

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 725 784**

51 Int. Cl.:

A61L 27/52	(2006.01)
A61L 27/54	(2006.01)
A61L 27/34	(2006.01)
A61L 31/16	(2006.01)
A61L 31/10	(2006.01)
A61L 31/14	(2006.01)
A61L 29/16	(2006.01)
A61L 29/14	(2006.01)
A61L 29/08	(2006.01)
C07J 41/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2012 PCT/US2012/047746**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2013 WO13013221**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2012 E 12740853 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019 EP 2734246**

54 Título: **Compuestos de ceragenina hidrófobos y dispositivos que incorporan al mismo**

30 Prioridad:

20.07.2011 US 201161572714 P
03.05.2012 US 201261642431 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.09.2019

73 Titular/es:

BRIGHAM YOUNG UNIVERSITY (100.0%)
Technology Transfer Office 3760 Harold B. Lee
Library
Provo, UT 84602, US

72 Inventor/es:

SAVAGE, PAUL, B.

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 725 784 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 de ceragenina hidrófobos y dispositivos que incorporan al mismo

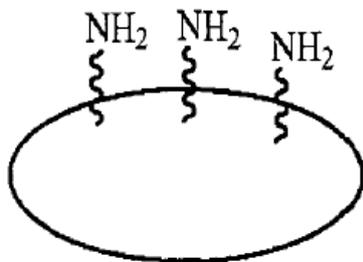
Antecedentes de la invención

1. El campo de la invención.

5 La presente invención se refiere a compuestos de ceragenina hidrófobos y dispositivos que incorporan los compuestos de ceragenina hidrófobos. Los compuestos de ceragenina tienen sustituyentes hidrófobos que dan a los compuestos un valor de CLogP relativamente alto que permite que los compuestos se enlacen de forma no covalente a los materiales poliméricos.

2. La tecnología relevante

10 Los compuestos de ceragenina, también conocidos en el presente documento como compuestos antimicrobianos esteroideos catiónicos (CSA), son compuestos químicos de molécula pequeña producidos sintéticamente que incluyen un esqueleto de esteroles que tiene diversos grupos cargados (por ejemplo, amina y sustituyentes catiónicos) unidos al esqueleto. El esqueleto se puede usar para orientar los grupos amina o guanidina en una cara o plano del esqueleto de esteroles. Por ejemplo, un esquema que muestra un compuesto que tiene grupos amino primarios en una cara o plano, de un esqueleto se muestra a continuación en el Esquema 1:



Esquema 1

Las cerageninas son catiónicas y anfífilas, con base en los grupos funcionales unidos al esqueleto. Son facialmente anfífilas con una cara hidrófoba y una cara policatiónica. Sin desear estar ligado a ninguna teoría particular, los compuestos de ceragenina antimicrobianos descritos aquí actúan como agentes antimicrobianos (por ejemplo, antibacterianos, antifúngicos y antivíricos). Se cree, por ejemplo, que los compuestos de ceragenina antimicrobianos descritos en el presente documento actúan como antibacterianos al enlazarse a la membrana celular externa de las bacterias y otros microbios e insertarse en la membrana celular formando un poro que permite la fuga de iones que son críticos para la supervivencia del microbio y que conduce a la muerte del microbio afectado. Además, el compuesto de ceragenina antimicrobiano descrito en el presente documento también puede actuar para sensibilizar las bacterias a otros antibióticos. Por ejemplo, a concentraciones de los compuestos de ceragenina antimicrobianos por debajo de la concentración bacteriostática mínima correspondiente, las cerageninas hacen que las bacterias se vuelvan más susceptibles a otros antibióticos al aumentar la permeabilidad de la membrana externa de las bacterias.

Los grupos cargados son responsables de perturbar la membrana celular bacteriana y sin los grupos cargados, el compuesto de ceragenina no puede perturbar la membrana para causar la muerte celular o la sensibilización.

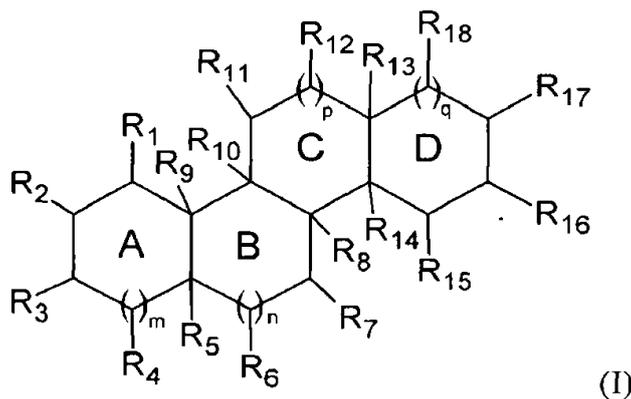
P.B. Savage et al., "Thin Films Containing Ceragenins Prevent Biofilm Formation on Endotracheal Tubes", 9th International Federation of Infection Control Congress, Santiago, Chile (2008) divulga un tubo endotraqueal que está recubierto con una solución de ceragenina y un poliuretano ácido, donde se forma una película que libera ceragenina durante un período prolongado de tiempo.

Entre la técnica anterior adicional, el documento WO 2012/061651 A1 divulga un artículo absorbente que incluye un polímero absorbente y un compuesto de ceragenina, en el que el compuesto de ceragenina tiene un grupo esteroles y una pluralidad de grupos catiónicos que imitan a los péptidos antimicrobianos de origen natural. Además, el documento WO 2013/163359 A1 divulga composiciones de lavado antimicrobianas y procedimientos para usar tales composiciones para controlar el crecimiento de microbios en un producto alimenticio no cárnico, en el que las composiciones de lavado antimicrobianas incluyen un compuesto de ceragenina.

Breve resumen

La presente invención se refiere a compuestos de ceragenina que son relativamente hidrófobos a pesar de tener una cara catiónica hidrófila, como se define en las reivindicaciones 1-5 y a dispositivos que comprenden una estructura de polímero y un compuesto de ceragenina incorporados en la estructura de polímero con interacciones no covalentes, como se define en las reivindicaciones 6-11. Se ha encontrado que la alta hidrofobicidad tiene una capacidad sorprendente e inesperada para enlazarse con polímeros y luego liberarse selectivamente de los materiales poliméricos para matar microbios.

La presente invención divulga un compuesto antimicrobiano esteroideo catiónico hidrófobo (CSA) que tiene una estructura de Fórmula I:



10

en la que

$q=0$ y $p=1$;

R_3 , R_7 y R_{12} incluyen independientemente un grupo catiónico;

15

R_{17} es un sustituyente hidrófobo que incluye un oxígeno y un hidrocarburo de cadena lineal con al menos 9 átomos de carbono distales al oxígeno; y

R_1 , R_2 , R_4 - R_6 , R_8 - R_{16} son cualquier sustituyente;

en el que el compuesto CSA tiene un valor CLogP de al menos 6,5. Además, la presente invención divulga compuestos de ceragenina de acuerdo con las reivindicaciones 4 y 5.

20

El valor de CLogP se logra seleccionando un sustituyente o sustituyentes hidrófobos apropiados en combinación con sustituyentes catiónicos apropiados. Los sustituyentes catiónicos y el sustituyente o sustituyentes hidrófobos se seleccionan para dar un valor de CLogP de 6,5 o mayor, 7,5 o mayor o incluso 10 o mayor. Para lograr el valor de CLogP deseado, se necesita una mayor hidrofobicidad en el sustituyente hidrófobo cuando se usan sustituyentes catiónicos con menos hidrofobicidad.

25

El alto valor de CLogP permite que los compuestos se enlacen de forma no covalente a polímeros que tienen fracciones hidrófobas. Por ejemplo, los compuestos hidrófobos descritos en el presente documento pueden enlazarse de manera no covalente a materiales de hidrogel. El enlace hidrófobo permite que los compuestos de ceragenina se asocien con el polímero mientras tienen un impacto mínimo en la capacidad de matar microbios.

30

Sorprendente e inesperadamente, se ha encontrado que al enlazar de forma no covalente la ceragenina a un material polimérico utilizando interacciones hidrófobas/hidrófilas, el compuesto de ceragenina hidrófobo puede liberar selectivamente del polímero en presencia de microbios, teniendo así un efecto destructor a menor concentración de lo que uno podría predecir y durante un periodo prolongado de tiempo. Esto contrasta con los estudios realizados con cerageninas enlazadas covalentemente donde la inmovilización impidió las tasas de muerte más allá de la exposición inicial. La capacidad de los compuestos de ceragenina hidrófobos para liberar selectivamente de un polímero para matar microbios es altamente deseable y un resultado sorprendente e inesperado.

35

40

Además, se ha encontrado que las cerageninas, como se usan en la presente invención, sorprendentemente matan a microbios dañinos preferentemente sobre la flora normal, lo que significa que las cerageninas se pueden usar en concentraciones más bajas en comparación con otros antimicrobianos mientras se logra la misma o mejor efectividad. Esta característica evita muchos de los efectos nocivos de los antimicrobianos de la técnica anterior, muchos de los cuales tienden a matar a los "microbios buenos".

5 Los compuestos de ceragenina hidrófobos pueden incorporarse en o formarse en dispositivos médicos tales como dispositivos médicos para ser implantados en un ser humano u otro animal. Por ejemplo, los hidrogeles pueden recubrirse en un dispositivo médico o incorporarse a un producto polimérico tal como un producto oftálmico. Los dispositivos médicos que incorporan los compuestos hidrófobos pueden liberar de forma controlable el compuesto de ceragenina en una concentración suficiente para cumplir con los requisitos reglamentarios para las cargas bacterianas máximas durante semanas o incluso meses.

Estas y otras características de la presente invención se harán más evidentes a partir de la siguiente descripción y las reivindicaciones adjuntas o pueden aprenderse mediante la práctica de la invención tal como se expone a continuación.

10 Breve descripción de los dibujos

Para aclarar aún más las ventajas y características anteriores y otras de la presente invención, se hará una descripción más particular de la invención por referencia a realizaciones específicas de la misma que se ilustran en los dibujos adjuntos. Se aprecia que estos dibujos representan solo realizaciones ilustradas de la invención y por lo tanto, no deben considerarse limitantes de su alcance. La invención se describirá y explicará con mayor especificidad y detalle mediante el uso de los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1A ilustra ejemplos de compuestos de ceragenina con un valor de ClogP inferior a 6,3 (no de acuerdo con la invención);

La Figura 1B ilustra ejemplos de compuestos de ceragenina con un valor de ClogP mayor que 6,5;

La figura 2 es una representación esquemática de un sustrato con un recubrimiento polimérico;

20 La figura 3 es un gráfico que muestra la elución de una ceragenina a partir de un hidrogel en solución salina tamponada con fosfato;

La figura 4 es un gráfico que muestra la elución de una ceragenina a partir de un hidrogel después de esterilización en autoclave;

25 La figura 5 es un gráfico que muestra la elución de una ceragenina a partir de un hidrogel en solución salina tamponada con fosfato y caldo de soja tréptico;

La figura 6 es un gráfico que muestra la elución de una ceragenina a partir de un hidrogel en tampón y 10^6 CFU de *S. aureus*; y

La Figura 7 es un gráfico que muestra la elución de una ceragenina de un hidrogel en tampón y 10^6 CFU de *P. aeruginosa*.

30 Descripción detallada

I. Cerageninas Hidrófobas

En una realización, los compuestos de ceragenina hidrófobos divulgados en el presente documento se definen de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 5.

35 El valor de CLogP se logra seleccionando un sustituyente o sustituyentes hidrófobos apropiados en combinación con los sustituyentes catiónicos apropiados. Los sustituyentes catiónicos y el sustituyente o sustituyentes hidrófobos se seleccionan para dar un valor de CLogP de 6,5 o mayor, 7,5 o mayor o incluso 10 o mayor.

De acuerdo con la reivindicación 1, el compuesto ceragenina tiene una estructura como se muestra en la Fórmula I:

aminoalquilo (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, un aminoalquiloxi (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, (C₁-C₁₀) alquilcarboxi (C₁-C₁₀)-alquilo (C₁-C₁₀), alquilamino (C₁-C₁₀)- alquilamino(C₁-C₁₀), alquilamino (C₁-C₁₀)- alquilamino (C₁-C₁₀) alquilamino (C₁-C₁₀), un aminoalquilcarboxi (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, un arilamino (C₁-C₁₀) alquilo sustituido o no sustituido, un aminoalquiloxi (C₁-C₁₀) aminoalquilaminocarbonilo (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, un aminoalquilaminocarbonilo (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, un aminoalquilcarboxiamido (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, un cuaternarioamonioalquilcarboxi (C₁-C₁₀), H₂N-HC(Q₅)- C(0)-O-, H₂N-HC(Q₅)-C(0)-N(H)-, azidoalquiloxi (C₁-C₁₀), cianoalquiloxi (C₁-C₁₀), P.G.-HN-HC(Q₅)-C(0)-O-, guanidinoalquiloxi (C₁-C₁₀) y un guanidinoalquilcarboxi (C₁-C₁₀); o una sal farmacéuticamente aceptable de estos. Ejemplos adicionales de compuestos CSA específicos se divulgan en la Solicitud de Estados Unidos No. 13/288,902 presentada conjuntamente por el solicitante presentada el 3 de noviembre de 2012.

Un "anillo" como se usa en el presente documento es carbocíclico. El término "saturado" utilizado en el presente documento se refiere al anillo fusionado de Fórmula I que tiene cada átomo en el anillo fusionado ya sea hidrogenado o sustituido de tal manera que se llena la valencia de cada átomo.

El término "no sustituido" utilizado en el presente documento se refiere a una fracción que tiene cada átomo hidrogenado de manera que se llena la valencia de cada átomo.

El término "halo" utilizado en el presente documento se refiere a un átomo de halógeno tal como flúor, cloro, bromo o yodo.

Los ejemplos de cadenas laterales de aminoácidos incluyen, pero no se limitan a H (glicina), metil (alanina), -CH₂-(C=O)-NH₂ (asparagina), -CH₂-SH (cisteína) y -CH(OH)-CH₃ (treonina).

Un grupo alquilo es un hidrocarburo ramificado o no ramificado que puede estar sustituido o no sustituido. Los ejemplos de grupos alquilo ramificados incluyen isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, sec-pentilo, isopentilo, tert-pentilo, isohexilo. Los grupos alquilo sustituidos pueden tener uno, dos, tres o más sustituyentes, que pueden ser iguales o diferentes, cada uno reemplazando un átomo de hidrógeno. Los sustituyentes son halógeno (por ejemplo, F, Cl, Br e I), hidroxilo, hidroxilo protegido, amino, amino protegido, carboxi, carboxi protegido, cian, metilsulfonilamino, alcoxi, aciloxi, nitro y haloalquilo inferior.

El término "sustituido" utilizado en el presente documento se refiere a fracciones que tienen uno, dos, tres o más sustituyentes, que pueden ser iguales o diferentes, cada uno de los cuales reemplaza un átomo de hidrógeno. Los ejemplos de sustituyentes incluyen, pero no se limitan a halógeno (por ejemplo, F, Cl, Br e I), hidroxilo, hidroxilo protegido, amino, amino protegido, carboxi, carboxi protegido, cian, metilsulfonilamino, alcoxi, alquilo, arilo, aralquilo aciloxi, nitro y haloalquilo inferior.

Un grupo arilo es un anillo aromático C₆₋₂₀, en el que el anillo está formado por átomos de carbono (por ejemplo, grupos C₆-C₁₄, arilo C₆₋₁₀). Los ejemplos de haloalquilo incluyen fluorometilo, diclorometilo, trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo y 2,2-dibromoetilo.

Un grupo aralquilo es un grupo que contiene 6-20 átomos de carbono que tiene al menos un anillo arilo y al menos una cadena de alquilo o alquileno conectada a ese anillo. Un ejemplo de un grupo aralquilo es un grupo bencilo.

Un grupo de enlace es cualquier fracción divalente usada para unir un compuesto a otro. Por ejemplo, un grupo de enlace puede unir un segundo compuesto a un compuesto de Fórmula I. Un ejemplo de un grupo de enlace es (C₁-C₁₀) alquiloxi (C₁-C₁₀) alquilo.

Los grupos protectores de amino son conocidos por las personas experimentadas en la técnica. En general, la especie de grupo protector no es crítica, siempre que sea estable a las condiciones de cualquier reacción o reacciones posteriores en otras posiciones del compuesto y se pueda eliminar en el punto apropiado sin afectar adversamente al resto de la molécula. Además, un grupo protector puede sustituirse por otro después de que se completen las transformaciones sintéticas sustantivas. Claramente, donde un compuesto difiere de un compuesto divulgado en el presente documento solo en que uno o más grupos protectores del compuesto divulgado han sido sustituidos con un grupo protector diferente, ese compuesto está dentro de la divulgación. Otros ejemplos y condiciones se encuentran en T.W. Greene, Protective Groups in Organic Chemistry, (1st ed., 1981, 2nd ed., 1991).

Una persona experimentada reconocerá que diversos compuestos de ceragenina descritos en el presente documento conservan ciertas características estereoquímicas y electrónicas que se encuentran en los esteroides. El término "cara única", como se usa en el presente documento, se refiere a los sustituyentes en el esqueleto de esteroil fusionado que tienen la misma orientación estereoquímica de manera que se proyectan desde un lado de la molécula. Por ejemplo, los sustituyentes enlazados a R₃, R₇ y R₁₂ de Fórmula I pueden estar todos sustituidos en 13 o sustituidos en a. La configuración de las fracciones R₃, R₇ y R₁₂ puede ser importante para la interacción con la membrana celular.

Los compuestos de la invención tienen sustituyentes catiónicos (por ejemplo, grupos amina o guanidina) unidos covalentemente a un esqueleto o armazón de esterol en cualquier posición de carbono, por ejemplo, ácido cólico. En diversas realizaciones, un grupo está unido covalentemente a cualquiera, o más, de las posiciones R₃, R₇ y R₁₂ del esqueleto de esterol. En realizaciones adicionales, un grupo está ausente de cualquiera, o más, de las posiciones R₃, R₇ y R₁₂ del esqueleto de esterol.

También se pueden usar otros sistemas de anillos, por ejemplo, anillos fusionados de 5 miembros. También se contemplan compuestos con esqueletos que tienen una combinación de anillos de 5 y 6 miembros. Los grupos funcionales catiónicos (por ejemplo, grupos amina o guanidina) se pueden separar del esqueleto por al menos uno, dos, tres, cuatro o más átomos.

Las cerageninas con sustituyentes hidrófobos pueden prepararse utilizando las técnicas descritas en la Patente de Estados Unidos del Solicitante 6,767,904, siendo la modificación utilizar alquilos de cadena más larga para formar un sustituyente más hidrófobo. Por ejemplo, en lugar de usar una octil amina para formar el grupo funcional en R₁₇, se puede usar una amina de cadena más larga correspondiente.

II. Incorporación no covalente de cerageninas en un polímero

Los compuestos de ceragenina hidrófobos incorporados en un polímero pueden asociarse no covalentemente con el polímero. Tras el contacto con la humedad, la ceragenina puede lixiviar o eluir del polímero. Las cerageninas son generalmente solubles en agua y las cerageninas pueden asociarse con polímeros para controlar las tasas de liberación. La selección de estructuras apropiadas de polímero y ceragenina permite un período prolongado de liberación de la ceragenina.

Por ejemplo, la cadena que se extiende desde un heteroátomo (por ejemplo, N) en R₁₇ (Fórmula I) se puede adaptar para permitir tasas de elución variadas de un polímero de hidrogel. Las cadenas de ejemplo incluyen, lípidos, cadenas hidrófobas (por ejemplo, alifáticas), hidrófilas (por ejemplo, óxido de polietileno) o cualquier cadena que interactúe con el polímero es una forma que permite la modificación de la tasa de elución. Las longitudes de cadena más largas retendrán la ceragenina dentro de la matriz del polímero (en particular los dominios hidrófobos). En una realización, el compuesto de ceragenina puede tener una cadena de carbono de al menos 9 carbonos unidos al anillo D del grupo esterol (Fórmula I). Por ejemplo, la cadena de carbono de al menos 9 carbonos puede unirse al grupo R₁₇ de Fórmula I, o al carbono C₂₄ u otro carbono similar de un esqueleto de esterol.

Las cerageninas particulares incorporadas en el polímero pueden ser solubles o parcialmente solubles en soluciones acuosas. Además, las cerageninas cuando se mezclan con el agua y el tensioactivo apropiado se pueden manejar en forma de geles o emulsiones. Los copolímeros de bloques con base en óxido de etileno y/u óxido de propileno, en particular, tensioactivos de tipo Pluronic, son especialmente útiles para este propósito. Pluronic es un producto de BASF, una empresa con oficinas en Port Arthur, Texas, Estados Unidos.

Los compuestos de ceragenina pueden incorporarse en un polímero en cualquier etapa adecuada durante la fabricación de un material o producto de hidrogel. Por ejemplo, en una realización, un polímero puede ponerse en contacto con una solución de cerageninas por inmersión, aspersion, impresión o recubrimiento, etc. Los disolventes adecuados incluyen alcoholes de cadena corta como etanol, metanol, alcohol isopropílico y similares. Si se desea, el disolvente utilizado para incorporar la ceragenina se puede eliminar, por ejemplo, por evaporación. Si es necesario, el polímero puede secarse utilizando aire caliente forzado, secado en horno, aire a temperatura ambiente, secado por microondas, o el uso de tambores calientes de secado, cámaras de vacío, etc. En algunos sistemas de fabricación, el flujo de aire normal y la temperatura secan el sustrato lo suficiente sin proceso de secado discreto.

Se sabe que los compuestos de ceragenina son solubles en agua. Alternativamente, los compuestos de ceragenina también son solubles en materiales como el etanol (y otros alcoholes), propilenglicol, glicerina y polioles, o mezclas de estos con o sin agua pueden usarse para incorporar compuestos de ceragenina en un material polimérico. Además, las cerageninas se pueden incorporar como geles, emulsiones, suspensiones y en forma seca.

En otra realización, la ceragenina se incorpora a un polímero durante la polimerización de los monómeros. En estos procesos, la ceragenina se puede incluir en la mezcla de monómeros durante la polimerización. La ceragenina en el polímero final puede incorporarse de manera no covalente en el polímero y en consecuencia, se eluye cuando se pone en contacto con un disolvente tal como agua.

III. Elución

Cuando el compuesto de ceragenina se incorpora a un material polimérico, la hidrofobicidad/hidrofilicidad del polímero y el compuesto de ceragenina se seleccionan para hacer que el compuesto de ceragenina se enlace de manera no covalente al polímero de hidrogel. El enlace no covalente evita que el compuesto de ceragenina se libere todo de una vez en presencia de un disolvente. Más bien, el enlace permite que el compuesto de ceragenina se libere a lo largo del tiempo en presencia de un disolvente.

El enlace no covalente depende de la composición tanto del polímero como de la ceragenina y por lo tanto, deben seleccionarse juntas para producir la elución deseada. La selección se lleva a cabo típicamente seleccionando un polímero particular que tiene propiedades químicas y mecánicas deseadas para una solicitud particular. Por ejemplo, si el polímero está recubierto en un dispositivo médico para ser implantado en el tejido vascular, el polímero se selecciona para la compatibilidad con el tejido vascular y la sangre. Si el polímero se usa para formar una lente de contacto, el polímero se selecciona por su compatibilidad con el ojo y la necesidad de formar el polímero en una forma que corrija la visión. La hidrofobicidad/hidrofilicidad del material polimérico está, por lo tanto, restringida por la solicitud particular.

El compuesto de ceragenina tiene una hidrofobicidad seleccionada para proporcionar un enlace no covalente al polímero particular. La ceragenina se puede seleccionar para tener grupos R que enlazan de manera no covalente a los grupos funcionales del polímero. Por ejemplo, un polímero a base de poliácrlato puede tener un cierto porcentaje de grupos hidrófobos y grupos hidrófilos en la matriz polimérica y el compuesto de ceragenina puede seleccionarse para tener un sustituyente R_{17} hidrófobo (donde $q=0$ en la Fórmula I) que se enlaza de manera no covalente a los grupos hidrófobos del polímero para causar una elución relativamente constante durante un período de días o semanas.

En algunos casos, el disolvente también puede influir en la elución. En una realización, el disolvente es agua. En algunas realizaciones, el disolvente puede ser solución salina.

En una realización, el polímero de hidrogel y el compuesto de ceragenina se seleccionan para producir un enlace no covalente que proporciona una tasa de liberación de 0,1-100 $\mu\text{g/ml}$, 0,5 a 50 $\mu\text{g/ml}$ o 1-10 $\mu\text{g/ml}$ a los tres días, una semana o un mes en agua o solución salina. En una realización, la tasa de elución anterior permanece dentro de los intervalos anteriores durante al menos 3 días, una semana o un mes. Estas tasas de elución se logran en parte por el enlace no covalente que evita la rápida liberación del compuesto, lo que hace que haya más compuesto disponible en una fecha posterior.

Como se mencionó anteriormente, se ha encontrado sorprendentemente que las cerageninas enlazadas no covalentemente en hidrogeles se eluyen selectivamente en presencia de microbios. Este es un resultado sorprendente e inesperado que hace que el uso de compuestos de polímero-ceragenina sea particularmente ventajoso en comparación con otros materiales, tales como cerageninas enlazadas covalentemente a la superficie de un polímero.

Aquellas personas experimentadas en la técnica reconocerán que la selección del polímero particular y el compuesto de ceragenina dependerán de la aplicación particular y la selección apropiada puede ser realizada por una persona experimentada en la técnica usando las enseñanzas y los ejemplos proporcionados en el presente documento.

IV. Polímeros de hidrogel

Un tipo de polímero que es particularmente útil para incorporar compuestos de ceragenina hidrófobos son los polímeros de hidrogel.

Los ejemplos de polímeros de hidrogel adecuados incluyen alcohol polivinílico, poliácrlato de sodio, polímeros de acrlato, óxido de polietileno, poli(2-acrlamido-2-metil-1-ácido propanosulfónico) (poliAMP S), polivinilpirrolidona, poliácrlamida, silicona, agarosa, metilcelulosa, hialuronano, nitrilopoliácrlico hidrolizado, combinaciones de estos. Los hidrogeles pueden ser copolímeros. Los copolímeros pueden incluir unidades hidrófobas e hidrófilas.

El hidrogel es adecuado para la fabricación de una lente de contacto. Las lentes de contacto hidrófilas pueden formarse a partir de polímeros entrecruzados con base en derivados hidrófilos de ácido acrílico o metacrílico, monómeros vinílicos hidrófilos tales como vinilpirrolidona y similares. Los hidrogeles incluyen preferiblemente regiones hidrófobas hechas de bloques o monómeros que son hidrófobos.

Un ejemplo de un hidrogel para lentes de contacto adecuado se divulga en la patente de Estados Unidos 8,011,784.

Los polímeros de hidrogel se pueden formar en una lente de contacto que tiene una forma y estructura adecuadas para corregir la visión. Las personas experimentadas en la técnica están familiarizadas con las formas y estructuras de los polímeros de hidrogel que pueden proporcionar corrección para la visión. Otros dispositivos que pueden formarse a partir de los hidrogeles incluyen dispositivos de curación de heridas tales como amazonas tisulares y apósitos para heridas.

V. Dispositivos médicos y recubrimientos

Los polímeros descritos en el presente documento pueden usarse en diversas aplicaciones, que incluyen dispositivos médicos, recubrimientos, vendajes, implantes, amazonas tisulares y similares. La Figura 2 es una

representación esquemática de un dispositivo 100 médico que incluye un sustrato 110 y un recubrimiento 120 polimérico.

El sustrato 110 puede estar hecho de cualquier material adecuado para soportar y/o adherirse a un material de hidrogel. El sustrato puede ser polimérico, metálico, una aleación, inorgánico y/u orgánico. En una realización, el sustrato es un material biocompatible o bioabsorbible. Los materiales metálicos biocompatibles adecuados incluyen, pero no se limitan a, acero inoxidable, tantalito, aleaciones de titanio (incluido el nitinol) y aleaciones de cobalto (incluidas aleaciones de cobalto-cromo-níquel). Los materiales biocompatibles no metálicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, poliamidas, poliolefinas (es decir, polipropileno, polietileno, etc.), poliésteres no absorbibles (es decir, tereftalato de polietileno) y poliésteres alifáticos bioabsorbibles (es decir, homopolímeros y copolímeros de ácido láctico, ácido glicólico, lactido, glicólida, paradióxanona, carbonato de trimetileno, ϵ -caprolactona y similares, y combinaciones de estos).

El grosor del sustrato dependerá del dispositivo y del material, pero puede ser 0,1, 1,0, 10 mm o más y/o 100, 10, o 1 mm o menos y/o dentro de un intervalo de estos.

El grosor del recubrimiento 120 polimérico es generalmente menor que el grosor del sustrato 110. El recubrimiento 120 polimérico puede tener un grosor de 0,01, 0,1, 1,0 o 10 mm o más y 100, 10, 1,0 o 0,1 mm o menos o dentro de un intervalo de estos.

El recubrimiento 120 polimérico puede ser continuo o no continuo. El recubrimiento se puede aplicar al sustrato utilizando técnicas tales como recubrimiento por inmersión, recubrimiento por rotación o similares.

Los ejemplos de dispositivos médicos que pueden formarse a partir de un polímero que contiene compuestos de ceragenina hidrófobos o pueden tener tal polímero recubierto sobre ellos incluye, pero no se limita a, implantes óseos, clavos óseos, tornillos óseos, injertos de tejidos, dispositivos de vías respiratorias como tubos endotraqueales, dispositivos implantables como cánula intraluminal coronaria, cánula intraluminal periférica, catéteres, injertos arteriovenosos, injertos de desviación, marcapasos y conductores desfibriladores, clips de anastomosis, dispositivos de cierre arterial, dispositivos de cierre de foramen oval permeable y globos de administración de fármacos. El polímero puede recubrirse sobre o formar cualquier porción de las estructuras de dichos dispositivos y está preferiblemente en una superficie exterior y más preferiblemente en un servicio externo que contacta con el tejido o una interfase de aire y tejido (cuando se implanta el dispositivo).

VI. Estabilización de cerageninas por pH

Un compuesto de ceragenina puede tener enlaces hidrolizables que unen los sustituyentes catiónicos al grupo esteroil (por ejemplo, enlaces éster). La hidrólisis de estos enlaces inactiva la ceragenina. Para hacer que la ceragenina sea estable, se puede agregar un ácido para lograr un pH inferior a 6, 5,5, 5 o 4,5 y, opcionalmente, mayor que 2, 2,5 o 3 o un intervalo de estos. La estabilidad antes del uso es importante para dar una vida útil deseada y la inestabilidad durante y después del uso puede ser deseable para prevenir la acumulación a largo plazo de cerageninas en sistemas biológicos.

Puede ser ventajoso ajustar el grado de neutralización del polímero para mejorar la estabilidad de la ceragenina. El grado de neutralización del polímero se puede ajustar durante su proceso de fabricación, o posteriormente. Alternativamente, la ceragenina se puede suspender o disolver en una solución ácida; y cuando la suspensión o solución de ceragenina se agrega al polímero de hidrogel, el grado de neutralización del hidrogel se ajustaría de ese modo.

VII. Ejemplos

Para comprender mejor el mecanismo por el cual los compuestos de ceragenina hidrófobos pueden prevenir la colonización bacteriana, se evaluó el enlace entre CSA-138 y un hidrogel utilizado en lentes de contacto. En un primer ejemplo, se determinó la tasa a la que CSA-138 se eluye de un hidrogel adecuado para usar en lentes de contacto. Para cuantificar la cantidad de ceragenina que se eluye del hidrogel, se utilizó LC/MS utilizando un estándar interno marcado en masa. Sin embargo, este procedimiento solo proporcionó límites de detección de aproximadamente 2 $\mu\text{g/ml}$, y se logró matar efectivamente las bacterias a tasas de elución constantes por debajo del límite de detección. Por ejemplo, la elución cayó por debajo de los límites de detección dentro de los cinco días posteriores a la elución de lentes en las que se había incorporado CSA-138 al 1%, sin embargo, las cerageninas parecían todavía proporcionar tasas de muerte adecuadas.

Para disminuir el límite de detección para CSA-138, se preparó una versión radiomarcada de CSA-138 (CSA-138T2), se incorporó a las lentes de contacto y se cuantificó su elución de las lentes utilizando el recuento por centelleo.

Ejemplo 1

Las lentes que contenían CSA-138 al 1% se almacenaron en 0,5 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) antes de la prueba. Un conjunto de lentes se esterilizó en autoclave durante 45 minutos antes de realizar

los estudios de elución. Para los estudios de elución, las lentes se suspendieron en alícuotas de 2 ml de PBS, medio de crecimiento de TSB al 10%, medio de crecimiento de TSB al 10% que contenía 10^6 CFU de *Staphylococcus aureus*, o medio de crecimiento de TSB al 10% que contenía 10^6 CFU de *Pseudomonas aeruginosa*. Alícuotas correspondientes se intercambiaron cada 24 horas, incluyendo inóculos bacterianos. Las muestras se extrajeron cada 24 horas y se analizaron para detectar la presencia de CSA-138 utilizando el recuento por centelleo. Se generó una curva estándar para correlacionar los recuentos por minuto con la concentración de CSA-138. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

Aunque se observaron algunas variaciones de día a día, se observó una tendencia reconocible en el perfil de elución de lentes suspendidas en PBS (Figura 3). Como se esperaba, la elución en el primer día fue relativamente alta (aproximadamente 2,2 $\mu\text{g/ml}$). En el transcurso de los siguientes 19 días, la elución diaria cambió de aproximadamente 1,6 a 1,4 $\mu\text{g/ml}$ por día.

Se observó un perfil de elución comparable con lentes que se esterilizaron en autoclave antes del inicio del estudio, excepto que la cantidad inicial de material que se eluyó disminuyó algo (Figura 4). Esta disminución de la elución se debe probablemente a una mayor elución en la solución de almacenamiento durante el proceso de esterilización en autoclave. En el transcurso del estudio (desde el día 2 al 20), la cantidad de CSA-138 que se eluyó cambió de aproximadamente 1,4 a 1,2 $\mu\text{g/ml}$ por día.

Se anticipó que un aumento en la osmolalidad de una solución acuosa disminuiría la solubilidad de CSA-13 y ralentizaría la elución. Se determinó el perfil de elución en TSB al 10% en PBS y según se esperaba, la elución disminuyó (Figura 5) para coincidir con la observada con lentes que se habían esterilizado en autoclave.

Debido a que las tasas de muerte parecían estar ocurriendo en concentraciones tan bajas, se planteó la hipótesis de que la presencia de bacterias estaba influyendo en la elución de CSA-138 de las lentes. Para probar esta hipótesis, las lentes se incubaron con *S. aureus* o *P. aeruginosa* y se monitorizó la elución. Estos experimentos se realizaron durante nueve y ocho días, respectivamente. La elución de CSA-138 fluctuó sustancialmente y a un grado mucho mayor que fuera de la presencia de bacterias (Figuras 6 y 7). Debido a estas variaciones, los experimentos se acortaron en relación con los experimentos de elución sin bacterias. Aunque hubo una variación sustancial en la elución en presencia de bacterias, fue posible determinar la importancia de las diferencias en la elución en comparación con muestras con y sin bacterias. Después del primer día, las diferencias dieron un valor de p de 0,05 y durante muchos de los días, el valor de p fue inferior a 0,01. Estos resultados argumentan que las bacterias afectan la elución de CSA-138 de las lentes.

Los valores de MIC de CSA-138 para *S. aureus* y para *P. aeruginosa* son 0,5 y 1,0 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. La elución de CSA-138 de las lentes proporciona concentraciones que solo son capaces de eliminar los inóculos introducidos. La esterilización en autoclave de las lentes, aumentar la osmolalidad en la solución circundante y la presencia de bacterias afecta modestamente el perfil de elución.

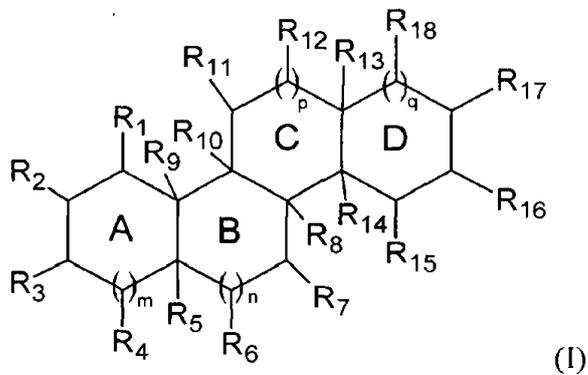
Si se toma el perfil de elución dado en la Figura 5 y se extiende la tendencia hasta que la elución de CSA-138 caiga por debajo de 1 $\mu\text{g/ml}$, esto requeriría aproximadamente 40 días (la elución disminuye de 1,4 a 1,2 $\mu\text{g/ml}$ por día entre los días dos y 20; se espera que una disminución de 1,2 a 1,0 $\mu\text{g/ml}$ por día requiera otros 19 días). Por lo tanto, se esperaría que la elución de CSA-138 fuera suficiente para eliminar los inóculos razonables de bacterias durante hasta 40 días. Como se señaló en un informe anterior, la elución de CSA-138 de las lentes evita la colonización por *S. aureus* durante 30 días consecutivos y por *P. aeruginosa* durante 19 días. Estos estudios se realizan con inóculos relativamente altos (10^6 CFU) y se anticipa que la CSA-138 que eluye después de 30 días sería suficiente para eliminar los inóculos más pequeños.

La optimización de la estructura de CSA-138 ha dado como resultado un potente agente antimicrobiano que se asocia con el material de lentes de contacto y se eluye en la concentración necesaria para eliminar inóculos sustanciales de bacterias Gram positivas y negativas. Teniendo en cuenta la cantidad de bacterias a las que están expuestas normalmente las lentes, es probable que se puedan usar concentraciones más bajas de CSA-138 mientras se continúa previniendo el crecimiento de bacterias en las lentes.

Para los fines de esta invención, las "condiciones fisiológicas" son condiciones acuosas en las que el pH, temperatura y concentraciones de sal son generalmente adecuadas para mantener la vida (por ejemplo, para muchos, pero no todos los dispositivos, las condiciones fisiológicas son a menudo un pH cercano a 7, temperaturas cercanas a 37 °C y la concentración de sal cerca de 150 mM).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto hidrófobo esteroideo catiónico antimicrobiano (CSA) que tiene una estructura de Fórmula I:



5 en la que

q= 0 y p= 1;

R₃, R₇ y R₁₂ incluyen independientemente un grupo catiónico;

R₁₇ es un sustituyente hidrófobo que incluye un oxígeno y un hidrocarburo de cadena lineal con al menos 9 átomos de carbono distales al oxígeno; y

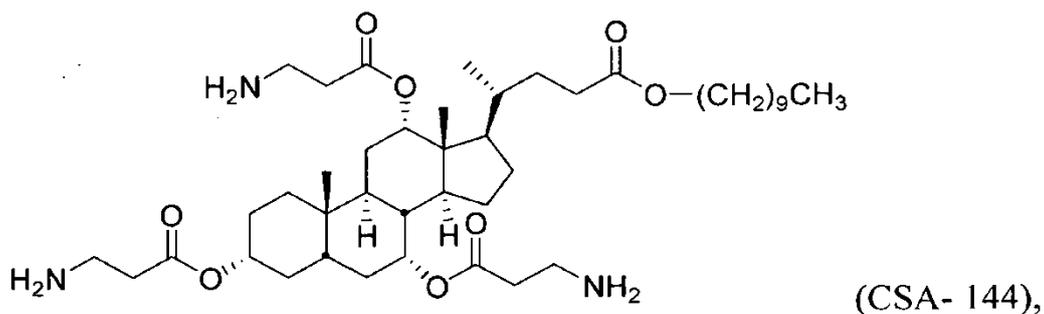
10 R₁, R₂, R₄-R₆, R₈-R₁₆ son cualquier sustituyente;

en el que el compuesto CSA tiene un valor CLogP de al menos 6,5.

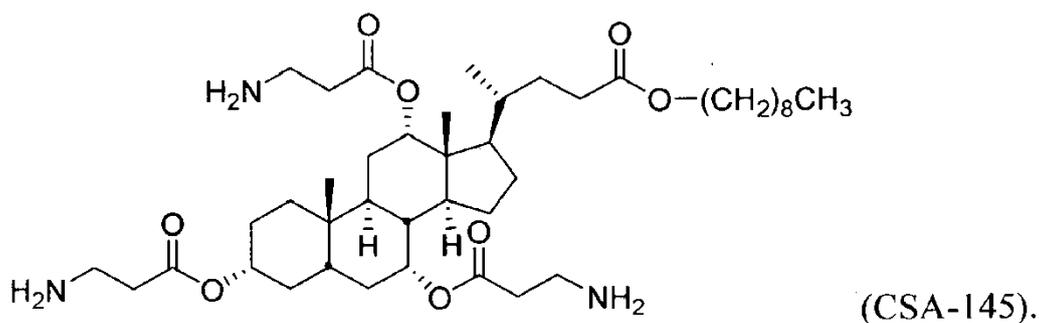
2. Un compuesto CSA hidrófobo según la reivindicación 1, en el que el valor de CLogP es al menos 7,5.

3. Un compuesto CSA hidrófobo según la reivindicación 1, en el que el valor de ClogP es al menos 8,5.

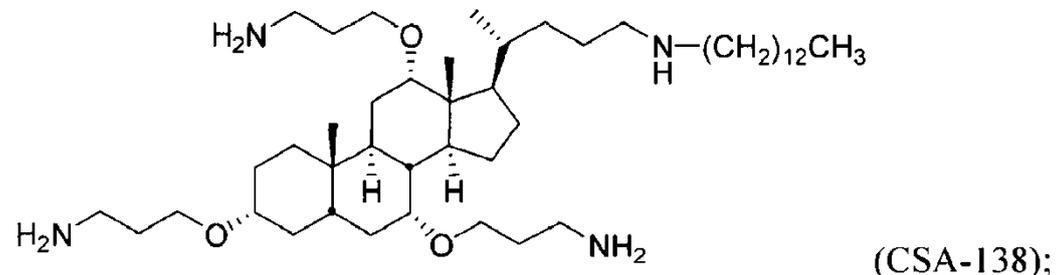
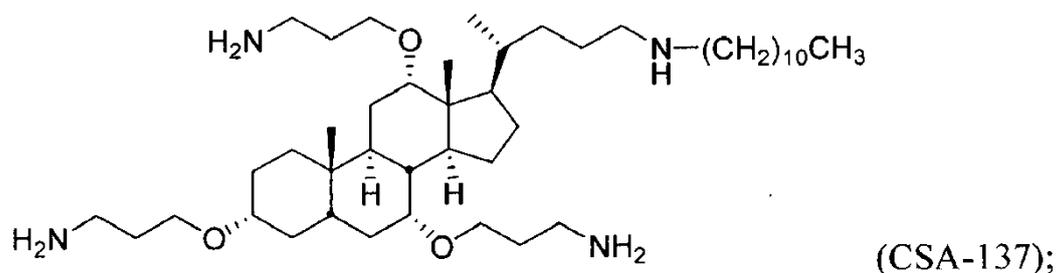
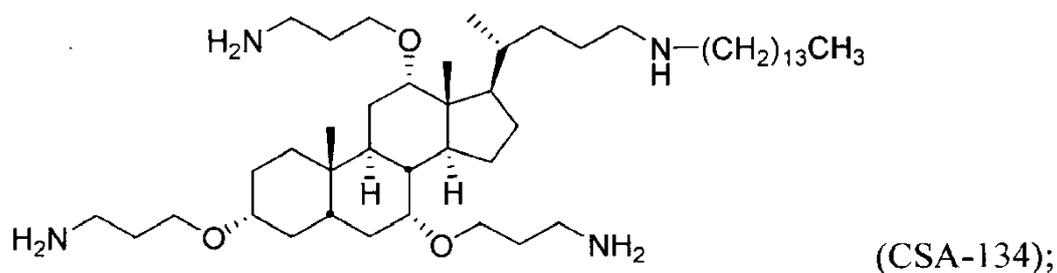
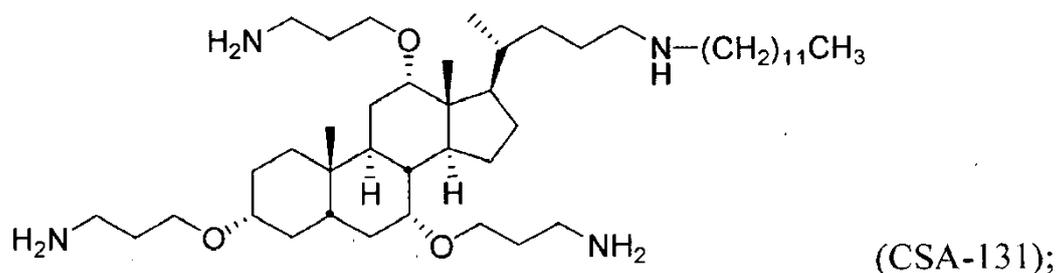
4. Un compuesto CSA hidrófobo según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:



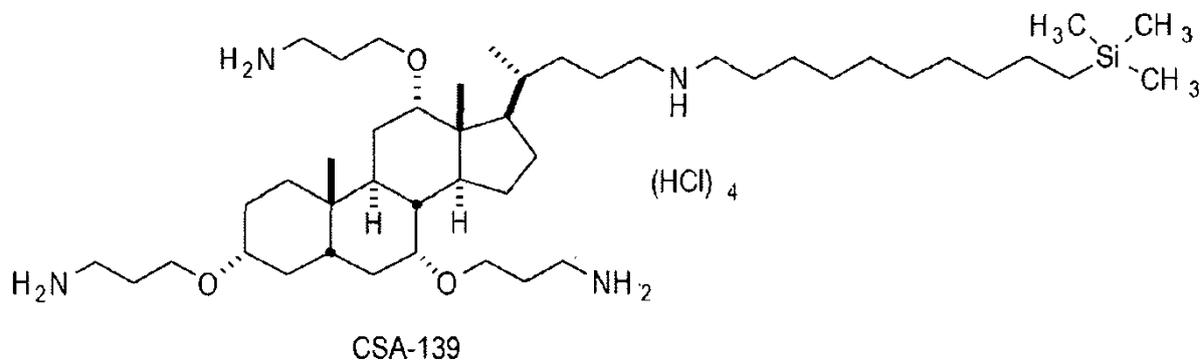
15 y



5. Un compuesto hidrófobo seleccionado del grupo que consiste en:

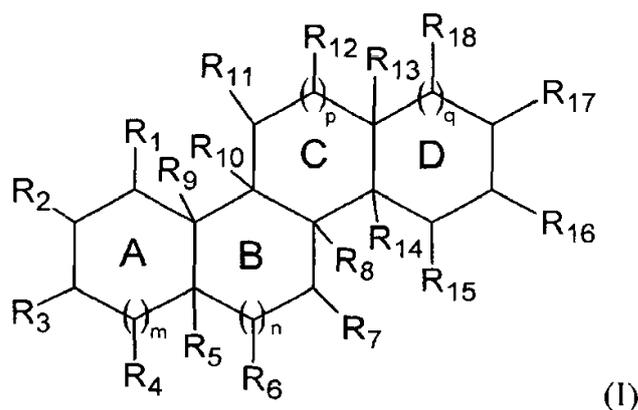


5 y



6. Un dispositivo que comprende una estructura de polímero y un compuesto de CSA como en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 incorporado en la estructura de polímero con interacciones no covalentes.

10 7. Un dispositivo que comprende una estructura de polímero y un compuesto antimicrobiano esteroideo catiónico (CSA) hidrófobo incorporado en la estructura del polímero con interacciones no covalentes, en el que el compuesto de CSA hidrófobo tiene una estructura de Fórmula I.



(I)

en la que

$q=0$ y $p=1$;

R_3 , R_7 y R_{12} incluyen independientemente un grupo catiónico;

- 5 R_{17} es un sustituyente hidrófobo que incluye un heteroátomo y un hidrocarburo de cadena lineal con al menos 9 átomos de carbono distales al heteroátomo o un trimetilsilano; y

R_1 , R_2 , R_4 - R_6 , R_8 - R_{16} son cualquier sustituyente,

con la condición de que el compuesto CSA no sea CSa-135,

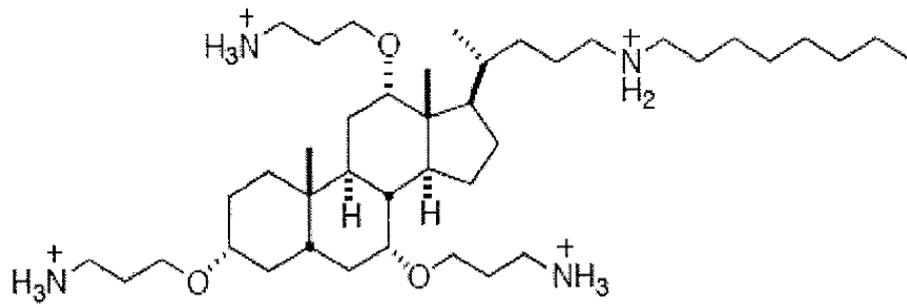
en el que el compuesto CSA tiene un valor CLogP de al menos 6,5.

- 10 8. El dispositivo de la reivindicación 6 o 7, en el que la estructura polimérica incluye alcohol polivinílico, poliacrilato de sodio, un polímero de acrilato, óxido de polietileno, poliAMPS, polivinilpirrolidona, poliacrilamida, silicona, agarosa, metilcelulosa, hialuronano o una combinación de estos.

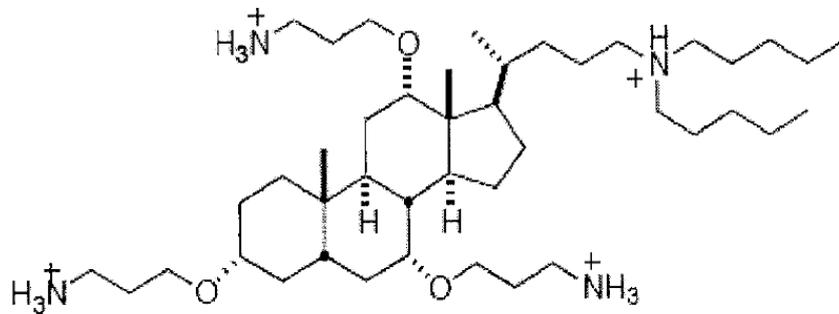
- 15 9. El dispositivo de la reivindicación 6 o 7, en el que el dispositivo es un dispositivo médico que se selecciona del grupo que consiste en implante óseo, clavo óseo, tornillo óseo, injerto de tejido, tubo endotraqueal, cánula intraluminal coronaria, cánula intraluminal periférica, catéter, injerto arteriovenoso, injerto de desviación, marcapasos y conductores desfibriladores, clips de anastomosis, dispositivos de cierre arterial, dispositivos de cierre de foramen oval permeable y globos de administración de fármacos.

10. El dispositivo de la reivindicación 6 o 7, en el que la estructura de polímero está recubierta sobre un sustrato.

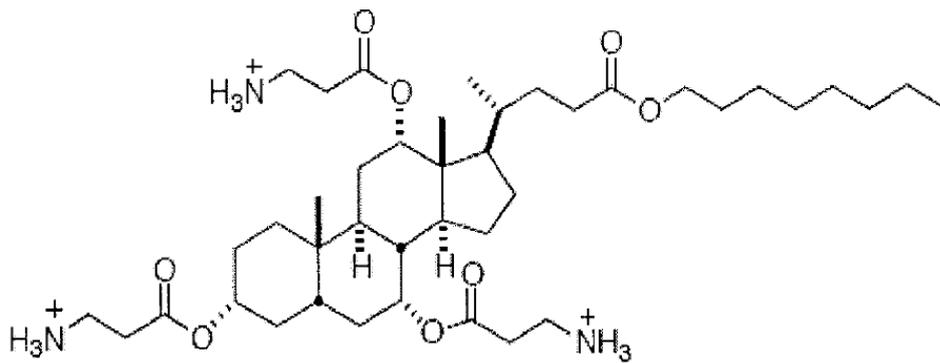
- 20 11. El dispositivo de la reivindicación 6 o 7, en el que el polímero y el compuesto CSA se seleccionan para producir un enlace no covalente de modo que el compuesto CSA se eluya de la estructura del polímero en agua salina en exceso a una tasa de 0,1-100 $\mu\text{g/ml}$, 0,5-50 $\mu\text{g/ml}$, o 1-10 $\mu\text{g/ml}$ a los 3 días, una semana o un mes y/o durante un período de 3 días, una semana y/o un mes.



CSA-13
CLogP: 5,228

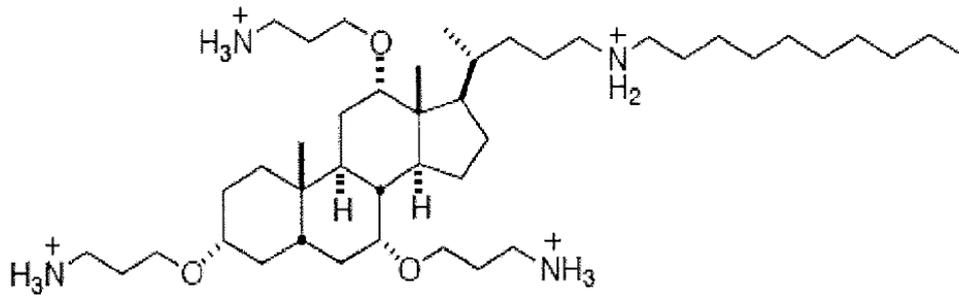


CSA-90
CLogP: 6,0858

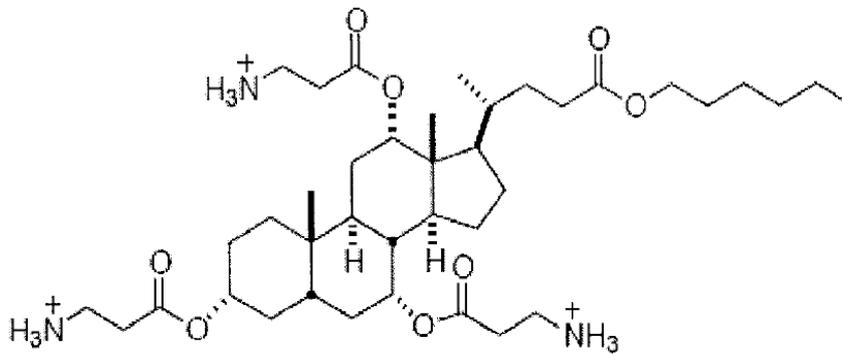


CSA-44
CLogP: 6,351

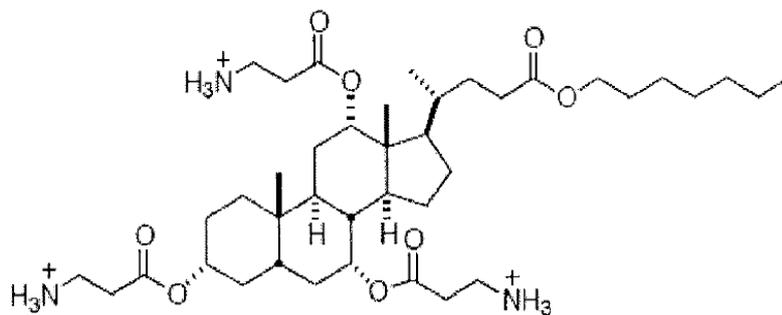
FIGURA 1A



CSA-136
CLogP: 6,286

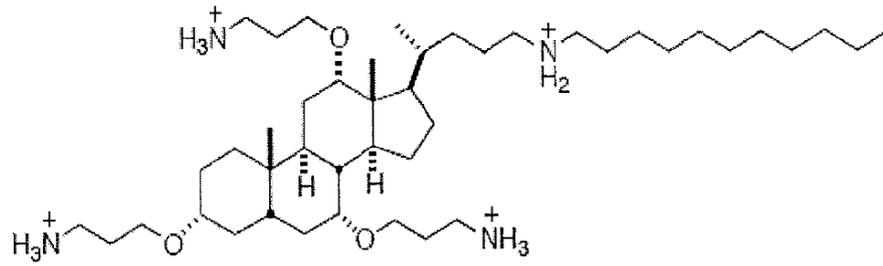


CSA-142
CLogP: 5,293

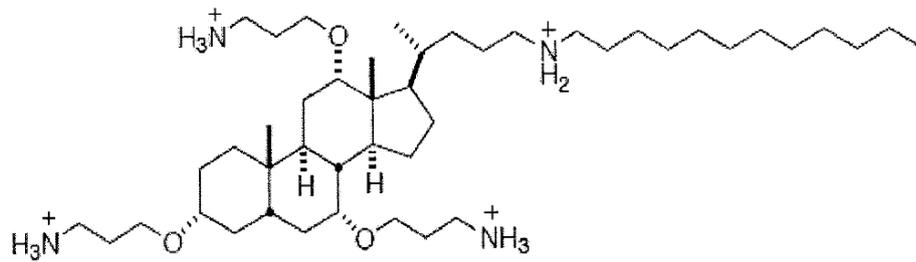


CSA-146
CLogP: 5,822

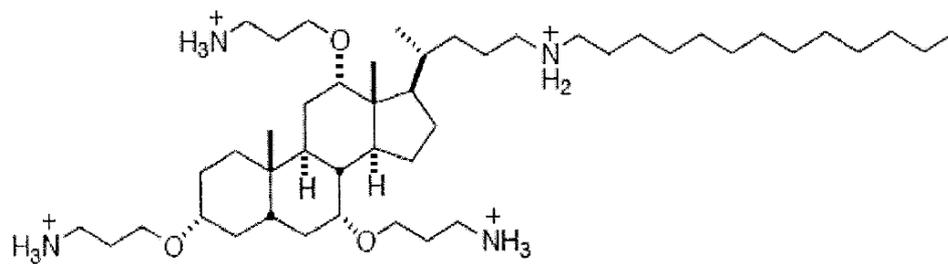
FIGURA 1A (continuación)



CSA-137
CLogP: 6,815

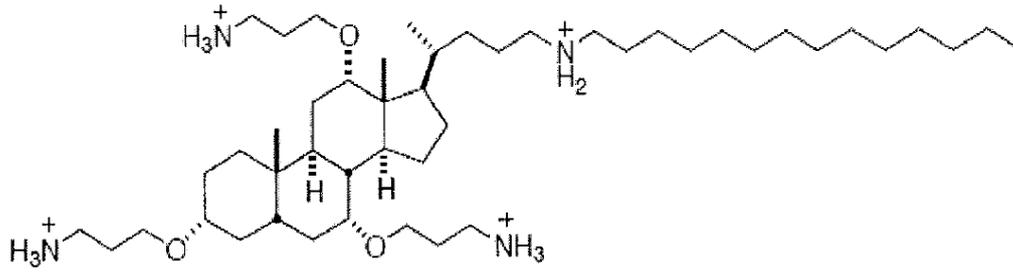


CSA-131
CLogP: 7,344

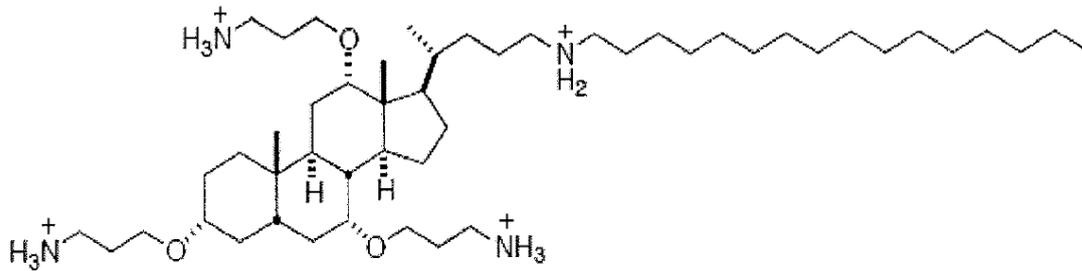


CSA-138
CLogP: 7,873

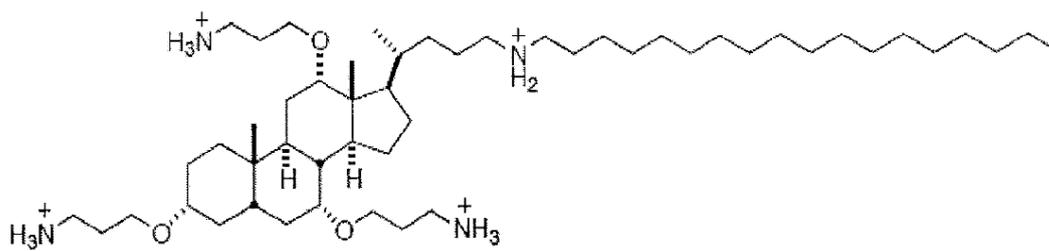
FIGURA 1B



CSA-134
CLogP: 8,402

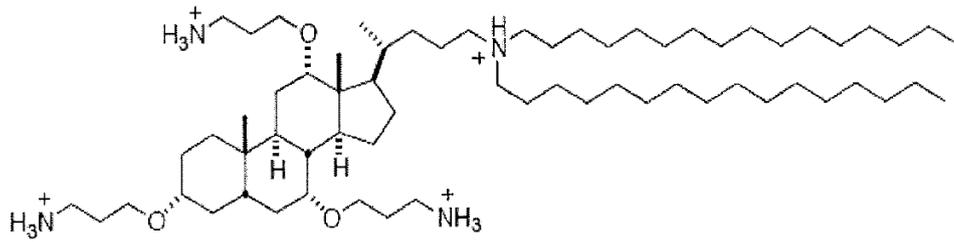


CSA-135
CLogP: 9,46

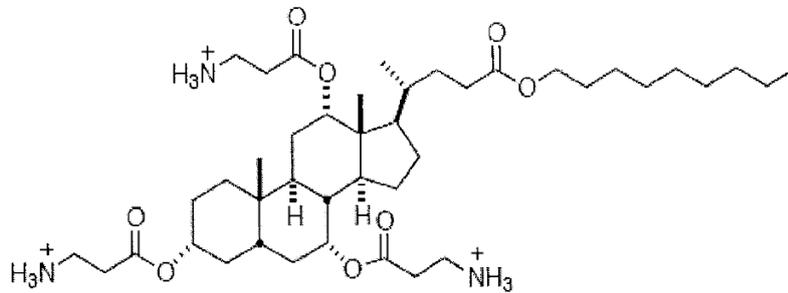


CSA-132
CLogP: 10,518

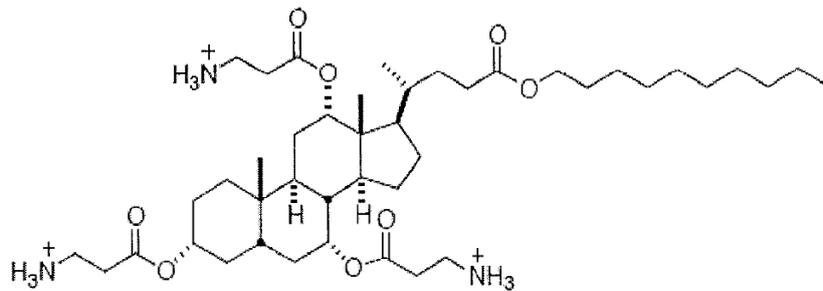
FIGURA 1B (continuación)



CSA-133
CLogP: 17,7238



CSA-145
CLogP: 6,88



CSA-144
CLogP: 7,409

FIGURA 1B (continuación)

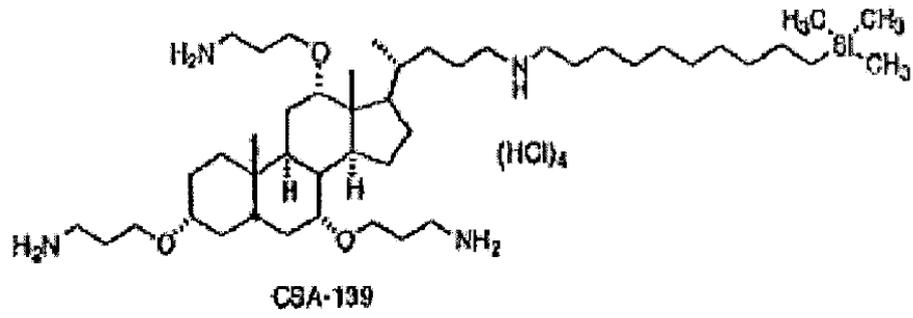


FIGURA 1B (continuación)

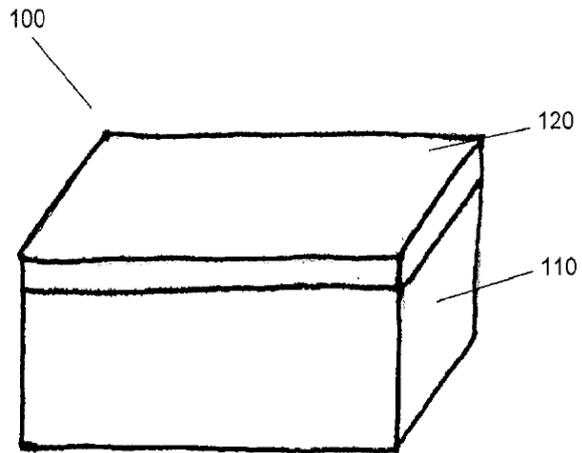


Figura 2

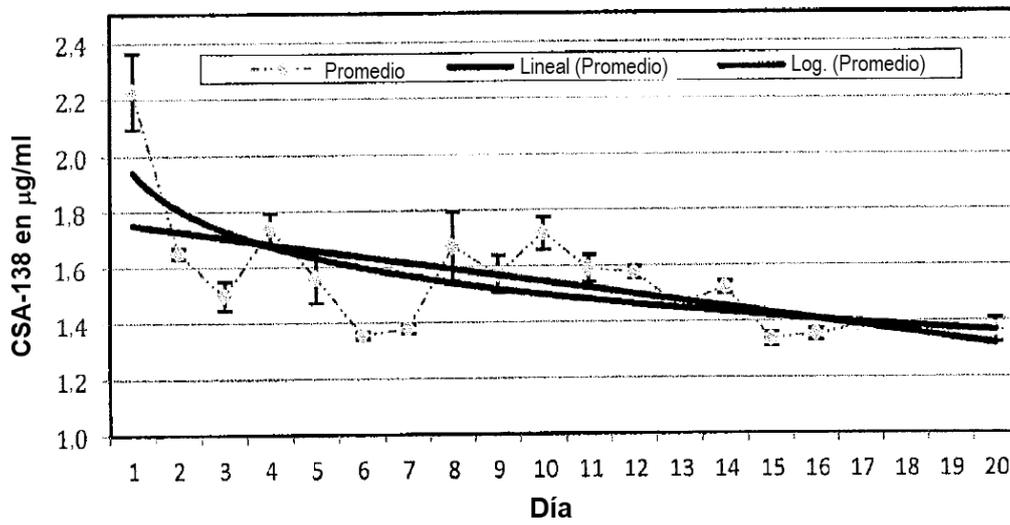


Figura 3

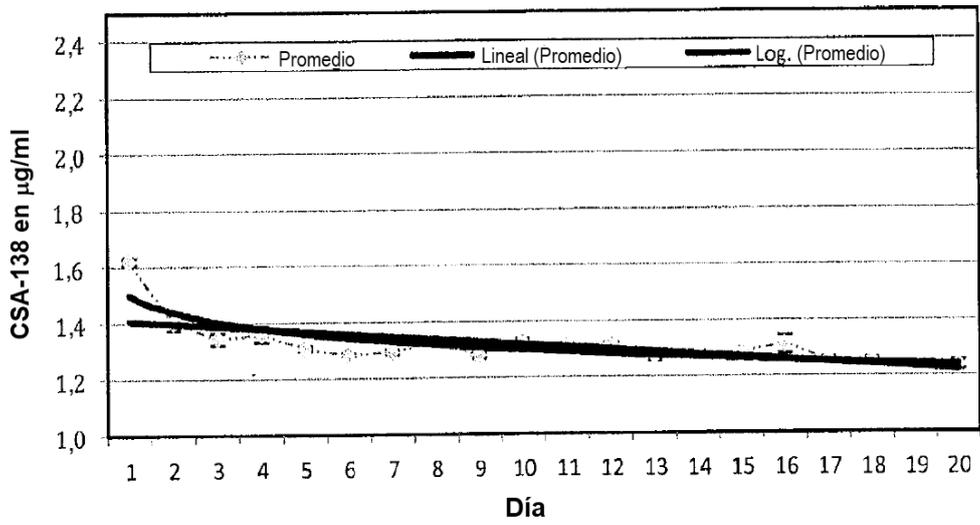


Figura 4

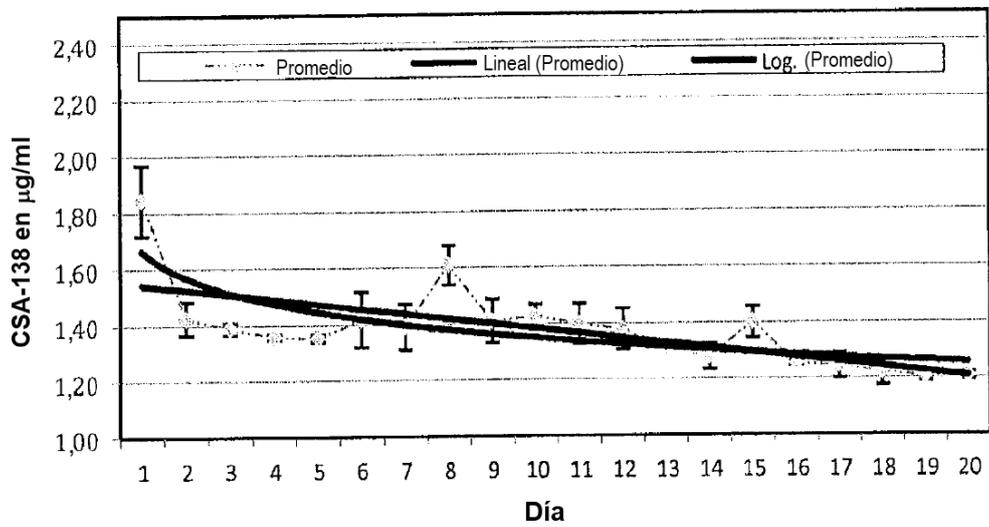


Figura 5

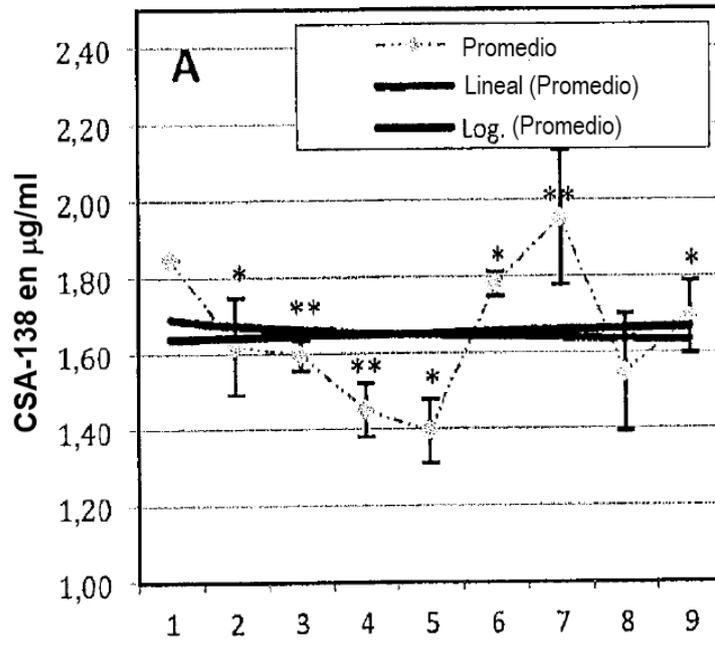


Figura 6

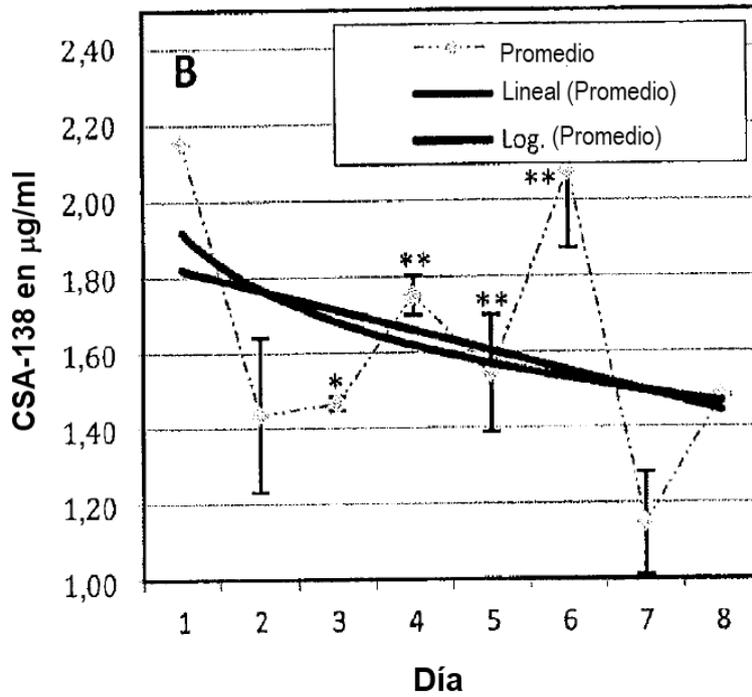


Figura 7