

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 908 345**

(51) Int. Cl.:

A61K 47/04	(2006.01)	A61K 31/047	(2006.01)
A61K 47/12	(2006.01)	A61K 31/545	(2006.01)
A61K 33/42	(2006.01)	A61K 31/66	(2006.01)
A61K 9/08	(2006.01)		
A61P 31/04	(2006.01)		
A61P 17/00	(2006.01)		
A01N 33/12	(2006.01)		
A01N 43/36	(2006.01)		
A61K 47/18	(2007.01)		
A61K 47/24	(2006.01)		

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.11.2014 PCT/US2014/063745**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015 WO15066647**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2014 E 14859243 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.12.2021 EP 3062819**

(54) Título: **Líquidos iónicos para la administración transdérmica de medicamentos**

(30) Prioridad:

03.11.2013 US 201361899294 P

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

28.04.2022

(73) Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (33.3%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607, US;
TRIAD NATIONAL SECURITY, LLC (33.3%) y
THE ARIZONA BOARD OF REGENTS (33.3%)**

(72) Inventor/es:

**ZAKREWSKY, MICHAEL;
MITRAGOTRI, SAMIR;
FOX, DAVID T.;
KOPPISCH, ANDREW;
DEL SESTO, RICO y
LOVEJOY, KATHERINE**

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 908 345 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

Líquidos iónicos para la administración transdérmica de medicamentos

Campo de la divulgación

La presente descripción se refiere a formulaciones de administración transdérmica de fármacos y formulaciones administradas tópicamente, como para el tratamiento de infecciones, y procedimientos para hacer y usar estas formulaciones y dispositivos.

Antecedentes de la divulgación

La administración tópica y transdérmica de fármacos brinda muchas ventajas sobre otras vías de administración comunes, como la oral, la subcutánea y la intravenosa. Estas ventajas incluyen la evitación de las principales vías de degradación asociadas con el tracto GI, la reducción de los efectos secundarios asociados con la toxicidad sistémica y la administración de fármacos sin agujas. Brown, et al., "Dermal and transdermal drug delivery systems: current and future prospects" ("Sistemas de administración de fármacos dérmicos y transdérmicos: perspectivas actuales y futuras"), Drug Delivery, 13:175-87 (2006). Desafortunadamente, la capa más externa de la piel, el estrato córneo (SC), funciona como una barrera para la mayoría de los materiales extraños y limita severamente la difusión pasiva de muchas moléculas. Para superar esta barrera, se han empleado varias estrategias, incluido el uso de potenciadores de penetración química (CPE). Se ha demostrado que los CPE mejoran el transporte a través de la piel, para una variedad de moléculas alterando la composición y organización de los lípidos en el SC. Karande, et al., "Design principles of chemical penetration enhancers for transdermal drug delivery" ("Principios de diseño de potenciadores de la penetración química para la administración transdérmica de fármacos"), Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América, 102:4688-93 (2005). Sin embargo, el grado de alteración de los lípidos a menudo se correlaciona estrechamente con la irritación de la piel. Karanda 2005. Por lo tanto, a menudo se requiere un equilibrio entre la mejora del transporte y la irritación de la piel antes de poder comercializar una formulación de fármaco basada en CPE.

Al mismo tiempo, para el tratamiento de infecciones cutáneas bacterianas, existe una segunda barrera de transporte para la administración de fármacos: la biopelícula bacteriana. Las bacterias protegidas con biopelícula representan el 65 % de las infecciones bacterianas en humanos y son entre 50 y 500 veces más resistentes a los antibióticos que las bacterias sin protección. Palmer, et al., "Molecular techniques to detect biofilm bacteria in long bone nonunion: a case report" ("Técnicas moleculares para detectar bacterias de biopelícula en pseudoartrosis de huesos largos: informe de un caso"), Ortopedia clínica e investigación relacionada, 469: 3037-42 (2011). La resistencia a los antibióticos se debe a la barrera de transporte generada por las sustancias poliméricas extracelulares (EPS), p.ej. polisacáridos, ácidos húmicos y ácidos nucleicos. Aunque la composición química de la SC y la biopelícula bacteriana son distintivas, la superación de la barrera de transporte generada por la SC y la biopelícula se puede lograr de manera similar, como por medio de la fluidización o la extracción de los componentes de la barrera con un disolvente adecuado.

Existe la necesidad de composiciones y procedimientos que mejoren el transporte transdérmico, pero que no irriten la piel. También existe la necesidad de composiciones mejoradas para inhibir el crecimiento microbiano en superficies biológicas y sintéticas.

Por lo tanto, es deseable proporcionar composiciones para mejorar el transporte transdérmico de agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico.

Es deseable proporcionar composiciones mejoradas para el tratamiento de enfermedades y trastornos dentro de la piel, tales como infecciones.

Es deseable proporcionar procedimientos y composiciones para inhibir el crecimiento microbiano.

Es deseable proporcionar procedimientos para mejorar el transporte transdérmico de agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico.

Es deseable proporcionar procedimientos mejorados para el tratamiento de enfermedades y trastornos de la piel.

45 Resumen de la divulgación

Las composiciones y los procedimientos descritos en el presente documento se pueden aplicar tópicamente a la piel con irritación cutánea insignificante o nula (como se evidencia por enrojecimiento, ardor y/o sensaciones de picazón) y pueden dirigir o prevenir el transporte a través de la piel. Las composiciones contienen líquidos iónicos puros, opcionalmente en combinación con un fármaco a administrar. En una forma de realización preferida, las composiciones mejoran la penetración en la piel. Estas composiciones se aplican tópicamente a la superficie de la piel y aumentan el transporte transdérmico del fármaco que se va a administrar.

En algunas formas de realización, las composiciones alteran las biopelículas bacterianas. Esto es particularmente beneficioso en el tratamiento de infecciones de la piel resistentes a los antibióticos.

En otras formas de realización, las composiciones contienen IL que pueden administrarse directamente dentro de la piel. En aún otras formas de realización, las composiciones pueden evitar la transferencia de sustancias a través del estrato córneo. Tales composiciones pueden ser útiles como recubrimiento protector de la piel.

5 Las composiciones pueden ajustarse y modificarse de modo que puedan usarse para tratar o prevenir una variedad de diferentes enfermedades y trastornos.

La invención se refiere a una composición como se define en la reivindicación 1. La invención se refiere además a un procedimiento para inhibir el crecimiento microbiano en una superficie como se define en la reivindicación 6. La invención también se refiere a una composición para usar en un procedimiento de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, como se define en la reivindicación 8.

10 Breve descripción de los dibujos

FIG. 1 es un diagrama esquemático de la configuración y el análisis del experimento de transporte de la piel. Se cargó piel porcina en la celda de difusión de Franz (FDC) con el estrato córneo (SC) hacia arriba. La piel se incubó en contacto con el fármaco marcado con ³H disuelto en solución donante durante 24 horas, a 37°C, con agitación. Despues de 24 horas, se retiró la solución donante y se lavó la piel minuciosamente. El SC se separó de la epidermis mediante decapado con cinta adhesiva. Se aplicaron diez tiras de cinta, correspondiendo cada cinta a 1 "capa" de SC. Se supuso que diez tiras de cinta eliminarían todo el SC. La epidermis se separó de la dermis utilizando una hoja de afeitar. Se recogió la solución aceptora y se cuantificó el transporte del fármaco a varias capas de tejido mediante un contador de centelleo.

20 Figs. 2A y 2B son gráficos de barras de mejora del transporte (en relación con el control de PBS) en la piel porcina por líquidos iónicos. FIG. 2A Se añadió ³H-manitol de 0.5 µM a cada uno de los IL (LANL-6, LANL-13, LANL-14, LANL-19, LANL-21) y se aplicó a la piel porcina. FIG. 2B Se añadió ³H-cefadroxilo de 14,3 µM al IL (LANL-21) y se aplicó a la piel porcina. Las barras de error representan la media ± error estándar para n=3.

25 FIG. 3 es un diagrama esquemático que muestra el crecimiento de la biopelícula bacteriana, la exposición a IL y los pasos de tratamiento del ensayo. Se usaron placas de ensayo MBEC™ HTP para el cultivo de biopelículas. Se utilizó una versión modificada del protocolo de ensayo MBEC™ HTP. ©Innovotech, Inc., Edmonton, AB, Canadá.

30 Figs. 4A-C son gráficos de barras del tamaño de la biopelícula (cfu/ml) después de 2 horas de exposición a IL, sonicación y recuperación. Los materiales probados fueron LANL-2, LANL-5, LANL-6, LANL-7, LANL-12, LANL-13, LANL-14, medios LB (control positivo), lejía al 10 % (control negativo). FIG. 4A: Promedio de recuentos celulares de cfu/ml para n=6, todos los puntos de datos. Error = desviación estándar de n=6. FIG. 4B: Comparación de edad de biopelículas - 72 horas pseudomonas (barra negra) y 24 horas pseudomonas (barra abierta); Figura 4C: Comparación de especies de biopelículas - 24 horas pseudomonas (barra negra) y 24 horas salmonella (barra abierta).

35 Figs. 5A-5C son gráficos de barras del porcentaje de células supervivientes después de 2 horas de exposición a IL, sonicación y recuperación. LB (control positivo) = 100%. Porcentaje promedio de supervivencia para n=6. Los materiales probados fueron LANL-2, LANL-5, LANL-6, LANL-7, LANL-12, LANL-13, LANL-14, medios LB (control positivo), lejía al 10 % (control negativo). FIG. 5A: Todos los puntos de datos. FIG. 5B: Comparación de la edad de la biopelícula (72 horas (barra negra) versus 24 horas (barra abierta) para P. aeruginosa (Pseudomonas)). FIG. 5C: Comparación de especies de biopelículas después de 24 horas (S. enterica (Salmonella) barra abierta, P. aeruginosa (Pseudomonas) barra negra).

40 FIG. 6 es un diagrama de Walden de los materiales probados (Log (conductividad molar) (conductividad molar en S/cm/M) frente a Log (1/viscosidad) (viscosidad en Poise)).

Descripción detallada de la divulgación

45 Las composiciones contienen líquidos iónicos puros, que no forman ni contienen emulsiones o microemulsiones en condiciones estándar de almacenamiento y aplicación (por ejemplo, temperatura y presión ambiente). Los líquidos iónicos normalmente contienen al menos un componente catiónico y al menos un componente aniónico. Preferiblemente, al menos uno de los componentes del líquido iónico es un potenciador de la permeación química, preferiblemente tanto el componente catiónico como el aniónico son potenciadores de la permeación química. Las composiciones preferiblemente también contienen un fármaco a administrar. Opcionalmente, uno de los componentes iónicos es también el fármaco a administrar.

50 Las composiciones se pueden aplicar tópicamente a la piel de un individuo en una cantidad eficaz para aumentar la administración transdérmica del fármaco. Cuando se aplican a la piel de un individuo, las composiciones no causan irritación indebida, tal como se evidencia por enrojecimiento, sensaciones de ardor y/o picazón.

En algunas formas de realización, además de aumentar la velocidad y/o la cantidad de transporte del fármaco a través de la piel, las composiciones alteran las biopelículas bacterianas. Por tanto, estas composiciones se pueden usar para tratar infecciones bacterianas, opcionalmente infecciones cutáneas resistentes a antibióticos. En estas formas de

realización, la composición, opcionalmente, no incluye un fármaco a administrar, y la composición puede contener una cantidad eficaz de líquidos iónicos para tratar la infección.

I. Composiciones que contienen fármacos para la administración dirigida de fármacos

Las composiciones contienen al menos dos componentes, que pueden ser al menos dos componentes iónicos, o al menos un componente iónico y un fármaco a administrar. Preferiblemente, el líquido iónico contiene dos o más, más preferiblemente dos componentes iónicos. En algunas formas de realización, las composiciones también contienen un fármaco para administrarse por vía transdérmica. Las composiciones se pueden usar para administrar una amplia gama de fármacos. En algunas formas de realización, los IL son eficaces para eliminar la biopelícula bacteriana de un sitio de la piel. En estas formas de realización, opcionalmente, la composición no contiene un fármaco adicional para administrar. En algunas formas de realización, la composición se aplica a una superficie sintética, como la superficie de un dispositivo médico para inhibir el crecimiento microbiano.

A. Líquidos iónicos

El término "líquidos iónicos (IL)", como se usa en el presente documento, se refiere a sales orgánicas o mezclas de sales orgánicas que están en estado líquido a temperatura ambiente. Se ha demostrado que esta clase de disolventes es útil en una variedad de campos, incluido el tratamiento industrial, la catálisis, los productos farmacéuticos y la electroquímica. Los líquidos iónicos contienen al menos un componente aniónico y al menos uno catiónico. Opcionalmente, el IL contiene un donante de enlace de hidrógeno adicional (es decir, cualquier molécula que pueda proporcionar un grupo -OH o -NH), los ejemplos incluyen, entre otros, alcoholes, ácidos grasos y aminas.

En algunas formas de realización, el componente catiónico o aniónico también es un fármaco.

El al menos un componente aniónico y al menos un componente catiónico pueden estar presentes en cualquier relación molar. Las proporciones molares ejemplares (catión:anión) se proporcionan en la Tabla 2. Ejemplos de relaciones molares (catión:anión) incluyen, pero no se limitan a 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1, 2:3, 3:2 y oscila entre estas relaciones.

Las composiciones descritas en este documento contienen un líquido iónico. La capacidad de modular el catión o el anión individualmente presenta un marco ventajoso para ajustar las características secundarias y terciarias sin sacrificar la función principal del IL. Hough, et al., "The third evolution of ionic liquids: active pharmaceutical ingredients" ("La tercera evolución de los líquidos iónicos: ingredientes farmacéuticos activos"), New Journal of Chemistry, 31:1429 (2007).

Cada uno de los componentes del IL (es decir, componentes aniónicos y catiónicos) o componente(s) iónico(s) del IL y del fármaco pueden irritar la piel por sí solos. Sin embargo, la combinación de los componentes iónicos (o el componente iónico y el fármaco) utilizada en la composición no es irritante cuando se aplica a la superficie de la piel.

Los líquidos iónicos ejemplares se describen en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 07/124397 de Grinstaff et al. Los líquidos iónicos ejemplares con propiedades antimicrobianas se describen en la publicación WO 2011/056545 de Grinstaff et al.

Los líquidos iónicos pueden incluir cationes orgánicos que contienen independientemente para cada caso un heterociclo seleccionado del grupo que consiste en azatiozoles, pirazoles, tiazoles, isotiazoles, oxotiazoles, oxazinas, oxazolinas, oxazoboroles, dithioazoles, triazoles, selenozoles, oxaphopholes, pirroles, boroles, furanos, tiofenos, fosfoles, pentazoles, indoles, indolinas, oxazoles, isooxazoles, isotriazoles, tetraazoles, benzofuranos, dibenzofuranos, benzotiofenos, dibenzotiofenos, tiadiazoles, pirimidinas, pirazinas, piridazinas, piperazinas, pipidinas, morfolenos, piranos, annolinas, ftalazinas, quinazolininas, quinoxalininas, quinolinas, isoquinolinas, thiazinas, oxazinas y azaanulenos. Los líquidos iónicos pueden incluir cationes orgánicos acíclicos, como aminas como amidinas, iminas, guanidinas, fosfinas como fosfiniminas, arsinas, estibinas, éteres, tioéteres y selenoéteres.

Los líquidos iónicos pueden incluir aniones orgánicos e inorgánicos que contienen independientemente para cada caso un ácido carboxílico, ácido sulfónico, tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, bis-trifluorometano-sulfonimida y derivados de los mismos. Las especies aniónicas adicionales que se pueden incluir en el líquido iónico incluyen, pero no se limitan a, ácidos grasos, alcoholes, boratos, fosfatos, nitratos, sulfatos, triflatos, antimonatos, carboranos, polioxometalatos y metaloboranos.

En algunas formas de realización, el IL es un disolvente eutéctico profundo (DES). Un DES es un tipo de disolvente iónico con propiedades especiales compuesto por una mezcla que forma un eutéctico con un punto de fusión mucho más bajo que cualquiera de los componentes individuales. Ejemplos de DES incluyen, pero no se limitan a, oleato de colina, hexanoato de colina, geranato de colina, malonato de colina (malonato disódico de colina) y urea-colina. En estos, la formulación es un DES y no un verdadero líquido iónico porque el exceso de carboxilato impide el emparejamiento iónico 1:1. Las composiciones que contienen un anión geranato están de acuerdo con la invención.

Uno o más de los componentes pueden ser un potenciador de la permeación química.

Preferiblemente, el líquido iónico contiene $[P(C_{14}H_{29})(C_6H_{13})_3]^+$ ("PR₄") en combinación con un componente aniónico, preferiblemente el componente aniónico es el anión de una sal de un ácido graso. Ejemplos de ácidos grasos incluyen, pero no se limitan a, ácido miristoleico, ácido palmitoleico, ácido sapiénico, ácido oleico, ácido elafídico, ácido geránico, ácido vaccénico, ácido linoleico, ácido linoelafídico, ácido α-linolénico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido erúcico ácido, ácido docosahexaenoico, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido hexanoico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecílico, ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido nonadecílico, ácido araquídico, ácido heneicosílico, ácido behénico, ácido tricosílico, ácido lignocérico, ácido pentacosílico, ácido cerótico, ácido heptacosílico, ácido montánico, ácido nonacosílico, ácido melísico, ácido henatriacontílico, ácido lacceroico, ácido psílico, ácido gédico, ácido ceroplástico o ácido hexatriacontílico. Las sales de ácidos grasos preferidas incluyen oleato de sodio, geranato de sodio o hexanoato de sodio. Las composiciones que contienen un anión geranato están de acuerdo con la invención.

Propiedades físicas de los componentes catiónicos y aniónicos de los IL

Preferiblemente, los materiales que se usan como agentes de suministro transdérmico tienen viscosidades por debajo de aproximadamente 1500 cP a temperatura ambiente cuando se miden usando un viscosímetro estándar, tal como el viscosímetro Viscolab 3000 (Cambridge Viscosity, Medford, MA).

La relación entre la viscosidad y la conductancia del líquido iónico puede dar una idea de la movilidad de los iones en el IL, p.ej., son los cationes y aniones estrechamente asociados como pares catión-anión o que fluyen libremente. La regla de Walden, que el producto de la conductividad molar y la viscosidad es un valor constante, se cumple para líquidos iónicos puros. Xu, et al., "Ionic Liquids: Ion Mobilities, Glass Temperatures, and Fragilities" ("Líquidos iónicos: Movilidades de iones, temperaturas de transición vítrea y fragilidades"), Journal of Physical Chemistry B, 107(25): 6170-6178 (2003). FIG. 6 muestra un gráfico de Walden para el cual una línea de Walden ideal para una solución acuosa diluida de KCl completamente disociado tiene pendiente = 1. Una conductividad baja indica que los pares catión-anión están altamente asociados y serían favorables para la administración transdérmica. Una baja viscosidad también favorece el transporte a través de la piel.

En algunas formas de realización, los líquidos iónicos para la formulación de fármacos transdérmicos tienen valores de temperatura ambiente en el lado inferior derecho del diagrama de Walden. Como se muestra en los Ejemplos, algunos de los materiales que muestran las mejores propiedades de transporte por la piel caen en la parte inferior derecha de la gráfica, como el oleato de PR4 y el geranato de colina.

Los líquidos iónicos se pueden seleccionar de modo que sus conductividades y viscosidades a temperatura ambiente cuando se representen en un diagrama de Walden se ubiquen en la porción inferior derecha del diagrama de Walden.

Potenciadores de permeación química

Como se usa aquí, "potenciador de la permeación química" o "CPE" generalmente significa una sustancia química que ayuda al transporte a través del epitelio de la piel (estrato córneo), por ejemplo, alterando la estructura de la membrana celular (ruta transcelular) y/o las uniones estrechas entre células (vía paracelular) del estrato córneo.

Los ejemplos de CPE catiónicos incluyen, entre otros, tensioactivos catiónicos, polímeros catiónicos (por ejemplo, polilisina, polietilenimina, poliarginina), aminas grasas y anillos que contienen nitrógeno.

Los ejemplos de CPE aniónicos incluyen, pero no se limitan a, tensioactivos aniónicos (por ejemplo, laurilsulfato de sodio, decilsulfato de sodio, octilsulfato de sodio) y sales de ácidos grasos.

En la Tabla 1 a continuación se alistan algunos CPE ejemplares caracterizados por carga (la carga se indica entre paréntesis) y categoría. Algunos no están cargados, pero pueden cargarse o tener derivados cargados. Se conocen y describen CPE adicionales en KARNADE 2005.

TABLA 1: CPEs caracterizados por cargo y categoría

Abreviatura	Nombre químico	Categoría	Número CAS
SLS (-)	Lauril Sulfato de Sodio	AS	151-21-3
FDS (-)	Decil Sulfato de sodio	AS	142-87-0
SOS (-)	Octil Sulfato de sodio	AS	142-31-4
SLA (-)	Laureth sulfato de sodio	AS	68585-34-2
NLS (-)	Sarcosinato de N-laurilo	AS	137-16-6
CTAB (+)	Bromuro de cetiltrimetilamonio	CS	57-09-0

Abreviatura	Nombre químico	Categoría	Número CAS
DTAB (+)	Bromuro de deciltrimetilamonio	CS	2082-84-0
BDAC (+)	Cloruro de bencildimetildodecilamonio	CS	139-07-1
TTAC (+)	Cloruro de miristiltrimetilamonio	CS	4574-04-3
DPC (+)	Cloruro de dodecilpiridinio	CS	104-74-5
DPS	Sulfonato de decildimetilamonio propano	ZS	15163-36-
MPS	Sulfonato de miristildimetilamonio propano	ZS	14933-09-6
PPS	Sulfonato de palmitildimetilamonio propano	ZS	2281-11-0
CBC	ChemBetaína CAS	ZS	N/A (mezcla)
CBO	Chembetaína oleilo	ZS	N/A (mezcla)
PCC	Cloruro de palmitoil carnitina	ZS	6865-14-1
SDC (-)	desoxicolato de sodio	BS	302-95-4
SGC (-)	glicocolato de sodio	BS	863-57-0
CA (-)	ácido cólico	FA	73163-53-8
HA (-)	ácido hexanoico	FA	142-91-6
HPA (-)	ácido heptanoico	FA	111-14-8
SOA (-)	oleato de sodio	SS	143-19-1
UR	Urea	FM	57-13-6
LAM (+)	lauril amina	FM	124-22-1
CL	caprolactama	NR	105-60-2
MP (+)	Metil pirrolidona	NR	872-50-4
OP (+)	Octil pirrolidona	NR	2687-94-7
MPZ (+)	Metil piperazina	NR	109-01-3
PPZ (+)	Fenil piperazina	NR	92-54-6

Administración dirigida

- Las composiciones se pueden seleccionar para administrar un fármaco en un sitio particular, como dentro del estrato córneo, la epidermis y/o la dermis, o a través y más allá de todas las capas de la piel. Como se muestra en los ejemplos, diferentes IL demostraron tres regímenes de transporte diferentes, según el IL empleado: 1) Retención del fármaco en la solución donante. 2) Localización y retención mejoradas dentro del SC, la epidermis y la dermis. 3) Penetración transdérmica mejorada a través de todas las capas de la piel y en la solución aceptora. En todas las formas de realización, la composición no es irritante para la piel, aunque uno o más de los componentes por sí solos pueden ser irritantes.
- En algunas formas de realización, los componentes de la composición (por ejemplo, componente catiónico, componente aniónico y/o fármaco) se seleccionan de manera que el fármaco que se va a administrar se administre dentro de las capas de la piel. Esto puede ser particularmente útil para el tratamiento de enfermedades o trastornos de la piel, tales como el tratamiento de una infección, corte, quemadura o sarpullido.
- En otras formas de realización, los componentes de la composición (por ejemplo, componente catiónico, componente aniónico y/o fármaco) se seleccionan de manera que el fármaco que se va a administrar se transporte a través de la piel.
- En aún otras formas de realización, los componentes de la composición se pueden seleccionar de modo que impidan la transferencia de un fármaco (u otra sustancia) a través del estrato córneo. Esto puede ser útil como recubrimiento para proteger la piel o tratar heridas abiertas grandes.
- B. Medicamentos a administrar

- El fármaco que se administrará por vía transdérmica puede ser cualquier molécula química o biológica que proporcione un efecto terapéutico, de diagnóstico o profiláctico *in vivo*. Las composiciones que contienen fármacos pueden 5
contener cualquier fármaco adecuado. El fármaco se selecciona en base a la enfermedad o trastorno a tratar o prevenir. El fármaco puede ser una molécula pequeña o una macromolécula, como una proteína o un péptido. En la forma de realización preferida, el fármaco es una proteína o un péptido. Sin embargo, se puede incluir una amplia gama de fármacos en las composiciones. Los medicamentos contemplados para su uso en las formulaciones descritas en el presente documento incluyen, entre otros, las siguientes categorías y ejemplos de medicamentos y formas alternativas de estos medicamentos, como formas alternativas de sal, formas de ácido libre, formas de base libre e hidratos:
- 10 analgésicos/antipiréticos (por ejemplo, aspirina, paracetamol, ibuprofeno, naproxeno sódico, buprenorfina, clorhidrato de propoxifeno, napsilato de propoxifeno, clorhidrato de meperidina, clorhidrato de hidromorfona, morfina, oxicodona, codeína, bitartrato de dihidrocodeína, pentazocina, bitartrato de hidrocodona, levorfanol, diflunisal, salicilato de trolamina, clorhidrato de nalbufina, ácido mefenámico, butorfanol, salicilato de colina, butalbital, citrato de feniltoloxamina, citrato de difenhidramina, metotriimepracina, clorhidrato de cinamedrina y meprobamato);
- 15 antiasmáticos (por ejemplo, ketotifeno y traxanox);
antibióticos (por ejemplo, neomicina, estreptomicina, cloranfenicol, cefalosporina, ampicilina, penicilina, tetraciclina y ciprofloxacina);
antidepresivos (por ejemplo, nefopam, oxipertina, doxepina, amoxapina, trazodona, amitriptilina, maprotilina, fenelzina, desipramina, nortriptilina, trancipromina, fluoxetina, doxepina, imipramina, pamoato de imipramina, isocarboxazida, 20 trimipramina y protriptilina);
antidiabeticos (por ejemplo, biguanidas y derivados de sulfonilureas);
agentes antimicóticos (por ejemplo, griseofulvina, ketoconazol, itraconizol, anfotericina B, nistatina y candicidina);
agentes antihipertensivos (por ejemplo, propranolol, propafenona, oxiprenolol, nifedipina, reserpina, trimetafano, 25 fenoxibenzamina, clorhidrato de pargilina, deserpidina, diazóxido, monosulfato de guanetidina, minoxidil, rescinamina, nitroprusiato de sodio, rauwolfa serpentina, alseroxilona y fentolamina); antiinflamatorios (por ejemplo, (no esteroides) indometacina, ketoprofeno, flurbiprofeno, naproxeno, ibuprofeno, ramifenazona, piroxicam, (esteroides) cortisona, dexametasona, fluazacort, celecoxib, rofecoxib, hidrocortisona, prednisolona y prednisona);
antineoplásicos (por ejemplo, ciclofosfamida, actinomicina, bleomicina, daunorrubicina, doxorrbucina, epirrubicina, mitomicina, metotrexato, fluorouracilo, carboplatino, carmustina (BCNU), metil-CCNU, cisplatino, etopósido, camptotecina y sus derivados, fenesterina, paclitaxel y sus derivados, docetaxel y sus derivados, vinblastina, vincristina, tamoxifeno y piposulfán);
30 agentes ansiolíticos (por ejemplo, lorazepam, buspirona, prazepam, clordiazepóxido, oxazepam, clorazepato dipotásico, diazepam, pamoato de hidroxina, clorhidrato de hidroxina, alprazolam, droperidol, halazepam, clormezanona y dantroleno); agentes inmunosupresores (p. ej. ciclosporina, azatioprina, mizoribina y FK506 (tacrolimus));
agentes antimigráñosos (por ejemplo, ergotamina, propranolol, mucato de isometepreno y dicloralfenazona);
sedantes/hipnóticos (por ejemplo, barbitúricos tales como pentobarbital, pentobarbital y secobarbital; y benzodiazepinas tales como clorhidrato de flurazepam, triazolam y midazolam);
40 agentes antianginosos (por ejemplo, bloqueadores beta-adrenérgicos; bloqueadores de los canales de calcio como nifedipina y diltiazem; y nitratos tales como nitroglicerina, dinitrato de isosorbida, tetranitrato de pentaeritritol y tetranitrato de eritritilo);
agentes antipsicóticos (por ejemplo, haloperidol, succinato de loxapina, clorhidrato de loxapina, tioridazina, clorhidrato de tioridazina, tiotixeno, flufenazina, decanoato de flufenazina, enantato de flufenazina, trifluoperazina, clorpromazina, perfenazina, citrato de litio y proclorperazina);
45 agentes antimanicatos (por ejemplo, carbonato de litio);
antiarrítmicos (por ejemplo, tosilato de bretilio, esmolol, verapamilo, amiadarona, encainida, digoxina, digitoxina, mexiletina, fosfato de disopiramida, procainamida, sulfato de quinidina, gluconato de quinidina, poligalacturonato de quinidina, acetato de flecainida, tocainida y lidocaína);
50 agentes antiartríticos (por ejemplo, fenilbutazona, sulindac, penicilamina, salsalato, piroxicam, azatioprina, indometacina, meclofenamato, tiomalato de oro y sodio, ketoprofeno, auranoftina, aurotioglucosa y tolmetina sódica);
agentes antigotosos (por ejemplo, colchicina y alopurinol);

- anticoagulantes (por ejemplo, heparina, heparina sódica y warfarina sódica);
 agentes trombolíticos (por ejemplo, uroquinasa, estreptoquinas y alteplasa);
 agentes antifibrinolíticos (por ejemplo, ácido aminocaproico);
 agentes hemorreológicos (por ejemplo, pentoxifilina);
- 5 agentes antiplaquetarios (por ejemplo, aspirina);
 anticonvulsivos (por ejemplo, ácido valproico, divalproex sódico, fenitoína, fenitoína sódica, clonazepam, primidona, fenobarbital, carbamazepina, amobarbital sódico, metsuximida, metharbital, mefobarbital, mefenitoína, fensuximida, parametadiona, etotoína, fenacemida, secobarbital sódico, clorazepato dipotásico y trimetadiona);
 agentes antiparkinsonianos (por ejemplo, ethosuximida);
- 10 antihistamínicos/antipruriginosos (por ejemplo, hidroxizina, difenhidramina, clorfeniramina, maleato de bromfeniramina, clorhidrato de ciproheptadina, terfenadina, fumarato de clemastina, triprolidina, carboxamina, difenilpiralina, fenindamina, azatadina, tripelennamina, maleato de dexclorfeniramina, metdilazina y);
 agentes útiles para la regulación del calcio (por ejemplo, calcitonina y hormona paratiroides); agentes antibacterianos (por ejemplo sulfato de amikacina, aztreonam, cloranfenicol, palmitato de cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, 15 palmitato de clindamicina, fosfato de clindamicina, metronidazol, clorhidrato de metronidazol, sulfato de gentamicina, clorhidrato de lincomicina, sulfato de tobramicina, clorhidrato de vancomicina, sulfato de polimixina B, colistimeta de sodio y sulfato de colistina);
 agentes antivirales (por ejemplo, interferón alfa, beta o gamma, zidovudina, clorhidrato de amantadina, ribavirina y aciclovir);
- 20 antimicrobianos (por ejemplo, cefalosporinas como cefazolina sódica, cefradina, cefaclor, cefapirina sódica, cefixima sódica, cefoperazona sódica, cefotétan disódico, cefuroxima y azotil, cefotaxima sódica, monohidrato de cefadroxilo, cefalexina, cefalotina sódica, clorhidrato de cefalexina monohidrato, nafato de cefamandol, cefoxitina sódica, cefonicid sódico, ceforanida, ceftriaxona sódica, ceftazidima, cefadroxilo, cefradina y cefuroxima sódica; penicilinas tales como ampicilina, amoxicilina, penicilina G benzatina, ciclacilina, ampicilina sódica, penicilina G potásica, penicilina V potásica, piperacilina sódica, oxacilina sódica, clorhidrato de bacampicilina, cloxacilina sódica, ticarcilina disódica, azlocilina sódica, carbenicilina indanil sódica, penicilina G procaína, meticilina sódica y naftilina sódica; eritromicinas tales como etilsuccinato de eritromicina, eritromicina, estolato de eritromicina, lactobionato de eritromicina, estearato de eritromicina y etilsuccinato de eritromicina; y tetraciclinas tales como clorhidrato de tetraciclina, hclato de doxiciclina y clorhidrato de minociclina, azitromicina, claritromicina);
 25 30 antiinfecciosos (por ejemplo, GM-CSF);
 broncodilatadores (por ejemplo, simpaticomiméticos tales como clorhidrato de epinefrina, sulfato de metaproterenol, sulfato de terbutalina, isoetarina, mesilato de isoetarina, clorhidrato de isoetarina, sulfato de albuterol, albuterol, mesilato de bitolterol, clorhidrato de isoproterenol, sulfato de terbutalina, bitartrato de epinefrina, sulfato de metaproterenol, epinefrina y bitartrato de epinefrina; agentes anticolinérgicos tales como bromuro de ipratropio; xantinas tales como aminofilina, difilina, sulfato de metaproterenol y aminofilina; estabilizadores de mastocitos tales como cromolino sódico; corticosteroides inhalados tales como dipropionato de beclometasona (BDP) y monohidrato de dipropionato de beclometasona; salbutamol; bromuro de ipratropio; budesonida; cetotifeno; salmeterol; xinafoato; sulfato de terbutalina; triamcinolona; teofilina; nedocromilo sódico; sulfato de metaproterenol; albuterol; flunisolida; propionato de fluticasona; compuestos esteroideos, hormonas y análogos de hormonas (por ejemplo, incretinas y 35 miméticos de incretina tales como GLP-1 y exenatida, andrógenos tales como danazol, cipionato de testosterona, fluoximesterona, etiltestosterona, enatato de testosterona, metiltestosterona, fluoximesterona y cipionato de testosterona; estrógenos tales como estradiol, estropipato y estrógenos conjugados; progestinas tales como acetato de metoxiprogesterona y acetato de noretindrona; corticosteroides como triamcinolona, betametasona, fosfato sódico de betametasona, dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, acetato de dexametasona, prednisona, suspensión de acetato de metilprednisolona, acetónido de triamcinolona, metilprednisolona, fosfato sódico de prednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, succinato sódico de hidrocortisona, hexacetónido de 40 triamcinolona, hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, prednisolona, acetato de fludrocortisona, acetato de parametasona, tebutato de prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona y succinato sódico de hidrocortisona; y hormonas tiroideas como levotiroxina sódica);
 45 50 agentes hipoglucemiantes (por ejemplo, insulina humana, insulina vacuna purificada, insulina porcina purificada, insulina producida de forma recombinante, análogos de insulina, gliburida, clorpropamida, glipizida, tolbutamida y tolazamida);
 agentes hipolipidemiantes (por ejemplo, clofibrato, dextrotiroxina sódica, probucol, pravastatina, atorvastatina, lovastatina y niacina);

péptidos;

proteínas (por ejemplo, ADNasa, alginasa, superóxido dismutasa y lipasa);

ácidos nucleicos (por ejemplo, ácidos nucleicos sentido o antisentido que codifican cualquier proteína terapéuticamente útil, incluyendo cualquiera de las proteínas descritas en el presente documento, y siARN);

5 agentes útiles para la estimulación de la eritropoyesis (por ejemplo, eritropoyetina);

agentes antiulcerosos/antirreflujo (por ejemplo, famotidina, cimetidina y clorhidrato de ranitidina); antinauseosos/antieméticos (por ejemplo, clorhidrato de meclizina, nabilona, proclorperazina, dimenhydrinato, clorhidrato de prometazina, tiethylperazina y escopolamina); vitaminas solubles en aceite (por ejemplo, vitaminas A, D, E, K y similares);

10 así como otros fármacos como el mitotano, las halonitrosoureas, las antrociclinas y la elipticina.

Puede encontrar una descripción de estas y otras clases de medicamentos útiles y una lista de especies dentro de cada clase en Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 30^a Ed. (The Pharmaceutical Press, Londres 1993).

C. Formas de dosificación

15 Se puede usar cualquier forma de dosificación adecuada para la administración a la piel. Las composiciones pueden estar en forma de películas, depósitos, parches o líquidos puros, cremas, lociones.

En una forma de realización, los IL se administran a la superficie de la piel mediante un dispositivo de administración de fármacos que contiene un depósito para contener los IL. En una forma de realización preferida, el depósito también contiene uno o más fármacos.

20 En otra realización, los IL pueden estar contenidos dentro de un dispositivo de administración de fármacos. Se puede formar una variedad de dispositivos diferentes que tienen una variedad de geometrías y estructuras diferentes. Por ejemplo, el dispositivo puede ser un dispositivo multicompartmento, que también contiene los IL.

II. Usos para composiciones

Las composiciones descritas en el presente documento se pueden usar para la administración transdérmica de fármacos.

25 Las composiciones se pueden aplicar a la superficie de la piel para tratar una enfermedad o trastorno de la piel, incluidos, entre otros, dermatitis atópica, acné, heridas, sarpullido, folliculitis, furunculosis, carbunculosis, infección fúngica y otras enfermedades de origen infeccioso.

30 En algunas formas de realización, los componentes de la composición (por ejemplo, componente catiónico, componente aniónico y/o fármaco) se seleccionan de manera que el fármaco que se va a administrar se administre dentro de las capas de la piel. Esto es particularmente útil para el tratamiento de enfermedades o trastornos de la piel, tales como el tratamiento de una infección, corte, quemadura o sarpullido.

En otras formas de realización, los componentes de la composición (por ejemplo, componente catiónico, componente aniónico y/o fármaco) se seleccionan de manera que el fármaco que se va a administrar se transporte a través de la piel.

35 En aún otras formas de realización, los componentes de la composición se pueden seleccionar de modo que impidan la transferencia de un fármaco (u otra sustancia) a través del estrato córneo. En estas formas de realización, la composición se puede aplicar a la superficie de la piel para formar un recubrimiento para proteger la piel o tratar heridas abiertas grandes.

40 En algunas formas de realización, las composiciones contienen IL en una cantidad eficaz para alterar las biopelículas bacterianas. En estas formas de realización, las composiciones pueden no incluir un fármaco a administrar. Por ejemplo, la composición puede contener un líquido iónico que contenga un componente catiónico y un componente aniónico y no contenga un fármaco para administrar además de los componentes catiónico y aniónico. Esta composición se puede aplicar a una superficie sintética o una superficie biológica (por ejemplo, la piel).

45 En algunas formas de realización, las composiciones contienen IL en una cantidad eficaz para inhibir el crecimiento microbiano en una superficie sintética. Por ejemplo, la superficie podría ser la superficie de un dispositivo médico, tal como un dispositivo médico implantable.

Ejemplos

Materiales Experimentales Generales

El cloruro de trihexiltetradecilfosfonio, o CYPHOS 101 (CY101), fue un obsequio de Cytec Specialty Chemicals (Niagara Falls, Ontario) y se purificó antes de su uso lavándolo con bicarbonato de sodio de 1 M y agua y extrayéndolo con hexanos hasta que desapareciera la absorción de UV-Vis más allá de 300 nm y el pH de 2 mL de agua no cambiara tras haberse agitado con 2 mL del líquido iónico. A continuación, se secó CY101 a 80 °C al vacío durante 24 h.

- 5 El ácido geránico se purificó a partir del grado técnico comercialmente disponible (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri) mediante recristalización repetida (5-7x) de una solución al 70 % en peso de ácido geránico/acetona al 30 % en peso a -70 °C. La pureza de los productos se evaluó mediante espectroscopía de RMN 1H y medidas de conductividad.

Determinación de la lipofiliaidad

- 10 Un volumen de 250 ml de n-octanol se agitó con 100 ml de ddH₂O y se dejó por una noche. El octanol saturado se utilizó para preparar soluciones de 0.01 M de cada IL en matraces volumétricos de 5 mL, así como soluciones de 0.01 M en agua. Para oleato de colina y los materiales de BZBN, las concentraciones ensayadas fueron 0.0005 M y 0.0001 M, respectivamente, porque la absorción a 0.01 M era demasiado alta para el detector. El IL de BMP-NTf₂ se analizó a 0.2 M porque la absorción a concentraciones más bajas estaba por debajo del límite de detección aceptable. En todos los casos se observaron máximos de absorción entre 205 y 215 nm.

- 15 Una porción de 4 mL de la solución de IL se agitó con 4 mL de ddH₂O durante 1 min, seguido de 1 min de centrifugación suave (1000 rpm, 129 x g, centrifuga Thermo IEC Centra CL2, rotor de ángulo fijo de 4 orificios 804SF, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts) para obtener una separación limpia de las dos capas. Se midió la absorción de la capa de octanol y de las capas de agua y se comparó con la absorbancia de las soluciones madre. Las mediciones se repitieron tres veces y los coeficientes de distribución se informaron como el promedio. El porcentaje de IL en octanol se calculó como la absorbancia de la capa de octanol después de la extracción dividida por la absorbancia de IL en octanol antes de la extracción. El coeficiente de distribución agua/octanol se calculó como el logaritmo del porcentaje de IL en octanol dividido por el porcentaje de IL en agua.

Viscosidad y DSC

- 25 La viscosidad se midió en muestras de 1 ml con un viscosímetro Viscolab 3000 (Cambridge Viscosity, Medford, MA). Las muestras se calentaron a 90 °C y la viscosidad se registró en incrementos de 2 grados entre 50 y 90 °C con 8 min de equilibrio a cada temperatura. La calorimetría diferencial de barrido (DSC) de baja temperatura se realizó en un instrumento DSC882e (Mettler-Toledo Inc., Columbus, Ohio) en atmósfera de N₂ en dos barridos completos de un rango de temperatura de -60 a 120 °C con una rampa de 10 °C por minuto y un tamaño de muestra de 18 - 21 mg en un crisol de aluminio.

30 Conductividad y Densidad

Las determinaciones de conductividad se realizaron en un medidor de sobremesa ION450 (Radiometer Analytical) con electrodo bipolar diseñado para uso en líquidos viscosos (Radiometer Analytical CDC241-9) y calibrado con KCl. La conductividad se midió tres veces por muestra en volúmenes agitados de 3 ml de IL puro a 25°C. La densidad se midió tres veces por IL usando un matraz volumétrico de 1 mL y una balanza analítica.

35 Espectroscopía UV-Vis y RMN

Los espectros de absorción se recogieron en un espectrofotómetro de matriz de diodos Hewlett-Packard 8453 (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA) en una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Los conjuntos de datos de RMN se recopilaron en un instrumento Bruker de 300 MHz usando concentraciones de muestra de 50 mM en CDCl₃.

Preparación de IL [PR₄][carboxilato]

- 40 Sólo los carboxilatos de ácido geránico están de acuerdo con la invención. Los otros carboxilatos son muestras de referencia.

Preparación de PR₄-oleato. Líquidos iónicos que contienen el catión $[P(C_{14}H_{29})(C_6H_{13})]^+$ y el anión oleato se prepararon mediante metátesis de sal. A una solución de 50 ml de oleato de sodio (10.0 g, 0.035 mol) en cloroformo se añadió una solución de 50 ml de cloruro de trihexiltetradecilfosfonio (CY101, 18.39 g, 0.35 mol) en cloroformo. Se agregaron cinco porciones de 50 ml de agua a la solución agitada y se retiraron, después de lo cual una prueba del agua eliminada con nitrato de plata ya no fue positiva para la presencia de cloruro. Se eliminó el disolvente de la capa de cloroformo y el IL resultante se secó en un horno de vacío a 80 °C durante 48 h.

Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = traza; densidad = 0.882 g/mL; conductividad = 0.016 mS/cm; viscosidad = 299 cP.

- 50 Preparación de PR₄-hexanoato. A una solución de 1.46 g (0.011 mol) de hexanoato de sodio en 15 ml de metanol se añadieron 5.48 g (0.011 mol) de CY101. La mezcla se agitó durante 15 min, el metanol se eliminó por evaporación rotatoria y el IL se lavó en un embudo de separación con 3 × 15 mL de agua, hasta que una prueba del agua con nitrato de plata no mostró cloruro presente. El IL se secó en un horno de vacío a 80 °C durante 48 h.

Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = traza; densidad = 0.912 g/mL; conductividad = 0.488 mS/cm; viscosidad = 154 cP.

Preparación de PR₄-geranato. Después de la recristalización cinco veces a -70 °C en ácido geránico al 70 %/acetona al 30 %, se añadió ácido geránico puro (16.2 g, 0.096 mol) a bicarbonato de sodio (8.09 g en 50 ml de H₂O dd) en un matraz de fondo redondo de 500 ml y se agitó hasta que el pH fue de 8.5, cesó el desprendimiento de gas y la solución convergió en una sola fase. Se añadió CY101 puro (50 g, 0.96 mol) y la mezcla de dos fases se agitó durante 2 h. La capa de CY101 se lavó tres veces con ddH₂O y se secó por evaporación rotatoria y en un horno de vacío a 65 °C durante 48 h.

Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = traza; densidad = 0.931 g/mL; conductividad = 0.156 mS/cm; viscosidad = 122 cP.

Preparación de otros IL (Ejemplos de referencia)

Preparación de colina-NTf₂. La síntesis de colina-NTf₂ se realizó según lo descrito por Nockemann et al. [1] y la densidad (1.5 g/mL), RMN (1H y 13C) y el punto de fusión (30 °C) coincidieron con los valores publicados. Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = 1.7 M; densidad = 1.53 g/mL; conductividad = 1.46 mS/cm; viscosidad = 125 cP.

Preparación de BMP-NTf₂. La síntesis de 1-butil-1-metilpirrolidinio (BMP) - bistriflimida (NTf₂) (BMP-NTf₂) se realizó según lo descrito por MacFarlane, D.R., et al., "Pyrrolidinium imides: A new family of molten salts and conductive plastic crystal phases," ("Imidas de pirrolidinio: Una nueva familia de sales fundidas y fases cristalinas de plástico conductor"), Journal of Physical Chemistry B, 103(20):4164-4170 (1999) y modificado como se describe en Baker, S.N., et al., "Fluorescence studies of protein thermostability in ionic liquids" ("Estudios de fluorescencia de termoestabilidad de proteínas en líquidos iónicos"), Chemical Communications, (8): 940-1 (2004).

Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = 0.2 M; densidad = 1.39 g/mL; conductividad = 1.99 mS/cm; viscosidad = 72,7 cP.

Preparación de Bze-ZnC12-BMP-NTf₂. Se sintetizaron dos líquidos iónicos, BMP-NTf₂ y bencetonio-Cl-(ZnC12)2 y luego se combinaron en una mezcla 50/50 % en peso agitando a 80 °C durante 2 h. La síntesis de bencetonio-Cl-(ZnCl₂)₂ se realizó a partir de una mezcla de cloruro de bencetonio y dos equivalentes de cloruro de zinc anhídrido como se describe en Lovejoy, K.S., et al., "Utilization of Metal Halide Species Ambiguity to Develop Amorphous, Stabilized Pharmaceutical Agents As Ionic Liquids" ("Utilización de la ambigüedad de las especies de haluros metálicos para desarrollar agentes farmacéuticos amorfos y estabilizados como líquidos iónicos") Crystal Growth & Design, 12(11): pág. 5357-5364 (2012) y posteriormente se combinó con BMP-NTf₂.

Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = 0.2 M; densidad = 1.40 g/mL; conductividad = 0.026 mS/cm; viscosidad = 8176 cP.

Preparación de cloruro de 1-hexil-3-metilimidazolio (HMIM-Cl).

Como se describe para el derivado de butilo en Wilkes, J.S., et al., "Dialkylimidazolium Chloroaluminate Melts - a New Class of Room-Temperature Ionic Liquids for Electrochemistry" ("Dialquilimidazolio cloroaluminato fundido: una nueva clase de líquidos iónicos a temperatura ambiente para electroquímica"), Spectroscopy and Synthesis. Inorganic Chemistry, 21(3): 1263-1264 (1982), se calentó a refluo 1-metilimidazol (11.9 g, 0.122 mol) con un exceso de clorohexano (20.98 g, 0.146 mol) durante 3 horas o hasta que se completó la reacción, tal como se comprobó por la ausencia de un color azul tras agregar unas gotas de la mezcla de reacción a una solución acuosa de Cu(SO₄). Carson, L., et al., "Antibiofilm activities of 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquids" ("Actividades e dantibiopelícula de líquidos iónicos de cloruro de 1-alquil-3-metilimidazolio"), Green Chemistry, 11(4): pág. 492-497 (2009). El clorohexano se eliminó por evaporación rotatoria.

Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = 0.7 M; densidad = 1.005 g/mL; conductividad = 0.340 mS/cm; viscosidad = 680 cP.

45 Preparación de disolventes eutéticos profundos de [colina][carboxilato]₂

Sólo los carboxilatos de ácido geránico están de acuerdo con la invención. Los otros carboxilatos son muestras de referencia.

Determinación de la relación colina/ácido carboxílico. A 3, 2, 1, 0.5 o 0.33 equivalentes de bicarbonato de colina (solución al 80 % en peso) se añadió ácido hexanoico puro (2 g, 0.007 mol) en un vial de centelleo de 20 ml. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que cesó la evolución de CO₂. El disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a 60 °C durante 20 min y cada producto se secó en un horno de vacío durante 48 h a 60 °C. El punto de fusión se determinó por DSC como se describe y se determinó que la composición preferida era la que tenía el punto de fusión más bajo.

Preparación de oleato de colina. Se prepararon disolventes eutécticos profundos (DES) que contenían dos equivalentes de carboxilato y un equivalente de colina mediante la neutralización del bicarbonato de colina. A dos equivalentes de ácido oleico puro (9.34 g, 0.033 mol) en un matraz de fondo redondo de 250 ml se añadieron 3.41 g de una solución al 80 % en peso de bicarbonato de colina (2.73 g, 0.0165 mol). Se añadió una porción de 20 mL de

- 5 metanol a la mezcla para mejorar la agitación a temperatura ambiente y se continuó agitando hasta que no hubo más CO₂ evolucionado. El disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a 60 °C durante 20 min y el producto se secó en un horno de vacío durante 48 h a 60 °C.

Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = 0.2 M; densidad = 0.98 g/mL; conductividad = 0.087 mS/cm; viscosidad = 880 cP.

- 10 Preparación de hexanoato de colina. A dos equivalentes de ácido hexanoico puro (16 g, 0.138 mol) en un matraz de fondo redondo de 500 ml se añadieron 14.22 g de una solución al 80 % en peso de bicarbonato de colina (11.38 g, 0.069 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que no evolucionó más CO₂. El disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a 60 °C durante 20 min y el producto se secó en un horno de vacío durante 48 h a 60 °C.

- 15 Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = 0.5 M; densidad = 1.01 g/mL; conductividad = 0.816 mS/cm; viscosidad = 181 cP; punto de fusión = -94°C.

Preparación de geranato de colina. A dos equivalentes (9.88 g, 0.059 moles) de ácido geránico puro, recristalizado 5 veces a -70 °C en ácido geránico al 70 %/acetona al 30 %, en un matraz de fondo redondo de 500 ml, se añadió un equivalente de bicarbonato de colina (80 % en peso solución, 6.06 g, 0.029 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que no evolucionó más CO₂. El disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a 60 °C durante 20 min y el producto se secó en un horno de vacío durante 48 h a 60 °C.

- 20 Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = 0.5 M; densidad = 0.990 g/mL; conductividad = 0.0431 mS/cm; viscosidad = 1345 cP.

Preparación de malonato de colina. Debido a que el ácido malónico es un ácido dicarboxílico, se usó un equivalente con un equivalente de cloruro de colina. A un equivalente de ácido malónico (2.76 g, 0.027 mol) en un matraz de fondo redondo de 250 ml se añadió un equivalente de cloruro de colina (3.70 g, 0.027 mol). La mezcla se agitó durante 24 h a temperatura ambiente y el material se filtró a través de una pipeta Pasteur que contenía aproximadamente 0.5 ml de celite utilizando ~5 psi de N₂ y luego se secó en un horno de vacío durante 24 h a 45 °C. Se observó que un gas se desprendía rápidamente del material al calentarlo a aproximadamente 80°C.

- 25 Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = miscible; densidad = 1.266 g/mL; conductividad = 0.429 mS/cm; viscosidad = 920 cP.

Preparación de DES sin carboxilato (Ejemplo de referencia)

Preparación de urea-colina. Como se describe en Abbott, A.P., et al., "Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures" ("Nuevas propiedades disolventes de mezclas de cloruro de colina/urea"), Chem. Commun. (Cambridge, Reino Unido), (1): 70-71 2003), se mezclaron dos equivalentes de urea (10 g, 0.167 mol) con un equivalente de cloruro de colina (11.6 g, 0.083 mol) en un vial de centelleo en atmósfera de argón. El material se secó durante 24 h en un horno de vacío a 60°C. El DES se calentó a 30°C antes de su uso.

30 Caracterización física a 25°C: solubilidad en agua = miscible; densidad = 1.21 g/mL; conductividad = 0.580 mS/cm; viscosidad = 1390 cP.

- 35 La Tabla 2 enumera las abreviaturas, los componentes catiónicos y aniónicos iniciales y las proporciones molares utilizadas para los IL que se probaron.

40 TABLA 2: Abreviaturas, componentes iniciales y proporciones molares para IL

Abreviatura	Catión	Anión	Relación molar (catión: anión)
LANL-1	BMP	bistriflimida	1:1
LANL-2	Bze, BMP	ZnCl ₂ , bistriflimida	1:1:1:1
LANL-5	colina	malonato de disodio	1:1
LANL-6	colina	Urea	1:2
LANL-7	HMIM	Cloruro	1:1
LANL-12	colina	bistriflimida	1:1
LANL-13	colina	ácido hexanoico	1:2
LANL-14	colina	Ácido oleico, ácido hexanoico	2:2:2

Abreviatura	Catión	Anión	Relación molar (catión: anión)
LANL-19	PR ₄	oleato de sodio	1:1
LANL-20	PR ₄	Hexanoato de sodio	1:1
LANL-21	colina	geranato de sodio	1:2
LANL-22	PR ₄	geranato de sodio	1:1

Procedimientos biológicos

Cultivo celular y exposición. Se compraron células epiteliales bronquiales humanas normales (NHBE) (Lonza, Walkersville, MD) y se cultivaron utilizando medios de crecimiento de células epiteliales bronquiales (BEGM, Clonetics

5 Bullet Kit, Lonza, Walkersville, MD) en placas de Petri tratadas con cultivo de tejidos de 100 mm (Santa Cruz Biotechnologies, Santa Cruz, CA) recubiertas con 50 µg/ml de colágeno de cola de rata tipo I (BD Biosciences, Bedford, MA). Las células se almacenaron en una incubadora con atmósfera humidificada a 37 °C y 5% de CO₂. Las células se alimentaron dos veces por semana y se sometieron a pases mediante tripsinización. La experimentación se realizó por triplicado en células recolectadas de los pases 3 a 7.

10 Las células NHBE se sembraron en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos a una concentración de 1.5×10^4 células/pocillo en un volumen de 200 µL y se dejó aclimatar durante la noche. El día de la experimentación, las placas de tratamiento se prepararon usando líquido iónico stock diluido en BEGM y luego se diluyó en serie 3 veces para un total de 7 concentraciones. A continuación, se aspiraron las placas de 96 pocillos que contenían células y los tratamientos (150 µl/pocillo) se transfirieron cuidadosamente desde la placa de preparación a las células. Las células 15 se expusieron a los líquidos iónicos durante 24 horas. Dos horas antes del final del tiempo de exposición, se aspiraron pocillos de células de control positivo y se añadió una solución de Triton-100 al 1% (150 µl/pocillo).

Ensayo de proliferación y citotoxicidad. Después de 24 h de exposición, se tomaron 75 µL de sobrenadante de cultivo celular de cada pocillo y se transfirieron a una nueva placa de fondo plano para análisis posteriores de la actividad de lactato deshidrogenasa (LDH). Las placas se cubrieron y almacenaron a 4 °C hasta que se realizó el análisis.

20 Para evaluar la proliferación celular, se agregó reactivo de tetrazolio soluble en agua (WST-1) (Clontech, Mountain View, CA) directamente a las células, a una dilución de 1:10 del volumen de medio restante (se agregaron 7,5 µL de reactivo WST-1 por 75 µL de medio de cultivo celular restante). Se incluyeron como controles células NHBE expuestas solo a medios y Triton al 1% en BEGM. Los controles de líquido iónico a las concentraciones más altas probadas se incluyeron en pocillos sin células para descartar la interferencia del líquido iónico/reactivo de ensayo. Se leyó la 25 absorbancia en un lector de placas Biotek a 440 nm con una longitud de onda de referencia de 600 nm.

La cantidad de LDH en los sobrenadantes se puede medir y utilizar como una medida indirecta de la permeabilidad de la membrana celular. Por lo tanto, los efectos citotóxicos de los líquidos iónicos sobre las células NHBE se evaluaron midiendo la actividad de LDH usando un kit de citotoxicidad de LDH (Clontech, Mountain View, CA) como se describe en Martin, et al., "Impact of physicochemical properties of engineered fullerenes on key biological responses" ("Impacto 30 de las propiedades fisicoquímicas de fullerenos diseñados en respuestas biológicas clave"), Toxicology and Applied Pharmacology, 234(1): 58-67 (2009).

Las células NHBE expuestas solo a los medios o a Triton-100 al 1% en BEGM sirvieron como controles. Los controles QD a las concentraciones más altas analizadas se incluyeron en pocillos sin células para determinar si los propios líquidos iónicos interfieren con la mezcla de reacción de LDH. Se leyó la absorbancia en un lector de placas Biotek a 35 490 nm con una longitud de onda de referencia de 600 nm.

Medición del transporte de la piel

El manitol y el cefadroxilo marcados con ³H se obtuvieron de American Radiolabeled Chemicals, Inc. y Moravek, respectivamente. Se utilizaron FDC para evaluar la mejora del transporte de líquidos iónicos utilizando un protocolo previamente establecido. Karande, et al., "Discovery of transdermal penetration enhancers by high-throughput 40 screening" ("Descubrimiento de potenciadores de la penetración transdérmica mediante cribado de alto rendimiento"), Nat Biotechnol, 22(2): 192-7 (2004). Brevemente, la cámara del aceptor se llenó con PBS desgasificado y se añadió una pequeña barra de agitación. Se sujetó piel porcina descongelada entre las cámaras aceptora y donante con el SC hacia arriba. Se tuvo cuidado de asegurar que no quedaran burbujas de aire en la cámara del aceptor. Los líquidos iónicos o PBS (control) se enriquecieron con fármaco marcado con ³H (manitol y cefadroxilo) hasta una concentración 45 final de 10 µCi/ml. Se añadieron 300 µL de solución donante a la cámara donante y se incubó en contacto con el SC durante 24 h, a 37 °C, con agitación.

Después de 24 horas, se eliminó la solución donante y la piel se lavó y secó minuciosamente.

SC se separó de la epidermis mediante decapado con cinta adhesiva. Se realizaron diez tiras de cinta de forma idéntica, correspondiendo cada cinta a 1 "capa" de SC. Se supuso que diez tiras eliminarían la mayor parte del SC.

La epidermis se separó de la dermis con una hoja de afeitar y la solución aceptora se recogió de la cámara aceptora. Las muestras de cada capa de tejido y solución aceptora se disolvieron en Soluble (Perkin Elmer, Waltham, MA) durante la noche y la concentración de soluto radiomarcado se midió usando un contador de centelleo (Packard Tri-Carb 2100 TR, Meriden, CT).

5 Crecimiento de biopelículas bacterianas en placas Innovotech MBEC

*Las placas de 96 pocillos utilizadas para Rinse, Challenge, Wash y Sonication eran de poliestireno de base plana Costar, con tapa. # de cat 3370. Placas de 96 pocillos

Día 1:

10 pm: Utilizar una alícuota de caldo de glicerol para rayar una placa de agar LB fresca. Racha para colonias aisladas. Incubar durante la noche a 37°C.

Día 2:

15 am: Retirar la placa de agar de crecimiento de la incubación e inspeccionar si hay contaminación. Guardar la placa de agar a temperatura ambiente o 4°C, hasta más tarde en el día.

pm: Utilizar una sola colonia de la placa de crecimiento para inocular 5 ml de cultivo líquido LB. Incubar durante la noche con agitación vigorosa (225-250 rpm) a 37 °C.

Día 3:

20 am: Inocular 5 ml de cultivo líquido LB fresco con 50 ul del cultivo líquido durante la noche (dilución 1:100). Incubar a 37°C con agitación vigorosa hasta que el cultivo alcance el crecimiento en fase logarítmica (-0.5 OD). Esto es aproximadamente 3 horas para la mayoría de las cepas bacterianas de laboratorio.

25 Utilizar el cultivo de crecimiento en fase logarítmica para configurar la placa de crecimiento de biopelícula diluyendo el cultivo 1:50 en medio LB fresco, utilizando un volumen total adecuado para inocular el número de pocillos y/o placas que sean necesarios. Agregar 200 uL de cultivo diluido a cada pocillo. Colocar la tapa de la placa MBEC (con clavijas) encima de la placa de pocillos y sellar los bordes con parafilm. Esta es la mejor manera de evitar la evaporación de los pozos. Incubar la placa, 225 RPM, durante 24 horas a 37°C.

30 Día 4:

A las 24 horas de crecimiento de la biopelícula, retirar las células planctónicas / medios de las biopelículas colocando la tapa de clavija MBEC en una placa nueva de 96 pocillos con 200 ul/pocillo de medio LB fresco. Desechar la placa de pocillos que contiene células planctónicas /medios.

35 Si se cultivan biopelículas durante más de 24 horas, después de cada período de incubación de 24 horas, se deben retirar las células planctónicas /medios y "alimentar" las biopelículas con medios nuevos.

Una vez que las biopelículas estén listas para ser desafiadas o visualizadas, se debe realizar un "enjuague" suave con medio LB de 200 ul (después de la eliminación de las células planctónicas /medios) para eliminar las células que están débilmente asociadas con la biopelícula. Esto se logra colocando brevemente las biopelículas adheridas a clavijas en una placa de 96 pocillos con 200 uL de LB fresco.

40 Exposición de la biopelícula bacteriana a líquidos iónicos. Una modificación del ensayo ©Innovotech MBEC HTP

Configuración de la placa de desafío

45 Paso I: Las biopelículas cultivadas en clavijas MBEC se enjuagaron brevemente, a temperatura ambiente, para eliminar las células bacterianas planctónicas y poco adheridas. La tapa de clavija MBEC se colocó brevemente en una placa de 96 pocillos con 200 ul/pozo de LB. Las células planctónicas se descartaron tanto de la placa de crecimiento de biopelícula como de la placa de enjuague (no de la tapa de clavija MBEC) en un balde de descontaminación con lejía al 10 %.

Paso II: La tapa de la clavija MBEC se colocó luego en la placa de exposición. Los líquidos iónicos y las soluciones de control se añadieron en pocillos por triplicado en una disposición alternada a 200 ul/pocillo. En general, cada placa de exposición comprendía 3-4 líquidos iónicos, controles de componentes para cada uno y controles positivos (LB) y negativos (LB/lejía al 10%). Los líquidos iónicos viscosos se calentaron a 60 °C antes de configurar la placa de exposición. Los bordes de la placa/tapa se cubrieron con parafilm.

Paso III: Las biopelículas se expusieron a 37°C, 225 RPM.

Tratamiento de ensayos

Paso IV: Después de la exposición a líquido iónico, las biopelículas se lavaron con 200 ul/pocillo de LB, brevemente, a temperatura ambiente y luego se reservaron para la dilución.

- 5 Paso V: A continuación, las biopelículas se colocaron en otra placa de 96 pocillos con 200 ul/pocillo de LB. Se agregaron 200 uL de LB a todos los pocillos de la placa, independientemente del diseño de la placa de exposición.
- 10 Los bordes de la placa/tapa se cubrieron con parafilm; y la placa de lavado se dejó aparte para la dilución. Las biopelículas se sometieron a ultrasonido, a temperatura ambiente, usando un Misonix® 3000 equipado con un cuerno de microplaca. Se agrega agua DI al cuerno para que el nivel del agua toque el fondo de la placa. La sonicación continua durante 1 hora a un nivel de salida de 0.5, 3 segundos encendido, 3 segundos apagado. (Nota: el tiempo total de sonicación es, por lo tanto, de 30 minutos).
- 15 Paso VI: Mientras procedía la sonicación, los pozos de muestra de las placas de exposición y de lavado se transfirieron a las filas "A" de las placas de dilución de 96 pozos (que se configuraron con anticipación), de la siguiente manera:
- Placa de exposición: Se transfirieron 100 ul por pocillo de exposición a la fila "A" de una placa de dilución, que contenía 100 ul de 1XPBS estéril.
- 20 Las filas B-H contenían 180 ul de agua de Millipore estéril. Las soluciones de exposición/PBS se mezclaron pipeteando hacia arriba y hacia abajo al menos 10 veces.
- Placa de lavado: Se transfirieron 200 ul (volumen total) por pocillo de lavado a la fila "A" de una placa de dilución. Las filas B-H contenían 180 ul de agua Millipore estéril.
- 25 Paso VII: Después de transferir las muestras de exposición y lavado a la fila "A" de sus respectivas placas de dilución, cada pocillo se diluyó en serie 1:10, verticalmente. Se transfirieron 20 ul/pocillo a 180 ul, utilizando una pipeta multicanal, y se mezclaron 10X. La fila "H" era una dilución 10-7 de la muestra de la fila "A".
- 30 Paso VIII: Las muestras sonicadas se transfirieron y diluyeron de la misma manera que las muestras de lavado.
- Paso IX: El volumen de líquido restante se descart  de la exposición y se descontaminó y desech  adecuadamente.
- Sembrado de recuperación
- 35 Paso X: Después de diluir todas las muestras, las diluciones se sembraron en placas grandes de agar LB (las placas estaban a temperatura ambiente). Utilizando las diluciones concentradas (A), 10-2 (C), 10-4 (E) y 10-6 (G) de una fila, se mezclaron de 3 a 5 veces con una pipeta (pipeta de 8 canales con punta de pipeta en cualquier otra posición); luego se transfirieron puntos de 15 ul a una placa grande de agar. Esto se repitió para las diluciones 10-1 (B), 10-3 (D), 10-5 (F) y 10-7 (H).
- 40 Hasta seis muestras, diluidas a 10-7, cada una (resultante de 2 muestras por triplicado) se sembraron en una placa grande de agar.
- Paso XI: Los sitios se dejaron secar para que no se juntaran, antes de invertir las placas de agar. Las placas se cubrieron con parafilm y se incubaron durante la noche a 37°C, invertidas.
- Análisis
- 45 Paso XII: Las placas de agar se retiraron de la incubación. Para cada conjunto de dilución de muestra, las colonias se contaron en sitios que contenían de 20 a 200 colonias. Se registró el número de colonias y el factor de dilución.
- Paso XIII: Luego se calculó cfu/mL de la siguiente manera:
- Muestras de exposición: (número de colonias) x (factor de dilución) / 0.015 mL x 2
 - Muestras de lavado/sonicación: (número de colonias) x (factor de dilución) / 0.015 mL
- Paso XIV: El promedio de cfu/ml se calculó por triplicado.
- Paso XV: Se calculó la desviación estándar para la población (la población = triplicados) (por ejemplo stdev.p en Excel).
- Repetir
- Paso XVI: Se repitió el ensayo Challenge, comenzando con el crecimiento de biopelículas. Se calculó el promedio de cfu/mL y stdev.p para el ensayo duplicado de crecimiento/exposición, y luego se calculó el promedio de cfu/ml y stdev.p para las 6 muestras resultantes de duplicados de ensayos de crecimiento/exposición.
- Resultados y discusión
- lipofilicidad

La Tabla 3 proporciona datos de lipofilicidad para una variedad de IL en términos de sus coeficientes de partición octanol/agua.

TABLA 3: Datos de lipofilicidad para IL

	$\log P_{Ac/Ag}$	porcentaje en octanol	en concentración de ensayo (M)
BMP-NTf ₂ (1)	-0.40	20% +/- 7%	0.2
Bze-ZnCl ₂ -BMP-NTf ₂ (2)	1.34	96 +/- 6%	0.0001
malonato de colina (5)	-0.26	35 +/- 5%	0.01
urea-colina (6)	-0.51	24 +/- 8%	0.01
HMIM-Cl (7)	0.04	52 +/- 9%	0.01
colina-NTf ₂ (12)	0.31	67 +/- 9%	0.05
hexanoato de colina (13)	0.03	51 +/- 2%	0.01
oleato de colina (14)	1.32	95 +/- 3%	0.0005
[PC ₁₄ H ₂₉ (C ₆ H ₁₃) ₃] [oleato] (19)	1.14	93 +/- 2%	0.01
[PC ₁₄ H ₂₉ (C ₆ H ₁₃) ₃] [hexanoato e] (20)	0.26	65 +/- 14%	0.01
geranato de colina 1:2 (21)	0.28	66 +/- 3%	0.05
[PC ₁₄ H ₂₉ (C ₆ H ₁₃) ₃] [geranato] (22)	0.86	88 +/- 6%	0.01
aceite mineral	0.95	90 +/- 3%	0.01

- 5 La lipofilicidad de los materiales considerados se determinó en términos de sus coeficientes de distribución agua-octanol. El DES ácido oleico/colina y el IL Bze-ZnCl₂-BMP-NTf₂ se repartió más eficientemente en octanol, con 95 % y 96 % de DES moviéndose hacia la capa de octanol después de 1 minuto de agitación. Bze-ZnCl₂-BMP-NTf₂ contiene una mezcla 1:1 en peso de IL BMP-NTf₂ y Bze-(ZnCl₂)₂ hecho de dos equivalentes de cloruro de zinc y un equivalente de cloruro de bencetonio. Lovejoy, K.S., et al., "Utilization of Metal Halide Species Ambiguity to Develop Amorphous, Stabilized Pharmaceutical Agents As Ionic Liquids" ("Utilización de la ambigüedad de las especies de haluros metálicos para desarrollar agentes farmacéuticos amorfos y estabilizados como líquidos iónicos"), Crystal Growth & Design, 12(11): 5357-5364 (2012). La razón de la gran diferencia entre el log Po/w de BMP-NTf (-0.4) y el de BZBN (1.34) es que BMP-NTf₂ formó una tercera fase cuando entró en contacto con agua y octanol. A una concentración inicial de 0.2 M en octanol, el porcentaje de BMP-NTf₂ en la fase agua fue del 51% y el porcentaje no incorporado en octanol o agua fue del 29%.

10 La lipofilicidad se puede referenciar a otras cuentas, específicamente de los "IL" colina-nafténicas, que en realidad son 1:1 de hidróxido de colina. Yu, Y., et al., "Biodegradable naphthenic acid ionic liquids: synthesis, characterization, and quantitative structure-biodegradation relationship" ("Líquidos iónicos de ácido nafténico biodegradable: síntesis, caracterización y relación cuantitativa de estructura-biodegradación"), Chem.--Eur. J., 14(35): pág. 11174-11182 (2008).

Proliferación y citotoxicidad

15 La Tabla 4 proporciona los resultados de WST después de 24 horas. En el caso de que se den límites más bajos, la solubilidad del material excluyó un valor adecuado de IC₅₀.

TABLA 4: Resultados WST para IL

	IC ₅₀ a 24 h (mM)
BMP-NTf ₂	>> 2
urea-colina	>10
malonato de colina	>>2
HMIM-Cl	10.03
colina-hexanoato	4.57
col-NTf ₂	1.7

	IC ₅₀ a 24 h (mM)
col-ol / col-hex	1.5
oleato de colina	0.034
BZBN	0.013

Citotoxicidad en células humanas primarias

La toxicidad de los materiales en células humanas primarias se probó en células epiteliales bronquiales humanas normales (NHBE). Este estudio se realizó con diluciones de IL y DES, no de IL/DES puros, porque estaba destinado

5 a modelar la toxicidad tras la absorción en el torrente sanguíneo. Todos los materiales se probaron a concentraciones de 2.0, 0.8, 0.3, 0.1, 0.05, 0.02 y 0.008 mM. Debido a su alta solubilidad en el medio de cultivo, el HMIM-Cl y el hexanoato de colina también se probaron en concentraciones de hasta 500 mM y 30 mM, respectivamente. Los materiales más tóxicos fueron oleato de colina (IC₅₀ = 0.034 mM) y BZBN (IC₅₀ = 0.013 mM) y los materiales menos tóxicos fueron urea-colina (IC₅₀ > 10 mM) y HMIM-Cl (IC₅₀ = 10 mM).

10 Se encontró que la toxicidad de los líquidos iónicos solubilizados se correspondía bien con la toxicidad de los componentes catiónicos y aniónicos individuales. Específicamente, los componentes más tóxicos (cloruro de bencetonio y ácido oleico) dan lugar a DES e IL tóxicos y los componentes menos tóxicos (cloruro de colina y urea) producen un DES menos tóxico. Teniendo en cuenta la toxicidad de las células NHBE, así como los resultados de eficacia de la biopelícula, el hexanoato de colina, el malonato de colina y el HMIM-Cl tuvieron las "ventanas terapéuticas" más grandes. Fueron efectivos cuando se usaron puros contra biopelículas y tienen baja toxicidad para las células primarias humanas en medio de cultivo. Esto puede ser importante para el tratamiento de grandes heridas abiertas en las que la disolución del IL se produce rápidamente. Alternativamente, los IL que son tóxicos para las células después de la disolución pueden usarse tópicamente o en situaciones en las que la disolución del IL es más lenta. Los líquidos iónicos que eran muy tóxicos para las células humanas primarias en solución, incluido el oleato de colina y el BZBN, también se dividieron bien en octanol, una tendencia que también está documentada en la bibliografía toxicológica.

15

20 Aplicados puros, estos resultados pueden sugerir que la disolución de materiales tóxicos puede ser muy lenta, limitando la toxicidad incluso en heridas abiertas grandes. Los materiales que tenían baja toxicidad para las células humanas también se dividieron mal en octanol, como se encontró para la urea-colina, el malonato de colina y BMP-NTf₂.

25

Viscosidad, densidad, conductividad y fuerza iónica

En la Tabla 5 se proporcionan la viscosidad, la conductividad y los cálculos de molaridad y fuerza iónica para varios IL.

TABLA 5: Viscosidad, conductividad, molaridad y fuerza iónica de los IL

IL (número correspondiente)	viscosidad (cP)	densidad (g/mL)	conductividad (mS/cm)	molaridad (M)	fuerza iónica (M)	peso molecular
BMP-NTf ₂ (1)	72.72	1.39	1.99	3.28	3.28	422.4
Bze-ZnC12-BMP-NTf2 (2)	8176	1.40	0.026	0.97	2.44	1439
malonato de colina (5)	920.1	1.27	0.429	5.20	5.20	243.7
urea-colina (6)	1386 ^a	1.21	0.580 ^a	4.65	2.32	259.7
HMIM-Cl (7)	679.5	1.01	0.340	4.96	4.96	202.7
colina-NTf2 (12)	125	1.54	1.460	4.40	4.40	348.9
hexanoato de colina (13)	180.9	1.01	0.816	3.02	3.02	334.5
oleato de colina (14)	162.3 ^b	0.98	0.0871 ^b	1.47	1.47	667.1
[PC ₁₄ H ₂₉ (C ₆ H ₁₃) ₃] [oleato] (19)	300	0.882	0.0162	1.15	1.24	765.27
[PC ₁₄ H ₂₉ (C ₆ H ₁₃) ₃] [hexanoato] (20)	154	0.912	0.488	1.63	1.63	559.02
geranato de colina 1:2 (21)	1345	0.990	0.0431	2.26	3.39	438.63
[PC ₁₄ H ₂₉ (C ₆ H ₁₃) ₃] [geranato] (22)	122.3	0.931	0.156	1.43	1.43	651.09
aceite mineral	35	0.80	0.000	2.00	0.00	400.0

Los líquidos iónicos producidos con tetradeciltrihexilfosfonio como catión dan como resultado viscosidades de 300, 154 y 122 cP, todas las cuales son más altas que las del IL original, el cloruro de tetradeciltrihexilfosfonio, pero en el mismo orden de magnitud. Este gran catión determina la viscosidad de los LI elaborados a partir de una amplia gama de aniones. Del Sesto, R.E., et al., "Tetraalkylphosphonium-based ionic liquids" ("Líquidos iónicos a base de tetraalquilfosfonio"), Journal of Organometallic Chemistry, 690(10): 2536-2542 (2005). Los disolventes eutécticos profundos (DES) hechos de colina y dos equivalentes de ácido carboxílico tenían viscosidades que iban desde 162 cP para el oleato de colina hasta 1390 cP para la urea-colina, lo que sugiere que el componente de ácido carboxílico es más importante que el componente de colina para determinar la viscosidad. La viscosidad de la urea-colina a 40°C fue de 170 cP y coincidió con el valor de la bibliografía a 40°C de 169 cP. Abbott, AP, et al., "Design of improved deep eutectic solvents using hole theory" ("Diseño de disolventes eutécticos profundos mejorados mediante la teoría de agujeros"), ChemPhysChem, 7(4): pág. 803-806 (2006).

Las conductividades de estos DES oscilaron entre 0.04 mS/cm para el geranato de colina y 0.816 mS/cm para el hexanoato de colina.

Las densidades de los DES a base de colina formados con dos equivalentes de carboxilato oscilaron entre 0.98 g/ml para el oleato de colina y 1.27 g/ml para el malonato de colina. Estas densidades son similares a las medidas para el DES 2/1 de glucosa/colina de 1.27 g/mL. Hayyan, A., et al., "Glucose-based deep eutectic solvents: Physical properties" ("Disolventes eutécticos profundos a base de glucosa: Propiedades físicas"), Journal of Molecular Liquids, 178: 137-141 (2013). Las densidades de los líquidos iónicos conocidos, BMP-NTf₂, urea-colina y colina-NTf₂ coincidieron con los valores de la literatura, como se indica en la sección de procedimientos sintéticos.

Transporte de piel

Se probó la mejora del transporte de un panel de líquidos iónicos (IL) enumerados en la Tabla 2. El panel de IL se cribó primero usando 3H-manitol. Los resultados se ilustran en FIG. 2A.

Surgieron tres regímenes de transporte distintos según el IL empleado: 1) Retención del fármaco en la solución donante. 2) Localización y retención mejoradas dentro del SC, la epidermis y la dermis. 3) Penetración transdérmica mejorada a través de todas las capas de la piel y en la solución aceptora. En particular, LANL-6 y LANL-13 inhibieron la penetración del fármaco en el SC. LANL-14 mejoró el transporte hasta 5 veces en las capas de tejido profundo sin mostrar pérdidas adicionales en la solución aceptora. LANL-19 mejoró el transporte 5-10 veces en todas las capas de la piel. Similar a LANL-14, no se observó pérdida adicional de soluto en la solución aceptora. LANL-21 mejoró la penetración a través de todas las capas de la piel de 5 a 15 veces y también mejoró la división en la solución aceptora. Además, cuando se enriqueció con un antibiótico modelo, Cefadroxil, la división en la dermis y la solución aceptora fue de 15 a 20 veces mayor que el control (PBS). Ver FIG. 2B. LANL-14, 19, 20 y 22 también se probaron y todos mostraron una mejora total similar del fármaco.

Eficacia de la biopelícula

Se probó la eficacia de los IL contra pseudomonas y salmonela. Todos los IL probados mostraron actividad antibiopelícula, aunque en diversos grados. Las películas de 72 h fueron más resistentes a la alteración/eliminación por IL (excepto IL2) y controles. FIG. 4 y 5. Varios IL son más efectivos contra las biopelículas que la lejía al 10 %. FIG. 4B. Puede existir una eficacia de IL diferencial específica de especie. Esto se puede ver en los gráficos de Pseudomonas contra Salmonela. Véase FIG. 4C. Los datos sugieren que los líquidos iónicos tienen el potencial de alterar el EPS de la biopelícula bacteriana y matar las bacterias patógenas. Véanse Figs. 4 y 5.

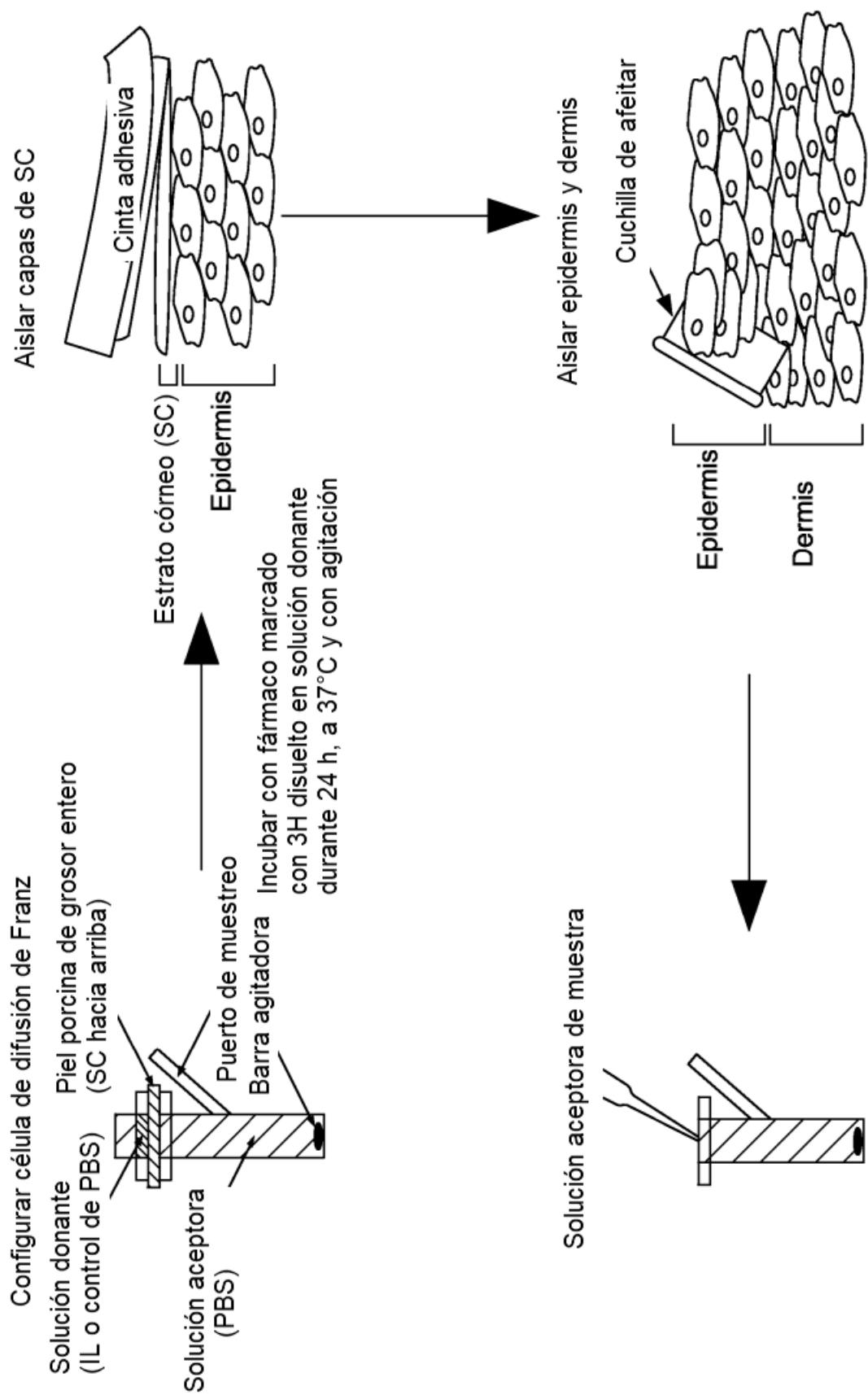
A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen los mismos significados que los entendidos comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece la invención divulgada.

Los expertos en la técnica reconocerán, o podrán determinar utilizando no más que experimentación de rutina, muchos equivalentes a las formas de realización específicas de la invención descritas en este documento. Las siguientes reivindicaciones definen el alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para la administración transdérmica de fármacos que comprende un líquido iónico, en la que el líquido iónico es:
 - (a) un componente catiónico y un componente aniónico, en donde el componente aniónico es un anión geranato, preferiblemente en una relación molar que oscila entre 1:1 a 1:2 (componente catiónico a componente aniónico); o
 - (b) $[P(C_{14}H_{29})(C_6H_{13})_3]^+$ ("PR₄") y un componente aniónico, en el que el componente aniónico es un anión geranato, preferiblemente en una relación molar que oscila entre 1:1 a 1:2 (componente catiónico a componente aniónico); y en donde la composición no es irritante cuando se aplica a la superficie de la piel.
2. La composición de la reivindicación 1, que comprende además un fármaco a administrar.
- 10 3. La composición de la reivindicación 2, en la que el fármaco se selecciona del grupo que consiste en antibióticos, agentes antifúngicos, antineoplásicos, agentes antibacterianos, agentes antivirales, antimicrobianos, antiinfecciosos, proteínas, y ácidos nucleicos.
4. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el líquido iónico es un geranato de colina.
- 15 5. La composición de la reivindicación 4, en la que el líquido iónico es geranato de colina en una relación molar de 1:2 (componente catiónico a componente aniónico).
6. Un procedimiento para inhibir el crecimiento microbiano sobre una superficie que comprende aplicar a la superficie la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3 a 5 en una cantidad eficaz para prevenir o reducir el crecimiento microbiano, siempre que el procedimiento no sea un procedimiento de tratamiento del ser humano o del cuerpo animal por medio de terapia.
- 20 7. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que la superficie está en un dispositivo médico implantable.
8. Una composición como se define en cualquiera de las reivindicaciones 2-5 para usar en un procedimiento de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, en donde el procedimiento es para administrar un fármaco por vía transdérmica y comprende administrar la composición en la superficie de un sitio de la piel en una cantidad eficaz para aumentar la administración transdérmica del fármaco.

25

**FIG. 1**

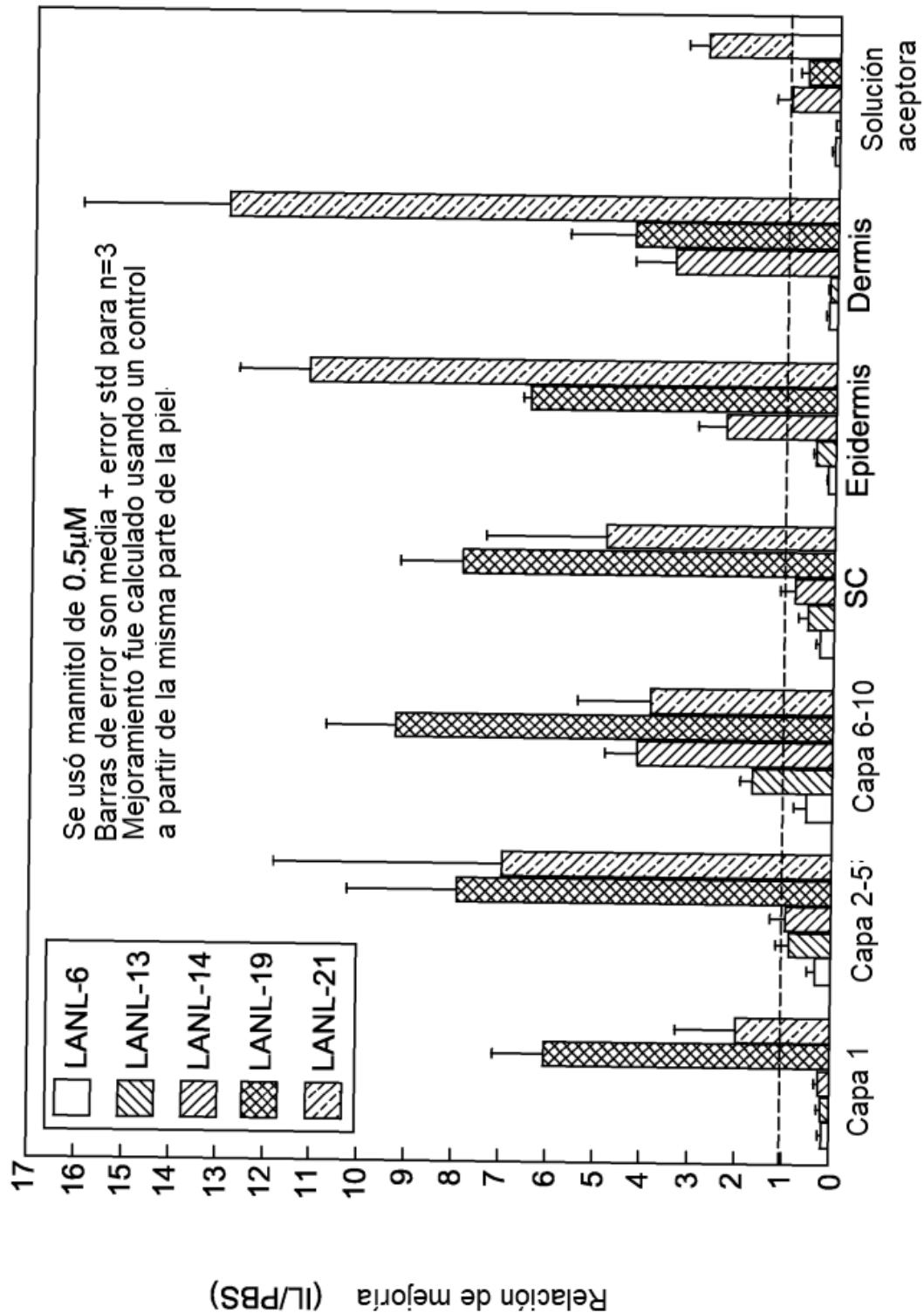


FIG. 2A

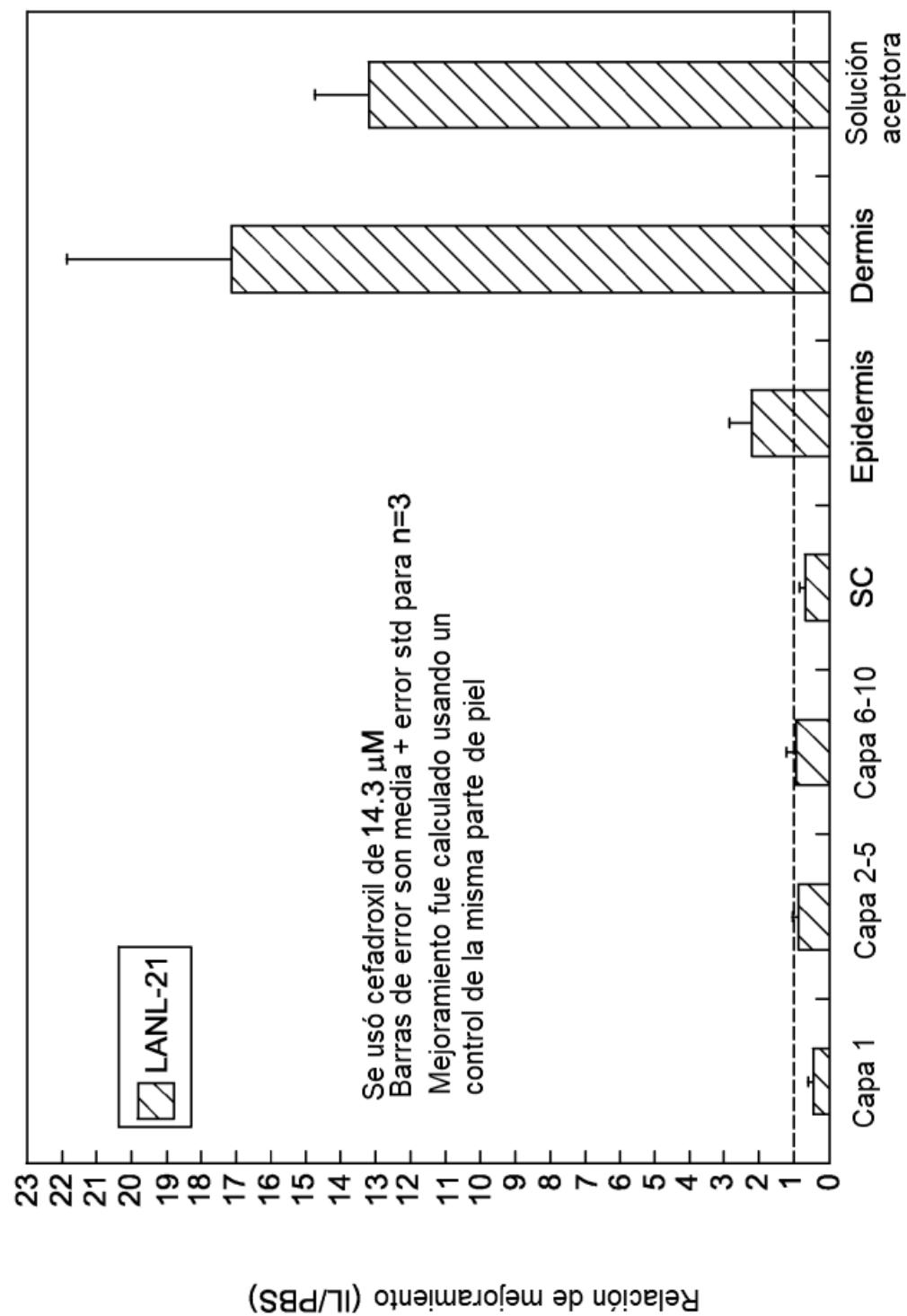
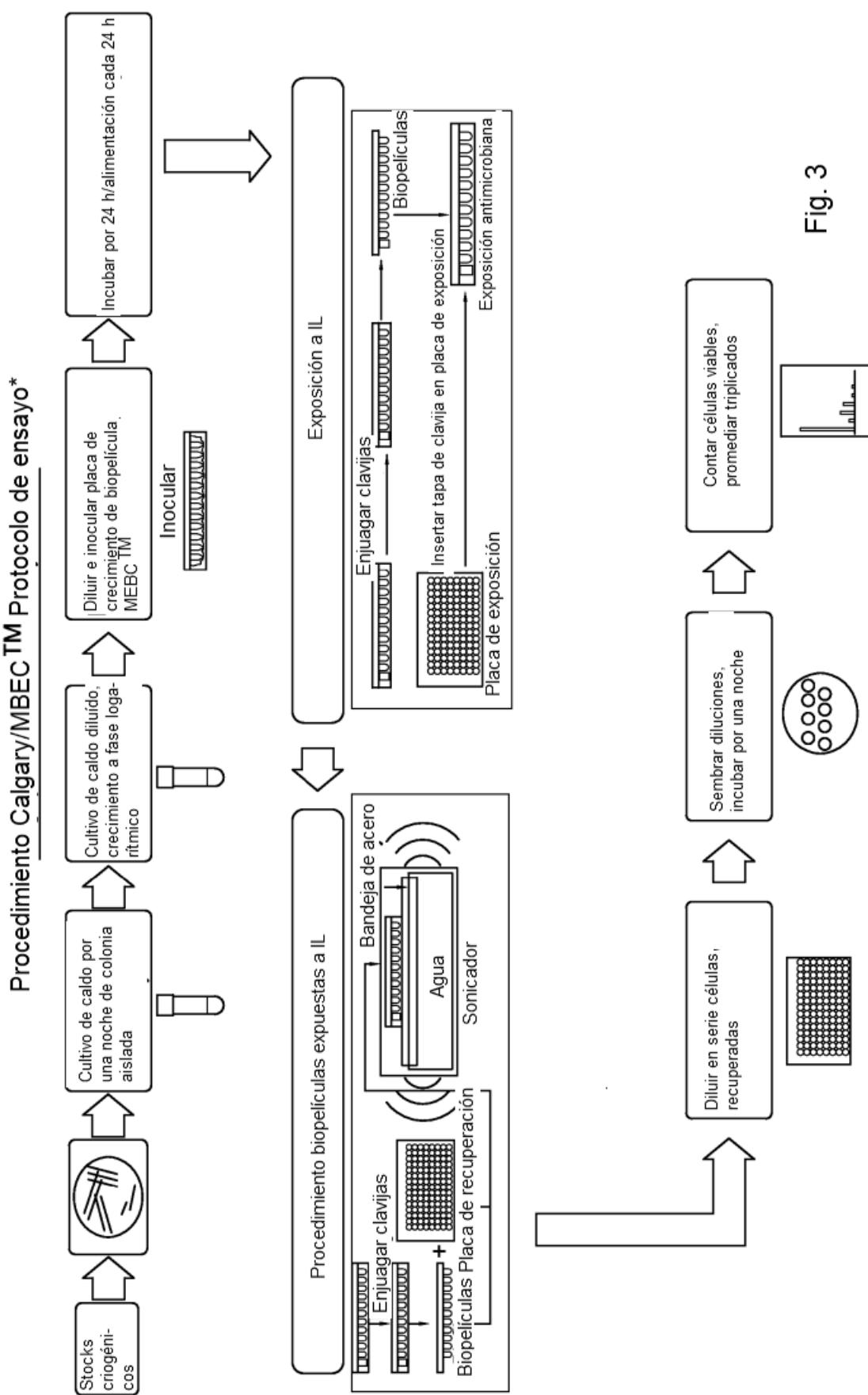


FIG. 2B



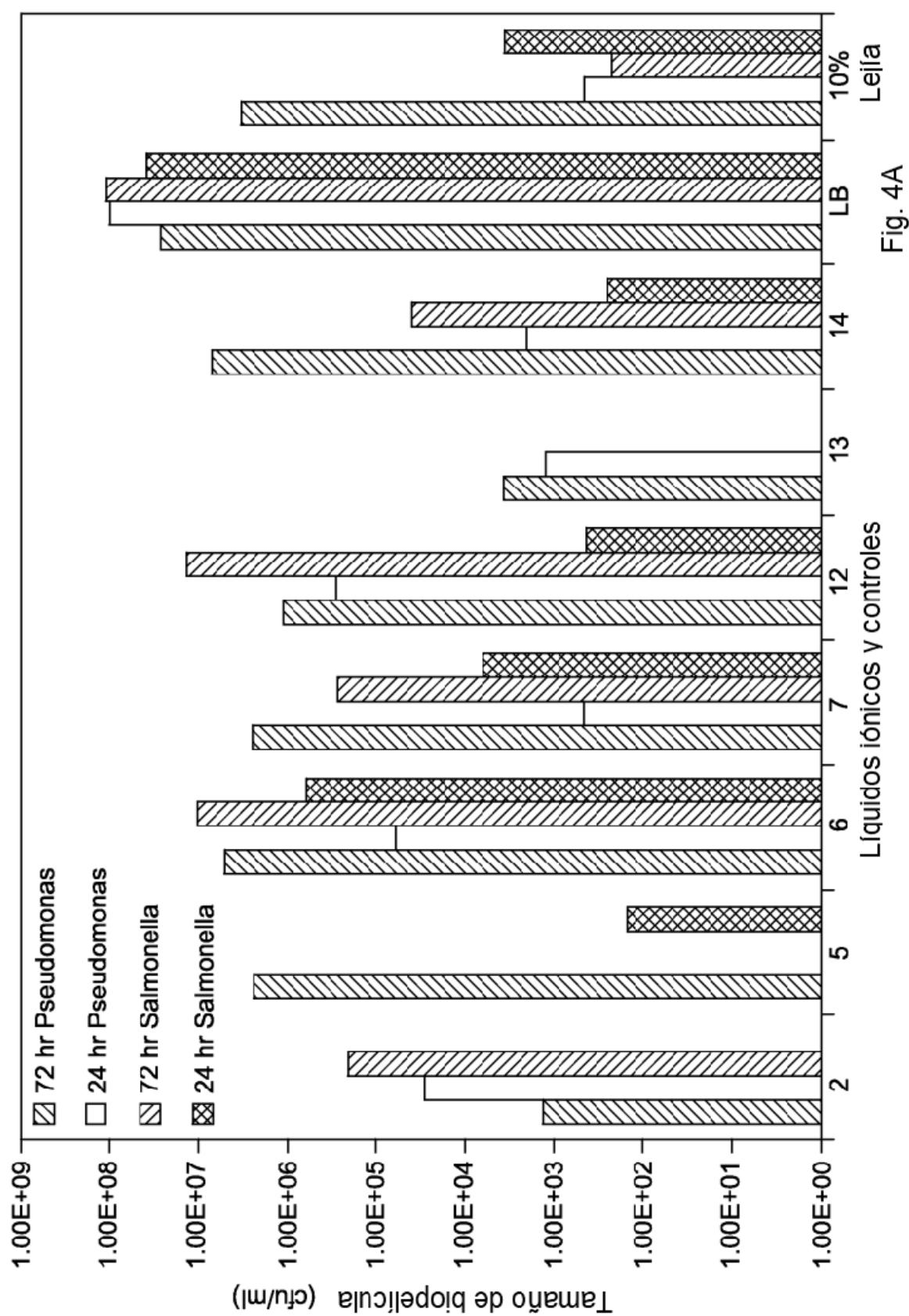


Fig. 4A

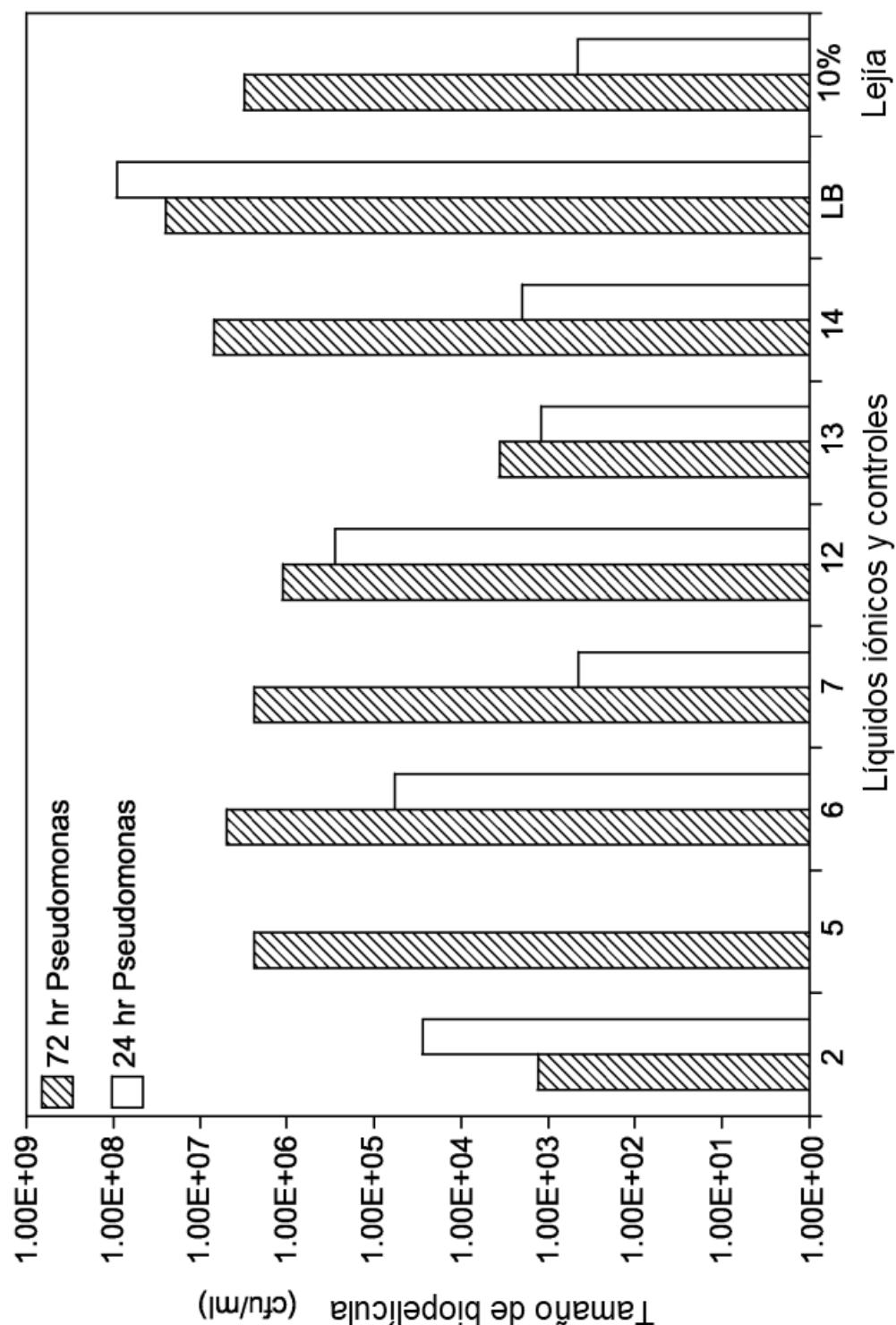


FIG. 4B

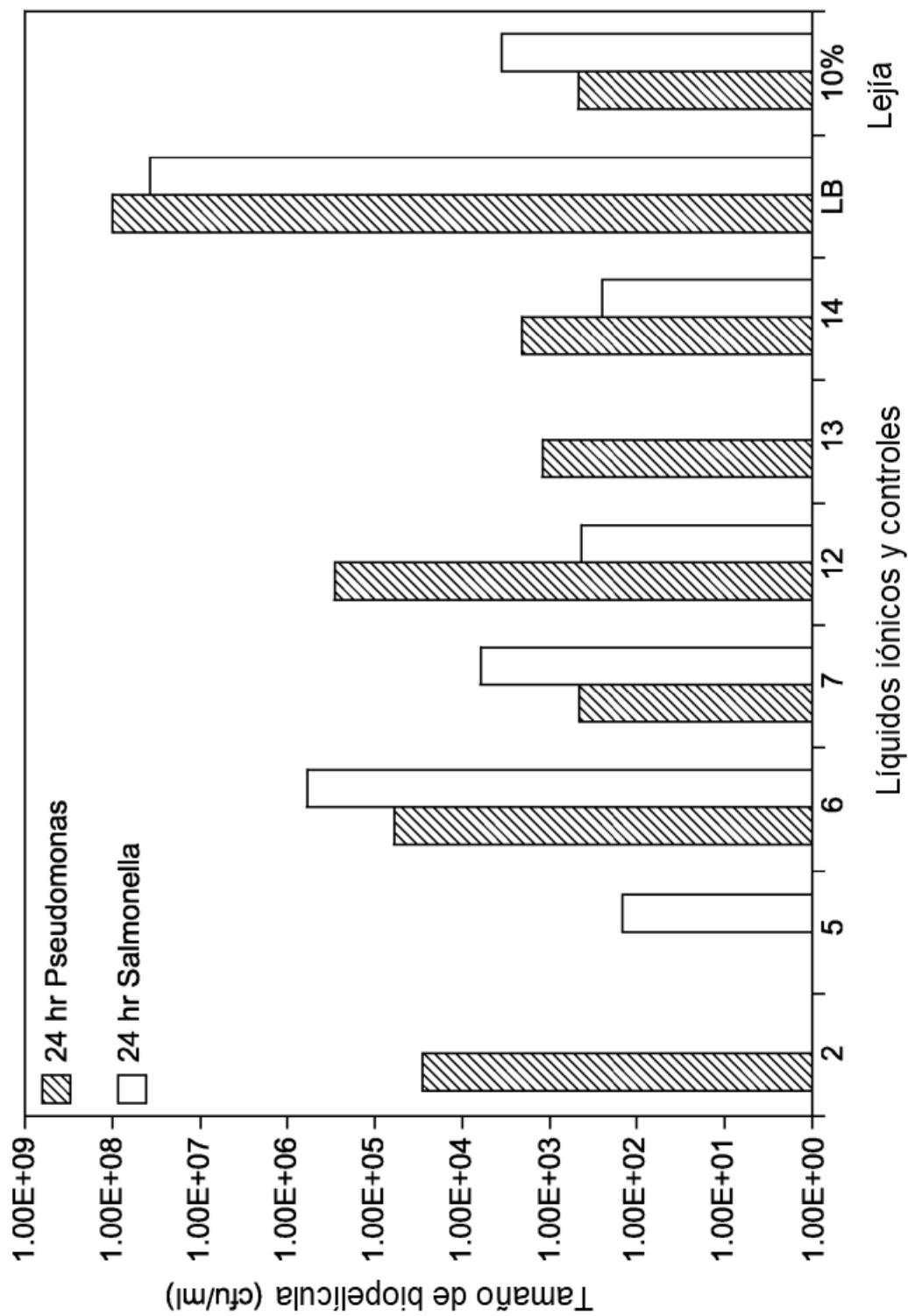
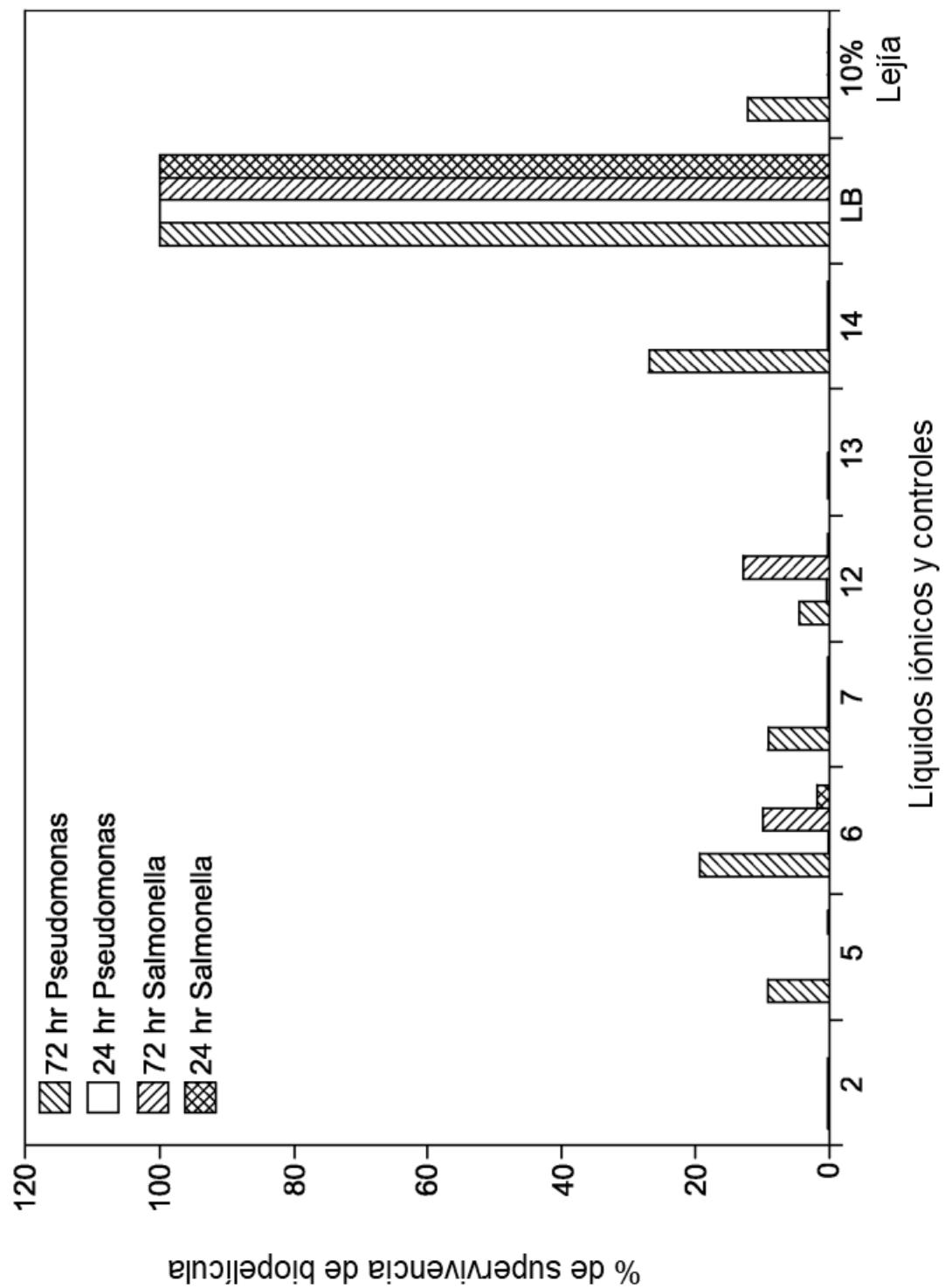
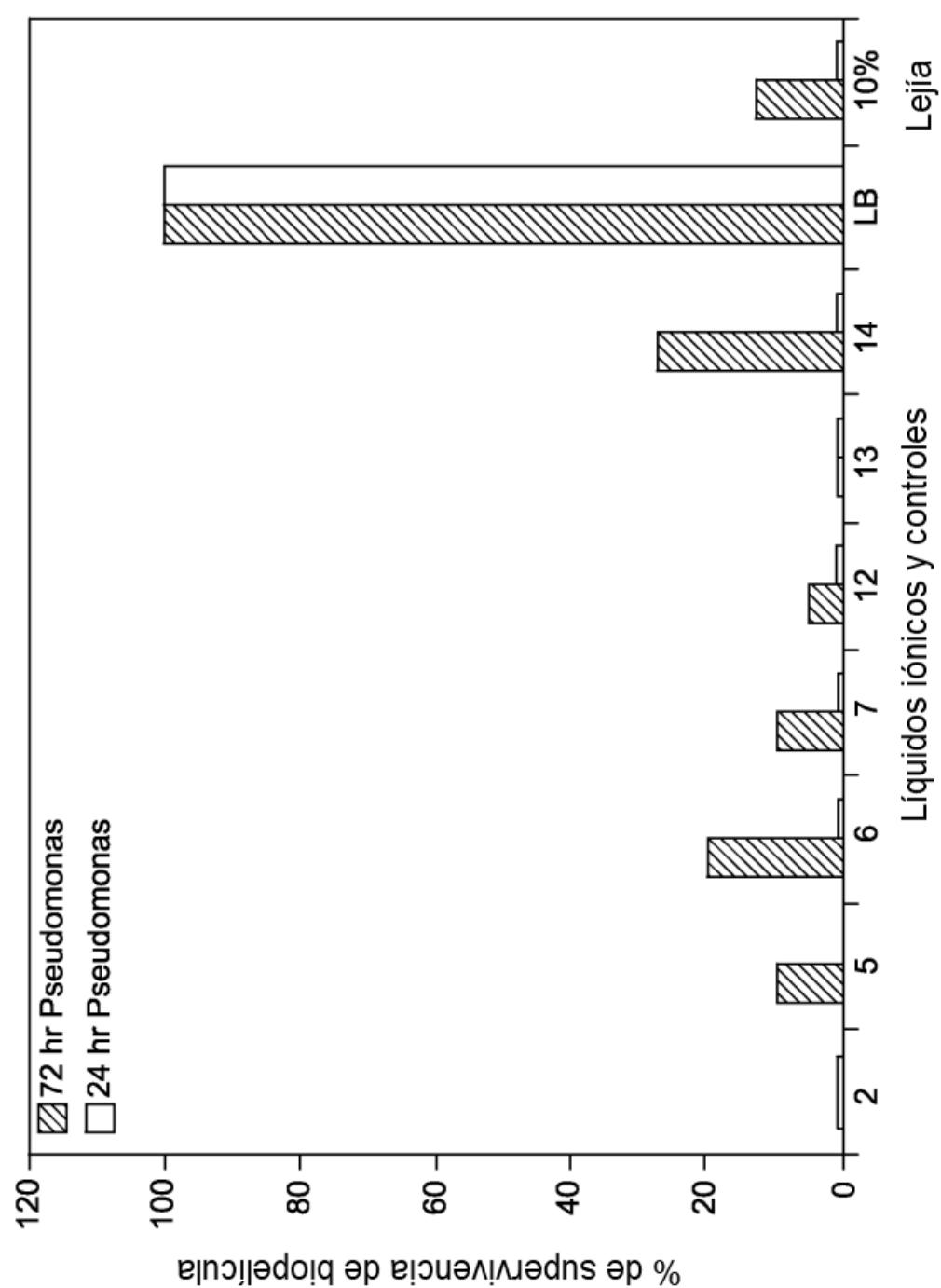
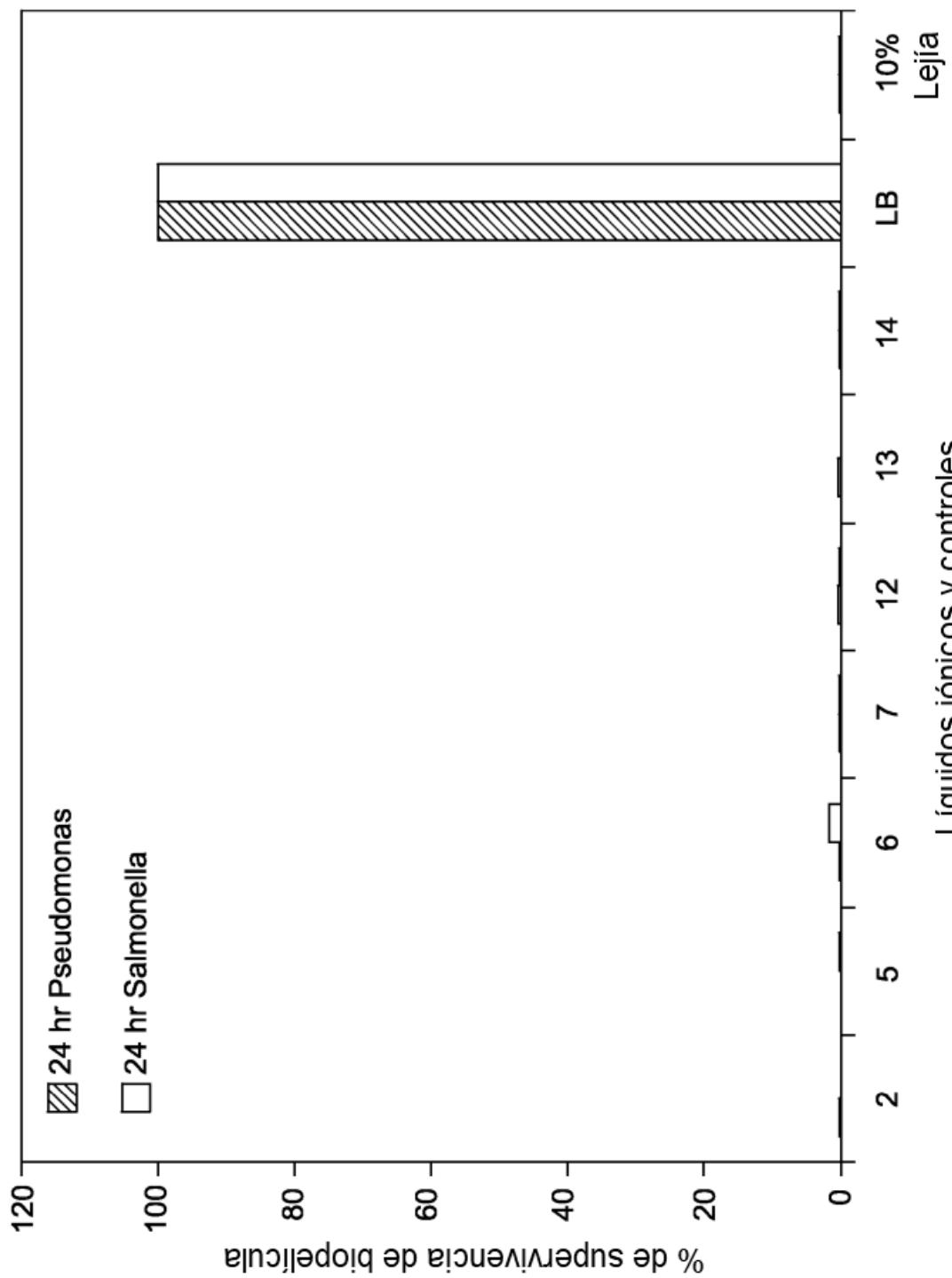


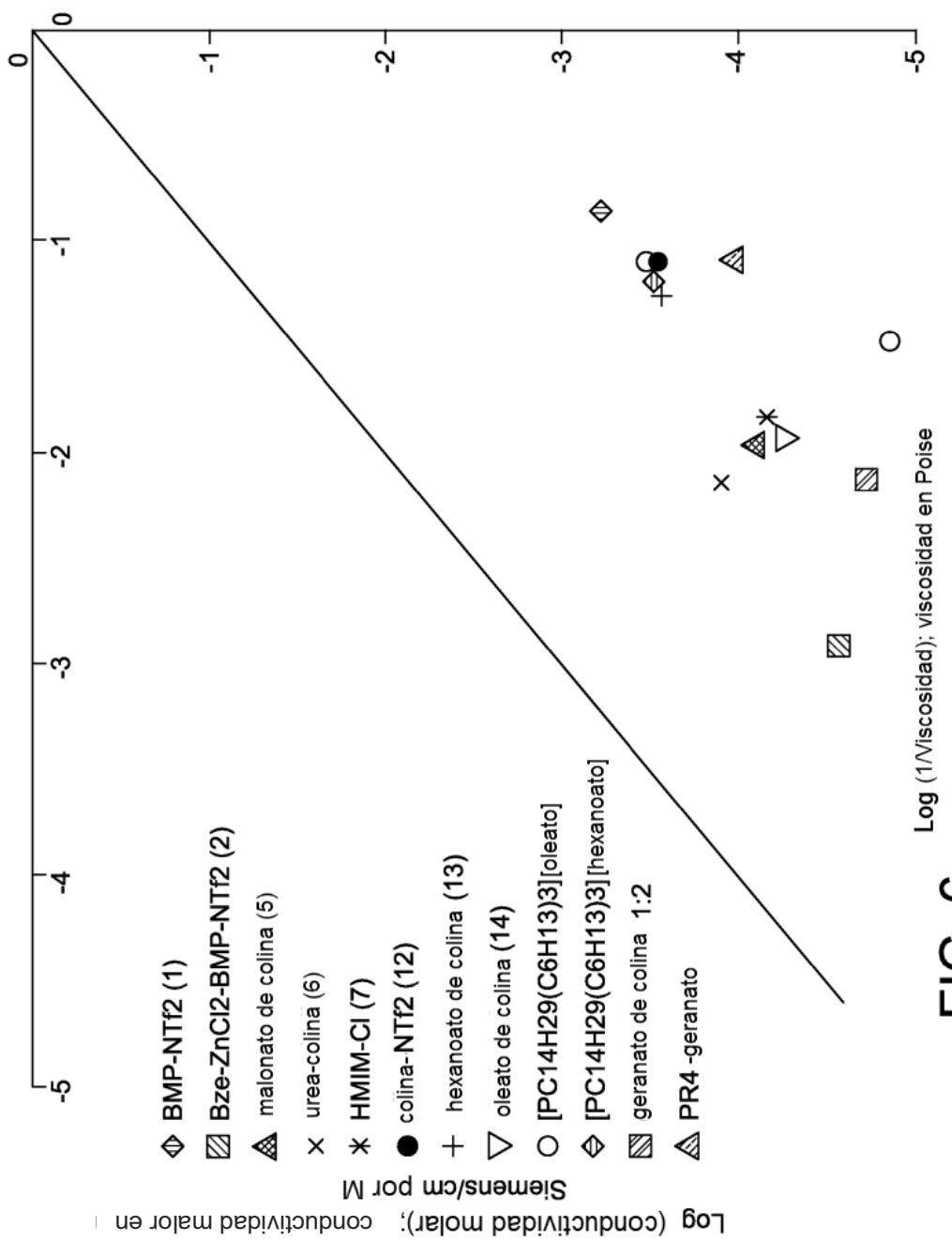
FIG. 4C

**FIG. 5A**

Líquidos iónicos y controles



**FIG. 5C**

**FIG. 6**

Log (1/Viscosidad); viscosidad en Poise