

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 523 968**

51 Int. Cl.:

A61K 31/336 (2006.01)

A61K 31/4174 (2006.01)

A61K 31/42 (2006.01)

A61K 38/12 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2009 E 09784726 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.08.2014 EP 2328573**

54 Título: **Terapia de combinación antibacteriana para el tratamiento de infecciones por bacterias Gram-positivas**

30 Prioridad:

18.07.2008 GB 0813211

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

03.12.2014

73 Titular/es:

**E-THERAPEUTICS PLC (100.0%)
17 Blenheim Office Park, Long Hanborough
Oxfordshire OX29 8LN , GB**

72 Inventor/es:

**YOUNG, MALCOLM, PHILIP y
THOMAS, CATHERINE, MARY**

74 Agente/Representante:

TRULLOLS DURÁN, María Del Carmen

ES 2 523 968 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

Terapia de combinación antibacteriana para el tratamiento de infecciones por bacterias Gram-positivas

5 **Campo de la invención**

La presente invención proporciona un producto que comprende una combinación sinérgica de un imidazol terapéuticamente activo y una membrana de la célula bacteriana o agente activo de la pared celular, o un derivado o un metabolito del mismo, como preparación combinada para el tratamiento de infecciones causadas por o a las que contribuyen bacterias Gram-positivas.

Antecedentes

Las bacterias Gram-positivas, tales como estafilococos, enterococos y clostridios, son patógenos extremadamente importantes tanto en medicina humana como en veterinaria. En los Estados Unidos, entre 1995 y 1998, en el 60 % de las infecciones sanguíneas hospitalarias participaron bacterias Gram-positivas. Este porcentaje continúa aumentando. El desarrollo de resistencia a antibióticos entre bacterias Gram-positivas complica el tratamiento y puede conducir a elevada morbilidad y mortalidad.

La resistencia a antibióticos en bacterias se ha seleccionado por medio del uso prolífico de estos fármacos tanto en medicina humana como en la cría de animales, prácticas indiscriminadas de recetar y falta de conformidad del paciente con las pautas de tratamiento. La opciones terapéuticas para el tratamiento de tales microorganismos resistentes a fármacos, especialmente bacterias Gram-positivas, están siendo cada vez más limitadas. El problema de la resistencia a antibióticos se agrava por la propagación de los organismos resistentes a fármacos, y la diseminación de genes de resistencia entre las bacterias. La amenaza para el tratamiento satisfactorio de infecciones bacterianas propuesta por el desarrollo y propagación de la resistencia a antibióticos es uno de los problemas más significativos dentro del cuidado sanitario y la medicina veterinaria.

Estafilococos

Los estafilococos son causas importantes de infección grave asociada al cuidado sanitario (HAI). Entre ellas destacan las cepas de *Staphylococcus* que han desarrollado u obtenido niveles variables de resistencia a antibióticos tales como la metilicina. Estos organismos difíciles de tratar son comúnmente conocidos como *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA) y *Staphylococcus epidermidis* resistente a metilicina (MRSE). Aproximadamente el 80 % de las cepas aisladas de *S. epidermidis* de infecciones asociadas a dispositivos son resistentes a metilicina (MRSE), además de ser multirresistentes. La resistencia a múltiples antibióticos y la capacidad de *S. epidermidis* para formar biopelículas sobre superficies inertes agravan los retos de tratar infecciones producidas por estos organismos.

En los EE.UU., más del 50 % de las cepas aisladas clínicas de *S. aureus* son resistentes a la β -lactama metilicina (NNIS, 2004). Similarmente, informes de *S. aureus* resistente a metilicina (MRSA) en animales se han convertido en más frecuentes en los últimos años (O'Mahony y col., 2005); MRSA se ha aislado de perros, gatos, ganado vacuno, ovejas, pollos, conejos y caballos (Devriese y Hommez, 1975, Hartmann y col., 1997, Pak y col., 1999, Tomlin y col., 1999, Lee, 2003, Goni y col., 2004, y Weese 2004).

En tanto la medicina humana como en la veterinaria, son un problema significativo las biopelículas bacterianas (comunidades estructuradas de células bacterianas encerradas en una matriz polimérica auto-producida y adherente a una superficie inerte o viva (Costerton y col., 1999)). En la cría de animales, las biopelículas bacterianas pueden desarrollarse sobre la instrumentación de procesamiento de aves de corral (Arnold y Silvers, 2000) y puede producir el fallo del tratamiento de mastitis en vacas infectadas por *S. aureus* (Melchior y col., 2006). En el cuidado sanitario humano, se ha mostrado que biopelículas de bacterias colonizan muchos dispositivos médicos, que incluyen implantes ortopédicos (Bahna y col., 2007). En el RU, el 35 % de la infección de las prótesis de cadera es atribuible a *S. aureus*, que produce aflojamiento séptico, falta de unión de la fractura y osteomielitis (Sanderson, 1991). La asociación de MRSA con el uso de dispositivos ortopédicos es extremadamente problemática debido al elevado espectro de resistencia de este organismo, además de la protección del sistema inmunitario dada por la fase de crecimiento de la biopelícula, que frecuentemente necesita la eliminación de un dispositivo contaminado, causando adicionalmente traumatismo al paciente y aumentando los costes médicos. La colonización con MRSA es el precursor general al desarrollo de una infección por MRSA, por lo que las intervenciones que reducen los niveles de colonización humana o la colonización de superficies tales como dispositivos médicos reducirán la propagación de infecciones en centros sanitarios.

La adquisición de resistencia a la metilicina entre especies estafilocócicas no solo descarta el uso de todos los antibióticos β -lactámicos actualmente disponibles, sino que también se asocia comúnmente a resistencia a múltiples clases de fármacos.

La resistencia a la meticilina en estafilococos se desarrolla por la alteración de la diana del fármaco. Los antibióticos β -lactámicos, tales como la meticilina, actúan sobre cepas sensibles uniéndose a e inhibiendo proteínas llamadas "proteínas de unión a penicilina". La resistencia a la meticilina en estafilococos se produce por la alteración de una de estas proteínas, PBP2', de manera que las β -lactamas se unen poco a ella. Esto hace que la bacteria se vuelva resistente a todos los fármacos β -lactámicos actualmente disponibles. Las infecciones por MRSA y MRSE pueden tratarse con fármacos de glicopéptido, tales como vancomicina. El aumento en la prevalencia de MRSA y MRSE, además de altos niveles emergentes de resistencia a aminoglucósidos y ampicilina en enterococos, ha producido un aumento en la dependencia de la vancomicina. Esto ha conducido a la posterior aparición de patógenos resistentes a vancomicina. Entre ellos están cepas comúnmente conocidas como *Staphylococcus aureus* de sensibilidad intermedia a vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA), todas las cuales son resistentes a múltiples fármacos y difíciles de tratar. La aparición de VISA y VRSA significa que los antibióticos actuales pueden llegar a ser ineficaces para el tratamiento de infecciones humanas tales como endocarditis, bacteremia y osteomielitis.

La administración de vancomicina a pacientes con infecciones por MRSA recurrentes produce un elevado riesgo de aparición de cepas de VISA o VRSA. La gran mayoría de las infecciones por VISA en los EE.UU. se producen en pacientes con MRSA recurrente tratados con vancomicina (Appelbaum, 2006). Aunque una espectacular reducción en el uso de glicopéptidos tales como vancomicina reduciría la aparición y propagación de VISA y VRSA, esto no es práctico sin el uso de compuestos alternativos que no promueven la aparición de multirresistencia.

Clostridios

Los clostridios son bacterias Gram-positivas resistentes a múltiples fármacos que se están convirtiendo en una de las infecciones asociadas al cuidado sanitario más difíciles de tratar hasta la fecha. La administración de antibióticos de amplio espectro, tales como ampicilina, amoxicilina y las cefalosporinas, desempeña una función clave en el desarrollo de diarrea asociada a *Clostridium difficile* (CDAD). Se cree que la presencia de un gran número de elementos genéticos móviles dentro del genoma de *C. difficile* es responsable de la resistencia a múltiples fármacos observada en esta especie. El uso de antibióticos de amplio espectro reduce la colonización bacteriana en el intestino, permitiendo el crecimiento en exceso de *C. difficile*. *Clostridium difficile* es extremadamente resistente; formando esporas, puede sobrevivir extremos de temperatura, etanol y antibióticos, y así es muy difícil de tratar. Uno de los retos clave en el tratamiento de *C. difficile* es el hecho de que puede formar estas esporas altamente resistentes. Como tal, el tratamiento con antibióticos produce comúnmente la inhibición de las células de *Clostridium* que crecen activamente, pero no de las esporas vegetativas. Las esporas permanecen en el intestino de un mamífero después del tratamiento y pueden entonces germinar produciendo una nueva infección por *C. difficile*. Actualmente, los antibióticos de elección para el tratamiento de *C. difficile* son metronidazol y luego vancomicina si el metronidazol es ineficaz. Sin embargo, ninguno de estos fármacos puede inhibir el crecimiento de esporas de *Clostridium*, y como tal la prevalencia de recaídas en infección por *C. difficile* después del tratamiento se estima en aproximadamente el 55 % de todos los casos.

Inicialmente, se usó vancomicina oral como elección primaria de fármaco en el tratamiento de CDAD, pero debido al riesgo de promoción y selección de flora intestinal resistente a vancomicina (tal como enterococos), la vancomicina solo se recomienda para casos que no responden al tratamiento primario (metronidazol). Recientemente, se ha informado de resistencia a la vancomicina y metronidazol en cepas aisladas de *C. difficile*, y se ha mostrado que el uso de estos agentes aumenta la densidad de enterococos resistentes a vancomicina (VRE) en las heces de pacientes colonizados.

En resumen, hay tres factores clave a considerar cuando se diseñan agentes terapéuticos novedosos para el tratamiento de clostridios, éstos son:

1. El fármaco debe poder destruir los clostridios que crecen activamente multirresistentes para proporcionar alivio eficaz al paciente de la enfermedad.
2. El fármaco debe poder prevenir el crecimiento de esporas de clostridio para minimizar la probabilidad de una recaída.
3. Es preferible un fármaco que no promueva la propagación de resistencia a la vancomicina.

Enterococos

El desarrollo de enterococos resistentes a la vancomicina (VRE) en los últimos años es de gran importancia. Los enterococos se consideraron una vez como habitantes inocuos de la flora intestinal humana y animal, pero ahora han adquirido resistencia a múltiples clases de antibióticos, que incluyen el fármaco de último recurso, vancomicina. En los EE.UU., la prevalencia de *Enterococcus faecium* que presenta resistencia a la vancomicina aumentó del 26,2 % en 1995 a aproximadamente el 70 % en 2004, haciéndolo uno de los patógenos más temidos en los hospitales de los EE.UU.

La adquisición de resistencia a la vancomicina entre algunas cepas de enterococos está asociada a resistencia a múltiples clases de fármacos debido a la naturaleza secuencial a la que estas cepas han adquirido resistencia a

cada nueva exposición a antibiótico.

Genotipos y fenotipos de Gram-positivas resistentes a múltiples fármacos

- 5 MRSA, MRSE, VISA, VRSA y VRE son genotípica y fenotípicamente distintas de otros estafilococos y enterococos sensibles, tendiendo a formar linajes clónicos discretos.

10 Los clones más prevalentes de MRSA en el RU son EMRSA-15 y EMRSA-16; EMRSA-16 se considera endémico en la mayoría de los hospitales del RU. Estos clones de MRSA se diferencian de otros estafilococos por la presencia de un casete de varios genes (el casete génico SCCmec), y son comúnmente resistentes a muchas clases diferentes de antibióticos, además de metilina. Este casete génico contiene los genes para resistencia a la metilina, además de genes importantes para permitir que el casete se mueva entre cepas; comúnmente contiene muchos otros genes que codifican resistencia a otras clases de antibióticos. Una comparación genética entre una cepa de EMRSA-16 y una cepa estafilocócica sensible reveló que la cepa de MRSA contuvo 106 genes adicionales, muchos de los cuales fueron importantes para la virulencia y resistencia a fármacos de la cepa.

15 Similarmente, los brotes de VRE y clostridio son comúnmente clónicos, siendo el casete del gen *vanA* (que codifica precursores de la pared celular que no se unen a vancomicina) el mecanismo de resistencia genética más prevalente en brotes de VRE. En el RU se estima que solo 3 cepas clónicas de *C. difficile* son responsables de aproximadamente el 75 % de todos los casos de CDAD.

Mecanismos de resistencia a fármacos

25 La resistencia a fármacos puede ser específica, es decir, particular para un cierto fármaco o clase de fármacos, o no específica porque la resistencia se aplica a una gama de fármacos, no necesariamente relacionados.

En el caso de VISA, un aumento en el espesor de la pared celular es un contribuyente importante a la resistencia a fármacos observada.

30 VISA y VRSA pueden definirse como cualquier cepa estafilocócica con una CIM de vancomicina de 4-8 mg/l (VISA) o mayor o igual a 8 mg/l (VRSA). Estos niveles de resistencia pueden ser debidos a un aumento en el espesor de la pared celular, por la producción de precursores de la pared celular incapaces de unirse a vancomicina, o mediante otro mecanismo. Organismos Gram-positivos sintetizan precursores de la pared celular que terminan en D-ala-D-ala, mientras que los organismos Gram-positivos resistentes a la vancomicina, tales como VISA, VRSA y VRE, sintetizan, por ejemplo, precursores de D-ala-D-lac. La presencia de resistencia a la vancomicina en cepas estafilocócicas y enterocócicas puede identificarse por la medición de la CIM para vancomicina por dilución en caldo o agar, o por Etest®, o por la identificación de genes *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, o similares, por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La presente invención también engloba la subclase de cepas VISA que son VISA heterogénea (hVISA); éstas son *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina susceptible a la vancomicina por prueba convencional, pero tienen una sub-población de células de resistencia intermedia. Se cree que las cepas de hVISA son los precursores de VISA.

Tratamiento de infecciones por Gram-positivas resistentes a múltiples fármacos

45 El tratamiento de infecciones humanas producidas por MRSA, MRSE, VISA, VRSA y VRE refleja las diferencias genotípicas y fenotípicas explicadas resumidamente anteriormente, y requiere mayor inversión en la infraestructura hospitalaria, instalaciones para el aislamiento de pacientes y medidas de control de la infección que para otras cepas de estafilococos y enterococos. La facilidad con la que *Clostridium difficile* puede propagarse dentro del entorno hospitalario, y la capacidad de la bacteria para formar esporas altamente resistentes, significa que las infecciones por *C. difficile* también requieren medidas de control de la infección más exhaustivas que aquellas requeridas para la mayoría de otras infecciones por Gram-positivas; cálculos estimados de costes recientes atribuibles a CDAD en el RU y los EE.UU. superaron los 4.000 dólares americanos por caso.

55 Las opciones de tratamiento para infecciones a las que contribuyen o producidas por VISA, VRSA y VRE están ahora gravemente limitadas. Se ha descrito la resistencia contra los dos antibióticos más nuevos para VRE (quinupristina-dalfopristina y linezolid); linezolid ya se ha asociado a fracaso del tratamiento en infecciones por VRE. Hay una necesidad urgente de descubrir nuevos compuestos que inhiban o destruyan tales organismos, y de limitar el desarrollo y propagación de estos patógenos multirresistentes.

60 El actual tratamiento para *Clostridium difficile* no siempre es eficaz; hay cada vez más informes de infección recurrente y desarrollo de resistencia. CDAD vuelve a repetirse después del tratamiento en hasta el 55 % de los pacientes. Debido a las opciones terapéuticas limitadas para el tratamiento de CDAD y la alta tasa de reaparición, se necesitan urgentemente nuevas estrategias terapéuticas que se dirijan tanto a las células bacterianas en crecimiento como a las esporas vegetativas.

65

Se ha encontrado que ciertos imidazoles y/o sus derivados pueden inhibir el crecimiento de *Clostridium difficile* (George, 1979), MRSA (Lee y Kim, 1999) y/o VISA, VRSA y VRE. Sin embargo, la identificación de compuestos que actúan sinérgicamente con estos fármacos (los imidazoles) significa que pueden usarse menores concentraciones del fármaco original (reduciendo así los efectos secundarios no deseables de los imidazoles) y prolongando la vida del tratamiento del fármaco (por ejemplo, una combinación sinérgica de dos fármacos requerirá resistencia para desarrollarse en ambos componentes antes de que la combinación se vuelva ineficaz). Si la tasa espontánea de desarrollo de resistencia en un organismo es 10^8 , el desarrollo de resistencia a la combinación de dos compuestos será aproximadamente 10^{64} , por tanto, el riesgo de desarrollo de resistencia es espectacularmente menor.

La sinergia entre antibióticos puede producirse cuando dos antibióticos se dirigen a proteínas bacterianas dentro de la misma ruta metabólica. Trimetoprim y sulfametoxazol se administran comúnmente juntos como el co-trimoxazol debido a que se dirigen a dos enzimas diferentes en la ruta de la síntesis del ácido fólico bacteriano. También puede producirse sinergia cuando un mecanismo de resistencia, tal como una bomba de salida, se inhibe, permitiendo la acumulación de un antibiótico que si se administra individualmente, puede eliminarse por la bomba de salida. No se conoce ninguna técnica por la que predecir que dos compuestos actuarán sinérgicamente para dar un efecto antibacteriano superior a la suma de los efectos de los fármacos individuales, a menos que el mecanismo de acción de cada agente sea conocido, e incluso entonces, no se garantiza la sinergia. Similarmente, si un compuesto actúa sinérgicamente con un antibiótico particular, no puede predecirse que una combinación con un antibiótico que actúa sobre diferentes dianas bacterianas o sobre diferentes cepas bacterianas también presente sinergia.

Se sabe que la bacitracina y el miconazol actúan sinérgicamente contra *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* (Cornelissen y Bossche, 1983). Sin embargo, cuando esta combinación se probó contra cepas resistentes a múltiples fármacos tales como MRSA y VISA (esta memoria descriptiva, Tabla 3), no se produjo sinergia. Esto resalta el hecho de que las diferencias fenotípicas y genotípicas entre cepas sensibles y resistentes previenen la predicción de sinergia a partir de datos generados de cepas sensibles. Adicionalmente, no todos los agentes activos de la pared o membrana celular demostrarán sinergia con miconazol u otros imidazoles cuando se usen para destruir o inhibir el crecimiento de bacterias.

Se sabe que la nisina tiene actividad *in vitro* contra *C. difficile* (Bartoloni A y col., 2004; Kerr y col., 1997) y se desvela la posibilidad de que la nisina y la vancomicina sean sinérgicas. Sin embargo, como se ha descrito anteriormente, esta información no permite predicciones de sinergia de la nisina con otros antibióticos, especialmente ya que hay una falta de claridad sobre el modo exacto de acción del miconazol contra *Clostridium*. Por ejemplo, la nisina no actúa sinérgicamente con otros antibióticos tales como la bacitracina y el cloranfenicol, que al igual que la vancomicina, también actúan sobre la pared celular (el cloranfenicol produce una acumulación de peptidoglicano de la pared celular). De hecho, se encontró que la nisina antagonizaba la actividad antibacteriana del cloranfenicol, por consiguiente no puede predecirse que se produzca sinergia con nisina y miconazol.

Similarmente, se sabe que la fosfomicina, y derivados de la misma, es activa contra algunas bacterias Gram-positivas sensibles, y se ha mostrado sinergia con algunos antibióticos (tales como rifampicina y linezolid), pero no con otros antibióticos (por ejemplo, vancomicina) (Grif y col., 2001). Esto demuestra que la detección de sinergia con algunos antibióticos no puede usarse para generar predicciones generales de sinergia con otros fármacos.

La presente invención desvela el conocimiento de que la combinación de ciertos imidazoles con uno o más agentes específicos activos sobre una membrana de célula bacteriana o pared de célula bacteriana es capaz de inhibir el crecimiento de MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios a concentraciones espectacularmente menores que cualquier agente usado individualmente, o su efecto aditivo. La combinación de miconazol con nisina demuestra sorprendentemente sinergia contra las células que crecen activamente, pero un beneficio adicional de esta combinación es que el componente de nisina también actúa sobre las células vegetativas, inhibiendo su crecimiento, reduciendo así la probabilidad de una recaída en la infección.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un tratamiento nuevo y eficaz para infecciones a las que contribuyen o producidas por bacterias Gram-positivas difíciles de tratar, tales como, MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios.

Resumen de la invención

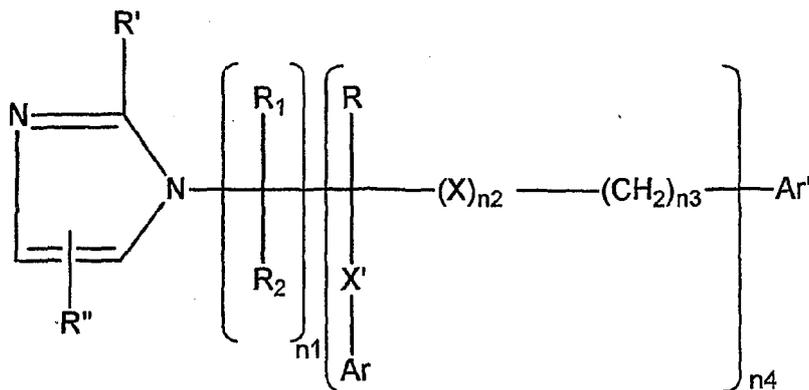
En un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un imidazol terapéuticamente activo, y derivados del mismo, y un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina y polimixina B, y derivados de los mismos.

Una célula bacteriana tiene una estructura interna (que comprende ADN, ribosomas, gránulos de almacenamiento y algunas veces endosporas) y una estructura superficial (que comprende una pared celular y una membrana celular, y en algunas bacterias, una cápsula, membrana externa y espacio periplásmico). Así, el término "un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana", usado en el presente documento, se refiere a un agente que ejerce sus efectos sobre la célula bacteriana, actuando sobre uno o más componentes de la superficie de la célula bacteriana,

tales como la pared celular o la membrana celular, etc.

Estos agentes, y derivados de los mismos, son ventajosos, entre otras cosas, de los siguientes modos, la nisina forma poros en la membrana de la célula bacteriana; la colistina y/o polimixina B rompen la membrana de la célula bacteriana, por ejemplo, mediante un mecanismo similar a detergente; la D-cicloserina interfiere con una etapa temprana en la síntesis de la pared de la célula bacteriana en el citoplasma por inhibición competitiva de dos enzimas; y la fosfomicina previene la formación de ácido N-acetilmurámico, un elemento esencial de la pared celular de peptidoglicano de bacterias.

Como ejemplo, mediante la siguiente fórmula general (Fórmula I), se proporcionan compuestos que comprenden un imidazol terapéuticamente eficaz para su uso a propósito de la presente invención:



Fórmula I

en la que R_1 y R_2 se seleccionan independientemente de hidrógeno alquilo inferior, fenilo o fenilo sustituido, en el que dicho fenilo sustituido contiene al menos un sustituyente de fenilo seleccionado del grupo que consiste en halógeno, alquilo inferior y alcoxi inferior;

R se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo inferior, fenilo o fenilo sustituido en el que dicho fenilo sustituido contiene al menos un sustituyente de fenilo seleccionado del grupo que consiste en halógeno, alquilo inferior y alcoxi inferior;

n_1 es cero o 1;

X es oxi, S, NH u O;

n_2 es cero o 1;

n_3 es cero, 1 o 2

X' es S, Oxi o no está presente

Ar se selecciona independientemente del grupo que consiste en fenilo, fenilo sustituido, tienilo y halotienilo, conteniendo dicho fenilo sustituido al menos un sustituyente de fenilo seleccionado del grupo que consiste en halógeno, alquilo inferior y alcoxi inferior; n_4 es cero o 1

Ar' es un miembro seleccionado del grupo que consiste en fenilo, fenilo sustituido y α -tetalilo, conteniendo dicho fenilo sustituido al menos un sustituyente de fenilo seleccionado del grupo que consiste en fenilo, tienilo, fenilo tio, halógeno, alquilo inferior, alcoxi inferior, ciano, nitro y amino;

R' es un miembro seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, metilo y etilo; y R'' es un miembro seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno y metilo; a condición de que:

(i) si X es NH, entonces dicho R es hidrógeno;

(ii) si dicho Ar' es un fenilo sustituido que contiene al menos un sustituyente de fenilo seleccionado del grupo que consiste en nitro y amino, entonces dicho X es oxi y dicho n_3 es cero;

(iii) si dicho Ar' es α -tetalilo, entonces dicho X es NH y dicho n_3 es cero; y

(iv) si X es oxi y dicho Ar' es un miembro seleccionado del grupo que consiste en fenilo y fenilo sustituido que contiene al menos un sustituyente de fenilo seleccionado del grupo que consiste en halógeno, alquilo inferior, alcoxi inferior y ciano, entonces dicho n_3 es distinto de cero; y derivados de los mismos.

Debe entenderse que las expresiones "alquilo inferior" y "alcoxi inferior" engloban hidrocarburos de cadena lineal o ramificada que tienen de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 carbonos, tales como, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, pentilo, hexilo y alquilo similares, y, respectivamente, el alcoxi correspondiente tal como metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, etc.

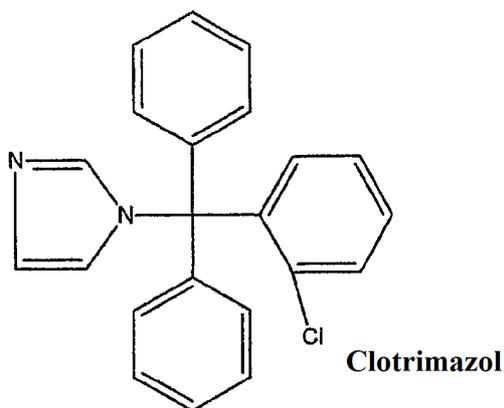
El alquilo inferior y alcoxi inferior preferidos son metilo y metoxi, respectivamente. Además, el término "halo" se refiere a halógenos de peso atómico inferior a 127, es decir, flúor, yodo, bromo y cloro. Fenilos sustituidos preferidos con respecto al símbolo Ar son mono-, di- y trihalo-fenilo, tiol-dihalo-fenilo, alquil inferior-fenilo y alcoxi inferior-fenilo;

y mono-, di- y tri-halofenilo, di-fenilo, tiol-fenilo, alcoxi inferior-fenilo, cianofenilo, mono-, di-nitrofenilo y aminofenilo con respecto al símbolo Ar'.

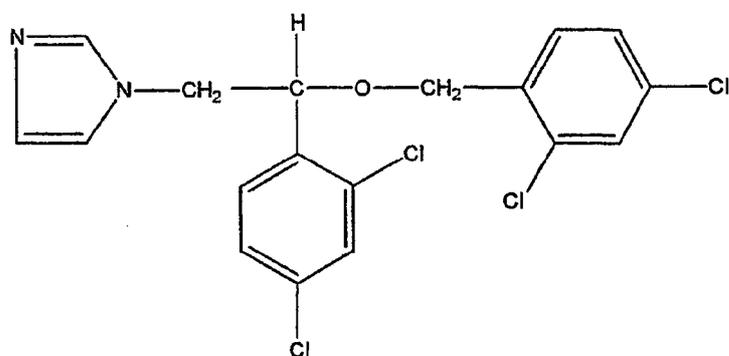
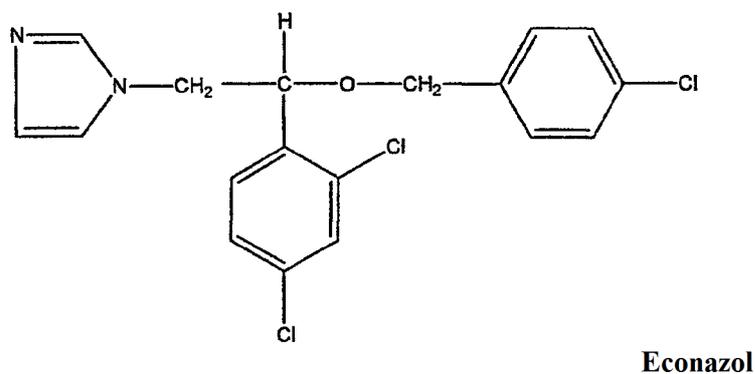
5 Son de particular interés los imidazoles terapéuticamente activos seleccionados del grupo que consiste en clotrimazol, econazol, miconazol, butoconazol, fenticonazol, nitrato de oxiconazol, sertaconazol y sulconazol, y derivados de los mismos.

10 Son especialmente de interés los imidazoles terapéuticamente activos seleccionados del grupo 1-[(2-clorofenil)difenilmetil]-1H-imidazol ($C_{22}H_{17}ClN_2$), clotrimazol; 1-[2-[(4-clorofenil)metoxi]-2-(2,4-diclorofenil)etil]-1H-imidazol ($C_{18}H_{15}Cl_3N_2O$), econazol; y 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(2,4-diclorofenil)metoxi]etil]-1H-imidazol ($C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$), miconazol; y derivados de los mismos.

Las fórmulas para cada uno de estos compuestos son las siguientes:



15



Otros compuestos de imidazol de interés incluyen (\pm)-1-[4-(4-clorofenil)-2-[(2,6-diclorofenil)tio]butil]-1H-imidazol ($C_{19}H_{17}Cl_3N_2S$: butoconazol), 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[[4-feniltio]fenil]metoxi]etil]-1H-imidazol ($C_{24}H_{20}Cl_2N_2OS$: fenticonazol), mononitrato de (Z)-1-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-il)etanona-O-[2,4-diclorofenil]-metil]oxima ($C_{18}H_{14}Cl_4N_4O_4$: nitrato de oxiconazol), 1-[2-[(7-clorobenzotiofen-3-il)metoxi]-2-(2,4-diclorofenil)-etil]imidazol ($C_{20}H_{15}Cl_3N_2OS$: sertaconazol) y 1-[2-[[4-clorofenil]metil]-tio]-2-(2,4-diclorofenil)etil]-1H-imidazol ($C_{18}H_{15}Cl_3N_2S$: sulconazol); y derivados de los mismos.

El término "derivado" incluirá, pero sin limitación, metabolitos, pro-fármacos y/o una sal farmacéuticamente aceptable. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que retienen la eficacia biológica y propiedades de los compuestos descritos en el presente documento y que no son biológicamente o de otro modo no deseables. Pueden formarse sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, las sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato. Ácidos inorgánicos de los que pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares. Los ácidos orgánicos de los que pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, y similares.

Pueden formarse sales de adición de base farmacéuticamente aceptables con bases inorgánicas y orgánicas. Las bases inorgánicas de las que pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, sodio, disodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, aluminio, y similares; particularmente se prefieren las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las bases orgánicas de las que pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas de intercambio iónico básicas, y similares, específicamente tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina y trometamol (trometamina). Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir de un compuesto parental, un resto básico o ácido, por métodos químicos convencionales. Tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, bicarbonato de Na, Ca, Mg o K, o similares), o haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado.

Así, sales preferidas de los imidazoles son generalmente los nitratos. Por tanto, la invención en particular proporciona, por ejemplo, un nitrato de imidazol, tal como nitrato de miconazol ($C_{18}H_{14}Cl_4N_2O \cdot HNO_3$) y nitrato de econazol ($C_{18}H_{15}Cl_3N_2O \cdot HNO_3$). Son sales preferidas de la fosfomicina, por ejemplo, la sal de disodio y la sal de trometamol.

En otra realización preferida, la presente invención proporciona una composición que comprende uno o más de clotrimazol, nitrato de clotrimazol, econazol, nitrato de econazol, miconazol, nitrato de miconazol en combinación con uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina y polimixina B, y derivados de los mismos.

Por consiguiente, y en una realización, la presente invención proporciona una composición que comprende uno o más de clotrimazol, nitrato de clotrimazol, econazol, nitrato de econazol, miconazol, nitrato de miconazol en combinación con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina y polimixina B, y derivados de los mismos, para el tratamiento de una infección a la que contribuyen o producida por bacterias Gram-positivas, tales como, MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y/o Clostridia spp.

En otra realización preferida, la presente invención proporciona una composición que comprende uno o más de clotrimazol, nitrato de clotrimazol, econazol, nitrato de econazol, miconazol, nitrato de miconazol en combinación con uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina y polimixina B, y derivados de los mismos.

Así, según un aspecto particular de la invención, los presentes inventores proporcionan una composición que comprende miconazol, y derivados del mismo, y fosfomicina, y derivados de la misma. La composición según este aspecto de la invención es especialmente adecuada para el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a múltiples fármacos en adultos, por ejemplo, para administración intravenosa.

Según otro aspecto particular de la invención, los presentes inventores proporcionan una composición que comprende miconazol, y derivados del mismo, y nisina, y derivados de la misma. La composición según este aspecto de la invención es especialmente adecuada para el tratamiento de infecciones a las que contribuyen o producidas por los organismos Gram-positivos resistentes a múltiples fármacos del género *Clostridium*.

5 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular un solvato correspondiente de los compuestos descritos en el presente documento, que puede usarse en uno cualquiera de los usos/métodos descritos. El término solvato se usa en el presente documento para referirse a un complejo de soluto, tal como un compuesto o sal del compuesto, y un disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato puede llamarse un hidrato, por ejemplo, un mono-hidrato, di-hidrato, tri-hidrato, etc., dependiendo del número de moléculas de agua presentes por molécula de sustrato.

10 En particular, la presente invención proporciona una composición como se ha descrito anteriormente en este documento para tratar una infección a la que contribuyen o producida por bacterias Gram-positivas.

La presente invención proporciona una composición como se ha descrito anteriormente en este documento para tratar una infección a la que contribuye o producida por una bacteria Gram-positiva difícil de tratar.

15 Las bacterias difíciles de tratar incluyen, pero sin limitación, *Clostridium difficile* y otros organismos resistentes a múltiples fármacos. Tales organismos resistentes a múltiples fármacos incluyen, pero sin limitación, MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y/o *Clostridium*.

20 Además, y en un segundo aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de un sujeto que padece una infección a la que contribuyen o producida por bacterias Gram-positivas como se ha descrito anteriormente en este documento, comprendiendo dicho método la etapa de administrar una cantidad eficaz de un imidazol terapéuticamente activo, y derivados del mismo, y administrar por separado, simultáneamente o secuencialmente un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina y polimixina B, y derivados de los mismos.

25 El método según este aspecto de la invención puede comprender la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un imidazol y una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente activo sobre una pared de la célula bacteriana. Sin embargo, se entenderá por el experto en la materia que, debido a la sinergia que forma un aspecto de la presente invención, pueden contemplarse menores cantidades de las que convencionalmente se sabe que son terapéuticamente eficaces.

30 El método de la invención proporciona particularmente un método de tratamiento de un sujeto que padece una infección a la que contribuyen o producida por uno o más de MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y *Clostridia* spp.

35 En particular, la presente invención se refiere al uso de un compuesto que comprende imidazol como se ha descrito anteriormente en este documento, y derivados del mismo, en combinación con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina, fosfomicina trometamol y polimixina B, y derivados de los mismos, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de infecciones a las que contribuyen o producidas por bacterias Gram-positivas, tales como, MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y/o *Clostridia* spp.

40 Además, los presentes inventores proporcionan el uso de un imidazol terapéuticamente activo, y derivados del mismo, en la fabricación de un medicamento de combinación para tratar una infección, por ejemplo, una infección a la que contribuye o producida por MRSA, reduciéndose así la aparición de VISA o VRSA.

45 Los presentes inventores proporcionan adicionalmente el uso de uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, y derivados de los mismos, en la fabricación de un medicamento de combinación que incluye un imidazol terapéuticamente activo, y derivados del mismo, para tratar una infección, por ejemplo, una infección a la que contribuyen o producida por bacterias Gram-positivas, tales como MRSA, reduciéndose así la aparición de VISA o VRSA.

50 Además, los presentes inventores proporcionan el uso de un imidazol terapéuticamente activo, y derivados del mismo, en la fabricación de una medicamento de combinación para tratar una infección, por ejemplo, una infección a la que contribuye o producida por *Clostridium* spp. que inhibe tanto las células bacterianas en crecimiento como las esporas vegetativas, minimizando así la probabilidad de una recaída en la infección.

55 Los presentes inventores proporcionan adicionalmente una terapia de combinación que comprende un agente que puede prevenir el crecimiento de esporas clostridiales y un agente capaz de inhibir el crecimiento de células bacterianas y el crecimiento de esporas bacterianas. Según este aspecto de la invención, el agente que puede prevenir el crecimiento de esporas clostridiales puede ser uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina, fosfomicina trometamol, fosfomicina disódica y polimixina B, y derivados de los mismos. Un agente capaz de inhibir el crecimiento de células bacterianas y el crecimiento de esporas bacterianas puede ser un imidazol como se ha descrito anteriormente en este documento, y derivados del mismo.

65 Los presentes inventores proporcionan especialmente una terapia de combinación según este aspecto de la invención para tratar una infección, por ejemplo, una infección a la que contribuyen o producida por *Clostridium* spp., minimizando así la probabilidad de una recaída en la infección.

Los presentes inventores proporcionan adicionalmente el uso de un agente que puede prevenir el crecimiento de esporas clostridiales en la fabricación de un medicamento de combinación con un imidazol terapéuticamente activo para inhibir el crecimiento de células bacterianas y el crecimiento de esporas bacterianas para tratar una infección, por ejemplo, una infección a la que contribuyen o producida por *Clostridium* spp., minimizando así la probabilidad de una recaída en la infección.

A modo de ejemplo solo, la presente invención proporciona una combinación sinérgica que comprende miconazol, y derivados del mismo, y fosfomicina, y derivados de la misma, que puede administrarse por vía intravenosa para el tratamiento de una infección producida por un organismo Gram-positivo resistente a múltiples fármacos (por ejemplo, MRSA).

En un ejemplo preferido, según este aspecto de la invención, la administración intravenosa de la combinación sinérgica de miconazol y fosfomicina como se ha descrito anteriormente en este documento puede administrarse a un paciente con una infección a la que contribuye o producida por un organismo Gram-positivo resistente a múltiples fármacos (por ejemplo, MRSA, MRSE, VRE, VISA o VRSA) de forma que las concentraciones en suero de miconazol y fosfomicina alcancen una concentración mínima de 2 mg/l y 5 mg/l, respectivamente. Las dosis diarias exactas requeridas para lograr estas concentraciones eficaces dependerán de, entre otras cosas, la formulación particular usada.

Así, en un ejemplo preferido, se sugiere una administración intravenosa de 200 a 3600 mg/día de miconazol, y derivados del mismo (que puede dividirse en 3 dosis), con una cantidad de fosfomicina, y derivados de la misma, suficiente para ser eficaz en proporcionar sinergia para el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a múltiples fármacos en adultos. Una dosis sugerida para administración intravenosa de fosfomicina es de 100 a 5000 mg de STD como fosfomicina disódica. Para niños (1 año-2 años) se sugieren de 20 a 40 mg/kg/día (máx, 15 mg/kg/dosis) de miconazol con una cantidad (sinérgica) eficaz de fosfomicina administrada por vía intravenosa. Se entenderá que la composición para administración intravenosa puede comprender derivados de miconazol y fosfomicina como se ha descrito anteriormente en este documento, pero el cálculo de dosificación definido anteriormente en este documento debe basarse en miconazol y fosfomicina, respectivamente.

Para el tratamiento de infecciones a las que contribuyen o producidas por los organismos Gram-positivos resistentes a múltiples fármacos del género *Clostridium*, los presentes inventores proporcionan particularmente una combinación sinérgica que comprende miconazol, y derivados del mismo, y nisina, y derivados de la misma, que puede administrarse opcionalmente por vía oral para el tratamiento de la infección. Así, en un ejemplo preferido, la combinación sinérgica de miconazol, y derivados del mismo, con nisina, y derivados de la misma, puede administrarse por vía oral para tratar una infección producida por *C. difficile*. Una ventaja de esta combinación sinérgica es, entre otras cosas, la actividad de la combinación de fármacos sobre tanto las células de *C. difficile* que crecen activamente como sus esporas. Este enfoque novedoso reduce la probabilidad de recaída del paciente, debido a que la inhibición de las esporas bacterianas prevendrá el recrecimiento del organismo.

Una dosis adecuada para el tratamiento de infecciones por *Clostridium* determinada como concentraciones para la luz intestinal es de 0,12 a 64 mg/l de miconazol y de 0,12 a 50 mg/l de nisina. Las dosis diarias exactas para lograr tales concentraciones dependerán, entre otras cosas, de la naturaleza del dispositivo de administración.

Los dispositivos para la administración de una concentración tal a la luz intestinal incluyen, pero sin limitación, los siguientes:

1. Administración específica para el colon que comprende perlas de pectina reticuladas con cinc o cualquier catión divalente, trivalente o policatiónico de interés, en el que las perlas pueden estar opcionalmente recubiertas con un polímero policatiónico, y/o recubiertas con cualquier polímero adecuado para la administración a la parte deseada del tubo gastrointestinal tal como polímeros tipo Eudragit®.

2. Pueden usarse sistemas de administración sostenida, a condición de que al menos consigan pasar el estómago sin afectar adversamente al (a los) agente(s) activo(s). Por ejemplo, los agentes activos pueden mezclarse con un polímero que se degrada o disuelve con el tiempo, liberando el agente activo. Estos tipos de sistemas se recubren frecuentemente con un recubrimiento entérico, para conseguir pasar el estómago, y liberan los agentes a lo largo del tubo gastrointestinal.

3. La administración específica para el colon puede obtenerse formulando el agente activo con polímeros específicos que se degradan en el colon, tales como pectina. La pectina está reticulada con un catión tal como un catión cinc. La formulación, normalmente en forma de perlas de pectina iónicamente reticuladas, puede recubrirse adicionalmente con un polímero adecuado, tal como polilisina, quitina o polietilenimina, y/o recubrirse con un polímero específico, tal como un polímero Eudragit®.

Los sistemas de administración de fármaco pueden formularse según las enseñanzas de, por ejemplo, la solicitud de patente de EE.UU. n° de serie 10/524.318, la solicitud de patente de EE.UU. n° de serie 60/651.352 y la solicitud de patente internacional n° WO 2009/037264.

En una realización preferida, el miconazol y la nisina en una formulación oral que comprende un recubrimiento entérico y diseñado para degradarse específicamente en el colon se usan para administrar una cantidad eficaz de fármaco para inhibir tanto *C. difficile* en crecimiento como sus esporas vegetativas. A modo de un segundo ejemplo, el clotrimazol, y derivados del mismo, puede administrarse por vía oral en combinación con nisina para tratar infecciones causadas por o a las que contribuye *C. difficile*. El clotrimazol es bien absorbido en seres humanos tras la administración por vía oral y se elimina principalmente como metabolitos inactivos. La administración por vía oral de dosis de 1,5-3-g de clotrimazol dio una semivida de aproximadamente 3 horas; la administración de una vez o dos veces al día por vía oral formulada como una combinación sinérgica con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina, fosfomicina trometamol o polimixina B, o un derivado o un metabolito de los mismos, puede ser adecuada para el tratamiento de infecciones por Gram-positivas multirresistentes con clotrimazol. Se contempla una combinación adecuada de 1,5 a 3 g de clotrimazol con una concentración eficaz de nisina para el tratamiento oral de infecciones por Gram-positivas resistentes a múltiples fármacos, tales como *Clostridia* spp, especialmente *C. difficile*.

Ventajosamente, las combinaciones sinérgicas que comprenden imidazol, o derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, o un derivado de los mismos, puede administrarse por vía oral, por vía tópica al sitio de una infección, por vía transmucosa, por vía transdérmica o por vía intravenosa. Por consiguiente, las combinaciones sinérgicas que comprenden un imidazol, y derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, y derivados de los mismos, pueden formularse como nanopartículas poliméricas tales como alginato o nanopartículas de polilactida-co-glicolida, o como composiciones farmacéuticas estériles que comprenden un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Tales vehículos o excipientes son muy conocidos para un experto en la materia y pueden incluir, por ejemplo, agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas del suero, tales como albúmina de suero, sustancias de tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, ácido láctico, sales en agua o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, ciclodextrinas, tales como α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, sulfobutiléter- γ - β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliácridatos, ceras, polímeros de bloques de polietileno-polipropileno, polietilenglicol y lanolina y similares, y combinaciones de los mismos.

Pueden administrarse combinaciones sinérgicas que comprenden imidazol, o derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, o derivados de los mismos, en combinación con otro tratamiento. Por ejemplo, pueden administrarse combinaciones sinérgicas que comprenden un imidazol, y derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, y derivados o un metabolito de los mismos, en combinación con un agente quimioterapéutico, un detergente para facilitar, por ejemplo, la permeación, un compuesto inmunoestimulante o fármaco, un oligonucleótido, una citocina, hormona y similares.

Puede ser posible administrar combinaciones sinérgicas que comprenden un imidazol, y derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, y derivados de los mismos, o cualquier pauta combinada como se ha descrito anteriormente, por vía transdérmica mediante, por ejemplo, una forma de dispositivo de administración transdérmica. Tales dispositivos son ventajosos, particularmente para la administración de compuestos antibióticos, ya que pueden permitir un periodo de tratamiento prolongado con respecto a, por ejemplo, un medicamento oral o intravenoso.

Los ejemplos de dispositivos de administración transdérmica pueden incluir, por ejemplo, un parche, apósito, venda o tirita adaptado para liberar un compuesto o sustancia a través de la piel de un paciente. Un experto en la materia estaría familiarizado con los materiales y técnicas que pueden usarse para administrar por vía transdérmica un compuesto o sustancia y se proporcionan dispositivos de administración transdérmica a modo de ejemplo por los documentos GB2185187, US3249109, US3598122, US4144317, US4262003 y US4307717.

A modo de ejemplo, pueden combinarse combinaciones sinérgicas que comprenden un imidazol, y derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, y derivados de los mismos, con alguna forma de matriz o sustrato, tal como un vehículo polimérico no acuoso, para hacerlo adecuado para su uso en un sistema de administración transdérmica. Esta mezcla puede fortalecerse adicionalmente por el uso de una tela tejida, tricotada, no tejida, o de malla relativamente abierta, para producir un parche, venda, tirita o similares que puede unirse temporalmente a una región particular del cuerpo de un paciente. De esta forma, mientras que está en contacto con la piel de un paciente, el dispositivo de administración transdérmica puede liberar el compuesto o sustancia directamente al sitio de infección o a través de la piel del paciente, según se requiera.

Los compuestos proporcionados en el presente documento también pueden usarse como auxiliares esterilizantes o de limpieza para su uso, por ejemplo, sobre superficies para reducir y/o eliminar la contaminación por MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y/o clostridios. A modo de ejemplo, pueden administrarse combinaciones sinérgicas que comprenden un imidazol, y derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, y derivados de los mismos, en combinación, tal como, por ejemplo, una combinación de miconazol o nitrato de miconazol y nisina, pueden prepararse para aplicación a cualquier superficie que se sospecha que está contaminada por MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y/o clostridios. Por ejemplo, pueden añadirse compuestos de la presente invención a o diluirse en un excipiente o solución apropiado antes de su uso como agente esterilizante o de limpieza. Se han descrito anteriormente excipientes a modo de ejemplo. Tales disoluciones esterilizantes o de limpieza pueden usarse para descontaminar, por ejemplo, mobiliario, suelo, equipo que incluye, por ejemplo, equipo hospitalario especializado y/o equipo quirúrgico.

Ventajosamente, pueden administrarse combinaciones sinérgicas que comprenden un imidazol, y derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, y derivados de los mismos, a un superficie médica o veterinaria para inhibir el crecimiento de MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios, y reducir la probabilidad de la aparición y propagación de, por ejemplo resistencia a la vancomicina en ese entorno. El término "superficie", usado en el presente documento, se refiere a cualquier superficie bien médica o bien industrial, que proporcione una superficie de contacto entre un fluido y un sólido. La superficie de contacto entre el fluido y el sólido puede ser intermitente, y puede producirse por fluido que fluye o estancado, aerosoles, u otros medios para la exposición a fluidos transmitidos por el aire. La superficie descrita en el presente documento se refiere más específicamente a un plano cuya estructura mecánica es compatible con la adherencia de bacterias tales como *S. aureus* y especies de *Enterococcus*. En el contexto de la presente patente, la terminología "superficie médica o veterinaria" engloba los aspectos internos y externos de diversos instrumentos y dispositivos, tanto desechables como no desechables. Los ejemplos incluyen el espectro completo de dispositivos médicos.

Como se usa en el presente documento, la terminología "superficies encontradas en entornos médicos" incluye los aspectos internos y externos de diversos instrumentos y dispositivos, tanto desechables como previstos para usos repetidos. Los ejemplos incluyen el espectro completo de artículos adaptados para uso médico, que incluyen bisturís, agujas, tijeras y otros dispositivos usados en procedimientos quirúrgicos, terapéuticos o de diagnóstico invasivos; dispositivos médicos implantables, que incluyen vasos sanguíneos artificiales, catéteres y otros dispositivos para la eliminación o administración de fluidos a pacientes, corazones artificiales, riñones artificiales, clavos ortopédicos, placas e implantes; catéteres y otros tubos (incluyendo tubos urológicos y biliares, tubos endotraqueales, catéteres venosos centrales periféricamente insertables, catéteres de diálisis, catéteres venosos centrales tunelizados a largo plazo, catéteres venosos periféricos, catéteres venosos centrales a corto plazo, catéteres arteriales, catéteres pulmonares, catéteres de Swan-Ganz, catéteres urinarios, catéteres peritoneales), dispositivos urinarios (incluyendo dispositivos urinarios a largo plazo, dispositivos urinarios de unión a tejido, esfínteres urinarios artificiales, dilatadores urinarios), derivaciones (incluyendo derivaciones ventriculares o arteriovenosas); prótesis (incluyendo implantes de mama, prótesis de pene, prótesis de injerto vascular, válvulas del corazón, articulaciones artificiales, laringes artificiales, implantes otológicos), puertos de catéteres vasculares, tubos de drenaje de heridas, derivaciones del hidrocéfalo, marcapasos y desfibriladores implantables, y similares. Otros ejemplos serán rápidamente evidentes para facultativos de esta técnica. Las superficies halladas en el entorno médico también incluyen los aspectos internos y externos de piezas de equipo médico, herramientas médicas vestidas o llevadas por el personal en el entorno del cuidado sanitario. Tales superficies pueden incluir encimeras y elementos fijos en áreas usadas para procedimientos médicos o para preparar aparatos médicos, tubos y bombonas usadas en tratamientos respiratorios, que incluyen la administración de oxígeno, de fármacos solubilizados en nebulizadores y de agentes anestésicos. También se incluyen aquellas superficies previstas como barreras biológicas para organismos infecciosos en entornos médicos, tales como guantes, delantales y protectores para la cara. Materiales comúnmente usados para las barreras biológicas pueden estar basados en látex o no basados en látex, tales como vinilo. Otras superficies tales pueden incluir mangos y cables para equipo médico o dental que no está previsto que estén estériles. Adicionalmente, tales superficies pueden incluir aquellas superficies externas no estériles de tubos y otros aparatos encontrados en áreas en las que comúnmente se encuentra sangre o líquidos corporales u otros biomateriales peligrosos.

En otra realización, los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse para eliminar y/o reducir la contaminación por MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios sobre partes del cuerpo, particularmente por ejemplo, las manos. Las combinaciones sinérgicas que comprenden un imidazol, y derivados del mismo, con un agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana seleccionado del grupo que consiste en uno o más de colistina, nisina, D-cicloserina, fosfomicina o polimixina B, y derivados de los mismos, pueden diluirse como una solución acuosa o no acuosa (disuelta en disolvente acuoso, no acuoso u orgánico) y pueden aplicarse a una parte del cuerpo, por ejemplo, las manos. Una solución tal puede encontrar aplicación particular en, por ejemplo, hospitales, centros de acogida y o guarderías en los que las tasas de prevalencia y transmisión de MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios son frecuentemente altas.

En otra realización, los métodos y medicamentos descritos en el presente documento pueden usarse profilácticamente como un medio para prevenir el desarrollo de una infección causada por o a la que contribuyen MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios, o para reducir la probabilidad del desarrollo de VISA o VRSA, por ejemplo, de una infección por MRSA. Los medicamentos y/o métodos para uso profiláctico pueden administrarse o aplicarse a cualquier persona o mamífero en riesgo de desarrollar una infección causada por o a la que contribuyen MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios. Por ejemplo, las personas que trabajan en centros de acogida, residencias de ancianos, centros deportivos, centros comunitarios, tiendas, restaurantes, cafeterías, guarderías y/o escuelas pueden requerir tratamientos profilácticos.

Así, la invención proporciona la composición como se ha descrito anteriormente en este documento para uso profiláctico.

Ventajosamente, los medicamentos y/o métodos descritos en el presente documento pueden tener aplicación particular en instituciones que alojan, albergan, cuidan o mantienen de otro modo a personas o pacientes vulnerables a o "en riesgo" de desarrollar o contraer MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios. Los medicamentos y métodos pueden ser particularmente útiles en hospitales, residencias de ancianos, guarderías y/o escuelas. Más generalmente, una persona o paciente anciano, joven o inmunodeprimido puede beneficiarse particularmente de los medicamentos y métodos descritos en el presente documento. Además, los métodos y medicamentos de la presente invención pueden ser particularmente útiles para aquellos que se someten a una estancia prolongada en el hospital, por ejemplo, en una unidad de cuidados intensivos.

Adicionalmente, o como alternativa, los medicamentos y métodos descritos en el presente documento pueden ser útiles en centros comunitarios, centros deportivos, tiendas, restaurantes, cafeterías u otros lugares en los que es probable la transmisión de bacterias, particularmente MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios.

Así, la invención también proporciona la composición como se ha descrito anteriormente en este documento para su uso en un auxiliar de esterilización y/o limpieza.

Con referencia a los ejemplos y figuras que siguen, se entiende que la invención no se limita a las realizaciones expuestas en el presente documento para ilustración, sino que engloba todas aquellas formas de las mismas que están dentro del alcance de la divulgación anterior.

La Figura 1 muestra las curvas de destrucción conseguidas para una cepa de MRSA en presencia de miconazol y fosfomicina a 4x CIM (línea discontinua negra con marcadores de círculo) frente al actual tratamiento convencional de vancomicina a 4x CIM (línea de puntos gris con marcadores de círculo).

La Figura 2 muestra las curvas de destrucción obtenidas cuando MRSA se expone a miconazol usado individualmente (línea gris) en comparación con miconazol en combinación con una concentración sub-inhibidora de fosfomicina (Micon + fos 4x, línea de puntos gris) y miconazol en combinación con una concentración sub-inhibidora de colistina (Micon + Col 4x, línea de puntos gris), que demuestra una clara sinergia de las combinaciones de miconazol con colistina y miconazol con fosfomicina

La Figura 3 muestra las curvas de destrucción obtenidas cuando MRSA se expone a miconazol usado individualmente (línea gris, marcadores de cuadrado) en comparación con miconazol en combinación con una concentración sub-inhibidora de D-cicloserina (Micon + D-cic 4x, línea discontinua negra, marcadores de triángulo), miconazol en combinación con una concentración sub-inhibidora de nisina (Miconazol + nisina 4x, línea discontinua negra, marcadores de cuadrado) y miconazol en combinación con una concentración sub-inhibidora de polimixina B (Miconazol + polimixina B, línea de puntos gris), que demuestra una clara sinergia de las combinaciones de miconazol con D-cicloserina, miconazol con nisina y miconazol con polimixina B.

Descripción detallada

MÉTODOS:

En los experimentos de ejemplo, se disolvieron nitrato de miconazol, nitrato de econazol y clotrimazol en DMSO. Se disolvieron colistina, D-cicloserina, fosfomicina y polimixina B en agua. Se suspendió nisina a 10 mg/ml en HCl 0,02 M, y la fracción de sobrenadante tras la centrifugación a 10.000 g durante 10 min se usó en los siguientes experimentos.

Otros disolventes que pueden usarse incluyen aceite de ricino, piridina y solución salina al 0,9 %. Para la administración IV, los agentes pueden solubilizarse en aceite de ricino polietoxilado, o ciclodextrinas tales como sulfobutiléter- γ - β -ciclodextrina o hidroxipropil- β -ciclodextrina y ácido láctico. Las concentraciones inhibitoras mínimas (CIM) de una serie de organismos bacterianos clínicos y de control se midieron según las normas de la BSAC (Sociedad Británica de Quimioterapia Antimicrobiana) (Andrews 2001), para agentes individuales. El método de determinación de la CIM de imidazol con colistina, D-cicloserina, fosfomicina, polimixina B o nisina se describe brevemente del siguiente modo. Se midieron CIM por dilución en agar. Se realizaron curvas de destrucción según

los métodos de Garrison y Nuemiller, 2007. Brevemente, se generaron los perfiles de destrucción representando logarítmicamente datos medios de UFC/ml con el tiempo. Se determinaron reducciones logarítmicas totales en recuentos bacterianos restando los valores de UFC/ml a las 24 h de los inóculos partida.

5 PREPARACIÓN DE PLACAS Y CALDOS DE AGAR

Se prepararon soluciones madre de cada agente usando la fórmula:

$$\frac{1000}{P} \times V \times C = W$$

10

en la que P = μg de compuesto activo por mg ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

V = volumen requerido (ml)

C = concentración final de la solución (mg/l)

W = peso del agente (mg) que va a disolverse en el volumen V (ml)

15

Se prepararon soluciones madre a concentraciones de 1000 mg/l y 100 mg/l. Para determinar la CIM de miconazol, la cantidad apropiada de cada solución madre se añadió a placas de petri separadas dando un intervalo de concentraciones finales (después de la adición de 20 ml de agar fundido): de 0,12 a 32 mg/l. Para determinar las CIM de miconazol con el agente específico activo sobre una superficie de la célula bacteriana, se usaron estas concentraciones de miconazol, además de una cantidad sub-inhibidora fija del agente activo sobre una superficie de la célula bacteriana. Las cantidades de agentes activos de la membrana celular o de la pared celular usados fueron las siguientes: colistina, 5 mg/l; D-cicloserina, 10 mg/l; fosfomicina, 5 mg/l; polimixina B, 20 mg/l; nisina, 2,5 mg/l. Se demostró que estas concentraciones no tuvieron efecto inhibitor sobre el crecimiento de las cepas bacterianas probadas, de ahí que cualquier disminución en la CIM de miconazol observada en presencia de estos agentes activos de la superficie celular indique sinergia. Se añadieron volúmenes (20 ml) de agar IST fundido enfriado (Oxoid) a cada placa de petri y se mezclaron por vórtice. Después de secarse, las placas se guardaron a 4 °C y se protegieron de la luz. Las placas se usaron el día de preparación.

20

25

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

30

Los organismos de prueba se cultivaron durante la noche en 5 ml de caldo IST. Usando una dilución en solución salina al 0,9 % de 1:100, las placas de agar apropiadas se inocularon usando un inoculador de múltiples puntos.

INCUBACIÓN

35

Las placas de agar y las placas de microtitulación se incubaron a 37 °C en aire durante 18-20 horas.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

40

La CIM es la mínima cantidad de un antibiótico a la que no hay crecimiento visible de bacterias. No se contaron como crecimiento minúsculas colonias individuales o débiles nieblas. Se informó de sinergia si el efecto inhibitor de los fármacos en combinación fue superior a la suma de los efectos inhibidores de cada fármaco individualmente. La concentración de miconazol, con o sin la membrana celular o agente activo de la pared celular, que puede inhibir el crecimiento del 50 % y 90 % de las cepas probadas se indica como CIM₅₀ y CIM₉₀, respectivamente. También se informa del intervalo de CIM para cada grupo de cepas bacterianas.

45

RESULTADOS:

50

Las Tablas 1a, b, c, d y e muestran la CIM₅₀, CIM₉₀ y el intervalo para cada combinación probada. Para cada una de estas combinaciones, una disminución en las CIM para la combinación en comparación con miconazol usado individualmente demuestra un efecto sinérgico.

Tabla 1a. CIM₅₀, CIM₉₀ e intervalo para cicloserina, usada a 10 mg/l en combinación con miconazol.

MRSA Y VRE (n=27 y 5 respectivamente)			
Fármaco	CIM 50	CIM 90	Intervalo
Miconazol	2	2	0,5 - 8
D-cicloserina 10 mg/l	1	2	<0,25 - 8

55

Tabla 1b. CIM₅₀, CIM₉₀ e intervalo para fosfomicina, usada a 5 mg/l en combinación con miconazol.

MRSA Y VRE (n=27 y 5 respectivamente)			
Fármaco	CIM 50	CIM 90	Intervalo
Miconazol	2	2	0,5 - 8
Fosfomicina 5 mg/l	1	2	<0,25 - 8

Tabla 1c. CIM₅₀, CIM₉₀ e intervalo para colistina, usada a 5 mg/l en combinación con miconazol.

MRSA Y VRE (n=21 y 3 respectivamente)			
Fármaco	CIM 50	CIM 90	Intervalo
Miconazol	2	4	1 - 6
Colistina 5 mg/l	1	2	0,25 - 6

Tabla 1d. CIM₅₀, CIM₉₀ e intervalo para polimixina B, usada a 20 mg/l en combinación con miconazol.

MRSA Y VRE (n=21 y 3 respectivamente)			
Fármaco	CIM 50	CIM 90	Intervalo
Miconazol	2	4	1 - 6
Polimixina B 20 mg/l	1	2	0,25 - 6

5

Tabla 1e. CIM₅₀, CIM₉₀ e intervalo para nisina B, usada a 2,5 mg/l en combinación con miconazol.

MRSA Y VRE (n=21 y 4 respectivamente)			
Fármaco	CIM 50	CIM 90	Intervalo
Miconazol	2	4	0,5 - 8
Nisina 2,5 mg/l	2	2	<0,25 - 2

Tabla 2. CIM de otros imidazoles que demuestran una falta de actividad con bifonazol, ketoconazol y fluconazol.

Bacterias	Cepa	Bifonazol	Ketoconazol	Fluconazol
VISA	VISA 3900 UK	>128	64	>128
VISA	USA/VISA 5827	>128	64	>128
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	NCTC 7171	>128	128	>128
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 1228	>128	64	>128
VISA	USA/VISA 5836	>128	64	>128
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	E19 UAA/522 VanB	>128	128	>128
<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	E8 VanA	>128	>256	>128
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	VanR B145344C LFE	>128	128	>128
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	E15 VanA ATCC 4147	>128	16	>128
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 10418	>128	>256	>128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 10662	>128	>256	>128

10

Tabla 3. CIM de miconazol, con y sin bacitracina, que demuestran una falta de sinergia con esta combinación contra cepas resistentes a múltiples fármacos. Aquí se usó una relación 1:1 de bacitracina con respecto a miconazol en un experimento, y una concentración sub-inhibidora fija de bacitracina (2,5 mg/l) en el segundo experimento.

MRSA Y VRE (n=27 y 5 respectivamente)			
Fármaco	CIM 50	CIM 90	Intervalo
Miconazol	2	2	0,5 - 8
Bacitracina: miconazol 1:1	4	4	2-8
Bacitracina 2,5 mg/l	2	2	0,5 - 4

15

Estos datos muestran ausencia de sinergia entre bacitracina y miconazol, y ningún beneficio de la adición de 2,5 mg/l de bacitracina a miconazol en la disminución de la CIM de miconazol. La Tabla 4, a continuación, muestra la sinergia observada por la combinación de miconazol con nisina, frente a estos agentes usados individualmente.

Tabla 4

Cepa	Miconazol	Nisina	Miconazol + 2,5 mg/l de nisina
E. faecium ATCC 7171	0,5	4	<0,25
E1 E. gall ATCC 12359 VanC	1	4	<0,25
E. faecium VanR B145344C LFE	4	8	<0,25
E15 VanA ATCC4147 E. faecium	2	4	<0,25
PF 99b 983237K BERIAN CLONE	2	8	2
PF 116a 981695K	2	8	2
PF 15a 009521M ST22 EMRSA	1	8	2
PF 16a 00923R EMRSA 16	2	4	1
PF 153a 026225E	0,5	8	2
S113 MRSA	2	4	<0,25
LF10	2	8	2
LF11	2	4	1
LF12	2	4	1
LF13	2	8	2
LF14	2	8	2
LF15	2	8	2
LF16	2	4	2
LF17	2	4	<0,25
LF18	1	4	<0,25
LF19	2	8	2
USA/VISA 5827	2	>20	1
Mu3ex Japan	2	>20	1
Mu50ex Japan	1	>8	0,5
USA/VISA 5836	4	>8	2
VISA 3900 UK	2	>20	1

La Tabla 5, a continuación, muestra el efecto inhibitor de la combinación sinérgica de miconazol y nisina contra diversas cepas aisladas clínicas de *Clostridium difficile*.

Tabla 5.

Cepa	Miconazol	Micon + 0,5 mg/l de nisina
83	>16	<0,25
28	>16	<0,25
58	>16	<0,25
41	>16	<0,25
97	>16	<0,25
130	>16	<0,25
184	>16	<0,25
23	>16	<0,25
87	>16	<0,25
84	>16	<0,25
99A	>16	<0,25
57	>16	<0,25
185	>16	<0,25
47	>16	<0,25
31	>16	<0,25
30	>16	<0,25
98A	>16	<0,25
77	>16	<0,25
126	>16	<0,25
102	>16	<0,25
96	>16	<0,25
120	>16	<0,25
5	>16	<0,25
169	>16	<0,25
186	>16	<0,25

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende miconazol, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y nisina, y sales farmacéuticamente aceptables de la misma, para su uso en el tratamiento de una infección a la que contribuyen o producida por bacterias Gram-positivas.
2. Una composición para su uso según la reivindicación 1, en la que la sal de miconazol es una sal de nitrato.
- 10 3. Una composición para su uso según la reivindicación 1, en la que las bacterias Gram-positivas se seleccionan del grupo que consiste en estafilococos, enterococos y clostridios.
4. Una composición para su uso según la reivindicación 3, en la que las bacterias Gram-positivas difíciles de tratar se seleccionan del grupo que consiste en MRSA, MRSE, VISA, VRSA, VRE y clostridios.
- 15 5. Una composición para su uso según las reivindicaciones 3 o 4, en la que los organismos Gram-positivos resistentes a múltiples fármacos del género *Clostridium* son *C. difficile*.
6. Una composición para su uso según la reivindicación 1 para administración por vía oral.

Figura 1.

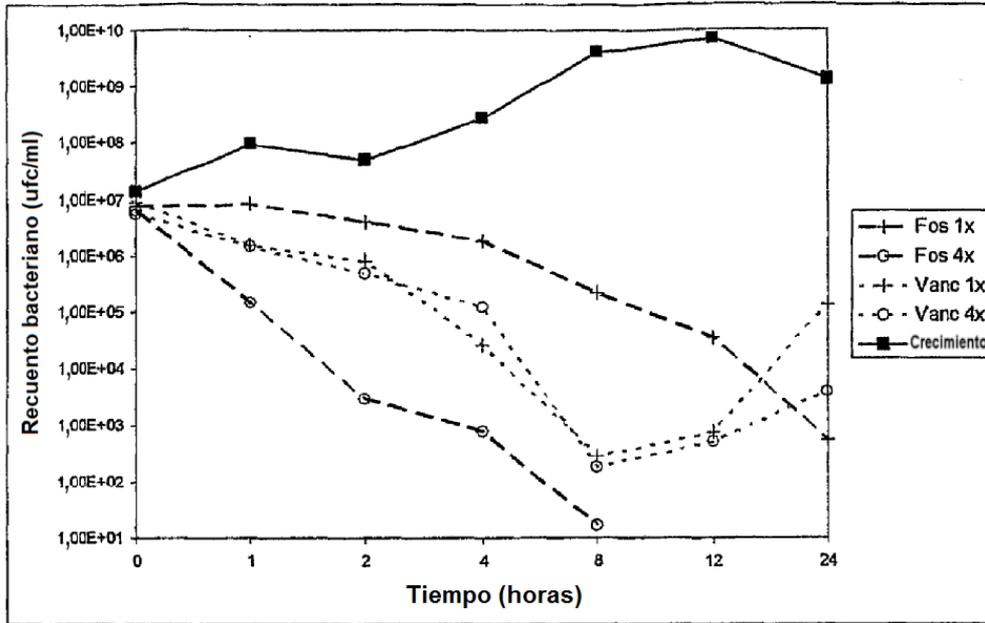


Figura 2.

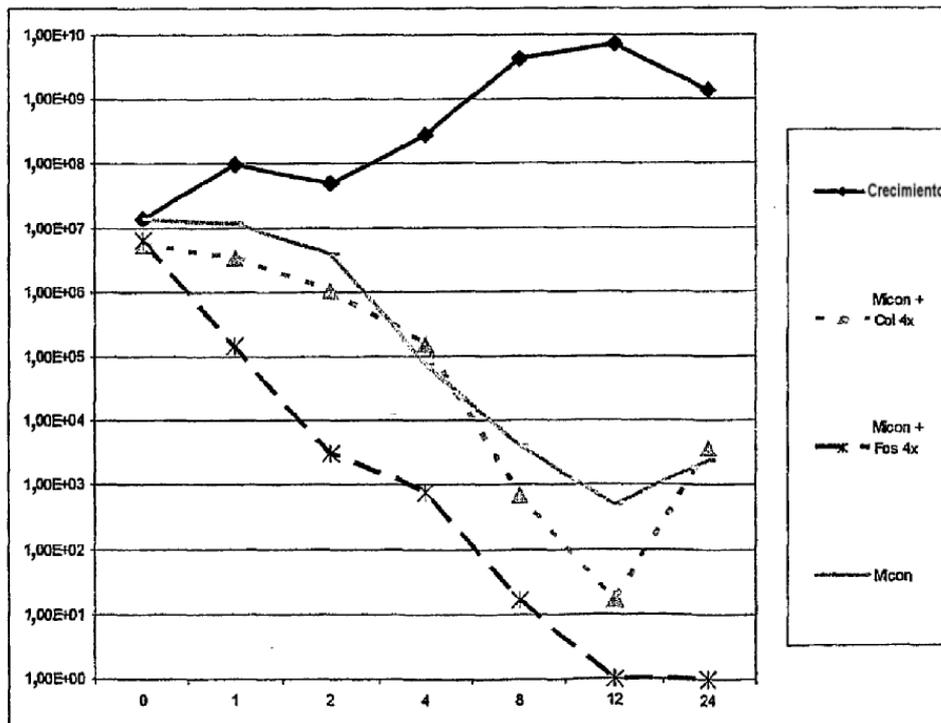


Figura 3.

