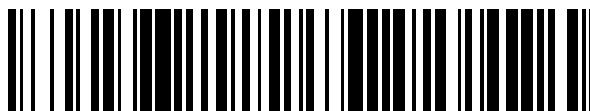


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 416 365**

51 Int. Cl.:

A61K 36/48 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

A61P 15/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.07.2009** **E 09793958 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2013** **EP 2303300**

54 Título: **Composiciones que tienden a favorecer el desarrollo y el crecimiento de una microflora vaginal beneficiosa**

30 Prioridad:

10.07.2008 FR 0854687

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

31.07.2013

73 Titular/es:

ALLIOSPHARMA (100.0%)
1 Allée Des Ecureuils
69380 Lissieu, FR

72 Inventor/es:

BOU ANTOUN, SAMI

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 416 365 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

Composiciones que tienden a favorecer el desarrollo y el crecimiento de una microflora vaginal beneficiosa

- 5 La presente invención hace referencia a composiciones dermatológicas o farmacéuticas que tienden a favorecer el desarrollo y el crecimiento de una microflora vaginal beneficiosa.

En las mujeres sanas, la flora urogenital comprende cerca de 50 especies diferentes de microorganismos. Entre estos microorganismos, un 95% de la población está constituida por diversas cepas de lactobacilos. Estos lactobacilos desempeñan un papel de protección contra patógenos mediante diversos mecanismos: producción de peróxido de hidrógeno, producción de ácido láctico, producción de bacteriocinas e inhibición de la adhesión y expansión de patógenos. Así, el crecimiento de numerosos patógenos de la flora vaginal tales como *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Candida albicans* está inhibido por los lactobacilos. Los lactobacilos específicos de la vagina son especialmente *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* y *Lactobacillus vaginalis*.

La flora vaginal normal está compuesta así principalmente por lactobacilos que forman una biopelícula protectora en la superficie de la mucosa. Estos lactobacilos coexisten con una multitud de otras especies, entre ellas los patógenos potenciales. Una ruptura de este equilibrio puede ser un factor que induzca vaginosis debidas a un aumento del pH vaginal y a una disminución de los lactobacilos, dejando entonces a los patógenos la posibilidad de desarrollarse. Estos desequilibrios se manifiestan especialmente, pero no exclusivamente, en las mujeres menopáusicas.

La terapia con antibióticos es uno de los tratamientos utilizados comúnmente para tratar los desequilibrios de la microflora vaginal. Sin embargo, presenta los inconvenientes habituales de los tratamientos antibióticos y se revela cada vez menos eficaz. Además, tiende a eliminar la flora patógena, pero destruye igualmente la flora normal.

Los productos para el cuidado de la mucosa vaginal ya existentes en el mercado, que tienden a favorecer el desarrollo y el crecimiento de la microflora beneficiosa de la vagina, sufren de una eficacia insuficiente.

La presente invención muestra inesperadamente que la combinación de un oligosacárido prebiótico elegido entre los GOS y los FOS con un extracto vegetal que contiene isoflavonas elegido especialmente entre los extractos de soja y de trébol tiene un efecto sinérgico sobre el crecimiento de los lactobacilos beneficiosos de la flora vaginal. El GOS tiene por sí mismo un efecto prebiótico sobre el crecimiento de los lactobacilos. Este resultado es esperado y ya se ha descrito en el estado de la técnica. Sorprendentemente, este efecto prebiótico mejora sin embargo en presencia de un extracto vegetal que comprenda isoflavonas. Así, el extracto de trébol aumenta el crecimiento y el consumo de glucosa de los lactobacilos. Este resultado es inesperado puesto que los extractos de vegetales que contienen isoflavonas son conocidos por efectos "de tipo hormonal" y se utilizan para compensar los déficit de estrógenos, especialmente en mujeres menopáusicas. No se ha habido documentado nunca antes un efecto directo de estos extractos vegetales que contienen isoflavonas sobre el crecimiento de los lactobacilos.

El documento de la base de datos WPI XP-002514149 describe composiciones que comprenden FOS/GOS y extractos de soja para la prevención de osteoporosis en la mujer. Este documento no describe la utilización de estas composiciones para el tratamiento y la prevención de los efectos de la menopausia sobre la mucosa vaginal o para el tratamiento y la prevención de vaginosis bacterianas. Por otro lado, este documento no describe tampoco composiciones que comprendan extractos de trébol.

El documento FR 2.874.825 describe la utilización de oligosacáridos prebióticos beneficiosos para la flora vaginal. Los oligosacáridos prebióticos se seleccionan por su capacidad de favorecer el crecimiento de cepas bacterianas vaginales endógenas beneficiosas. Este documento no describe composiciones que comprendan a la vez oligosacáridos y extractos vegetales que comprendan isoflavonas.

El documento WO 93/00067 describe composiciones cosméticas que comprenden oligosacáridos. Estas composiciones mantienen un medio favorable al desarrollo de la flora endógena beneficiosa. Son ejemplos de composiciones un jabón líquido, un champú, una leche corporal, una crema para la cara así como un gel vaginal. El documento WO 93/00067 no describe sin embargo composiciones que comprendan a la vez oligosacáridos y extractos vegetales que comprenden isoflavonas.

El documento de Rousseau *et al.* (Anaerobe, 11: 145-153, 2005) describe los efectos prebióticos de ciertos oligosacáridos sobre los lactobacilos vaginales y sobre los microorganismos patógenos. Este documento no describe composiciones que comprendan extractos vegetales que contienen isoflavonas.

El documento WO 2004/084832 describe composiciones que comprenden extractos de Fo-Ti, de trébol rojo o de soja que tienen un efecto de tipo estrogénico. Estas composiciones convienen especialmente para el tratamiento de los efectos ligados a la disminución de estrógenos especialmente en la menopausia. Este documento no describe sin embargo composiciones que comprendan igualmente GOS y FOS.

El documento EP-A-1348439 describe composiciones para la higiene vaginal que comprenden isoflavonas y un extracto de mimosa. Este documento no describe composiciones que comprendan igualmente oligosacáridos.

El documento de la base de datos WPI XP-002517089 describe un procedimiento de extracción de isoflavonas de soja. Estas isoflavonas pueden utilizarse a continuación para el tratamiento de sofocos y vaginosis en mujeres menopáusicas, para la prevención de enfermedades cardiovasculares así como para la prevención de cánceres. Este documento no describe composiciones que comprendan igualmente oligosacáridos.

El estado de la técnica, haciendo referencia a la utilización de extractos vegetales en composiciones vaginales, no enseña por tanto una mejora del efecto prebiótico de los oligosacáridos cuando se combinan con los extractos de trébol o soja.

La presente solicitud demuestra que la combinación de un oligosacárido prebiótico elegido entre los GOS y FOS con un extracto vegetal que contiene isoflavonas elegido especialmente entre los extractos de soja y de trébol tiene un efecto prebiótico aumentado sobre los lactobacilos beneficiosos de la flora vaginal.

Estas composiciones están por tanto particularmente adaptadas al tratamiento de los desequilibrios de la flora vaginal tales como los desequilibrios resultantes de vaginosis bacterianas, candidiasis y micosis. Dichos desequilibrios de la flora vaginal pueden favorecerse por la menopausia.

Las vaginosis, candidiasis y micosis se tratan habitualmente con antibióticos. A continuación de una cura con antibióticos, las composiciones de la presente invención permiten restaurar la microflora vaginal beneficiosa y restaurar el pH fisiológico de la vagina.

La invención hace referencia igualmente a utilizaciones no terapéuticas de las composiciones de la presente invención. Las composiciones de la presente invención pueden utilizarse para el cuidado o la higiene vaginal cotidiana con el fin de mantener una flora vaginal beneficiosa y con el fin de mantener el pH fisiológico de la vagina.

La invención se refiere a composiciones que comprenden:

- un prebiótico elegido entre los glucooligosacáridos (GOS), los fructooligosacáridos (FOS) y sus mezclas; y
- un extracto vegetal que contiene al menos 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o 100 ppm de isoflavonas.

La invención se refiere a composiciones que comprenden:

- un prebiótico elegido entre los glucooligosacáridos (GOS), los fructooligosacáridos (FOS) y sus mezclas; y
- un extracto vegetal que contiene al menos 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o 100 ppm de formonnetina, biocanina A, genisteína, daidzeína, genistina, daidzina y/o equol.

La invención se refiere a composiciones que comprenden:

- un prebiótico elegido entre los glucooligosacáridos (GOS), los fructooligosacáridos (FOS) y sus mezclas; y
- un extracto vegetal que contiene al menos 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o 100 ppm de daidzeína, genisteína y/o formonnetina.

La invención se refiere por tanto a composiciones que comprenden:

- un prebiótico elegido entre los glucooligosacáridos (GOS), los fructooligosacáridos (FOS) y sus mezclas; y
- un extracto vegetal que contiene isoflavonas elegidas entre los extractos de soja (*Glycine max*), los extractos de trébol (*Trifolium sp.*) y sus mezclas.

La invención se refiere más particularmente a composiciones para la prevención y el tratamiento de desequilibrios de la microflora vaginal.

La invención se refiere más particularmente a composiciones para la prevención y el tratamiento de vaginosis bacterianas, candidiasis vaginales y micosis vaginales.

De preferencia, estas composiciones comprenden al menos 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10% de prebiótico y al menos 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% o 10 % de extracto vegetal que contiene isoflavonas.

De preferencia, estas composiciones comprenden al menos de 0,5% a 7% de prebiótico y de 0,5% a 5% de extracto vegetal que contiene isoflavonas.

Ventajosamente, las isoflavonas se eligen entre formonnetina, biocanina A, genisteína, daidzeína, genistina, daidzina, equol y sus mezclas.

5 En un modo de realización ventajoso, el extracto vegetal se elige entre extractos de soja (*Glycine max*), extractos de trébol (*Trifolium sp.*) y sus mezclas.

De preferencia, el extracto vegetal es un extracto de trébol elegido entre las variedades *Trifolium subterraneum L.*, *Trifolium repens L* y *Trifolium pratense L*.

10 Más preferiblemente, el extracto vegetal es un extracto de *Trifolium pratense L* que contiene al menos genisteína, daidzeína y formonnetina.

15 En un modo de realización de la invención, el prebiótico comprende un GOS α -1,6 / α -1,4 que tiene un grado de polimerización de al menos 4.

En otro modo de realización, el prebiótico comprende un FOS que comprende una mezcla de FOS que tienen un grado de polimerización de 4, 5 y 6.

20 La composición puede estar en forma de un gel vaginal, un jabón, un pulverizador o una crema para aplicación vaginal.

25 La invención hace referencia también a la utilización de composiciones para la higiene y el cuidado vaginal. En particular, la invención tiene como objeto la utilización no terapéutica de una composición que comprende un prebiótico y un extracto vegetal que contiene isoflavonas para la higiene y el cuidado vaginal en una administración vaginal tópica.

Es otro objeto de la invención la utilización no terapéutica de estas composiciones para mantener una microflora vaginal beneficiosa y/o para mantener el pH vaginal a un pH fisiológico del orden de 4,5.

30 La invención tiene por tanto como objeto composiciones dermatológicas o farmacéuticas que comprenden:

- un prebiótico elegido entre los glucooligosacáridos (GOS), los fructooligosacáridos (FOS) y sus mezclas; y
- un extracto vegetal que contiene isoflavonas.

35 Los prebióticos son generalmente oligosacáridos o polisacáridos de cadena corta constituidos aproximadamente por 2 a 20 unidades de azúcar. Se trata de compuestos no digeribles que ejercen una acción beneficiosa sobre la salud al estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad metabólica de una o de una serie limitada de bacterias. Los prebióticos seleccionados en las composiciones de la presente invención actúan como sustrato selectivo de una o de una serie limitada de bacterias beneficiosas que residen en la vagina y estimulan el crecimiento de las mismas. Los prebióticos utilizados en las composiciones de la presente invención se orientan más particularmente a *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus iners* y *Lactobacillus vaginalis*.

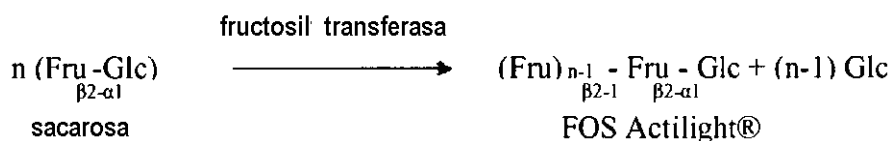
45 La mayoría de los prebióticos disponibles comercialmente son oligosacáridos extraídos de matrices vegetales naturales u obtenidos mediante síntesis (química o biotecnológica). Existen diferentes tipos de oligosacáridos de potencial prebiótico tales como los glucooligosacáridos (GOS), los fructooligosacáridos (FOS), los galactooligosacáridos, etc. Los oligosacáridos respectivamente prebióticos frente al intestino y la vagina son diferentes. Efectivamente, el intestino está constituido por numerosas enzimas que amenazan degradar el oligosacárido. Este debe tener una estructura química larga y compleja que le permita resistir el ataque enzimático. A la inversa, en la vagina, en ausencia de limitaciones enzimáticas, los oligosacáridos prebióticos poseen estructuras más cortas y más sencillas.

50 Los FOS son fructooligosacáridos de cadena corta constituidos por moléculas de fructosa y pueden contener una molécula de glucosa en uno de los extremos (en función del origen del FOS). Los FOS existen en estado natural en un cierto número de plantas como cebolla, tomate, alcachofa, plátano, tupinambo, espárrago, puerro, trigo, centeno y ajo.

Los FOS pueden producirse industrialmente mediante dos procedimientos diferentes:

60 El FOS Raftilose® (Orafti, Bélgica) procedente de la hidrólisis de inulina de achicoria. Existen igualmente otros productores de este tipo de FOS.

65 El FOS Actilight® (Béghin Meiji, Francia) obtenido por síntesis enzimática. El FOS Actilight® se produce a partir de sacarosa y una enzima, la β -fructosil transferasa, según el mecanismo siguiente:

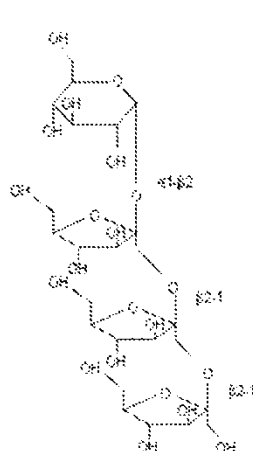


en la que n es de preferencia igual a 3, 4 o 5.

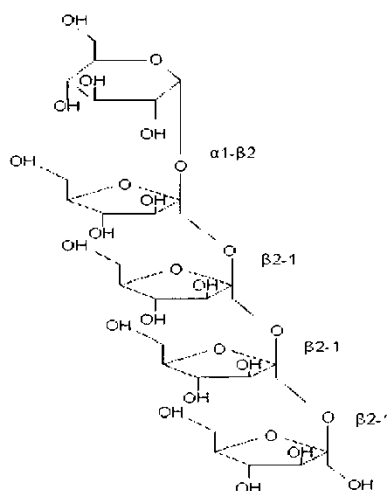
- 5 La fructosil transferasa se produce por *Aspergillus niger* o *Aureobasidium pullulans*. A partir de n moléculas de sacarosa, se obtiene una mezcla de sacarosa, glucosa y fructooligosacáridos. El FOS Actilight® se purifica a continuación por cromatografía.

- 10 Los FOS Actilight® contienen grados de polimerización que van hasta 6 y cuya proporción de glucosa, fructosa y sacarosa es de media de un 5%:

Estructura del FOS Actilight®



DP4



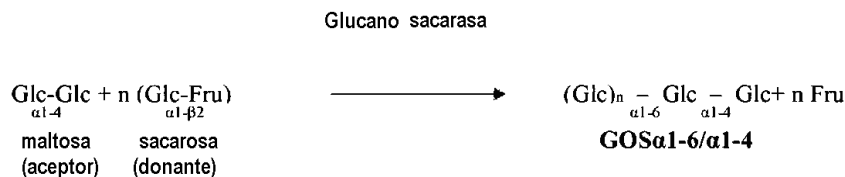
DP5

- 15 Los GOS son glucooligosacáridos de cadena corta constituidos por un encadenamiento de unidades de glucosa ligadas por α -1,6 y que pueden contener igualmente enlaces α -1-2, α -1-3 y α -1-4.

- 20 El GOS α -1-6 es un glucooligosacárido lineal constituido por un encadenamiento de unidades de glucosa ligadas entre ellas por enlaces α -1-6. Se obtiene mediante una reacción de transglucosilación enzimática a partir de un donante, la sacarosa, sobre un aceptor que puede ser glucosa, α -glucósido de metilo, isomaltosa, isomaltotriosa y maltosa. Si el aceptor es maltosa (glucosas ligadas por α -1-4), entonces se desemboca en la síntesis enzimática de GOS α -1-6/ α -1-4

- 25 Los GOS son glucanos de pequeño tamaño. Se sintetizan mediante una reacción de transglucosilación catalizada por enzimas de la familia de las glucano sacararas. Estas enzimas aseguran la transferencia de unidades de glucosilo procedentes del sustrato donante sobre el producto aceptor en su extremo no reductor. El oligosacárido así producido se vuelve entonces sustrato, dando un oligosacárido de grado de polimerización superior. Las glucano sacararas aceptan un número limitado de sustratos donantes (en general sacarosa), pero un número variable de productos aceptores (por ejemplo, glucosa o maltosa).

- 30 Existen una gran variedad de glucano sacararas que presentan diferentes especificidades y catalizan la formación de diferentes tipos de enlaces osídicos (α -(1-2), α -(1-3), α -(1-4), α -(1-6)). Los rendimientos de la reacción dependen en gran medida de la relación de [donante]/[aceptor] y del contenido de azúcares totales en el medio. La velocidad de reacción depende del tipo de aceptor, por ejemplo, la síntesis con maltosa como aceptor es más eficaz que con glucosa.

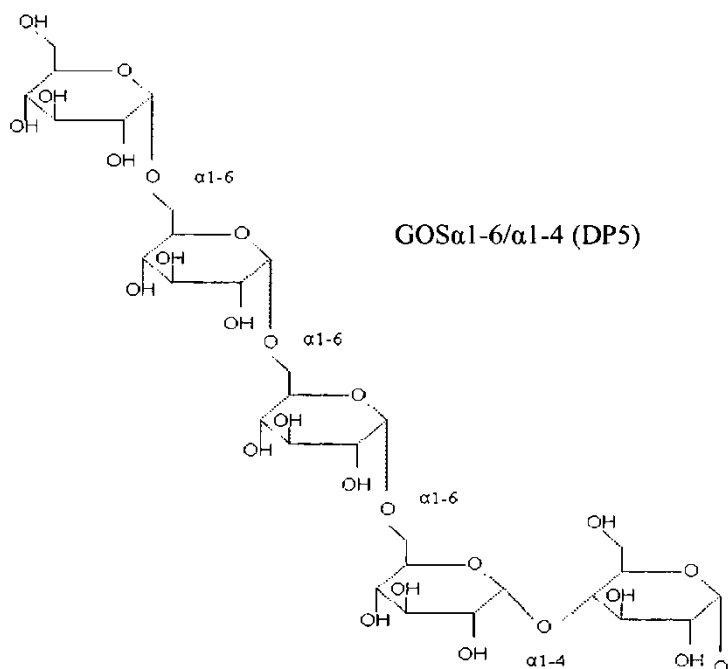
Síntesis enzimática de GOS α 1-6/ α 1-4

- 5 Esta reacción enzimática se cataliza por la glucano sacarasa de *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512 (F.)

Los GOS α 1,6/ α 1,4 son mezclas de oligosacáridos. La mezcla está constituida por oligosacáridos que van hasta un grado de polimerización de 11.

GOS	Donante	Aceptor	Enzima	Enlaces
GOS α 1-2/ α 1-6/ α 1-4	Sacarosa	Maltosa	B-1299 (1)	65% de α 1-6 35% de α 1-2 5% de α 1-3
GOS α 1-6/ α 1-4	Sacarosa	Maltosa	B-512F (2)	95% de α 1-6 5% de α 1-35

- 10 (1) glucano sacarasa de *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1299
(2) glucano sacarasa de *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F

Estructura de GOS α 1-6/ α 1-4

Entre los prebióticos utilizables en las composiciones de la presente invención, se citarán más particularmente los oligosacáridos descritos en el documento EP-B-0.591.443 y especialmente el GOS α 1-2/ α 1-6, que tiene un grado de polimerización de al menos 4. Es otro prebiótico preferido el FOS Actilight® de DP3.

En un modo de realización preferido de la invención, las composiciones comprenden una mezcla de prebióticos específicos de la microflora de la vagina.

Las composiciones según la presente invención comprenden igualmente isoflavonas extraídas de plantas, que tienen una estructura espacial similar a los estrógenos. Los efectos de los fitoestrógenos son conocidos, mejoran la citología vaginal, la troficidad y la hidratación de la mucosa vaginal, lo que contribuye a volver más favorables las condiciones de crecimiento de la microflora de la vagina. Sorprendentemente, estas isoflavonas tienen igualmente

un efecto directo sobre el crecimiento de la microflora vaginal.

Entre las numerosas fuentes vegetales de fitoestrógenos conocidas, se prefieren particularmente los extractos de soja (*Glycine max*), los extractos de trébol (*Trifolium sp.*) y sus mezclas. El extracto vegetal está típicamente en forma glicerínada o glicólica o acuosa o seca o en CO₂ supercrítico.

Estos extractos vegetales comprenden al menos 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o 100 ppm de isoflavonas, de preferencia de 2 a 20 ppm de isoflavonas.

De preferencia, las isoflavonas se eligen entre formononetina, biocanina A, genisteína, daidzeína, genistina, daidzina, equol y sus mezclas. Más preferiblemente, los extractos vegetales comprenden daidzeína, genisteína y formononetina.

Se preparan extractos de vegetales que comprenden isoflavonas en cantidad suficiente según técnicas bien conocidas por el experto en la materia. Estos extractos se preparan ventajosamente a partir de trébol o de soja. Estos extractos están disponibles comercialmente y se citará a modo de ejemplo el extracto de trébol Stérocare® de la compañía Sederma.

En un modo de realización preferido, las composiciones de la presente invención comprenden un extracto de trébol *Trifolium pratense* L que contiene al menos 2 ppm de daidzeína, al menos 11 ppm de genisteína y al menos 9 ppm de formononetina.

Las composiciones pueden comprender además al menos un agente gelificante de origen natural vegetal o mineral o de síntesis, que forma en contacto con el agua un gel de tipo "hidrocoloidal" de naturaleza tixotrópica, no cargado eléctricamente. Puede tratarse de polímeros derivados de ácido acrílico, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gomas de xantano, guar, galactomananos, succinoglicanos, carragenanos kappa o iota, bentonitas, hectoritas o silicatos de magnesio. El agente gelificante representa de 0,5 a 5% de la composición final.

Las composiciones pueden comprender igualmente un glicol que puede ser monopropilenglicol, dipropilenglicol, glicerina, diglicerina, triglicerina, monopropanodiol, butilenglicol o hexilenglicol. Puede añadirse a la composición en una proporción de 1 a 80%, de preferencia de 3 a 10% de la composición total.

Las composiciones según la invención pueden comprender también un sistema conservante compuesto por 1 a 4 agentes fungistáticos y bacteriostáticos en forma de sales de ácidos orgánicos: láctico, cítrico, sórbico, benzoico, salicílico, tartárico, glicólico, etc. Pueden añadirse a la composición a entre 0,1 y 2% de la composición total.

Ventajosamente, las composiciones comprenderán reajustadores del pH destinados a llevar la preparación a pH fisiológico: ácido cítrico, láctico, glicólico, clorhídrico, bórico, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, AMP cíclico, trietanolamina, trometamina, ácido etilendiaminotetraacético, tampón cítrico/citratos, etc. El reajustador o reajustadores se añaden a la composición a entre 0,05 y 5%, particularmente a entre 0,05% y 1% de la composición final.

Las composiciones pueden comprender además al menos un compuesto elegido del grupo constituido por:

- principios activos utilizados clásicamente en dermatología tales como emolientes, principios activos hidratantes, agentes reestructurantes de la barrera cutánea, agentes antiirritantes y agentes calmantes,

- principios activos que tienen una acción terapéutica complementaria, tales como antibióticos, agentes antibacterianos, compuestos antifúngicos, agentes antivíricos, agentes antiinflamatorios, etc.

Las composiciones según la invención pueden formularse en forma de diferentes preparaciones adaptadas a una administración tópica o a una administración vaginal.

Según un modo de realización preferido, se adaptan las diferentes preparaciones para administración tópica e incluyen cremas, emulsiones, leches, pomadas, lociones, aceites, soluciones acuosas o hidroalcohólicas o glicólicas, polvos, pulverizadores, gelatinas, geles, hidrogeles o cualquier otro producto para aplicación externa.

La invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden un prebiótico y un extracto vegetal que contiene isoflavonas tales como se definen anteriormente, así como un vehículo farmacéutico apropiado.

De preferencia, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se presentan en forma de un gel, jabón, pulverizador o crema para aplicación tópica vaginal.

Las composiciones según la invención convienen más particularmente para el tratamiento y la prevención de los desequilibrios de la microflora vaginal y especialmente para la prevención y el tratamiento de vaginosis bacterianas, candidiasis vaginales y micosis vaginales.

Los efectos de la menopausia sobre las mucosas pueden favorecer más particularmente el desarrollo de estos desequilibrios de la microflora vaginal.

Se entiende por vaginosis o vaginosis bacteriana un desequilibrio de la flora microbiana de la vagina. Se caracteriza por la desaparición de los lactobacilos y la multiplicación de los gérmenes anaeróbicos tales como *Gardnerella vaginalis*. Indica un desequilibrio de la flora vaginal, con desaparición del efecto protector del bacilo de Döderlein.

Se entiende por desequilibrio de la microflora vaginal cualquier déficit de lactobacilos, y especialmente de *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus iners* y *Lactobacillus vaginalis*.

Se entiende por candidiasis vaginal un desequilibrio de la microflora vaginal o una infección vaginal causada por levaduras del género *Candida*.

Se entiende por micosis vaginales los desequilibrios de la microflora vaginal causados más generalmente por hongos.

La invención hace referencia también a la utilización de una de estas composiciones para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y la prevención de los desequilibrios de la microflora vaginal, y más particularmente para el tratamiento y la prevención de vaginosis bacterianas, candidiasis vaginales y micosis vaginales.

La invención hace también referencia a la utilización de un prebiótico y de un extracto vegetal que contiene isoflavonas tal como se define anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y la prevención de los desequilibrios de la microflora vaginal, y más particularmente para el tratamiento y la prevención de vaginosis bacterianas, candidiasis vaginales y micosis vaginales.

La invención se refiere también a composiciones dermatológicas para la higiene vaginal y el cuidado vaginal. Las composiciones según la presente invención están particularmente adaptadas para la higiene y el cuidado vaginal de mujeres menopáusicas.

En el marco de una utilización dermatológica, la composición se formulará ventajosamente en forma de una preparación adaptada para administración tópica.

La invención tiene también como objeto procedimientos de higiene vaginal y de cuidado vaginal, especialmente para mujeres menopáusicas.

La invención se refiere también a la utilización no terapéutica de las composiciones según la invención para el cuidado y la higiene vaginal. En particular, la invención tiene como objeto la utilización no terapéutica de una composición que comprende un prebiótico y un extracto vegetal que contiene isoflavonas para la higiene y el cuidado vaginal en una administración vaginal tópica.

Otro objeto de la invención la utilización no terapéutica de estas composiciones para mantener una microflora vaginal beneficiosa y/o para mantener el pH vaginal a un pH fisiológico del orden de 4,5.

Figuras

Figura 1: Crecimiento de BLL 2008 *Lactobacillus crispatus*

Figura 2: Crecimiento de BLL 2005 *Lactobacillus crispatus*

Ejemplos

Ejemplo 1: Gelatina vaginal

Materia prima	%
Agua de bio-ósmosis Aqua	CSP 100
Glicerina vegetal codex Glycerin	5
GOS α α -glucano/oligosacárido (Génibio®)	5,0
Extracto de <i>Trifolium pratense</i> Stérocure® (Sederma®)	2,0
Hidroxietilcelulosa Natrosol® 250 HHX.Ph	1,0
Conservante Ronkosal® SB	0,7

Ácido láctico Purac® HS 90	CSP pH 4,3 ± 0,1 0,22
----------------------------	-----------------------

La concentración de Stérocare puede variar igualmente de 0,5 a 3%. El resto de la fórmula permanece sin cambios. Para una formulación en gel, se añaden agentes grasos.

- 5 El Stérocare® comprende 2 ppm de daidzeína, 11 ppm de genisteína y 9 ppm de formononetina.

Ejemplo 2: Fórmula de gel placebo

Materia prima	%
Agua de bio-ósmosis Aqua	CSP 100
Glicerina vegetal codex Glycerin	5
Hidroxietilcelulosa Natrosol® 250 HHX.Ph	1,0
Conservante Ronkosal® SB	0,7
Ácido láctico Purac® HS 90	CSP pH 4,3 ± 0,2 0,3

- 10 Se trata de la misma fórmula en GOS y Stérocare.

Ejemplo 3: Espuma limpiadora (o gel de higiene íntima)

Materia prima	%
Agua purificada Aqua	CSP 100
Espumante derivado de manzana Protéol® APL, cocoílo de sodio, aminoácidos de manzana	15
Laureth P065, Aqua, cocoglucósido, oleato de glicerilo	3
GOSα α-glucano/oligosacárido (Génibio®)	1
Trébol rojo HG <i>Trifolium pratense</i> , glicerina, agua Actif (Greentech®)	1
Acrilato de hidroxietilo/sodio Sepinov® EMT10 (agente estabilizante)	0,7
Metilhidroxiglicinato de sodio Suttocide® A (conservante)	0,5
Ajustador del pH ácido láctico Purac® HS 90	0,4 (pH 5-5,5)
Té de menta verde 12309 (perfume)	0,06
Colorante rojo autorizado CE CI 16035	0,00066
Ácido etilendiaminotetraacético EDTA (agente secuestrante)	0,05

- 15 Las concentraciones de GOS y trébol rojo pueden variar entre 0,5 y 1,5%.

Ejemplo 4: Comprimido oblongo

Oligosacáridos prebióticos (GOS y/o FOS)

20

Isoflavonas (de trébol y/o de soja)

Excipientes: lactosa monohidratada, almidón de patata, glutamato de sodio, tiosulfato de sodio, cubierta de comprimido oblongo (dióxido de titanio E171, gelatina).

25

Ejemplo 5: Crema

Oligosacáridos prebióticos (GOS y/o FOS)

30

Isoflavonas (de trébol y/o de soja)

Excipientes: vaselina, cera emulsionable no iónica de Cétamacrogol 1000, parafina líquida, glicina, ácido sórbico, solución concentrada de hidróxido de sodio csp pH 4,5, agua purificada.

Ejemplo 6:

Se han elegido dos cepas de lactobacilos BLL 2005 y 2008 (las dos cepas más significativas en términos de actividad prebiótica) para las que se ha ensayado, por una parte, la glucosa sola que es el sustrato universal de lactobacilos y glucosa + Stérocare (al 1,5% y 3%), y por otra parte GOS solo y GOS + Stérocare (al 1,5% y 3%).

En los dos casos, se observa que el Stérocare aumenta el consumo de sustratos por los lactobacilos y por tanto su crecimiento (Figura 1).

Ejemplo 7: Seguimiento del crecimiento de bacterias lácticas: crecimiento en presencia o no de gel de higiene vaginal

Concentración inicial de azúcares 5 g/l e inoculación al 2%.

Se han utilizado los geles de higiene vaginal de fórmula activa y de fórmula placebo de los ejemplos 1 y 2.

Tiempo (h)	BLL 2005 - <i>Lactobacillus crispatus</i>					
	MRS + Glucosa		MRS + Placebo		MRS + Gel activo	
	Turbidez 1/10 - 640 nm	pH	Turbidez 1/10 - 640 nm	pH	Turbidez 1/10 - 640 nm	pH
Precultivo	0,328	4,0		/	/	/
0,0	0,005	6,5	0,004	6,4	0,005	6,4
2,5	0,005	/	0,005	/	0,004	/
4,0	0,008	/	0,007	/	0,005	/
6,0	0,014	4,9	0,011	6,0	0,011	6,2
24,0	0,214	4,9	0,022	6,0	0,166	5,2
29,5	0,224	/	0,022	/	0,190	/
46,5	0,195	4,9	0,021	6,0	0,185	5,1

Los resultados anteriores y la figura 2 muestran sin ambigüedad que el gel activo permite el crecimiento de la cepa, mientras que este no es el caso con el placebo.

Ejemplo 8: Comparación de las puntuaciones de Nugent y del pH vaginal en mujeres tratadas y no tratadas

PROTOCOLO

Tratamiento de dos grupos de mujeres que han tenido una vaginosis bacteriana y tratado con un antibiótico. El primer grupo recibe el producto activo y el segundo (placebo) recibe el producto sin los prebióticos y el extracto de trébol.

El tratamiento consiste en aplicar una vez al día los productos (el basado en prebióticos e isoflavonas y el placebo). El producto se presenta en forma de tubos monodosis de uso único que contienen GOS al 5% y extracto vegetal que contiene isoflavonas al 2% (gelatina vaginal del ejemplo 1).

El tratamiento es diario durante 8 días.

El día 0, las mujeres son examinadas por un ginecólogo que efectúa una toma de muestra vaginal y mide el pH vaginal.

El día 8, una segunda visita y toma de muestra vaginal y medida del pH.

Se trata de medir la puntuación de Nugent el día 0 y día 8, así como el pH, comparar las puntuaciones y los pH dentro del mismo grupo y comparar los sujetos de los dos grupos.

ANÁLISIS DE LAS PUNTUACIONES DE NUGENT

Objetivo de la puntuación de Nugent:

- determinar la calidad de la flora vaginal,
- diferenciar una flora vaginal normal, intermedia (que puede evolucionar hacia una vaginosis) y las vaginosis.

Comparación de la evolución de las puntuaciones de Nugent entre el grupo activo y el placebo

Sujetos	Puntuación de Nugent					
	Zona normal (0-3)		Zona intermedia (4-6)		Vaginosis (7-10)	
	D0	D8	D0	D8	D0	D8
Activos	72%	100%	28%	0%	0%	0%
Placebos	67%	56%	33%	33%	0%	11%

5 Al cabo de 8 días:

El grupo activo muestra al cabo de 8 días de tratamiento la recuperación de una flora vaginal normal para todos los sujetos.

10 El grupo de placebo muestra una dispersión más aleatoria al cabo de 8 días, con un 33% de los individuos caracterizados por una flora intermedia y un 11% por una vaginosis.

Análisis estadístico de las puntuaciones de Nugent el día 8.

Puntuación de Nugent el D8	Media	Desviación típica	Intervalo
Activos (8)	1	1	[0-2]
Placebos (9)	3	3,67	[0-6,6]

15 Se observa una mayor variabilidad de las puntuaciones de Nugent en el grupo de placebo frente al grupo activo. La desviación típica es efectivamente 2,5 veces mayor en la población de placebo.

Evolución cinética de las puntuaciones de Nugent del grupo activo al cabo de 8 días

	Estabilización de una flora vaginal normal	Recuperación de una flora vaginal normal
Activos (8)	75%	25%

El tratamiento conduce a una puntuación de Nugent que se estabiliza a menos de 3 al cabo de 8 días.

25 Un 75% de los sujetos tienen una puntuación ≤ 1 , un 12,5% de los sujetos tienen una puntuación = 2 y un 12,5% de los individuos tienen una puntuación que va de 5 a 3.

Conclusión:

30 Basándose en esta muestra, el tratamiento tiene un efecto significativo sobre el grupo activo y conduce a restablecer más rápidamente una flora vaginal normal.

Un 11% de los individuos de placebo recaen en vaginosis al cabo de 8 días.

ANÁLISIS DEL pH VAGINAL

35 El pH fisiológico de la mucosa vaginal es ácido y del orden de 4,5.

Una vaginosis se caracteriza por un pH superior.

40 Comparación de la evolución del pH vaginal entre el grupo activo y el placebo

Sujetos	pH $\leq$ 4		pH>4	
	D0	D8	D0	D8
Activos	50%	71%	50%	29%
placebos	55%	33%	45%	67%

Al cabo de 8 días:

5 El pH vaginal de los sujetos activos tiende a disminuir al cabo de 8 días de tratamiento frente a los sujetos de placebo, en que se observa un efecto inverso.

Variación del pH vaginal en los sujetos activos entre el día 0 y el día 8.

	A1	A3	A4	A5	A7	A8	A9
$\Delta\text{pH (D0-D8)}$	0	-1	0,5	0	2	2	0

10 Variación del pH vaginal en los sujetos de placebo entre el día 0 y el día 8.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
$\Delta\text{pH (D0-D8)}$	-2	0	1,5	-1	-0,5	0	0	0	0

Un 86% de los sujetos activos muestran o bien una estabilización o bien una disminución del pH vaginal.

15 Un 28% tienen un pH final igual a 5.

Un 66% de los sujetos de placebo muestran o bien una estabilización o una disminución del pH vaginal, sabiendo que en un 66% de los casos este pH final es superior o igual a 4,5.

20 *Conclusión:*

Basándose en esta muestra, el tratamiento tiene un efecto significativo sobre el grupo activo y conduce a:

- 25
- favorecer una disminución del pH para acercarse a los valores fisiológicos (4-4,5) o,
 - mantener un pH vaginal fisiológico recuperado por el tratamiento antibiótico.

La estabilidad o disminución del pH vaginal en los sujetos de placebo solo alcanza un valor fisiológico en un 33% de los casos.

30 - El efecto del tratamiento sobre los sujetos activos tiene un efecto positivo significativo sobre la calidad de la flora y del pH vaginal.

35 - Se observa una correlación global entre la tendencia a una flora normal y la tendencia a un pH ácido que refleja la predominancia de bacteria lácticas "comensales".

Ejemplo 9: Dosificación de isoflavonas

40 El objetivo de este estudio era ensayar la presencia de prebióticos e isoflavonas en la sangre de conejos después de la administración tópica de una composición según la invención.

45 Dos conejos por grupo recibieron una vez al día durante 8 días una aplicación tópica intravaginal de gel de control (vaselina) y de gel según el ejemplo 1 (gel que contiene GOS al 5% y extracto vegetal que contiene isoflavonas al 2%). Se extrajeron muestras de sangre un día antes de las aplicaciones T_0 y un día después del final de las aplicaciones T_8 .

50 Mediante HPLC, no fue posible detectar la presencia de isoflavonas (diadzeína, genisteína y formononetina) o de GOS en el plasma de los conejos del grupo tratado y del grupo de control. A modo de control positivo, el extracto vegetal utilizado en las composiciones comprende 2 ppm de diadzeína, 11 ppm de genisteína y 9 ppm de formononetina.

Las composiciones tienen por tanto únicamente un efecto tópico, no absorbiéndose los componentes activos, GOS e isoflavonas y no teniendo efecto sistémico. El efecto de las isoflavonas no es por tanto un efecto "de tipo hormonal".

REIVINDICACIONES

1. Composición para utilización en una administración tópica en la prevención y el tratamiento de desequilibrios de la microflora vaginal, caracterizada porque comprende:
5
- un prebiótico elegido entre glucooligosacáridos (GOS), fructooligosacáridos (FOS) y sus mezclas, y
- un extracto vegetal que contiene isoflavonas elegidas entre formonnetina, biocanina A, genisteína, daidzeína, genistina, daidzina, equol y sus mezclas.
10
2. Composición según la reivindicación 1 para utilización en la prevención y el tratamiento de vaginosis bacterianas, candidiasis vaginales y micosis vaginales.
3. Composición según la reivindicación 1 para utilización en la recuperación de una flora vaginal beneficiosa después de un tratamiento antibiótico.
15
4. Composición según la reivindicación 1 para utilización en la recuperación de un pH vaginal fisiológico del orden de 4,5.
- 20 5. Composición según la reivindicación 1 para utilización en la higiene y el cuidado vaginal en una administración vaginal tópica.
6. Composición según la reivindicación 1 para utilización en el mantenimiento de una microflora vaginal beneficiosa.
- 25 7. Composición según la reivindicación 1 para utilización en el mantenimiento del pH vaginal a un pH fisiológico del orden de 4,5.
8. Composición según una de las reivindicaciones 1-7, caracterizada porque comprende de 0,5 a 7% de prebiótico y de 0,5 a 5% de extracto vegetal que contiene isoflavonas.
30
9. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el extracto vegetal comprende al menos 10 ppm de isoflavonas.
- 35 10. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el extracto vegetal se elige entre los extractos de soja (*Glycine max*), los extractos de trébol (*Trifolium sp.*) y sus mezclas.
11. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el extracto vegetal es un extracto de trébol elegido entre las variedades *Trifolium subterraneum L.*, *Trifolium repens L* y *Trifolium pratense L.*
- 40 12. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el extracto vegetal es un extracto de *Trifolium pratense L* que contiene al menos genisteína, daidzeína y formonnetina.
13. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el prebiótico comprende un GOS α -1,6/ α -1,4 que tiene un grado de polimerización de al menos 4.
45
14. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el prebiótico comprende un FOS que comprende una mezcla de FOS que tienen un grado de polimerización de 4, 5 y 6.
- 50 15. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque la composición está en forma de un gel vaginal, jabón, pulverizador o crema para aplicación vaginal.

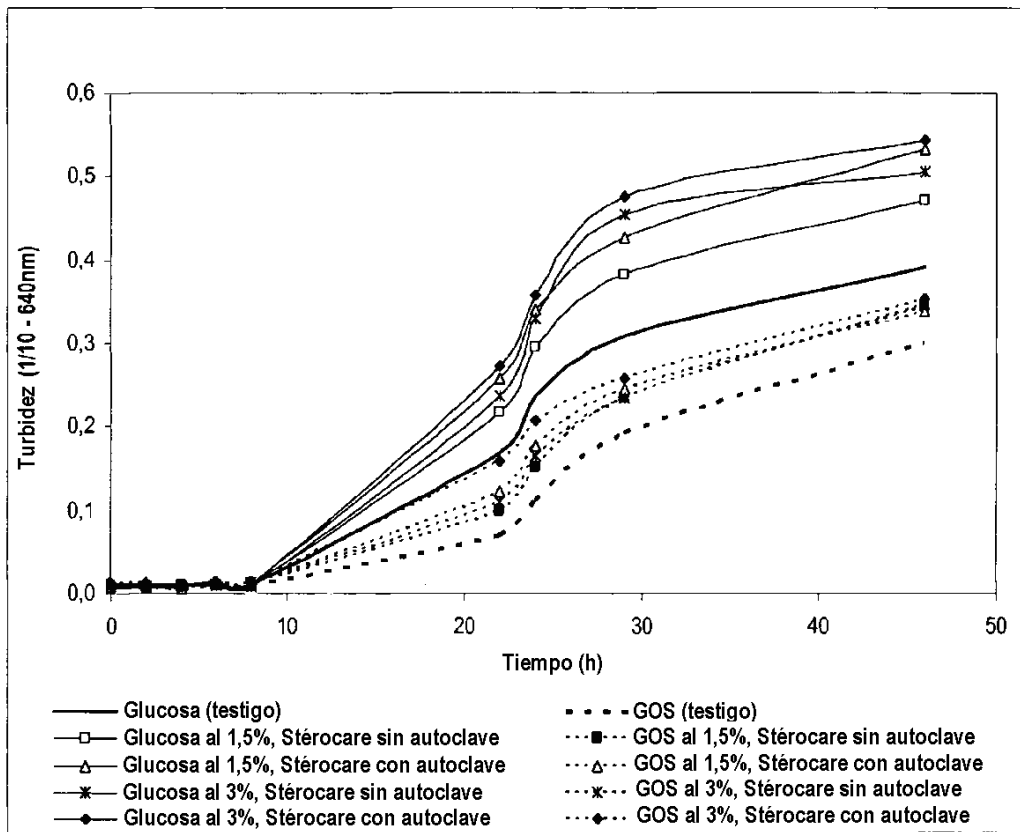


Figura 1

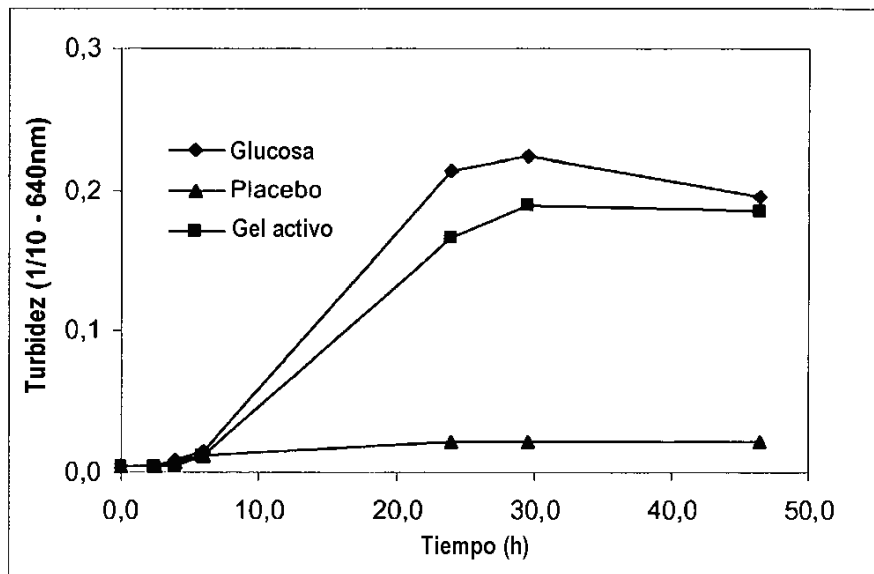


Figura 2