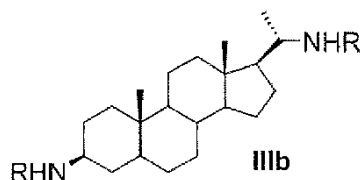
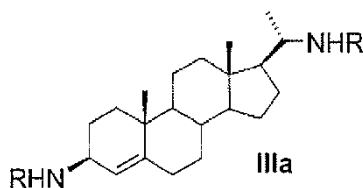
Estos compuestos análogos de la escualamina presentan una actividad antibacteriana *in vitro* con, en particular, una CMI sobre *Staphylococcus aureus* inferior a 50 µg/ml, preferentemente inferior a 15 µg/ml.

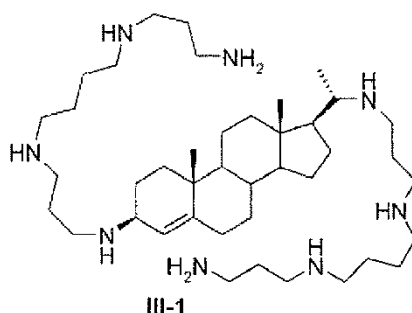
Los compuestos según la invención más activos, de fórmulas IIIa, IIIb, III-1 siguientes, presentan unas CMI sobre *Staphylococcus aureus* inferiores a 5 µg/ml.

Estos compuestos pueden ser preparados mediante los procedimientos descritos en los artículos de las referencias 9 a 14, en particular 9 y 13, listados al final de la descripción, que consisten esencialmente en realizar una reacción de aminación reductora con titanio entre las diferentes cetonas (colestonona, colestonona) y diaminas utilizadas.

Más particularmente, dichos nuevos compuestos responden a las fórmulas generales IIIa, IIIb y III-1 siguientes, en las que:

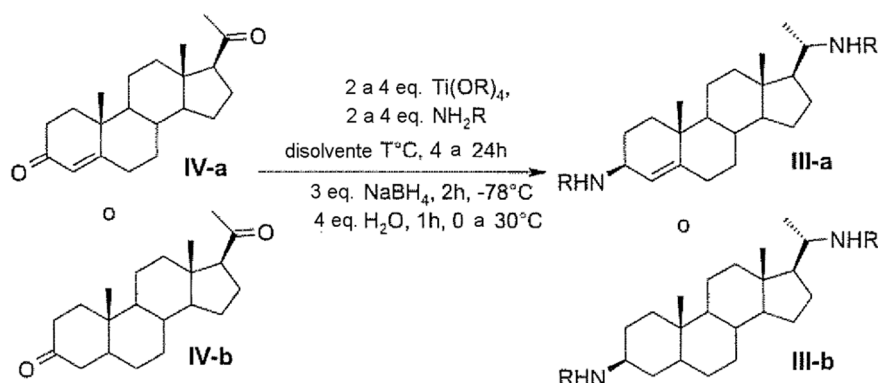
- R representa $-(CH_2)_n-(NR_1)_k-(CH_2)_m-NH_2$, teniendo m, n, p, k y R_1 los significados dados anteriormente y, preferentemente, siendo R seleccionado de entre $-(CH_2)_{n1}-NH_2$ con $n_1 = 2$ a 14, y $-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_3-NH_2$:





Los nuevos compuestos según la invención anterior pueden ser preparados simplemente por aminación reductora con titanio entre un producto de partida que corresponde al producto final pero con una función carbonilo o cetona -CO- en lugar de la función -NHR- y una diamina NH₂R a través de la formación transitoria de las iminas correspondientes reducidas *in situ* por el borohidruro de sodio.

Más particularmente, para los compuestos de fórmulas IIIa y IIIb, la síntesis de estos derivados utiliza una reacción de aminación reductora con titanio entre la progesterona IVa o respectivamente la progestanona IVb y una diamina a través de la formación transitoria de los 3,20 diimino poliamino colestanos o colestenos con un radical de fórmula =NR en posiciones 3 y 20 correspondientes, reducidas a continuación *in situ* por un borohidruro de sodio.

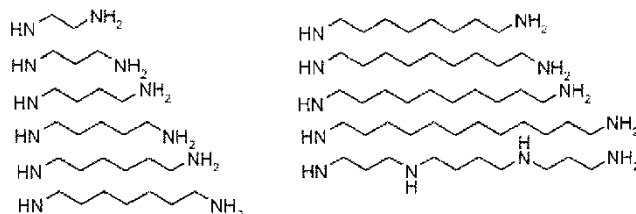


Diferentes fuentes de titanio de tipo Ti(OR')₄ con R' = Me, Et, propilo, isopropilo, butilo están fácilmente disponibles comercialmente.

Son apropiados diferentes disolventes de reacción CH₂Cl₂, CHCl₃, THF, etanol, isopropanol.

El control de la estereoselectividad a nivel del carbono que lleva la cadena aminada se lleva a cabo en función de la naturaleza del agente reductor empleado durante el procedimiento. Así, la reducción realizada con el borohidruro de sodio (NaBH₄) conduce mayoritariamente a los derivados beta mientras que el uso de cianoborohidruro de sodio (NaBH₃CN) o bien de óxido de platino/hidrógeno conduce a la formación preferida de los derivados alfa.

En base a este principio general de síntesis, se prepararon numerosos derivados 3β-20β poliamino-4-colestenos de fórmula IIIa y 3β-20β poliamino colestanos de fórmula IIIb con -NHR seleccionado de entre:



La presente invención proporciona también una composición farmacéutica útil para una utilización por vía tópica local para una descolonización cutáneo-mucosa de *Staphylococcus aureus* caracterizada por que comprende, como compuesto activo, un denominado compuesto aminoesteroideo análogo de la escualamina antibacteriano según la invención incorporado en un excipiente lipófilo en forma de loción, crema, pomada o ungüento.

Así, los compuestos según la invención son capaces de ser liberados progresivamente y de actuar con la piel y una mucosa, siendo esta acción local, es decir sin absorción del compuesto en el organismo por vía percutánea y evitando así inducir una toxicidad.

5

Según otras características particulares preferidas de la composición según la invención:

10

- la concentración de dicho compuesto aminoesteroideo análogo de la escualamina es de 0,5 a 5%, preferentemente por lo menos 1%, más particularmente de 1 a 2% en peso,

15

- dicho excipiente lipófilo se selecciona de entre la vaselina, lanolina, los ésteres de glicerol, ésteres de ácidos grasos y de macrogoles (PEG). Estos excipientes lipófilos son ventajosos ya que no se absorben por vía percutánea,
- dicho compuesto aminoesteroideo análogo de la escualamina antibacteriana está en forma de sal hidrosoluble, preferentemente "en forma de sal de clorhidrato, bromhidrato, triflato, fosfato, lactato o succinato".

20

Estas dos últimas características permiten optimizar el valor de la concentración y por lo tanto la acción tópica local de dichos compuestos activos.

Otras características de la presente invención aparecerán a la luz de la descripción detallada siguiente realizada en referencia a las figuras 1 a 6 siguientes, en las que:

25

- la figura 1 representa una fotografía del mecanismo de destrucción de la pared bacteriana sobre una cepa de *S. aureus*,

30

- la figura 2 representa el gráfico de reducción de concentración bacteriana de una cepa de *S. aureus* a lo largo del tiempo t por un tratamiento mediante los compuestos escualamina Ia (-□-), compuesto II-1 (-Δ-) y control (-○-),

35

- la figura 3 representa unas fotografías del modelo experimental de infección por *S. aureus* en el ratón en $D = 0$ y de las colonias en $D1$ (1 día después de la infección) y $D2$ (2 días después de la infección) sobre gelosa Chapman,

40

- la figura 4 representa un histograma de los recuentos de las colonias de *S. aureus* aisladas a partir del modelo experimental de colonización cutánea en el ratón después de la aplicación de pomada con la escualamina Ia (-▨-) a la derecha) o sin molécula activa (-▩-) a la izquierda) sobre gelosa Chapman, en función del tiempo, en $t = 0$, $t = 1$ día y $t = 2$ días,

45

- la figura 5 representa as fotografías de las colonias de *S. aureus* aisladas a partir del modelo experimental de colonización cutánea en el ratón después de la aplicación de pomada con un derivado aminoesteroideo II-1 (A) o sin molécula activa (B) sobre gelosa Chapman, obtenidas después de 1 día de aplicación de pomada,

50

- la figura 6 representa el gráfico de los recuentos de las colonias de *S. aureus* aisladas a partir del molde experimental de colonización cutánea en el ratón, después de una sola aplicación de la pomada con la escualamina Ia (-□-), el compuesto II-1 (-○-) o con el ácido fusídico (-Δ-) o con la vancomicina (-▽-) o con la mupirocina (-◇-) sobre gelosa Chapman, en función del tiempo, después de 30 minutos y 1 hora.

Ejemplo comparativo 1: preparación del compuesto II-1 (no cubierto por la invención)

55

En un matraz de dos bocas puesto bajo argón, se disuelven 3 equivalentes de butano diamina ($0,69 \cdot 10^{-3}$ mol, 61 mg) en 5 ml de MeOH, y después se añaden 87 μ l de $Ti(OiPr)_4$ ($0,30 \cdot 10^{-3}$ mol). Después de 2 minutos de agitación, se añaden a la mezcla 100 mg de 7-cetocolest-5-en-3 β -ol ($0,23 \cdot 10^{-3}$ mol). Después de 24 horas bajo agitación, se coloca el matraz a -78°C , y después se añaden 11 mg de $NaBH_4$ ($0,23 \cdot 10^{-3}$ mol). La fase orgánica se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y después se evapora bajo vacío exhaustivo. Se purifica el producto mediante una cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: $CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$ (7/3/1)).

60

7 β -(1,4-diaminobutano)-colest-5-en-3 β -ol II-1: Purificación mediante cromatografía sobre gel de sílice (silicagel; $CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$ (32%), 7:3:1). Sólido amarillo claro (Rendimiento: 70%);

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 5.27-5.64 (m, 1H), 0.63-3.49 (m, 55H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 141.75, 123.99, 70.80, 60.32, 56.79, 55.72, 55.22, 53.02, 49.46, 48.32, 43.21, 42.07, 39.37, 38.98, 37.28, 36.09, 35.90,

35.67, 35.59, 27.88, 26.11, 24.44, 23.71, 22.70, 22.44, 20.70, 18.96, 18.65, 18.59, 11.96, 11.50. $C_3H_{56}N_2O_1$; MS (ESI) $m/z = 473.5 [M+H]^+$.

Ejemplo 2: preparación del compuesto III-1

En un matraz de dos bocas bajo argón, se añaden 140 mg de espermina $H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_3-NH_2$ a 200 μ l de $Ti(OiPr)_4$ ($0,70 \cdot 10^{-3}$ mol). Después de 2 minutos de agitación, se añaden a la mezcla 100 mg de progesterona IVa ($0,31 \cdot 10^{-3}$ mol). Después de 24 horas bajo agitación, se coloca el matraz a $-78^\circ C$, y después se añaden 37 mg de $NaBH_4$ ($0,70 \cdot 10^{-3}$ mol). Dos horas más tarde, se añaden 2 ml de agua para detener la reacción. Cinco minutos después, la mezcla se filtra sobre sinterizado y celita. La fase orgánica se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y después se evapora bajo vacío exhaustivo. Se purifica el producto mediante una cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: $CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$ (7/3/1)).

Purificación mediante cromatografía (gel de sílice; diclorometano, metanol, amoniaco, 70/30/10); Sólido amarillo claro (Rendimiento: 58%)- RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): $\delta = 5.30$ (s, 1H), 3.30-2.67 (m, 23H), 2.77-1.02 (m, 55H), 0.80-0.66 (m, 6H).- RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): $\delta = 148.69, 122.37, 71.21, 69.24, 65.10, 61.68, 59.80, 58.00, 57.57, 56.48, 56.41, 56.23, 54.10, 46.48, 45.79, 45.63, 44.09, 43.81, 40.87, 40.41, 39.08, 37.93, 37.70, 34.75, 33.88, 32.44, 31.61, 30.60, 30.05, 29.68, 28.35, 27.26, 25.88, 24.20, 22.75, 22.43, 19.97$. $C_{43}H_{85}N_7$.

Ejemplo 3: mecanismo de acción bactericida de los compuestos Ia, II-1 y III-1 y resistencia de *Staphylococcus* a dichos compuestos.

Se ha estudiado el mecanismo de acción de estos compuestos por microscopía electrónica con el fin de saber si a lo largo del tiempo era previsible una eventual resistencia a estos compuestos. Para ello, se ha puesto a incubar una cepa de referencia de *S. aureus* (ATCC 25923) cultivada en medio líquido en presencia de respectivamente la escualamina de fórmula Ia (no cubierto por la invención) o del derivado II-1 (no cubierto por la invención) o derivado III-1 (según la invención) a las mismas concentraciones de 8 μ g/ml durante 24 horas. Después, se han fijado las bacterias así incubadas con glutaraldehído al 2,5%. Después de la fijación con tetróxido de osmio durante 1 hora y deshidratación por etanol, las muestras se incluyeron en parafina (resina Epon 812). Se realizaron a continuación unos cortes de 70 nm y después se marcaron con acetato de uranilo al 4% y se visualizaron con la ayuda de un microscopio electrónico de transmisión de tipo Philips Morgavi 268D.

Se ha podido demostrar que la acción de estos compuestos sobre *S. aureus* era nueva y original con un efecto fisicoquímico espectacular por destrucción de la pared microbiana, como se representa en la figura 1, y no por un mecanismo de acción de tipo antibiótico. Este efecto es por otro lado casi inmediato como lo muestra el análisis *in vitro* realizado durante el tiempo representado (figura 2).

Debido a este efecto fisicoquímico letal irreversible rápido, se comprende por qué no ha sido posible seleccionar unos mutantes resistentes *in vitro* contra estos compuestos a lo largo del tiempo. En la actualidad, ninguna de las cepas de *S. aureus* ensayadas ha presentado una resistencia a los diferentes derivados aminoesteroideos conocidos y nuevos aminoesteroideos según la presente invención. Esto se ha realizado según un método de referencia (Banerjee R et al. In Vitro Selection and Characterization of Ceftobiprole-Resistant Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2008, 52(6): 2089-2096) intentando seleccionar *in vitro* unas cepas de *S. aureus* (ATCC 25923) resistentes a dichos compuestos. Los compuestos han sido diluidos sucesivamente (dilución de razón 2) en unos tubos que contienen 5 ml de medio MH con el fin de obtener unas concentraciones que varían de 0,5X la CMI a 4X la CMI. La suspensión bacteriana se añade en cada tubo a una densidad de 10^9 CFU/ml. Después de la incubación de 18h a $37^\circ C$, el último tubo de crecimiento visible (0,5 x CMI) diluido al 1/20 es puesto en presencia de una nueva serie de diluciones geométricas equivalentes a las del 1^{er} día para el mismo compuesto. Los ensayos se repitieron 10 veces por triplicado pero no han permitido nunca aislar bacterias en crecimiento en los tubos que contienen los derivados aminoesteroideos a unas concentraciones iguales o superiores a su CMI. Por lo tanto, no se ha podido conseguir la obtención de mutantes resistentes a estas moléculas.

Este resultado debe ser relacionado con el obtenido con unos antisépticos a base de alcohol o de yodo que se utilizan como antisépticos locales (piel y mucosas) desde hace unas décadas sin que haya aparecido ninguna resistencia. Esto es totalmente diferente para la rifampicina, el ácido fusídico o la mupirocina para los cuales aparecen unas resistencias muy a menudo y muy rápidamente. En conclusión, se ha demostrado que teniendo en cuenta el efecto fisicoquímico de estos compuestos y la ausencia de obtención de mutantes resistentes *in vitro*, la eventualidad de un desarrollo futuro de resistencia a estos compuestos es improbable.

Este nuevo mecanismo de acción de tipo letal, irreversible y casi inmediato sobre la pared bacteriana de los compuestos según la invención hace improbable el desarrollo de resistencias en el futuro.

Ejemplo 4: actividad bactericida *in vitro* y medición de CMI

Se ha reportado en la publicación de Alhanout et al. (6) que las CMI de la escualamina y del derivado II-1 sobre

diferentes cepas de *S. aureus* (incluyendo unas cepas resistentes a la metilina (MRSA)) eran iguales (2 µg/ml).

Los nuevos compuestos de la presente invención de fórmulas IIIa, IIIb y III-1 presentan una mejor actividad *in vitro* contra las cepas de *S. aureus* y derivado II-1 que presentan una CMI de 1 µg/ml y una actividad bactericida mucho más rápida (15 minutos, figura 3, derivado III-1).

Los compuestos IIIa y IIIb (según la invención) con $R = -(CH_2)_{n1}-NH_2$ y $n_1 = 2$ a 9 presentan una CMI de 2,5 a 20 µg/ml.

Tabla 1: CMI de los derivados III-a sobre *S. aureus* ATCC 25923

n_1	CMI (µg/ml)
2	20
3	5
4	5
5	5
6	2,5
7	2,5
8	2,5
9	5

El compuesto III-1 presenta la mejor actividad con una CMI de 1 µg/ml para *S. Aureus*.

Tabla 2: CMI de la escualamina la y de los derivados II-1 y III-1 sobre diferentes cepas de *S. aureus*.

Cepa de referencia	CMI mg/l		
	la	Derivado II-1	Derivado III-1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2	2	1
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	2	2	1

SQ: escualamina

En conclusión, se ha demostrado que el derivado III-1 sintetizado específicamente para esta aplicación presenta la mejor actividad *in vitro* así como un efecto bactericida más rápido con respecto a los otros compuestos evaluados *in vitro*.

Ejemplo 5: modelo de ensayo de actividad *in vivo* sobre el ratón

Con el fin de ensayar la actividad *in vivo* de los compuestos, se ha inventado un modelo experimental de colonización cutáneo-mucosa con *S. aureus* en el ratón. En efecto, los modelos experimentales existentes son complicados, fastidiosos y/o muy costosos de realizar (colonización nasal en la rata o modelo *ex vivo* sobre piel humana) (7;8). Brevemente, se aplicaron 10 µl de una suspensión bacteriana calibrada a 10^8 CFU/ml de *S. aureus* sobre la piel previamente afeitada de los ratones sobre dos cuadrantes diferentes (figura 3).

La colonización por *S. aureus* era seguida a continuación diariamente durante 2 días por hisopo cutáneo de los ratones, recuperación del hisopo en 1 ml de agua estéril y puesta en cultivo de 100 µl sobre gelosa Chapman a 37°C durante 24 horas antes del recuento de las colonias bacterianas. El número de CFU/ml era estable durante el tiempo de la manipulación, es decir 2 días (figura 4).

En la figura 3, se han representado unas fotografías del modelo experimental de infección con *S. aureus* en el ratón; y unas colonias en D1 y D2 sobre gelosa Chapman.

Este modelo experimental de colonización cutáneo-mucosa con *S. aureus* en el ratón resulta ser más simple de realizar y permite ensayar la eficacia de los compuestos *in vivo*.

Ejemplo 6: preparación de una pomada y actividad tópica local sobre el ratón

Se ha elaborado una pomada de uso cutáneo-mucoso con el 1% de escualamina o de derivados aminoesteroideos II-1 (no cubierto por la invención) o III-1 (según la invención) mezclando 9,9 g de vaselina para 0,1 g de producto activo y se ha evaluado en la descolonización cutánea de *S. aureus* (cepa de referencia ATCC 25923) sobre el modelo de ratón colonizado con *S. aureus*. De la misma manera, se han aplicado 10 µl de una suspensión bacteriana calibrada a 10^8 CFU/ml de *S. aureus* sobre la piel previamente afeitada de una serie de 4 ratones sobre dos cuadrantes diferentes (figura 3). Después de 2 horas de incubación y secado, se ha aplicado la pomada que contiene la escualamina la o un derivado aminoesteroideo II-1 o III-1 sobre uno de los dos cuadrantes de piel frente a una pomada que contiene el excipiente solo sobre el otro cuadrante. Las cantidades

de *S. aureus*, en el tiempo 0 (antes de la aplicación de la pomada) y después en los días 1 y 2 (D1 y D2) después de la aplicación, han sido determinadas por hisopo cutáneo y puesta en cultivo sobre medio Chapman para el recuento de las colonias como se ha descrito anteriormente. El número medio de CFU/ml para los ratones que han recibido la pomada que contiene la escualamina la o un derivado aminoesteroideo II-1 o III-1 en D1 y D2 había disminuido muy significativamente con respecto a la pomada que no contiene ninguna molécula activa con una disminución de 4 a 5 logaritmos del número de CFU/ml.

La figura 4 representa el gráfico de los recuentos de las colonias de *S. aureus* después de la aplicación de pomada con la escualamina la o sin molécula activa sobre gelosa Chapman obtenidos en función del tiempo. Las concentraciones en bacterias *Staphylococcus aureus* dadas en las ordenadas están representadas a escala logarítmica y los datos de tiempo en las abscisas son el número de días. En la figura 4, se pasa de aproximadamente 10^6 CFU/ml el D0 a 10^2 CFU/ml el D1 y aproximadamente 10^1 CFU/ml el D2.

La figura 5 representa las fotografías de los recuentos de las colonias de *S. aureus* después de la aplicación de pomada con un derivado aminoesteroideo II-1 (A) o sin molécula activa (B) sobre gelosa Chapman obtenidos después de 1 día de aplicación de pomada.

Se ha demostrado que una pomada a base de derivados aminoesteroideos la, II-1 o III-1 disminuía de manera muy significativa una colonización cutáneo-mucosa por *S. aureus* y eso muy rápidamente en una sola aplicación después de 1 día mientras que la mupirocina se utiliza a razón de 2 aplicaciones por día durante 5 días para la descolonización nasal de *S. aureus*.

Ejemplo comparativo 7: ensayos comparativos con otros compuestos conocidos por tener una actividad anti-*Staphylococcus aureus*.

Se ha elaborado una pomada de uso cutáneo-mucoso al 1% de escualamina o de derivados aminoesteroideos II-1 mezclando 9,9 g de vaselina para 0,1 g de producto activo y se ha evaluado en la descolonización cutánea de *S. aureus* (cepa de referencia ATCC 25923) sobre el modelo de ratones colonizados con *S. aureus*. Se ha utilizado también con fines de comparación una pomada a base de mupirocina (Bactroban®), de ácido fusídico (Ducidine®) o de vancomicina y vaselina a título de control en las mismas condiciones experimentales. Así, 10 µl de una suspensión bacteriana calibrada a 10^6 CFU/ml de *S. aureus* se ha aplicado sobre la piel previamente afeitada de una serie de 6 ratones sobre dos cuadrantes diferentes (figura 4). Después de 2 horas de incubación y de secado, la pomada se ha aplicado sobre uno de los dos cuadrantes de piel contra una pomada que contiene el excipiente solo sobre el otro cuadrante. Las cantidades de *S. aureus*, en el tiempo 0 (antes de la aplicación de la pomada) y después tras 30 minutos y 1 hora de aplicación, se han determinado por hisopo cutáneo y puesta en cultivo sobre medio Chapman para el recuento de las colonias como se ha descrito anteriormente. El número medio de CFU/ml para los ratones que han recibido la pomada que contiene la escualamina la o un derivado aminoesteroideo II-1 después de 30 minutos y 1 hora de aplicación había disminuido muy significativamente con respecto a la pomada que no contiene ninguna molécula activa o bien otra molécula de tipo mupirocina, vancomicina o ácido fusídico con una disminución de 4 logaritmos del número de CFU/ml después de 1 hora para la pomada que contiene la escualamina la (figura 6).

La figura 6 representa el gráfico de los recuentos de las colonias de *S. aureus* después de una sola aplicación de pomada con la escualamina la o sin molécula activa o con otro compuesto conocido por tener una actividad anti-*Staphylococcus aureus* sobre gelosa Chapman obtenidos en función del tiempo después de 30 minutos y 1 hora.

Para el compuesto la, se pasa de aproximadamente $2 \cdot 10^4$ CFU/ml en $t = 0$ a una concentración inferior a 1 CFU/ml en $t = 30$ minutos. Y, para el compuesto II-1, se pasa de una concentración de aproximadamente $2 \cdot 10^4$ CFU/ml en $t = 0$ a una concentración de 55 CFU/ml al cabo de 60 minutos. Este resultado para el compuesto II-1 permite contar por lo menos una descolonización de por lo menos 99,90% en menos de 24 horas.

Como conclusión de este experimento, se puede afirmar que la escualamina y el compuesto II-1 en forma de pomada presentan una actividad más rápida y claramente superior a los otros compuestos conocidos por tener una actividad anti-*Staphylococcus aureus*, en particular las pomadas comercializadas para esta indicación a base de mupirocina (Bactroban®) y de ácido fusídico (Fucidine®) y eso en sólo 1 hora y una sola aplicación.

Referencias

(1) Falagas ME, Bliziotis IA, Fragoulis KN. Oral rifampin for eradication of *Staphylococcus aureus* carriage from healthy and sick populations: a systematic review of the evidence from comparative trials. Am J Infect Control marzo de 2007; 35(2):106-14.

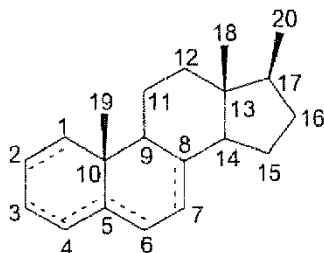
(2) Howden BP, Grayson ML. Dumb and dumber--the potential waste of a useful antistaphylococcal agent: emerging fusidic acid resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 1 de febrero de 2006; 42(3):394-400.

- (3) Morton TM, Johnston JL, Patterson J, Archer GL. Characterization of a conjugative staphylococcal mupirocin resistance plasmid. *Antimicrob Agents Chemother* junio de 1995; 39(6):1272-80.
- 5 (4) Chatfield CA, O'Neill WA, Cooke RP, McGhee KJ, Issack M, Rahman M, *et al.* Mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus* in a specialist school population. *J Hosp Infect* abril de 1994; 26(4):273-8.
- (5) Climo MW, Ehlert K, Archer GL. Mechanism and suppression of lysostaphin resistance in oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* mayo de 2001; 45(5):1431-7.
- 10 (6) Alhanout K, Brunel JM, Raoult D, Rolain JM. In vitro antibacterial activity of aminosterols against multidrug-resistant bacteria from patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* octubre de 2009; 64(4):810-4.
- 15 (7) Desbois AP, Lang S, Gemmell CG, Coote PJ. Surface disinfection properties of the combination of an antimicrobial peptide, ranalexin, with an endopeptidase, lysostaphin, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Appl Microbiol* 13 de julio de 2009.
- (8) Kokai-Kun JF, Walsh SM, Chanturiya T, Mond JJ. Lysostaphin cream eradicates *Staphylococcus aureus* nasal colonization in a cotton rat model. *Antimicrob Agents Chemother* mayo de 2003; 47(5):1589-97.
- 20 (9) Loncle *et al.* *Tetrahedron* 2007, 63, 12968-12974;
- (10) Salmi *et al.* *European Journal of Medicinal Chemistry* 2008, 43, 540-547;
- (11) Salmi *et al.* *Letters in Drug Design & Discovery* 2008, 5, 169-172.;
- 25 (12) Salmi *et al.* *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2008, 23, 860-865;
- (13) Loncle *et al.* *Letters in Drug Design & Discovery* 2008, 5, 388-393;
- 30 (14) Salmi *et al.* *Tetrahedron* 2008, 64, 4453-4459.);
- (15) Daniel Amsterdam. Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 5ª edición. Editor Victor Lorian. Lippincott Williams and Wilkins 2005. Philadelphia, USA;
- 35 (16) Banerjee R *et al.* *In Vitro* Selection and Characterization of Ceftobiprole-Resistant Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008, 52(6): 2089-2096;
- (17) Williams JI *et al.* Squalamine treatment of human tumors in nu/nu mice enhances platinum-based chemotherapies. *Clin Cancer Res*. Marzo de 2001; 7(3):724-33;
- 40 (18) LaPlante *et al.* *In vitro* activity of Lysostaphin, mupirocin, and tea tree oil against clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 57 (2007) 413-418.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto aminoesteroideo análogo de la escualamina que responde a una fórmula general que comprende un esqueleto de fórmula (I) siguiente, en el que se injertan 2 cadenas poliaminadas -NHR, siendo R una cadena hidrocarbonada eventualmente sustituida que comprende por lo menos un grupo -NH₂:

(I)



en la que:

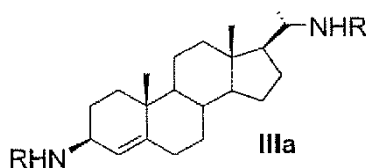
- o bien todos los enlaces duplicados en líneas de puntos entre los carbonos de las posiciones 7-8, 5-6, 4-5, y 3-4 representan un enlace simple, siendo el esqueleto el de un 10, 13, 17 trimetil colestano,
- o bien uno de los enlaces duplicados en líneas de puntos entre los carbonos de las posiciones 7-8, 5-6, 4-5, y 3-4 representa un doble enlace y los otros enlaces duplicados en líneas de puntos son unos enlaces simples, siendo el esqueleto el de un 10, 13, 17 trimetil colesteno,

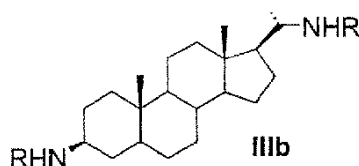
respondiendo dicho compuesto a la fórmula general constituida por dicho esqueleto de fórmula (I) que comprende:

- a) 2 cadenas idénticas -NHR sobre los carbonos en posiciones 3 y, respectivamente, 20, y R representa $-(CH_2)_n-(NR_1)_k-(CH_2)_m]-NH_2$, con:
 - n y m unos números enteros idénticos o diferentes de 1 a 7,
 - k = 0 o 1,
 - siendo p un número entero de 1 a 4,
 - siendo R₁ seleccionado de entre H, un alquilo de C1 a C3, un fenilo y un grupo-COOalk, siendo alk un alquilo de C1 a C3, estando R1 eventualmente sustituido por OH, NH₂, SH, u OSO₃H, y
- b) comprendiendo los otros carbonos de dicho esqueleto de fórmula (I) un radical R₀ idéntico o diferente seleccionado de entre H, NH₂, SH, o R₁, siendo R₀ preferentemente H u OH pero con 1 solo R₀ siendo OH.

2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que dicho compuesto responde a la fórmula general constituida por dicho esqueleto de fórmula (I) que comprende 2 cadenas idénticas -NHR en la que cuando k = 0, entonces p = 1, o cuando k = 1, entonces p = 2.

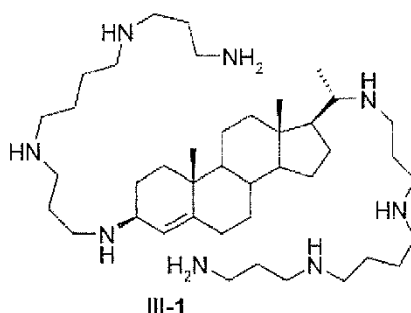
3. Compuesto según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que dicho compuesto responde a las fórmulas generales siguientes IIIa o IIIb, en las que R representa $-(CH_2)_n-(NR_1)_k-(CH_2)_m]-NH_2$, y, preferentemente, siendo R seleccionado de entre $-(CH_2)_n-NH_2$ con n = 2 a 14, y $-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_3-NH_2$:





4. Compuesto según la reivindicación 3, caracterizado por que dicho compuesto aminoesteroideo responde a la fórmula IIIa o IIIb en la que R se selecciona de entre $-(CH_2)_n-NH_2$ con $n = 12$.

5. Compuesto según la reivindicación 3, caracterizado por que dicho compuesto aminoesteroideo responde a la fórmula III-1 siguiente:



6. Composición para una utilización en un método de tratamiento terapéutico que comprende un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 5.

7. Composición para una utilización según la reivindicación 6, para un método de tratamiento terapéutico que consiste en una descolonización cutáneo-mucosa de *Staphylococcus aureus*.

8. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 6 y 7, para una aplicación tópica local sobre la piel o sobre una mucosa en forma de loción, crema, pomada o ungüento.

9. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 6 a 8, estando dicho compuesto formulado con un excipiente lipófilo.

10. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 6 a 9, para una descolonización cutáneo-mucosa de por lo menos 99,90% de las bacterias *Staphylococcus aureus*, preferentemente 99,99%, en no más de 24 horas, preferentemente en no más de 1 hora, después de una sola aplicación, siendo dicha descolonización mantenida durante por lo menos 48 horas.

11. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 6 a 10, para un tratamiento preventivo o profiláctico preoperatorio que tiene como objetivo prevenir una infección postoperatoria por *Staphylococcus aureus* en un paciente portador sano o asintomático al que se le va a realizar una operación quirúrgica.

12. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 6 a 11, caracterizada por que dicha aplicación se lleva a cabo sobre una mucosa nasal o sobre la piel.

13. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 6 a 12, caracterizada por que comprende una concentración del 0,5 a 5%, preferentemente de por lo menos el 1% en peso de dicho compuesto aminoesteroideo análogo de la escualamina.

14. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 6 a 13, caracterizada por que dicho excipiente lipófilo se selecciona de entre la vaselina, lanolina, los ésteres de glicerol, macrogoles, ésteres de ácidos grasos y de macrogoles.

15. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 6 a 14, caracterizada por que dicho compuesto aminoesteroideo análogo de la escualamina antibacteriana está en forma de sal hidrosoluble, preferentemente en forma de sal de clorhidrato, bromhidrato, triflato, fosfato, lactato o succinato.



FIG.1

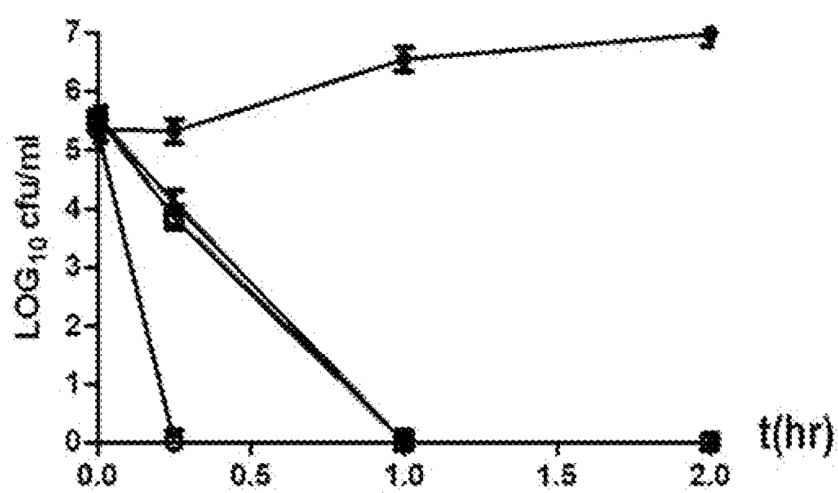


FIG.2

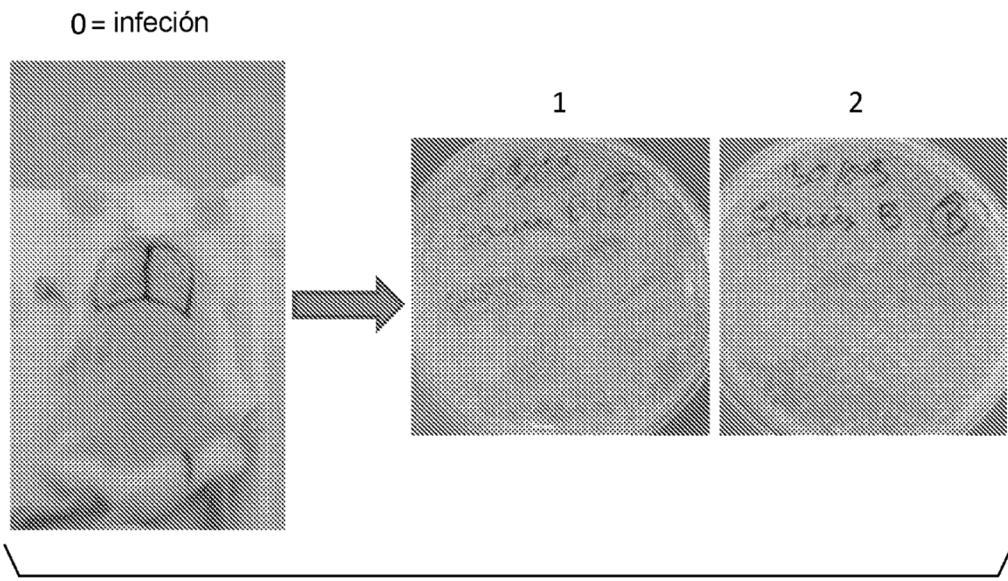


FIG.3

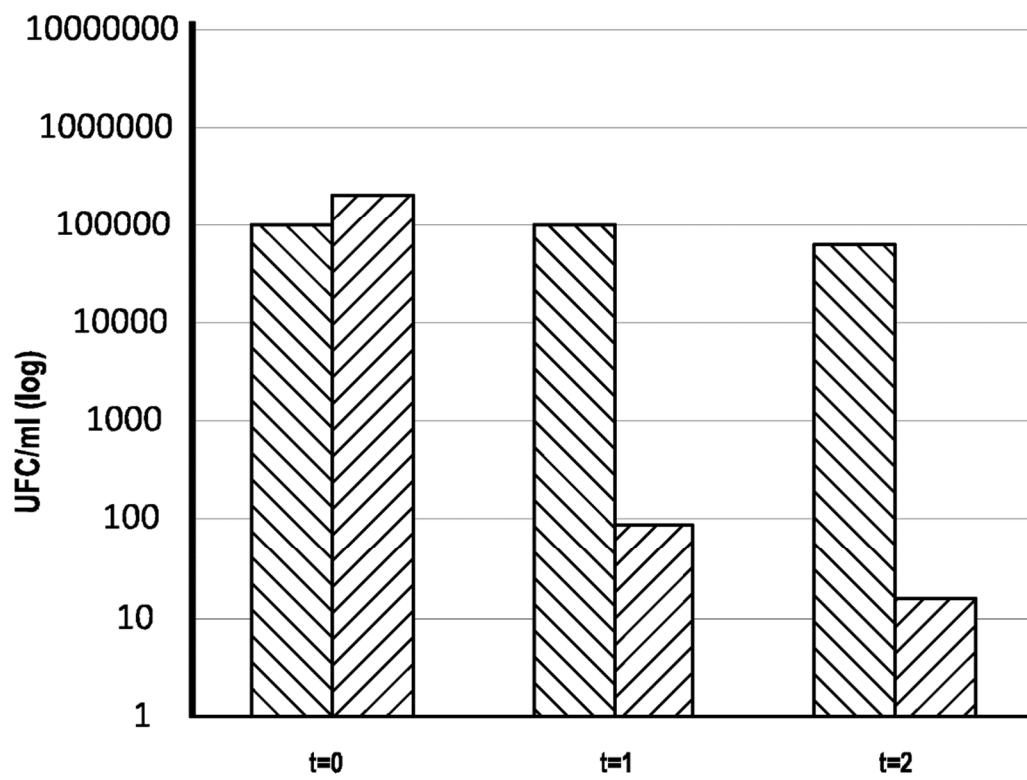


FIG.4

B



FIG.5

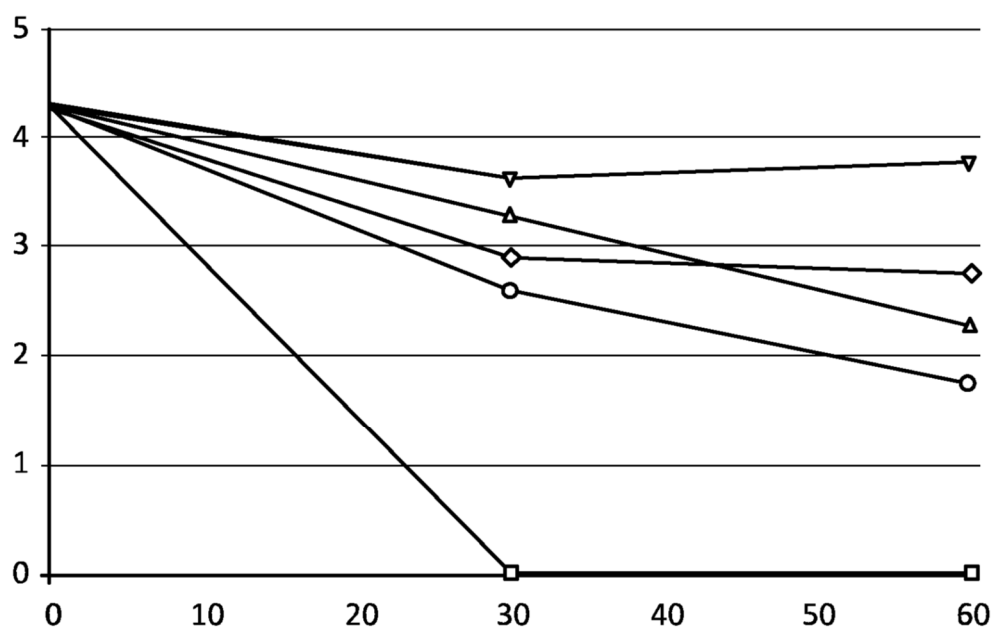


FIG.6