

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 753 948**

51 Int. Cl.:

C08G 73/02

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.01.2014** **PCT/AT2014/050026**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.07.2014** **WO14113835**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.01.2014** **E 14712557 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2019** **EP 2948496**

54 Título: **Nuevos polímeros bioactivos**

30 Prioridad:

25.01.2013 AT 532013

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

15.04.2020

73 Titular/es:

SEALIFE PHARMA GMBH (100.0%)
Technopark 1
3430 Tulln, AT

72 Inventor/es:

PRETSCH, ALEXANDER;
NAGL, MICHAEL;
WIESNER, CHRISTOPH y
BURGMANN, HEINZ

74 Agente/Representante:

CAPITAN GARCÍA, Nuria

ES 2 753 948 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

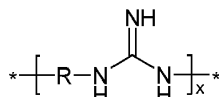
Nuevos polímeros bioactivos

5 Campo técnico de la Invención

La presente invención se refiere a nuevos polímeros bioactivos y su uso como biocidas.

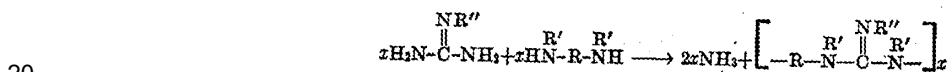
10 Antecedentes de la Invención

Las poliguanidinas de la siguiente fórmula general como también diversos derivados de estas son conocidas desde hace tiempo.

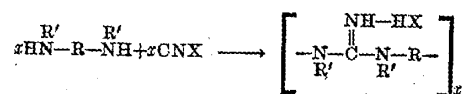


En la bibliografía de patentes se describieron ya en 1943 en la patente de Estados Unidos 2.325.586 varios procedimientos de preparación de distintas poliguanidinas mediante policondensación de i) guanidina o sales de la misma, ii) cianohalogenuros, iii) dicianamidas o iv) dihalogenuros de isocianida con diaminas o v) dos dicianodiamidas entre sí (lo que da poliguanidinas sustituidas con ciano), así como la poliguanidina así generada como coadyuvante de color:

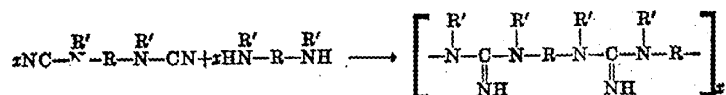
i)



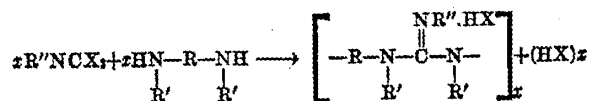
ii)



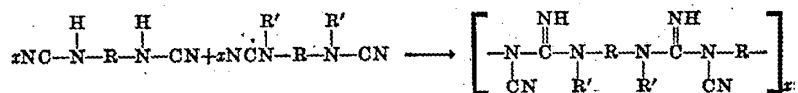
iii)



25 iv)



v)

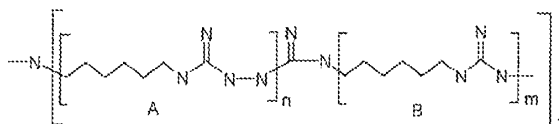


30 Como diaminas en las reacciones i) a iv) ya se dieron a conocer tanto alquilen- y fenilendiaminas así como también oxialquilen- o polieterdiaminas, como se dieron a conocer posteriormente también con Jeffamine®.

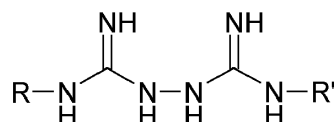
Décadas posteriores han demostrado tales poliguanidinas también como biocidas extraordinarios. De este modo un grupo en torno a Oskar Schmidt da a conocer en el documento WO 99/54291 A1 la preparación de polihexametilenguanidinas microbiocidas, en el documento WO 01/85676 A1 poliguanidinas biocidas, 35 que se preparan mediante condensación de guanidina con polioxialquilenos, y en el documento WO 2006/047800 A1 derivados de poliguanidina efectivos como biocidas, de forma particular como fungicidas, que se forman mediante policondensación de guanidina con una mezcla de alquilendiamina y

oxalquilendiamina y presentan toxicidad menor que los polímeros que contienen solo uno de los dos tipos del resto R_1 divalente.

- 5 En el documento WO 02/30877 A1 se describen poliguanidinas similares como agentes desinfectantes que contienen adicionalmente grupos fenileno en las cadenas. Un grupo de investigación ruso (Tets, Tets y Krasnov) da a conocer en el documento WO 2011/043690 A1, derivado de los documentos US 2011/0269936 A1 y EP 2.520.605 A1, poliguanidinas biocidas de la siguiente fórmula, que se preparan mediante policondensación de guanidina y hexametildiamina en presencia de hidrato de hidrazina:

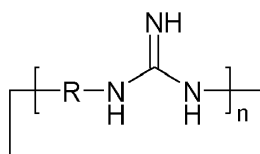


- 10 La hidrazina reemplaza por tanto durante la policondensación - al menos formalmente- un grupo amino bien solo uno o también dos grupos guanidina, por lo cual se deben obtener copolímeros de bloques, en los que se intercambian bloques de poli(hexametilenguanidina) con bloques de poli(hexametilenaminoguanidina) y los dos tipos de bloques respectivamente están conectados entre sí por dímeros de guanidina, como se representa a continuación:



- 15 También estos polímeros y sales de adición de ácido de los mismos deben actuar como biocidas frente a bacterias, virus y hongos. Sin embargo, se encuentran en los ejemplos de estas solicitudes, en las que se prepararon 7 polímeros distintos, a parte de las indicaciones, que en el ejemplo 1 se cita una "sustancia sólida, casi incolora, transparente", sin apenas datos físicos respecto a los productos obtenidos.

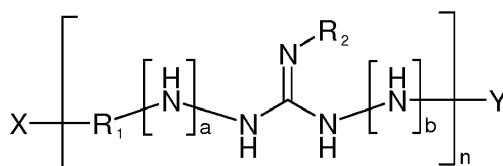
- 20 En lo referente a las posibles estructuras, que pueden generarse durante las policondensaciones de guanidinas con diaminas, existen varios artículos de un grupo de investigación de la Universidad Técnica de Graz, por ejemplo, Albert *et al.*, Biomacromolecules 4(6), 1811-1817 (2003), y Feiertag *et al.*, Macromol. Rap. Commun. 24(9), 567-570 (2003). Adicionalmente a las distintas posibilidades de terminación de cadenas poliméricas lineales respectivamente con uno de los monómeros de partida se forman normalmente en una proporción no despreciable, que depende entre otros de la longitud de
25 cadena de la diamina, también moléculas cíclicas de la siguiente fórmula general:



- 30 Las principales desventajas de prácticamente todos los derivados de poliguanidina descritos anteriormente son, por un lado, la toxicidad no despreciable de estos productos y, en el caso del uso de componentes altamente reactivos, procesos de producción relativamente complejos, y también el uso de componentes toxicológicamente conocidos como la hidrazina, por lo tanto, el objetivo de la invención era producir nuevas poliguanidinas, menos tóxicas, pero aún efectivas como biocidas, y la forma más simple y económica, evitando las desventajas mencionadas anteriormente.

Descripción de la Invención

- 35 Este objetivo se logra mediante la presente invención al proporcionar nuevos productos de policondensación de aminoguanidina y/o 1,3-diaminoguanidina con una o más diaminas, en donde los productos de policondensación son derivados de poliguanidina de la siguiente fórmula (I):



(I)

en la que

X se selecciona de -NH₂, aminoguanidino y 1,3-diaminoguanidino;

Y se selecciona de -H y -R₁-NH₂;

- 5 o X e Y juntos representan un enlace químico, para generar una estructura cíclica;

R₁ se selecciona de restos orgánicos divalentes con 2 a 20 átomos de carbono, en los que están reemplazados dado el caso uno o varios átomos de carbono por O o N;

A y b son cada uno 0 o 1,

donde a + b ≠ 2 cuando no se incluyen unidades de 1,3-diaminoguanidina;

- 10 R₂ se selecciona de -H y -NH₂, en donde

R₂ es -NH₂, si a+b = 0,

R₂ es -H o -NH₂, si a+b = 1 y

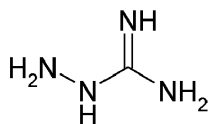
R₂ es -H, si a+b = 2; y

n ≥ 2;

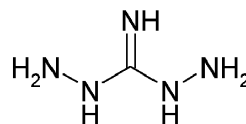
- 15 o sales de los mismos.

- Los nuevos derivados de poliguanidina de la fórmula (I) han demostrado ser sustancias antimicrobianas efectivas en pruebas de actividad, pero sorprendentemente tienen una toxicidad significativamente menor que los polímeros estructuralmente similares de los documentos citados anteriormente, WO 2011/043690 A1, US 2011/0269936 A1 y EP 2.520.605 A1, como se evidencia por con los ejemplos de realización posteriores de la invención y ejemplos comparativos. Sin pretender unirse a teoría alguna, los inventores suponen que grupos amino- y diaminoguanidino son más compatibles con células eucarióticas humanas que los grupos guanidino y de forma particular que cualquier polímero que contenga los dímeros de guanidina con puente hidrazo representados anteriormente. Además, el procedimiento dado a conocer evita el uso del componente tóxico hidrato de hidrazina en el proceso de polimerización, que puede estar contenido como monómero residual en algunos polímeros de la técnica anterior.

La fórmula anterior (I) representa productos de policondensación de (mono)-aminoguanidina, en lo sucesivo denominados simplemente MAG, así como los de 1,3-diaminoguanidina, en adelante denominados DAG para abreviar.



MAG



DAG

- La fórmula (I) se explica por el hecho de que durante el proceso de policondensación bajo eliminación de amoníaco, los radicales MAG y DAG pueden participar en la policondensación tanto a través de su grupo amino o imino tautomérico como a través de su(s) agrupación(es) de hidrazo(hidrazinilo). Por lo tanto, tanto para MAG como para DAG como el monómero de partida, hay tres formas diferentes de incorporación en las cadenas de los polímeros según esta invención. En el caso de MAG, en la fórmula (I), la única agrupación hidrazo, en el caso de DAG, sin embargo, la única agrupación imino/amino puede apuntar hacia la izquierda, hacia la derecha o hacia arriba.

Esto significa para MAG los siguientes parámetros posibles en la fórmula (I):

- a = 1, b = 0, R₂ es -H: la agrupación hidrazo apunta a la izquierda;
- a = 0, b = 1, R₂ es -H: la agrupación hidrazo apunta a la derecha; o
- a = 0, b = 0, R₂ es -NH₂: la agrupación hidrazo apunta hacia arriba.

Para DAG existen las siguientes combinaciones posibles de parámetros:

- a = 0, b = 1, R₂ es -NH₂: la agrupación amino apunta a la izquierda;
- a = 1, b = 0, R₂ es -NH₂: la agrupación amino apunta a la derecha; o
- a = 1, b = 1, R₂ es -H: la agrupación amino apunta hacia arriba.

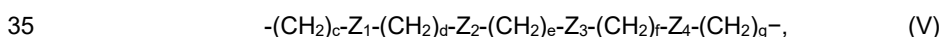
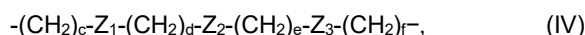
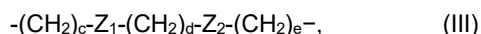
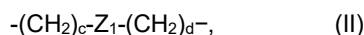
5 Sin desear limitarse a esto, los espectros de RMN de los policondensados obtenidos, como se describe en los ejemplos posteriores de la invención, parecen mostrar que a lo largo de las reacciones de policondensación, se obtenían mezclas de varias de las tres posibilidades de alineación, que se supone (esto hasta ahora no está aclarado al 100 %) tienen lugar dentro de una cadena de múltiples alineaciones y del mismo monómero.

10 En el contexto anterior, se hace referencia más explícitamente a señalar que la posición de enlaces dobles C=N de los grupos guanidino - como también la posición espacial de los sustituyentes R₂ en el doble enlace - se someten a efectos tautoméricos habituales. Es decir, el doble enlace de guanidina puede estar dentro o fuera de la cadena y R₂ puede apuntar hacia la izquierda o hacia la derecha. Por lo tanto, dichos tautómeros de los productos de policondensación de fórmula (I) anteriores también están destinados a estar dentro del alcance de la presente invención.

15 Las opciones anteriores para X e Y se deben a las diferentes posibilidades de terminación de la cadena, dependiendo de si se utilizó MAG, DAG o una mezcla de los dos como monómero de partida, incluida la posibilidad de cierre del anillo en un policondensado cíclico. Véanse también los artículos citados anteriormente por Albert *et al.* y por Feiertag *et al.* Para los grupos terminales aminoguanidino (MAG) y 1,3-diaminoguanidino (DAG), por supuesto, se aplican las mismas opciones que para aquellos dentro de la cadena, es decir, la unión a la cadena puede ser a través de cualquier átomo de nitrógeno.

20 El resto R₁ según la presente invención puede ser un resto hidrocarbonado divalente lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado que tiene de 2 a 20 átomos de carbono, preferiblemente de 4 a 18 átomos de carbono, más preferiblemente de 6 a 12 átomos de carbono, en el que algunos átomos de C pueden ser reemplazados por O y/o N. Las preferencias anteriores fueron resultado de las siguientes consideraciones. Con restos muy cortos R₁, los grupos activos MAG o DAG están muy cerca uno del otro, 25 lo que puede reducir la actividad de los polímeros, pero están bastante separados para radicales más largos. Aunque, por lo tanto, los restos con más de 20 átomos también son posibles en principio, no son preferibles desde un punto de vista económico, ya que proporcionan polímeros de fórmula (I) en la que solo están presentes relativamente pocos grupos guanidino eficaces antiinfecciosos por unidad de peso.

30 Preferiblemente, el resto R₁ se selecciona de restos alquilenos en los que opcionalmente uno o más átomos de carbono se reemplazan por O o N, lo que aumenta la hidrofiliía de las cadenas, más preferiblemente de restos de las fórmulas generales (II) a (V) a continuación:



en donde Z₁ a Z₄ representan cada uno independientemente un heteroátomo seleccionado de O y N, y los índices c a g representan cada uno independientemente un número entero en el rango de 1 a 12, tal que el número total de átomos de R₁ no excede de 20. Se prefiere particularmente que dentro de un grupo R₁ todos los heteroátomos Z sean O o N.

Los mejores resultados en los ensayos de su actividad biocida o toxicidad se lograron con compuestos en los que R_1 representa el resto bivalente de una polieterdiamina, como la 4,9-dioxadodecano-1,12-diamina, un polioxi-etileno- y/o propilendiamina, donde n es preferiblemente de 2 a 15, más preferiblemente de 2 a 10, especialmente de 2 a 6.

- 5 Como sales adecuadas de las nuevas poliguanidinas de fórmula (I) son cualquier sal de adición de ácido con uno o más ácidos inorgánicos u orgánicos, por ejemplo, ácidos halogenhídricos, oxiácidos de nitrógeno, azufre o fósforo, ácido bórico, ácido carbónico, ácido carboxílico, tiocarboxílico, carbámico, sulfónico, fosfónico o fosfínico, así como ésteres parciales o amidas de representantes polivalentes de estos ácidos. Preferiblemente se usan de acuerdo con la presente invención sales farmacéuticamente
- 10 aceptables, más preferiblemente sales de adición de ácido como clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, metilsulfato, carbonato, borato, cianato, tiocianato, fosfato, mesilato, nitrato, acetato, benzoato, lactato, tartrato, citrato, maleato, fumarato o ésteres parciales de estos ácidos, si son difuncionales o superior. Como componente alcohol de tales ésteres parciales, se prefiere un alcohol farmacéuticamente aceptable, que es especialmente etanol.
- 15 Cuando el resto R_1 está contenido uno o más grupos OH o COOH, de este modo las sales con bases inorgánicas u orgánicas también se encuentran dentro del alcance de la presente invención, preferiblemente con bases farmacéuticamente aceptables, más preferiblemente con un derivado de guanidina, en particular con amino o diaminoguanidina, es decir, con el derivado de guanidina, que se deriva de la preparación de las nuevas poliguanidinas de acuerdo con la invención. Por lo general se
- 20 forma en la preparación sin una sal interna a partir de grupos ácidos y básicos dentro de las moléculas respectivas.

- En un segundo aspecto de la invención se proporciona un procedimiento para la preparación de derivados de poliguanidina de acuerdo con el primer aspecto por policondensación de un derivado de guanidina o una sal del mismo con una diamina, caracterizado porque MAG y/o DAG o una sal de adición de ácido del mismo se policondensa con al menos una diamina $H_2N-R_1-NH_2$ mediante calentamiento.
- 25

- A diferencia del estado de la técnica, el procedimiento de la invención implica la reacción de MAG o DAG con una o más diaminas, preferiblemente una única diamina. De este modo se prepararían productos claramente definidos como por ejemplo en los trabajos de investigadores rusos antes citados, especialmente en las mezclas de reacción preparadas según la invención la hidrazina libre no era detectable en fase alguna de la reacción - ni cromatográfica ni por vía química húmeda-. Las reacciones (secundarias) con hidrazina, que de hecho se deseaban en el estado de la técnica citada, pero que son completamente indeseables en este documento, podrían evitarse de manera efectiva.
- 30

- Preferiblemente, el procedimiento de la invención se lleva a cabo mediante la adición de una sal de MAG o DAG, en particular su clorhidrato, junto con la diamina, preferiblemente en un ligero exceso molar, por ejemplo de 3 a 5 % en moles o, por razones de economía, como máximo 10 % en moles, referido a (di-) aminoguanidina, para asegurar la conversión completa del derivado de guanidina, calentándose primero a una primera temperatura más baja, preferiblemente alrededor de 80-150° C, más preferiblemente 110-130°C, y luego en una segunda temperatura más alta, preferiblemente 150-250°C, más preferiblemente 160-180°C, para controlar la velocidad de reacción y, por lo tanto, la evolución del gas. La mezcla de
- 40 reacción se mantiene preferiblemente a la segunda temperatura durante 1 a 3 horas, más preferiblemente durante aproximadamente 2 horas, a la primera temperatura durante un tiempo prolongado, y luego preferiblemente durante 1 a 8 horas, más preferiblemente 3 a 5 horas, para asegurar una reacción completa.

- La reacción se lleva a cabo preferiblemente a presión normal y con exclusión de agua, que puede efectuarse, por ejemplo, mediante al menos un enjuague inicial del recipiente de reacción con gas inerte y la provisión de un tubo de secado en el recipiente de reacción. Sin embargo, también es posible aplicar un vacío, especialmente hacia el final de la reacción en forma de una etapa de purificación, para evaporar por completo el amoníaco libre y los monómeros residuales, es decir, sobre todo el exceso de diamina.
- 45

- Una vez completada la reacción, el derivado de poliguanidina obtenido se disuelve preferiblemente en agua, por ejemplo, en aproximadamente 3 a 10 veces la cantidad de agua. Esto sirve, por un lado, para separar cualquier componente insoluble en agua, y por otro lado, una solución acuosa es una formulación preferida para la aplicación de los nuevos polímeros, por lo que -opcionalmente después de la adición de adyuvantes opcionales- a veces directamente utilizable como tal.
- 50

- Además, las posibilidades de purificación actualmente menos preferidas serían, por ejemplo, la evaporación del agua de la solución acuosa y el secado de los polímeros al vacío o en salmuera a partir de la solución acuosa mediante la adición de ácido y el posterior secado, para lo cual se tienen en cuenta los ácidos mencionados anteriormente, en particular los ácidos farmacéuticamente aceptables descritos
- 55

como preferidos. Una realización de la salmuera comprende la inyección de CO₂ y salmuera de la poliguanidina como carbonato o bicarbonato. Si la poliguanidina deseada no se va a usar como una sal, sino como una base libre, la salmuera puede ser seguida de un tratamiento con una base, que puede estar presente en solución o suspensión acuosa o no acuosa.

- 5 En un tercer aspecto, la invención también se refiere a un derivado de poliguanidina según un primer aspecto de la invención o producido mediante un procedimiento según el segundo aspecto de la invención para su uso en el campo humano y veterinario para combatir infecciones bacterianas, fúngicas y virales y sus secuelas, como pesticida y desinfectante en el sector agrícola y ambiental, generalmente como desinfectante (biocida) para la reducción y destrucción de gérmenes, como antiparasitario, como aditivo para la estabilización (esterilización) de productos o como sustancia nebulizante en forma disuelta para nebulización en frío/húmedo, micronización y esterilización por vapor.

En lo sucesivo, la presente invención se describirá con más detalle por medio de realizaciones no limitantes junto con ejemplos comparativos. En el único dibujo, Fig. 1, se proporciona los resultados de los ensayos de toxicidad.

- 15 Ejemplos

Ejemplos 1 a 6 y ejemplos comparativos 1 y 2 - Preparación de los polímeros

Ejemplo 1

- 20 Se calentaron 23 mmol de clorhidrato de 1,3-diaminoguanidinio y 24 mmol de 4,9-dioxadodecan-1,12-diamina en un recipiente de reacción cerrado con un tubo de secado durante 90 minutos con agitación hasta 120 °C, después se aumentó la temperatura durante 100 min hasta 180 °C, al final de este tiempo de reacción durante 45 min a presión reducida (50 mbar). Tras enfriamiento de la mezcla de reacción hasta por debajo de 80 °C se añadió al producto de reacción gelatinoso 25 ml de agua. Tras algunas horas se obtuvo una solución transparente.

- 25 Se evaporó el agua de una muestra de la solución acuosa obtenida, y se secó a vacío el residuo obtenido, obteniéndose un fluido viscoso, rojizo. Este se disolvió en 2 ml de D₂O (con un grado de deuteración > 99,5 %), y se registró un espectro de resonancia nuclear ¹H-RMN). La situación de los grupos diferenciables de este modo de los protones de metileno de los restos R₁ en el producto es como sigue:

¹H-RMN (D₂O), δ (ppm): 1,54-1,67 (m, OCH₂CH₂CH₂CH₂O), 1,80-1,95 (m, NCH₂CH₂), 3,23-3,38 ppm (m, NCH₂), 3,42-3,65 ppm (m, CH₂CH₂OCH₂CH₂).

- 30 Esto confirma la estructura del componente diamina usado, 4,9-dioxadodecan-1,12-diamina.

Ejemplo 2

- 35 Se calentaron 4,6 mmol de clorhidrato de 1,3-diaminoguanidinio y 4,8 mmol de 4,9-dioxadodecan-1,12-diamina en un recipiente de reacción cerrado con un tubo de secado durante 90 minutos con agitación hasta 120 °C, después se aumentó la temperatura durante 8 h hasta 180 °C, al final de este tiempo de reacción durante 45 min a presión reducida (50 mbar). Tras enfriamiento de la mezcla de reacción hasta por debajo de 80 °C se añadió al producto de reacción gelatinoso 16 ml de agua. Tras algunas horas se obtuvo una solución transparente.

Ejemplo 3

- 40 Se calentaron 4,6 mmol de clorhidrato de N-aminoguanidinio y 4,8 mmol de 4,9-dioxadodecan-1,12-diamina en un recipiente de reacción cerrado con un tubo de secado durante 90 minutos con agitación hasta 120 °C, después se aumentó la temperatura durante 3,5 h hasta 180 °C, al final de este tiempo de reacción durante 60 min a presión reducida (50 mbar). Tras enfriamiento de la mezcla de reacción hasta por debajo de 80 °C se añadió al producto de reacción gelatinoso 16 ml de agua. Tras algunas horas se obtuvo una solución transparente.

Ejemplo 4

- 45 Se calentaron 1,16 mmol de clorhidrato de 1,3-diaminoguanidinio y 1,21 mmol de tris-(2-aminoetil)-amina en un recipiente de reacción cerrado con un tubo de secado durante 150 minutos con agitación hasta 120 °C, después se aumentó la temperatura durante 2,5 h hasta 160 °C, al final de este tiempo de reacción durante 45 min a presión reducida (50 mbar). Tras enfriamiento de la mezcla de reacción hasta por debajo de 80 °C se añadió al producto de reacción gelatinoso 4 ml de agua. Tras algunas horas se obtuvo una solución transparente.

Ejemplo 5

- Se calentaron 8,12 mmol de clorhidrato de 1,3-diaminoguanidinio y 8,47 mmol de tris-(2-aminoetil)-amina en un recipiente de reacción cerrado con un tubo de secado durante 120 minutos con agitación hasta 130 °C, después se aumentó la temperatura durante 8 h hasta 180 °C, al final de este tiempo de reacción durante 90 min a presión reducida (15 mbar). Tras enfriamiento de la mezcla de reacción hasta por debajo de 80 °C se añadió al producto de reacción gelatinoso 28 ml de agua. Tras algunas horas se obtuvo una solución transparente.

Ejemplo 6

- Se calentaron 2,32 mmol de clorhidrato de 1,3-diaminoguanidinio y 2,43 mmol de 3,6-dioxaoctan-1,8-diamina en un recipiente de reacción cerrado con un tubo de secado durante 60 min con agitación hasta 120 °C, después se aumentó la temperatura durante 4 h hasta 170 °C, al final de este tiempo de reacción durante 60 min a presión reducida (50 mbar). Tras enfriamiento de la mezcla de reacción hasta por debajo de 80 °C se añadió al producto de reacción gelatinoso 7 ml de agua. Tras algunas horas se obtuvo una solución transparente.

Ejemplo comparativo 1

- Se calentaron 23,2 mmol de clorhidrato de guanidinio y 5,4 mmol de 3,6-dioxaoctan-1,8-diamina y 18,1 mmol de 1,6-diaminohexano en un recipiente de reacción cerrado con un tubo de secado durante 90 min con agitación hasta 120 °C, después se aumentó la temperatura durante 8 h hasta 170 °C, al final de este tiempo de reacción durante 90 min a presión reducida (50 mbar). Tras enfriamiento de la mezcla de reacción hasta por debajo de 80 °C se añadió al producto de reacción gelatinoso 60 ml de agua. Tras algunas horas se obtuvo una solución transparente.

El polímero resultante corresponde estructuralmente a los descritos en el documento WO 2006/047800 A1.

Ejemplo comparativo 2

- Se calentaron 2,00 mmol de clorhidrato de guanidinio, 1,70 mmol de 1,6-hexametilendiamina y 0,3 mmol de hidrato de hidrazina en un recipiente de reacción cerrado con un tubo de secado durante 90 min con agitación hasta 160 °C, después se aumentó la temperatura durante 3,5 h hasta 180 °C, al final de este tiempo de reacción durante 60 min a presión reducida (50 mbar). Tras enfriamiento de la mezcla de reacción hasta por debajo de 80 °C se añadió al producto de reacción gelatinoso 4 ml de agua. Tras algunas horas se obtuvo una solución transparente.

El polímero resultante corresponde estructuralmente a los descritos en el documento WO 2011/043690 A1.

Ejemplo 7 - Determinación de la actividad: efecto antimicrobiano/antifúngico/ antiviral

- La actividad de los nuevos compuestos se ensayó en varios sistemas de seguimiento. La actividad antibacteriana y antifúngica se estudió mediante ensayo CIM. CIM representa la "concentración inhibidora mínima" (en inglés: MIC por "minimal inhibitory concentration") y designa la menor concentración de una sustancia a la que a simple vista no se percibe multiplicación alguna de microorganismos. Se determina la CIM con el denominado procedimiento de títulos, en el que la sustancia se diluye y a continuación se incorpora el agente patógeno.

- Por lo general se determina la concentración de un antibiótico tal que apenas inhiba el crecimiento de una cepa de bacterias. La CIM se determina en microgramos por mililitro ($\mu\text{g/ml}$) o en % en volumen, y las diluciones se realizan por lo general en etapas de $\log_2$. Aquí se diluyó una concentración de salida de 1 % respectivamente al doble, lo que dio a continuación concentraciones de ensayo de 0,5 %, 0,25 %, 0,125 % y similares. En consecuencia, valores inferiores reflejan mejor actividad como antiinfectivo.

- Los ensayos se llevaron a cabo según las normas requeridas por EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) y según las prescripciones de AFST- ("Antifungal Susceptibility Testing") de European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID).

- El sistema de cribado para virus es un sistema de infección, en el que las células anfitrionas se infectan *in vitro* y se añade la sustancia de ensayo antes o después de la infección y se determina su actividad. Todos estos ensayos llevaron a cabo según las prescripciones convencionales de operación interna de SeaLife Pharma para el cribado de medicamentos, usándose series de dilución análogas como en el ensayo antibacteriano/antifúngico.

En las tablas 1 a 3 siguientes se indican los resultados de ensayo en relación al efecto antiinfectivo de los nuevos compuestos según la invención de los ejemplos 1, 3, 4 y 5 frente a algunas bacterias y hongos multirresistentes así como virus. Los datos son respectivamente valores medios de determinaciones múltiples.

- 5 Es evidente que los nuevos compuestos de la invención muestran actividad extraordinaria tanto contra agentes patógenos gram-positivas como también gram-negativas:

Tabla 1

Resultados de los ensayos CIM	MRSA	Staphylococcus epidermidis	Streptococcus pneumoniae	Enterococcus faecalis	Propionibacterium acne	E. coli	Klebsiella pneumoniae	Pseudomonas aeruginosa	Acinetobacter baumannii	Enterobacteriaceae	Salmonella enterica
Ejemplo 1	0,001 %	0,001 %	0,004 %	0,008 %	0,001 %	0,016 %	0,02 %	0,02 %	0,06 %	0,03 %	0,03 %
Ejemplo 3	0,001 %	0,001 %	0,001 %	0,008 %	0,001 %	0,02 %	0,02 %	0,02 %	0,06 %	0,2 %	0,03 %
Ejemplo 4	0,001 %	0,001 %	0,001 %	0,008 %	0,001 %	0,016 %	0,016 %	0,030 %	0,02 %	0,016 %	0,030 %
Ejemplo 5	0,001 %	0,001 %	0,002 %	0,002 %	0,001 %	0,020 %	0,02 %	0,04 %	0,04 %	0,13 %	0,03 %

Además de hongos y levaduras:

Tabla 2

Resultados de los ensayos CIM	Candida albicans	Candida papillosis	Candida glabrata	Candida kruzei	Aspergillus terreus	Aspergillus fumigatus	Fusarium rosei	Trichophyton sp.	Alternaria alternaria	Microsporium canis	Dermatiaceae sp.
Ejemplo 1	0,008 %	0,03 %	0,02 %	0,02 %	0,02 %	0,03 %	0,03 %	0,02 %	0,02 %	0,03 %	0,02 %
Ejemplo 3	0,02 %	0,02 %	0,02 %	0,02 %	0,03 %	0,03 %	0,03 %	0,02 %	0,02 %	0,02 %	0,02 %
Ejemplo 4	0,008 %	0,016 %	0,016 %	0,008 %	0,125 %	0,125 %	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Ejemplo 5	0,02 %	0,02 %	0,02 %	0,020 %	0,016 %	0,016 %	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Además de contra virus:

Tabla 3

Resultados de las pruebas virológicas	Influenza A y B	Rinovirus humano	Virus de la parainfluenza	Virus del herpes simple
Ejemplo 1	0,008 %	0,008 %	0,008 %	0,02 %
Ejemplo 3	0,02 %	0,02 %	0,02 %	0,02 %
Ejemplo 4	0,04 %	0,02 %	0,04 %	0,02 %
Ejemplo 5	0,04 %	0,04 %	0,04 %	0,02 %

Por lo tanto, todos los nuevos compuestos ensayados muestran una actividad muy buena a excelente contra los patógenos más diversos, y con una toxicidad significativamente menor que los derivados de poliguanidina conocidos del estado de la técnica, como muestran los siguientes ensayos de toxicidad.

Ejemplo 8 - Ensayos de toxicidad

Usando el ensayo AlamarBlue®, como se indica a continuación, se ensayaron 4 polímeros para determinar su potencial toxicológico (incluida la proliferación, muerte celular, metabolismo celular) y el valor CI_{50} y la concentración no tóxica de queratinocitos primarios (HKER) y células endoteliales primarias (HUVEC). determinar. En la Fig. 1, el efecto tóxico de los diferentes polímeros se muestra en función de la concentración.

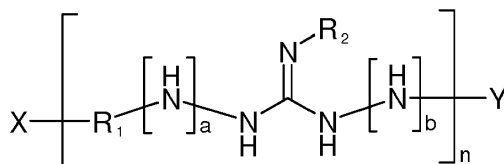
Ensayo AlamarBlue®: Se colocaron 20.000 queratinocitos humanos (HKER) y células endoteliales (HUVEC) en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 24 h, antes de que se agregasen diferentes concentraciones (5 % a 0,005 %) de los nuevos polímeros de los Ejemplos 1 y 3 y las sustancias comparativas de los ejemplos comparativos 1 y 2. Después de 24 horas, se agregaron 10 μ l de AlamarBlue® a cada pocillo (100 μ l de medio), y después de 3 horas de incubación, la reacción de color se detectó por medio de un lector de placas múltiples (ej.: 530 nm; Em: 590 nm). HKER: "human primary keratinocytes", queratinocitos primarios humanos; HUVEC: "human umbilical vein endothelial cells", células endoteliales de la vena umbilical humana.

Los polímeros de los ejemplos comparativos 1 y 2 presentan tanto HKER así como también HUVEC ya a concentraciones muy bajas, es decir, una CI_{50} de aproximadamente 0,01 % o menos, efecto significativamente tóxico. Los nuevos polímeros de los ejemplos 1 y 3 preparados por los inventores muestran comparativamente un efecto tóxico solo a concentraciones significativamente más altas: El CI_{50} para el Ejemplo 1 es aproximadamente 1 % para ambos tipos de células y entre 0,05 % y 0,1 % para el Ejemplo 3. La toxicidad de los ejemplos comparativos se consigue así con el polímero del Ejemplo 3 solo a una concentración de al menos 5 veces y con la del Ejemplo 1 incluso en una concentración de al menos 100 veces. Por lo tanto, en este ensayo, el derivado de DAG tuvo un mejor desempeño que el polímero MAG.

Por lo tanto, los nuevos compuestos presentan una actividad muy buena a excelente contra diversos patógenos, y con una toxicidad considerablemente más baja que la de los derivados de poliguanidina conocidos en el estado de la técnica.

REIVINDICACIONES

- 1.- Un producto de policondensación de aminoguanidina y/o 1,3-diaminoguanidina con una o más diaminas, en donde el producto de policondensación es un derivado de poliguanidina de la siguiente fórmula (I):

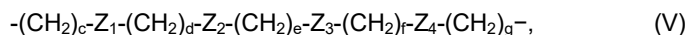
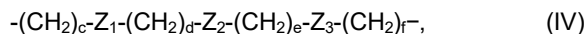
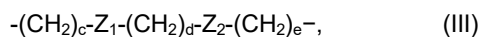
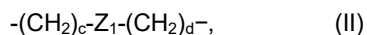


(I)

en la que

- X se selecciona de $-\text{NH}_2$, aminoguanidino y 1,3-diaminoguanidino;
- Y se selecciona de $-\text{H}$ y $-\text{R}_1-\text{NH}_2$;
- o X e Y juntos representan un enlace químico, para generar una estructura cíclica;
- R_1 se selecciona de restos orgánicos divalentes con 2 a 20 átomos de carbono, en los que están reemplazados dado el caso uno o varios átomos de carbono por O o N;
- A y b son cada uno 0 o 1,
- donde $a + b \neq 2$ cuando no se incluyen unidades de 1,3-diaminoguanidina;
- R_2 se selecciona de $-\text{H}$ y $-\text{NH}_2$, en donde
- R_2-NH_2 , si $a+b = 0$,
- R_2 es $-\text{H}$ o $-\text{NH}_2$, si $a+b = 1$ y
- R_2 es $-\text{H}$, si $a+b = 2$; y
- $n \geq 2$;
- o una sal del mismo.

2. Derivado de poliguanidina según la reivindicación 1, caracterizado porque R_1 se selecciona de restos alquileo en los que opcionalmente uno o más átomos de carbono están reemplazados por O o N.
3. Derivado de poliguanidina según la reivindicación 2, caracterizado porque R_1 se selecciona de restos de las siguientes fórmulas generales (II) a (V):



- en donde Z_1 a Z_4 representan cada uno independientemente un heteroátomo seleccionado de O y N, y los índices c a g representan cada uno independientemente un número entero en el rango de 1 a 12, tal que el número total de átomos de R_1 no excede de 20.
4. Derivado de poliguanidina según la reivindicación 3, caracterizado porque dentro de un grupo R_1 todos los heteroátomos Z son O o N.
5. Derivado de poliguanidina según la reivindicación 4, caracterizado porque R_1 representa el resto divalente de una polieterdiamina.
6. Derivado de poliguanidina según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque $n = 2$ a 6.

7. Derivado de poliguanidina según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque está en forma de una sal de adición de ácido en forma de clorhidratos, bromhidratos, yodhidratos, sulfatos, carbonatos, boratos, cianatos, tiocianatos, fosfatos, mesilatos, nitratos, acetatos, benzoatos, lactatos, tartratos, citratos, maleatos, fumaratos, un éster parcial de uno de estos ácidos, en tanto sea difuncional o superior, o una mezcla de dos o más de estas sales y/o ésteres parciales
8. Procedimiento para la preparación de derivados de poliguanidina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 por policondensación de un derivado de guanidina o una sal del mismo con una diamina, caracterizado porque la aminoguanidina o 1,3-diaminoguanidina o una sal de adición de ácido del mismo se policondensa por calentamiento con al menos una diamina $H_2N-R-NH_2$.
9. Un procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado porque la al menos una diamina se usa en un exceso de 3 a 5 % en moles, basado en el derivado de guanidina.
10. Un procedimiento según la reivindicación 8 o 9, caracterizado porque una sal de aminoguanidina o 1,3-diaminoguanidina se calienta junto con al menos una diamina primero a una primera temperatura más baja y luego a una segunda temperatura más alta.
11. Un procedimiento según la reivindicación 10, caracterizado porque la sal de aminoguanidina o 1,3-diaminoguanidina se calienta junto con la al menos una diamina primero a 110-130 °C y luego a 160-180 °C.
12. Un procedimiento según la reivindicación 10 u 11, caracterizado porque la mezcla de reacción se mantiene a la primera temperatura durante 1 a 3 h y a la segunda temperatura durante 1 a 8 h.
13. Procedimiento según una de las reivindicaciones 8 a 12, caracterizado porque el derivado de poliguanidina obtenido se purifica disolviendo en aproximadamente 3 a 10 veces la cantidad de agua.
14. Derivado de poliguanidina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o preparado por un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13 para uso en el campo humano y veterinario para combatir infecciones bacterianas, fúngicas y virales y sus secuelas, como pesticidas y desinfectantes en agricultura y el medio ambiente, generalmente como desinfectante (biocida) para la reducción y destrucción de gérmenes, como antiparasitario, como aditivo para la estabilización (esterilización) de productos o también como sustancia nebulizadora en forma disuelta para nebulización fría/húmeda, micronización o esterilización por vapor.
15. Derivado de poliguanidina según una de las reivindicaciones 1 a 7 o preparado por un procedimiento según una de las reivindicaciones 8 a 13 para su uso según la reivindicación 14, caracterizado porque está presente una cantidad efectiva del derivado de poliguanidina como una solución en la cantidad de agua de 3 a 10 veces.

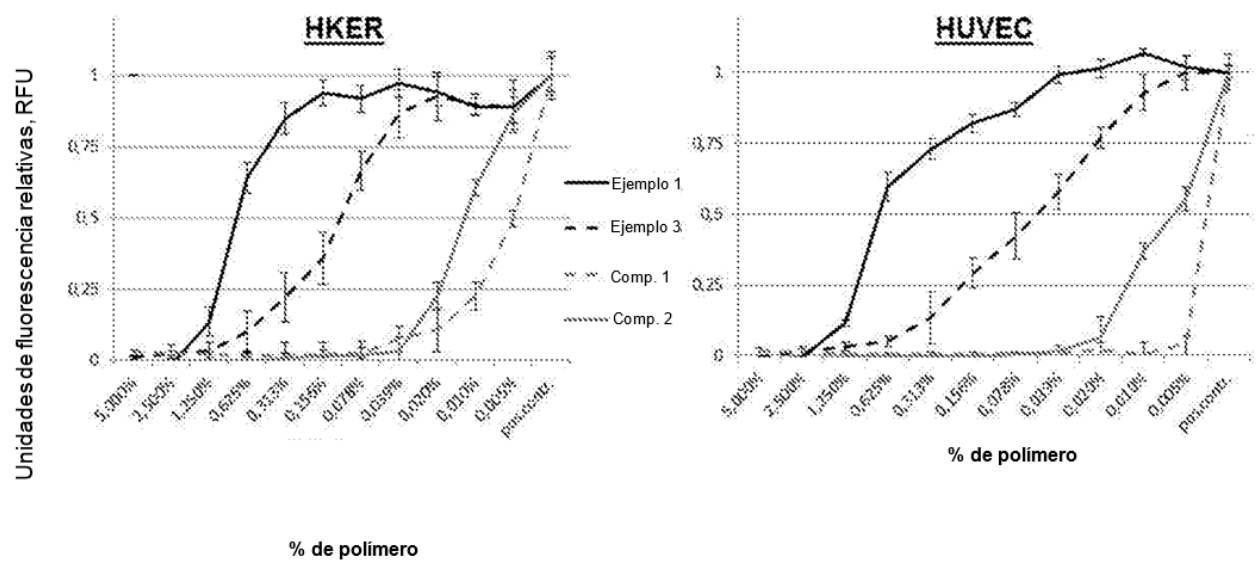


Figura 1