



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 323 132**

51 Int. Cl.:
C07C 215/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04813634 .5**

96 Fecha de presentación : **09.12.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1692092**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.08.2006**

54 Título: **Uso de bis-aminas para incrementar la actividad antimicrobiana de composiciones acuosas.**

30 Prioridad: **09.12.2003 US 528287 P**

73 Titular/es: **Alcon, Inc.**
Bösch 69
6331 Hünenberg, CH

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.07.2009

72 Inventor/es: **Dassanayake, Nissanke, L.;**
Carey, Thomas, Christopher;
Schlitzer, Ronald, L. y
Meadows, David, L.

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.07.2009

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 323 132 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

Uso de bis-aminas para incrementar la actividad antimicrobiana de composiciones acuosas.

5 Antecedentes de la invención

La presente invención se dirige al uso de bisaminas para incrementar la actividad antimicrobiana de composiciones acuosas, tales como composiciones farmacéuticas. La invención se dirige particularmente al campo de composiciones oftálmicas.

Muchas composiciones farmacéuticas se requiere que sean estériles (es decir, libres de bacterias, hongos y otros microorganismos patógenos). Ejemplos de tales composiciones incluyen: soluciones y suspensiones que se inyectan en los cuerpos de seres humanos y otros mamíferos; cremas, lociones, soluciones y otras preparaciones que se aplican tópicamente a heridas, abrasiones, quemaduras, erupciones, incisiones quirúrgicas, y otros estados donde la piel no está intacta; y diversos tipos de composiciones que se aplican ya sea directamente al ojo (por ejemplo, lágrimas artificiales, soluciones para irrigación y productos fármacos), o se aplican a dispositivos que entrarán en contacto con el ojo (por ejemplo, lentes de contacto).

Los tipos de composiciones anteriormente citados se pueden fabricar bajo condiciones estériles vía procedimientos que son muy conocidos para los expertos en la técnica. No obstante, una vez que se abre el envase para el producto, de forma que la composición es expuesta a la atmósfera y otras fuentes de contaminación microbiana potencial (por ejemplo, las manos de un paciente humano) la esterilidad del producto puede estar comprometida. Tales productos se utilizan típicamente múltiples veces por el paciente y son, por lo tanto, denominados frecuentemente como que son de naturaleza "multidosis".

Debido a la frecuente y repetida exposición de los productos multidosis al riesgo de contaminación microbiana, es necesario emplear un medio para prevenir que se produzca tal contaminación. Los medios empleados pueden ser (1) un agente químico que impida la proliferación de microbios en la composición, lo que se denomina en esta memoria descriptiva un "conservante antimicrobiano"; o (2) un sistema de envasado que prevenga o reduzca el riesgo de que los microbios alcancen la composición farmacéutica dentro de un recipiente.

Las composiciones oftálmicas multidosis pueden incluir generalmente un agente antimicrobiano para impedir la contaminación de las composiciones por bacterias, hongos y otros microbios. Tales composiciones pueden entrar en contacto con la córnea ya sea directa o indirectamente. La córnea es particularmente sensible a agentes químicos exógenos. Consecuentemente, con el fin de minimizar el potencial de los efectos perjudiciales sobre la córnea, es necesario usar agentes antimicrobianos que sean relativamente no tóxicos para la córnea, y usar tales agentes a las concentraciones más bajas posibles (es decir, las cantidades mínimas requeridas con el fin de llevar a cabo sus funciones antimicrobianas).

Equilibrar la eficacia antimicrobiana y los potenciales efectos toxicológicos de los agentes antimicrobianos es a veces difícil de conseguir. Más específicamente, la concentración de agente antimicrobiano necesaria para la preservación de formulaciones oftálmicas de la contaminación microbiana o para la desinfección de lentes de contacto puede crear el potencial para efectos toxicológicos sobre la córnea y/u otros tejidos oftálmicos. Usar concentraciones más bajas de los agentes antimicrobianos generalmente ayuda a reducir el potencial para tales efectos toxicológicos, pero las concentraciones más bajas pueden ser insuficientes para conseguir el nivel requerido de eficacia biocida (por ejemplo, preservación antimicrobiana o desinfección).

El uso de un nivel inadecuado de preservación antimicrobiana puede crear el potencial para la contaminación microbiana de las composiciones y las infecciones oftálmicas que resulten de tales contaminaciones. Éste es también un problema serio, puesto que las infecciones oftálmicas que implican *Pseudomonas aeruginosa* u otros microorganismos virulentos pueden conducir a la pérdida de la función visual o incluso a la pérdida del ojo.

Por lo tanto, hay necesidad de un medio para incrementar la actividad de agentes antimicrobianos se forma que se puedan utilizar muy bajas concentraciones de los agentes sin aumentar el potencial para los efectos toxicológicos o someter a los pacientes a riesgos inaceptables de contaminación microbiana e infecciones oftálmicas resultantes.

Las composiciones para tratar lentes de contacto y otros tipos de composiciones oftálmicas se formulan generalmente como soluciones isotónicas tamponadas. Un planteamiento para incrementar la actividad antimicrobiana de tales composiciones es incluir componentes multifuncionales en las composiciones. Además de realizar sus funciones principales, tales como limpiar o humedecer las superficies de la lente de contacto (por ejemplo, tensioactivos), tamponar las composiciones (por ejemplo, borato), o quelar iones no deseables (por ejemplo, EDTA), estos componentes multifuncionales también sirven para incrementar la actividad antimicrobiana global de las composiciones. Por ejemplo, el ácido etilendiaminotetraacético y sus sales monosódica, disódica y trisódica (denominados colectivamente en esta memoria descriptiva como "EDTA") se ha usado ampliamente durante muchos años en productos oftálmicos, particularmente productos para tratar lentes de contacto. El EDTA ha sido usado en tales productos con diversos fines, pero particularmente para su actividad antimicrobiana suplementaria como agente quelante. La inclusión de EDTA en productos para el cuidado de lente de contacto y otras composiciones oftálmicas incrementa la eficacia antimicrobiana

de los conservantes químicos contenidos en tales composiciones, particularmente la eficacia de aquellos conservantes contra las bacterias gram negativas.

Se puede hacer referencia a las siguientes publicaciones para más antecedentes con respecto al uso de componentes multifuncionales para incrementar la actividad antimicrobiana de composiciones oftálmicas:

1. Patente de Estados Unidos nº 5.817.277 (Mowrey-McKee, *et al.*; trometamina);
2. Patente de Estados Unidos nº 6.503.497 (Chowhan *et al.*; complejos de borato/poliol);
3. Patente de Estados Unidos nº 5.741.817 (Chowhan *et al.*; aminoácidos de bajo peso molecular tales como glicina);
4. Patente de Estados Unidos nº 6.319.464 (Asgharian; aminoalcoholes de bajo peso molecular); y
5. Publicación de solicitud de patente de Estados Unidos nº US 2002/0122831 A1 (Mowrey-McKee *et al.*; bis-aminopolioles).

El documento GB-1422704 describe un procedimiento para preparar N,N'-bis-(ω -hidroxialquil)diaminas que tienen actividad tuberculoestática.

El documento GB-1327315 describe un procedimiento mejorado para la fabricación de N,N'-bis-(hidroxialquil)-etilendiaminas que comprende una hidrogenación en presencia de un catalizador de platino o platino/rodio.

El documento WO 94/25426 describe N,N-dialquil, N'-alquiletilendiaminas como agentes antimicrobianos y su uso en composiciones oftálmicas.

Sumario de la invención

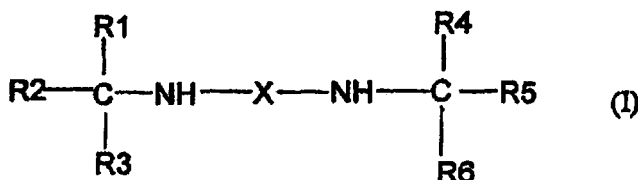
La presente invención se dirige al uso de bisaminas para incrementar la actividad antimicrobiana de composiciones. El incremento de la actividad antimicrobiana es útil para preservar las composiciones de contaminación microbiana impidiendo la proliferación de microorganismos en las composiciones. La invención también se puede emplear para aumentar la capacidad de la composición para matar microorganismos que entren en contacto con la composición, tal como en el caso de antisépticos y desinfectantes tópicos.

La presente invención se dirige particularmente al uso de bisaminas para incrementar la actividad antimicrobiana en composiciones oftálmicas acuosas. Las bisaminas se pueden usar sin otros agentes antimicrobianos, pero generalmente se emplearán junto con otros agentes que tengan niveles medios a moderados de actividad antimicrobiana, para producir un sistema conservante que sea eficaz para prevenir la contaminación microbiana de composiciones en ausencia de conservantes antimicrobianos convencionales, tales como cloruro de benzalconio ("CBA") o policuaternio-1. Las composiciones que estén conservadas por medio de tales sistemas y no contengan un conservante antimicrobiano convencional se denominan en esta memoria descriptiva como que son "autoconservadas".

Las bisaminas descritas en esta memoria descriptiva también se pueden utilizar para incrementar la actividad antimicrobiana de composiciones oftálmicas antisépticas o desinfectantes, tales como soluciones utilizadas para desinfectar lentes de contacto.

Descripción detallada de la invención

Las bisaminas utilizadas en la presente invención tienen la siguiente fórmula:



en la que:

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:

H; -CH₂OH; y alquilo o alqueno lineal o ramificado de C₁-C₁₂, que contiene opcionalmente uno o más heteroátomos (por ejemplo, oxígeno); con tal que no más de uno de R₁, R₂ y R₃ sea -CH₂OH, y no más de uno de R₄, R₅ y R₆ sea -CH₂OH; y

X se selecciona del grupo que consiste en:

alquileo saturado o insaturado de C₁-C₁₆, que contiene opcionalmente uno o más heteroátomos (por ejemplo, oxígeno);

(-CH₂-)-CHOH-CHOH-(-CH₂-) y los grupos hidroxilo están en las configuraciones o cis o trans;

(-CH₂-O-CH₂-);

(-CH=CH-) (alqueno), y

(-C≡C-) (alquino).

La presente invención también abarca sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I).

Los grupos -CH₂OH en las posiciones R₁-R₆ afectan a la hidrofobia de los compuestos de fórmula (I). Se ha determinado que si están presentes más de dos grupos -CH₂OH, la hidrofobia disminuye hasta un punto que se disminuye la actividad antimicrobiana de los compuestos.

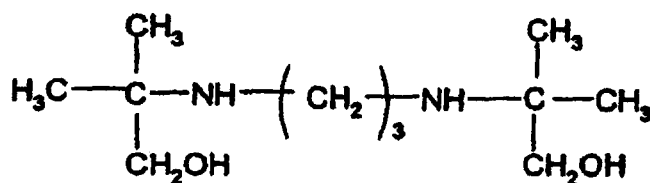
Las bisaminas preferidas de fórmula (I) son los compuestos en los que:

uno de R₁, R₂ o R₃ es -CH₂OH, uno de R₃, R₄ y R₅ es -CH₂OH, y el resto de los grupos R₁-R₆ son alquilo lineal o ramificado de C₁-C₅, preferiblemente metilo; y

X se selecciona del grupo que consiste en: (-CH₂-)_n, en la que n es un número entero desde 3 hasta 6; y los otros grupos X identificados anteriormente.

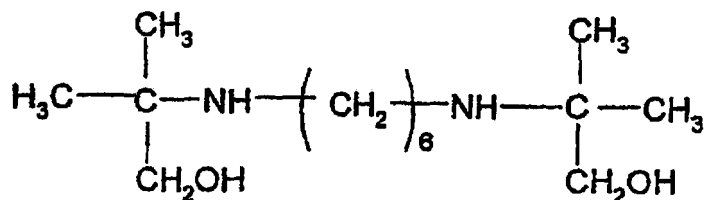
Ejemplos de las bisaminas más preferidas se muestran a continuación:

1. Compuesto n° AL-38571

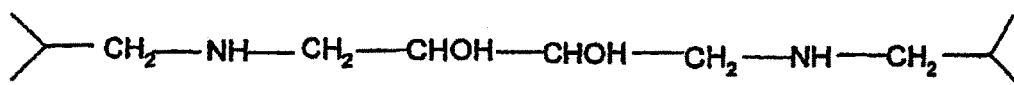


1,3-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]propano;

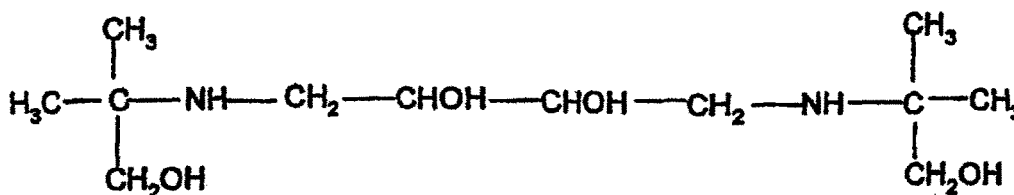
2. Compuesto n° AL-39114



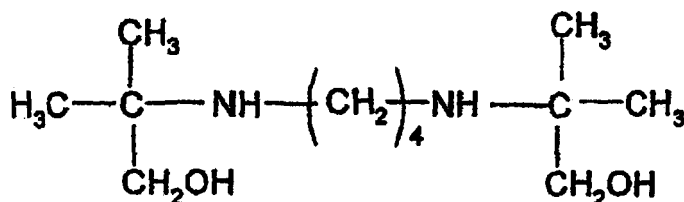
1,6-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]hexano;

3. Compuesto n° AL-39503

1,4-bis[isobutilamino]2,3-dihidroxitbutano;

4. Compuesto n° AL-39504

1,4-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]2,3-dihidroxitbutano; y

5. Compuesto n° AL-39586

1,4-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]butano.

Las bisaminas de fórmula (I) se pueden sintetizar usando procedimientos conocidos para los expertos en la técnica. Esquemas de reacción representativos están descritos en los ejemplos 1-4 más adelante.

La cantidad de una o más bisaminas de fórmula (I) requerida para incrementar la actividad antimicrobiana de formulaciones particulares puede ser determinada fácilmente por personas expertas en la técnica. La concentración requerida dependerá de la(s) bisamina(s) particular(es) seleccionada(s), la presencia o ausencia de los otros ingredientes que tengan actividad antimicrobiana (por ejemplo, agentes antimicrobianos, agentes quelantes, agentes tamponadores o agentes de tonicidad), y la función de los agentes antimicrobianos contenidos en las composiciones oftálmicas (por ejemplo, preservación de las composiciones de contaminación microbiana, o desinfección de lentes de contacto). La concentración requerida para incrementar la actividad antimicrobiana de composiciones oftálmicas se denomina en esta memoria descriptiva como "una cantidad eficaz". La concentración estará generalmente en el intervalo de 0,01 hasta 2,0 por ciento peso/volumen ("% p/v"), preferiblemente 0,1 hasta 1,0% p/v.

Los niveles de actividad antimicrobiana requeridos para preservar composiciones oftálmicas de contaminación microbiana o para desinfectar lentes de contacto son bien conocidos para los expertos en la técnica, basados tanto en la experiencia personal como en estándares oficiales publicados, tales como los expuestos en la United States Pharmacopoeia ("USP") y publicaciones similares en otros países.

Como se indica anteriormente, las bisaminas descritas anteriormente se usan preferiblemente en combinación con sistemas de tampón de borato o borato/poliol. Como se usa en esta memoria descriptiva, el término "borato" incluye ácido bórico, sales de ácido bórico, otros boratos farmacéuticamente aceptables y sus combinaciones. Los siguientes boratos se prefieren particularmente: ácido bórico, borato sódico, borato potásico, borato cálcico, borato magnésico, borato de manganeso y otras sales de borato semejantes.

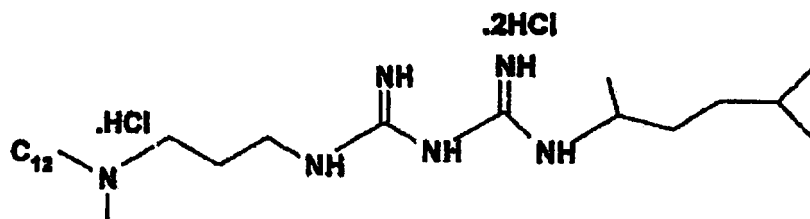
Como se usa en esta memoria descriptiva, el término “poliol” incluye cualquier compuesto que tenga al menos un grupo hidroxilo sobre cada uno de dos átomos de carbono adyacentes que no estén en configuración *trans* en relación entre sí. Los polioles pueden ser lineales o cíclicos, sustituidos o no sustituidos, o sus mezclas, con tal que el complejo resultante sea soluble en agua y farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales compuestos incluyen: azúcares, alcoholes de azúcar, ácidos de azúcar y ácidos urónicos. Los polioles preferidos son los azúcares, alcoholes de azúcar y ácidos de azúcar, incluyendo, pero no limitados a: manitol, glicerina, xilitol y sorbitol. Los polioles especialmente preferidos son manitol y sorbitol; el más preferido es sorbitol.

El uso de complejos de borato-poliol en composiciones oftálmicas está descrito en la patente de Estados Unidos n° 6.503.497 (Chowhan), cuyo contenido completo se incorpora por la presente en la presente memoria descriptiva por referencia. Las composiciones de la presente invención contienen preferiblemente uno o más boratos en una cantidad desde alrededor de 0,01 hasta alrededor de 2,0% p/v, más preferiblemente desde alrededor de 0,3 hasta 1,2% p/v, y uno o más polioles en una cantidad desde alrededor de 0,01 hasta alrededor de 5,0% p/v, más preferiblemente desde alrededor de 0,6 hasta 2,0% p/v.

Las bisaminas descritas en esta memoria descriptiva se pueden incluir en varios tipos de composiciones oftálmicas para incrementar la actividad antimicrobiana. Ejemplos de tales composiciones incluyen: composiciones farmacéuticas oftálmicas, tales como composiciones tópicas usadas en el tratamiento del glaucoma, infecciones, alergias o inflamación; composiciones para tratar lentes de contacto, tales como productos de limpieza y productos para incrementar el bienestar ocular de pacientes que llevan lentes de contacto; y otros diversos tipos de composiciones, tales como productos lubricantes oculares, lágrimas artificiales, astringentes y así sucesivamente. Las composiciones pueden ser acuosas o no acuosas, pero generalmente serán acuosas.

Además de las bisaminas descritas anteriormente, las composiciones de la presente invención pueden contener uno o más agentes antimicrobianos para preservar las composiciones de contaminación microbiana y/o desinfectar lentes de contacto. La invención no está limitada con relación a los tipos de agentes antimicrobianos que se pueden utilizar. Los biocidas preferidos incluyen: polímeros de polihexametilenbiguanidina (“PHMB”), policuaturnio-1, y las amino biguanidas descritas en la solicitud de patente de Estados Unidos en tramitación n° de serie 09/581.952 y la correspondiente publicación internacional (PCT) n° WO 99/32158, cuyo contenido completo se incorpora por la presente en la presente memoria descriptiva por referencia.

La amino biguanida más preferida está definida en la solicitud de patente de Estados Unidos en tramitación n° de serie 09/581.952 como “Compuesto número 1”. Este compuesto tiene la siguiente estructura:



Más adelante se alude a ella por medio del número de código “AL-8496”.

Las amidoaminas y aminoalcoholes también se pueden utilizar para incrementar la actividad antimicrobiana de las composiciones descritas en esta memoria descriptiva. Las amidoaminas preferidas son miristamidopropildimetilamina (“MAPDA”) y los compuestos relacionados descritos en la patente de Estados Unidos n° 5.631.005 (Dassanayake, *et al.*). Los aminoalcoholes preferidos son 2-amino-2-metil-1-propanol (“AMP”) y otros aminoalcoholes descritos en la patente de Estados Unidos n° 6.319.464 (Asgharian). Los contenidos completos de las patentes 5.631.005 y 6.319.464 se incorporan por la presente en la presente memoria descriptiva por referencia.

Las composiciones de la presente invención también pueden contener una amplia variedad de otros ingredientes, tales como agentes para ajustar la tonicidad (por ejemplo, cloruro sódico o manitol), tensioactivos (por ejemplo, tensioactivos aniónicos, tales como RLM 100, y tensioactivos no iónicos, tales como las poloxaminas vendidas bajo el nombre “Tetronic®”, y los poloxámeros vendidos bajo el nombre “Pluronic®”) y agentes para ajustar la viscosidad. La presente invención no está limitada con respecto a los tipos de composiciones oftálmicas en las que se utilizan las bisaminas descritas en esta memoria descriptiva.

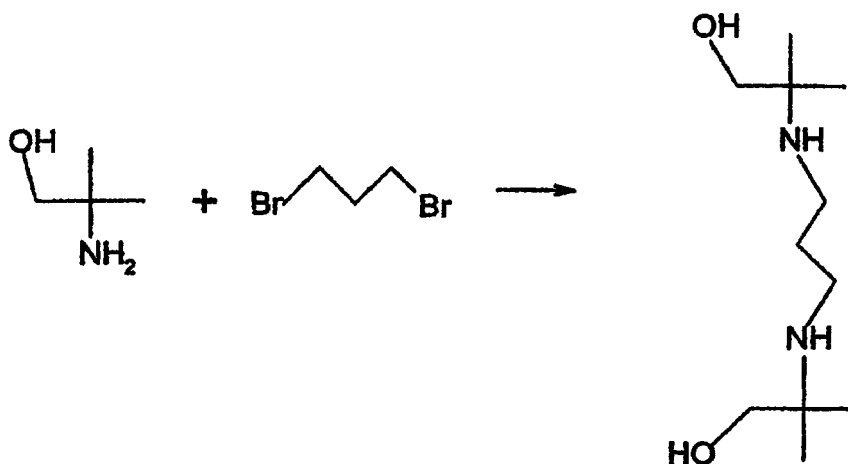
Las composiciones oftálmicas de la presente invención se formularán para que sean compatibles con el ojo y/o las lentes de contacto que se van a tratar con las composiciones. Las composiciones oftálmicas destinadas para aplicación directa al ojo se formularán para que tengan un pH y tonicidad que sean compatibles con el ojo. Esto requerirá normalmente un tampón para mantener el pH de la composición en o cerca del pH fisiológico (es decir, 7,4) y puede requerir un agente de tonicidad para llevar la osmolalidad de la composición hasta un nivel en o cerca de 210-320 miliosmoles por kg (mOsm/kg). La formulación de las composiciones para desinfectar y/o limpiar lentes de contacto implicará consideraciones similares, así como consideraciones que se refieren al efecto físico de las composiciones sobre los materiales de la lente de contacto y el potencial para la ligazón o absorción de los componentes de la composición por la lente. Las composiciones se formularán generalmente como soluciones acuosas estériles.

Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar adicionalmente las realizaciones seleccionadas de la presente invención.

Ejemplo 1

Síntesis del compuesto n° AL-38571: 1,3-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]propano

El anteriormente mencionado compuesto se sintetizó por medio del esquema de reacción mostrado a continuación:

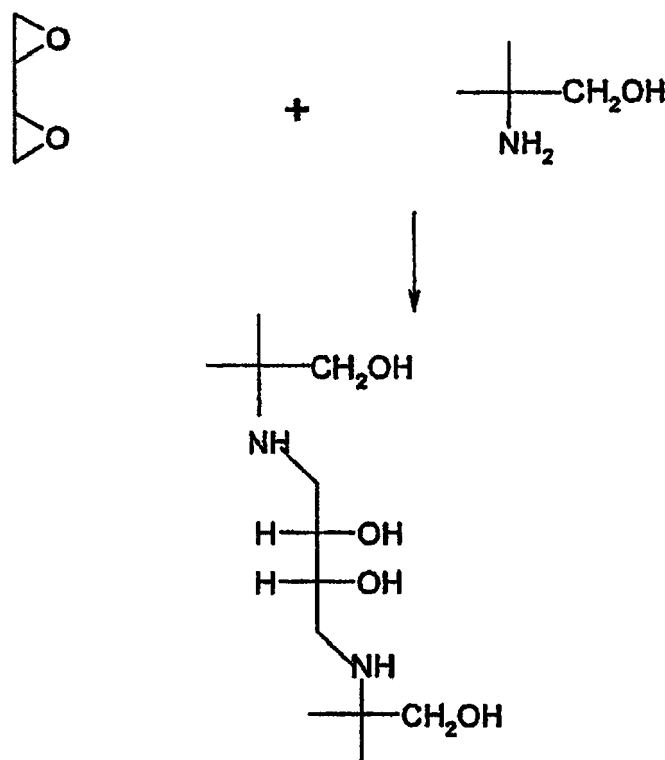


Se calentó durante 1 h 2-amino-2-metilpropanol (1,78 g, 2 eq.) y 1,3-dibromopropano (2,02 g, 1 eq.). El producto obtenido se lavó con etanol, seguido por éter (3 veces). El sólido obtenido se secó bajo vacío para dar 1,3 bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]propano. Rendimiento 800 mg. El compuesto se caracterizó por espectrometría de masas y NMR.

Ejemplo 2

Síntesis del compuesto n° AL-39504: dihidrocloruro de 1,4-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]2,3-hidroxibutano

El anteriormente mencionado compuesto se sintetizó por medio del esquema de reacción mostrado a continuación:



ES 2 323 132 T3

Se calentó 2-metil-2-aminopropanol (6,2 g, 69,5 mmol) con diepóxido de 1,3-butadieno (2,67 g, 31 mmol) durante 48 h. La solución se dejó enfriar y después se separó *in vacuo* el exceso de los materiales de partida. El residuo se purificó por recrystalización como sal de ácido oxálico: el residuo se trató con ácido oxálico (5,5 g, 61 mmol) y el sólido resultante se recrystalizó en metanol caliente y los cristales resultantes se lavaron varias veces con metanol frío. La sal de oxalato se convirtió después en la base libre por cromatografía de intercambio iónico usando resina Amberlite IR-120 H⁺. El producto cargado sobre la resina en agua se eluyó de la resina usando hidróxido amónico 3M. El eluato se evaporó hasta sequedad en un evaporador rotativo. La goma resultante se disolvió en metanol (50 ml) y se añadió HCl concentrado goteando a la solución de metanol hasta que se obtuvo pH ácido. El producto se evaporó después hasta sequedad para dar un sólido amorfo marrón dihidrocloruro de 1,4-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]2,3-hidroxibutano (4,2 g, 51% de rendimiento). La pureza del compuesto se confirmó por análisis de Espectroscopia de Masas ESI y ¹H NMR.

Ejemplo 3

Compuesto n° AL-39503: dihidrocloruro de 1,4-bis[isobutilamino]2,3-hidroxibutano

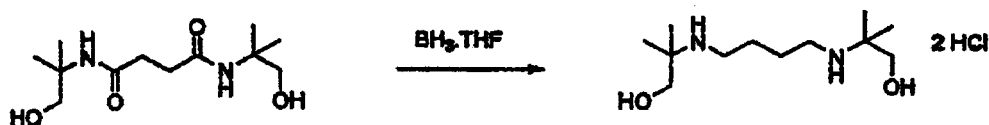
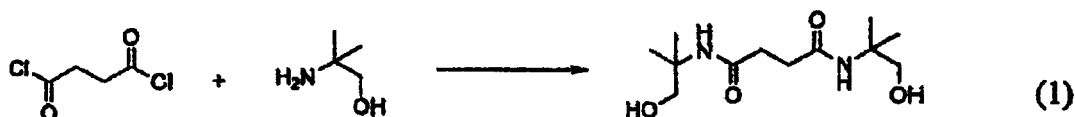
El anteriormente mencionado compuesto se sintetizó como sigue:

Se calentó isobutilamina (5,0 g, 68 mmol) con diepóxido de 1,3-butadieno (2,95 g, 34 mmol) durante 48 h. La solución se dejó enfriar y se separó *in vacuo* el exceso de los materiales de partida. El sólido amorfo resultante se disolvió en metanol (50 ml). Se añadió HCl concentrado a la solución de metanol hasta que se alcanzó pH ácido. La solución se evaporó hasta sequedad para dar un sólido blanco. El producto se recrystalizó después en etanol caliente para dar dihidrocloruro de 1,4-bis[isobutilamino]-2,3-hidroxibutano (3,0 g, 38% de rendimiento). La pureza del compuesto se confirmó por análisis de Espectroscopia de Masas ESI y ¹H NMR.

Ejemplo 4

Compuesto n° AL-39586: 1,4-bis[(dimetil, hidroximetil)-metilamino]butano

El anteriormente mencionado compuesto se sintetizó por medio del esquema de reacción mostrado a continuación:



Una solución de cloruro de succinilo (4,18 g, 27 mmol) en CH₂Cl₂ (40 ml) se añadió goteando a 0°C (durante un periodo de 1 hora) a una solución de 2-amino-2-metil-1-propanol (14,41 g, 0,16 mol) en CH₂Cl₂ (150 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Después de que se hubiera eliminado el disolvente en un evaporador rotativo Büchi, se añadió acetona (400 ml) al residuo, y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El sólido se separó por filtración después, se concentró el filtrado bajo presión reducida y se añadió CH₂Cl₂ (30 ml) al concentrado, que se obtuvo como sólidos aceitosos. El precipitado sólido se filtró y lavó con CH₂Cl₂ (10 ml) frío, seguido por hexano. La torta del filtro se secó bajo vacío. El producto crudo se purificó (para eliminar pequeñas cantidades de la sal de hidrocloreto de 2-amino-2-metil-1-propanol) mediante una columna de cromatografía de gel de sílice (120 g) eluyendo con 15% de MeOH-CH₂Cl₂ para dar 4,70 g (67%) de (1) como un polvo blanco. (Este compuesto intermedio se denomina más adelante como "Compuesto A").

A una suspensión de Compuesto A (4,90 g, 18,82 mmol) en THF (100 ml) se añadió lentamente a 0°C una solución de complejo de borano-THF (1M en THF; 75,3 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por la noche. Después de que la mezcla de reacción se hubiera enfriado hasta 0°C, se añadió lentamente una solución 6N de HCl (17 ml). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, y el precipitado se filtró y lavó con THF para dar

ES 2 323 132 T3

la sal de dihidrocloruro como un sólido. Después de que se hubiera añadido al sólido THF recién destilado (50 ml), la suspensión resultante se calentó a reflujo y después se enfrió hasta temperatura ambiente, continuando la agitación durante 3 horas adicionales. El precipitado se filtró, y la torta del filtro se secó *in vacuo* para dar 5,34 g (93%) de la sal 2.HCl de 1,4-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]butano como un polvo blanco. El compuesto se caracterizó por espectrografía de masas y NMR.

Ejemplo 5

Se prepararon las formulaciones mostradas en la Tabla 1 siguiente para evaluar la capacidad de las bisaminas de fórmula (I) para incrementar la actividad antimicrobiana de composiciones oftálmicas, particularmente de soluciones de lágrima artificial:

TABLA 1

Componente	Números de formulación/Concentraciones (% p/v)						
	10581-37A	10581-37B	10581-37C	10581-37D	10581-37E	10581-37F	10581-37G
Dextran 70	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
HPMC	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Propilenglicol	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Ácido bórico	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Sorbitol	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Cloruro sódico	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Cloruro potásico	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Cloruro cálcico	0,0053	0,0053	0,0053	0,0053	0,0053	0,0053	0,0053
Cloruro magnésico	0,0064	0,0064	0,0064	0,0064	0,0064	0,0064	0,0064
Cloruro de cinc	0,00015	0,00015	0,00015	0,00015	0,00015	0,00015	0,00015
APM (95%)	0,588	-	-	-	-	-	-
AL-38571A	-	1,5 (51,5 mM)	1,0 (34,3 mM)	0,5 (17,2 mM)	-	-	-
AL-39114A	-	-	-	-	1,124 (51,5 mM)	0,742 (34 mM)	0,37 (17 mM)
pH	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9

Las formulaciones descritas en la Tabla 1 se prepararon como sigue:

Solución de HPMC:

1. En una botella para medio Pyrex de 250 ml, añadir la cantidad correcta de solución madre al 2% de HPMC.
2. Autoclave a 121°C durante 30 minutos.
3. Mantener la solución en autoclave para mezcla posterior.

Vehículo tampón:

1. En un vaso de precipitados de 250 ml, añadir los restantes compuestos químicos de la formulación para una carga de 200 ml usando sólo 150 ml de agua purificada.
2. Medir el pH y ajustar hasta 7,9 con NaOH/HCl.
3. Cantidad suficiente hasta 100% (150 ml) con agua purificada.
4. Filtrar la solución usando una unidad de filtro CA de 0,2 µm.

Formulación final:

1. Añadir lentamente el vehículo tampón filtrado a la solución madre de HPMC tratada en autoclave.
2. Dejar que la solución se mezcla bien.

Ejemplo 6

Se evaluó la actividad antimicrobiana de las soluciones descritas en el ejemplo 5 por medio de un análisis microbiológico estándar (es decir, Ensayo de Eficacia Antimicrobiana USP 26). Las muestras de ensayo se pusieron a prueba con suspensiones estandarizadas de *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, y se determinó el número de microorganismos supervivientes a 7, 14 y 28 días. Los resultados se presentan en la Tabla 2 siguiente:

TABLA 2

Organismo	Tiempo (días)	Número de formulación/Log ₁₀ Reducción de supervivientes						
		10581-37A	10581-37B	10581-37C	10581-37D	10581-37E	10581-37F	10581-37G
<i>A. niger</i> 9,5 x 10 ^{5a}	7	1,7	1,9	1,9	1,6	2,0	1,9	1,8
	14	2,2	2,9	2,6	2,6	2,5	2,4	2,3
	28	2,6	3,6	3,5	4,2	2,9	2,8	2,7
<i>C. albicans</i> 2,0 x 10 ⁶	7	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	0,4	0,2
	14	1,4	1,2	1,1	0,3	1,7	1,4	1,0
	28	2,6	1,8	2,0	1,2	2,8	2,6	1,8
<i>E. coli</i> 5,9 x 10 ⁵	7	<u>5,8^b</u>	<u>5,8</u>	4,3	-0,4	4,8	4,0	2,9
	14	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	0,6	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>
	28	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	0,0	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>
<i>P. aeruginosa</i> 9,0 x 10 ⁵	7	<u>6,0</u>	<u>6,0</u>	4,4	-0,5	4,6	1,3	-0,3
	14	<u>6,0</u>	<u>6,0</u>	4,5	-0,6	4,4	1,0	-0,1
	28	<u>6,0</u>	<u>6,0</u>	4,4	-0,3	4,6	0,7	0,9
<i>S. aureus</i> 1,4 x 10 ⁶	7	4,5	3,9	1,6	0,6	3,4	2,8	2,4
	14	<u>6,1</u>	<u>6,1</u>	3,0	3,4	<u>6,1</u>	<u>6,1</u>	5,1
	28	<u>6,1</u>	<u>6,1</u>	<u>6,1</u>	<u>6,1</u>	<u>6,1</u>	<u>6,1</u>	<u>6,1</u>

^a Testigo de inóculo

^b El número subrayado indica sin supervivientes (< 10 CFU/ml) recuperados

Los resultados demuestran la eficacia preservativa global frente a los organismos ensayados a concentraciones de 51 mM para ambos compuestos evaluados (es decir, AL-38571A y AL-39114A). El resultado también indica que había una dosis de respuesta para ambos compuestos cuando se ensayaron a concentraciones de 34 mM y 17 mM en este vehículo. (Las soluciones D, F y G, que contenían estas menores concentraciones de compuestos, no satisficieron los requisitos de eficacia preservativa de la USP).

Ejemplo 7

Las formulaciones mostradas en la Tabla 3 siguiente se prepararon de acuerdo con procedimientos similares a los descritos en el ejemplo 5. Las formulaciones representan otros ejemplos de composiciones de lágrima artificial que contienen compuestos de bisamina de acuerdo con la presente invención.

TABLA 3

Componente	Concentración (% p/v)					
	11398-40A	11398-40B	11398-40C	11398-40E	11398-40F	11398-40G
AMP (95%)	0,588 ^a					
AL-38571A		2,0 ^a				
AL-39586			2,1 ^a			
AL-39504				2,3 ^a		
AL-39503					2,1 ^a	
Dextran 70	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
HPMC	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Propilenglicol	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Ácido bórico	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Sorbitol	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Cloruro sódico	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloruro potásico	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloruro cálcico	0,0053	0,0053	0,0053	0,0053	0,0053	0,0053
Cloruro magnésico	0,0064	0,0064	0,0064	0,0064	0,0064	0,0064
Cloruro de cinc	0,00015	0,00015	0,00015	0,00015	0,00015	0,00015
pH	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9

^a Las concentraciones de AMP y de las bisaminas mostradas aquí son equimolares (es decir, 70 mM).

Ejemplo 8

Se evaluó la actividad antimicrobiana de las soluciones descritas en el ejemplo 7 por medio de un análisis microbiológico estándar (es decir, Ensayo de Eficacia Antimicrobiana USP 27). Los resultados se presentan en la Tabla 4 siguiente:

TABLA 4

Organismo	Tiempo (días)	Log ₁₀ de Reducción de supervivientes					
		11398-40A	11398-40B	11398-40C	11398-40E	11398-40F	11398-40G
<i>A. niger</i> 4,4 x 10 ^{5a}	7	2,4	2,9	2,6	2,4	3,3	2,5
	14	3,1	3,2	3,2	2,4	3,8	2,3
	28	<u>5,6^b</u>	4,9	4,5	3,6	<u>5,6</u>	3,8
<i>C. albicans</i> 9,8 x 10 ⁵	7	0,5	0,1	0,3	0,3	0,9	0,1
	14	2,3	1,3	1,4	0,4	2,0	0,4
	28	<u>6,0</u>	2,2	3,4	1,7	<u>6,0</u>	2,1
<i>E. coli</i> 6,1 x 10 ⁵	7	1,5	4,8	4,0	3,3	3,2	4,1
	14	3,3	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	3,4	<u>5,8</u>	2,2
	28	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	<u>5,8</u>	3,4	<u>5,8</u>	-0,7
<i>P. aeruginosa</i> 1,1 x 10 ⁶	7	0,9	<u>6,0</u>	<u>6,0</u>	2,4	4,9	4,5
	14	1,7	5,3	<u>6,0</u>	0,0	<u>6,0</u>	4,3
	28	4,5	<u>6,0</u>	5,3	0,0	<u>6,0</u>	3,7
<i>S. aureus</i> 8,4 x 10 ⁵	7	2,4	1,2	1,4	4,1	<u>5,9</u>	<u>5,9</u>
	14	5,2	3,2	<u>5,9</u>	<u>5,9</u>	<u>5,9</u>	<u>5,9</u>
	28	<u>5,9</u>	<u>5,9</u>	<u>5,9</u>	<u>5,9</u>	<u>5,9</u>	4,7

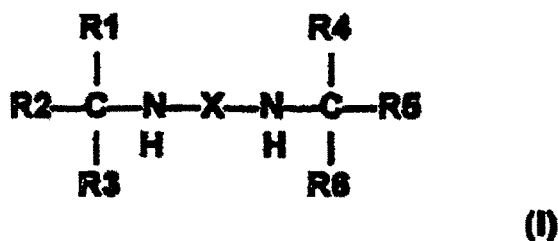
11239:021

^a Conteo del testigo de inóculo inicial

^b El número subrayado indica sin supervivientes (< 10 CFU/ml) recuperados

REIVINDICACIONES

1. Una composición oftálmica acuosa que comprende una bisamina de la siguiente fórmula en una cantidad eficaz para incrementar la actividad antimicrobiana de la composición:



en la que:

uno de R₁, R₂ y R₃ es -CH₂OH, y uno de R₄, R₅ y R₆ es -CH₂OH y el resto de los grupos R₁-R₆ son alquilo de C₁-C₅ lineal o ramificado; y

X se selecciona del grupo que consiste en:

alquileo saturado o insaturado de C₁-C₁₆, que contiene opcionalmente uno o más heteroátomos;

(-CH₂-)-CHOH-CHOH-(-CH₂-) y los grupos hidroxilo están en las configuraciones o cis o trans;

(-CH₂-O-CH₂-);

(-CH=CH-); y

(-C≡C-), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; y un vehículo farmacéuticamente aceptable para la misma, teniendo dicha composición un pH fisiológicamente compatible y una osmolalidad de 210 hasta 320 mOsm/kg.

2. La composición según la reivindicación 1, en la que, en la bisamina de fórmula (I), X es (-CH₂-)_n, en la que n es un número entero desde 3 hasta 6.

3. Una composición según la reivindicación 1, en la que la bisamina de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en 1,3-bis[(dimetil, hidroximetil)-metilamino]propano; 1,6-bis[(dimetil, hidroximetil)-metilamino]hexano; 1,4-bis[isobutilamino]2,3-dihidroxi-butano; 1,4-bis[(dimetil, hidroximetil)metilamino]2,3-dihidroxi-butano; y 1,4-bis[(dimetil, hidroximetil)-metilamino]butano.

4. Composición según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque las composiciones oftálmicas son composiciones antisépticas o desinfectantes.

5. Composición según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque la composición es una composición de lágrima artificial.

6. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para desinfectar lentes de contacto.