

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 884**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/70** (2006.01) **A61K 31/7028** (2006.01)  
**A61K 31/20** (2006.01)  
**A61K 31/23** (2006.01)  
**A61P 15/02** (2006.01)  
**A61P 31/04** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)  
**A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 47/10** (2006.01)  
**A61K 9/06** (2006.01)  
**A61K 47/38** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2012 E 12724719 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.12.2014 EP 2643003**

54 Título: **Composición vaginal a base de alquilpoliglucósidos**

30 Prioridad:

**29.04.2011 IT MI20110715**  
**29.04.2011 IT MI20110716**  
**29.04.2011 IT MI20110717**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**01.04.2015**

73 Titular/es:

**EFFIK INTERNATIONAL S.A. (100.0%)**  
**The Crescent - Lenniksebaan, 451 Route De**  
**Lennik**  
**1070 Anderlecht- Bruxelles , BE**

72 Inventor/es:

**ARDOLINO, LUCA IVAN y**  
**BRUGALI, GIUSEPPE**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

**ES 2 532 884 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

Composición vaginal a base de alquilpoliglucósidos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición vaginal a base de alquilglucósidos o alquilpoliglucósidos, en particular para el tratamiento de infecciones por *Streptococcus agalactiae* y otros patógenos.

10 **Técnica anterior**

El estreptococo del grupo B o *Streptococcus agalactiae* (EGB) es el agente etiológico de las infecciones neonatales graves en los países industrializados y aparece en el 15-35% de las mujeres embarazadas. Según Blond *et al.* (1), el análisis de 8 estudios publicados reveló que se observó EGB en madres en de desde el 7,6 hasta el 22,8% de los embarazos. Tal porcentaje varía dependiendo de los orígenes étnicos y de los sitios de recogida que pueden ser la vagina sola o la vagina y el recto. La presencia vaginal asintomática de EGB varía durante el embarazo. La presencia a nivel vaginal puede asociarse con vaginitis, infecciones urinarias y aumenta el riesgo de corioamnionitis. Después del parto, las consecuencias de la infección por EGB pueden variar, oscilando entre corioamnionitis y endometritis posparto, y bacteriemia y septicemia. La infección en las mujeres embarazadas también puede conducir a parto prematuro, rotura prematura de las membranas y bajo peso del recién nacido en el momento del nacimiento. La infección en el recién nacido contaminado también puede provocar septicemia acompañada de choque, neumonía, síndrome del dificultad respiratoria aguda e infecciones neurológicas tales como meningitis que puede conducir a discapacidad permanente o incluso muerte.

No se recomienda el tratamiento con antibióticos de la infección asintomática durante el embarazo. Las mujeres embarazadas que son portadoras asintomáticas de EGB no deben tratarse antes del parto dado que el tratamiento con antibióticos no reduce el nivel de bacterias observado durante el parto. Además, un problema típico relacionado con la administración de antibióticos radica en el caso de fenómenos de resistencia que pueden poner en peligro la eficacia del tratamiento durante el parto.

Por tanto, la terapia normal es la de tratar, usando antibióticos a través de administración intravenosa, a la mujer durante el parto, lo que sin embargo no garantiza la eliminación total de riesgos para el bebé no nacido.

El número de recién nacidos infectados oscila entre el 3 y el 12% de los embarazos.

Datos de dominio público indican que cada año en los Estados Unidos 12000 recién nacidos se infectan y aproximadamente 2000 mueren.

La vaginosis bacteriana (VB) también es una infección vaginal que afecta a las mujeres embarazadas. La VB se caracteriza por una profunda modificación de la flora vaginal normal con la desaparición de lactobacilos y el desarrollo anómalo de una flora multiforme, entre la que están *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* y microorganismos anaerobios.

La VB puede provocar aborto espontáneo y nacimiento prematuro y está asociada con un riesgo aumentado de contraer VIH. Todos los casos de VB deben tratarse durante el embarazo.

El tratamiento con antibióticos de VB no es suficiente para eliminar la infección incluso en este caso.

VB y EGB son fuentes de riesgo importantes que influyen en el resultado del embarazo, tanto para el recién nacido como para la madre.

Los documentos US 6 531 435 B1 y US 6 599 521 B1 dan a conocer una composición de limpieza vaginal para inhibir la producción de exoproteínas a partir de bacterias Gram-positivas que comprende 0,25-5 mmol de un alquilpoliglucósido que tiene 8-14 átomos de C.

El documento EP 1 609464 A1 da a conocer una composición para limpiar las membranas mucosas vaginales que comprende alquilglucósido (lauril y/o decilglucósido) y ácidos grasos saturados de cadena media o los derivados de éster de glicérido de los mismos.

El documento WO 97/45101 A1 da a conocer el uso de alfa-alquilglucósidos como agentes antibacterianos contra *Candida albicans*, pero no en composiciones vaginales.

**Sumario de la invención**

Por tanto, un objeto de la presente invención es el de proporcionar un tratamiento para las infecciones vaginales que sea seguro y eficaz, de modo que se proponga para el tratamiento de tanto las infecciones asintomáticas como

también las sintomáticas en una fase temprana del embarazo.

5 Tal tratamiento se lleva a cabo, según la invención, por medio de un agente bacteriostático o bactericida, solo o combinado con otros principios activos. El agente bacteriostático o bactericida de la invención pertenece a la clase de los alquilglucósidos o los alquilpoliglucósidos.

En una realización, el tratamiento según la invención tiene como objetivo prevenir y tratar infecciones por *Streptococcus agalactiae*.

10 Por tanto, una formulación vaginal bacteriostática o bactericida que contiene uno o más principios activos según la invención, entre los cuales al menos uno se selecciona de la clase de los alquilglucósidos o los alquilpoliglucósidos, junto a portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables forma otro objeto de la invención.

15 Objetos particulares de la invención son los mencionados en las reivindicaciones con el presente documento, cuyas definiciones son una parte integral de la presente descripción.

### Descripción detallada de la invención

20 La presente invención tiene como objetivo proporcionar un compuesto que pertenece a la clase de los alquilglucósidos o los alquilpoliglucósidos para su uso en la prevención y en el tratamiento de infecciones vaginales provocadas por *Streptococcus agalactiae* y por otros patógenos.

25 Los alquilglucósidos o alquilpoliglucósidos son tensioactivos no iónicos que se derivan de la reacción del almidón con un alcohol graso. Ejemplos de alquilglucósidos o alquilpoliglucósidos que pueden usarse para los objetos de la invención son: decilglucósido, caprilil/caprilglucósido, laurilglucósido, glucósido de coco, (alquil C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)poliglucósido, (alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>)poliglucósido. Tales sustancias están disponibles comúnmente en el mercado.

30 En una realización preferida, se usarán caprilil/caprilglucósido, laurilglucósido, (alquil C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)poliglucósido, (alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>) poliglucósido o mezclas de los mismos.

35 La invención también se refiere a un compuesto que pertenece a la clase de los alquilglucósidos o alquilpoliglucósidos en asociación con un principio activo seleccionado dentro de la categoría de los ácidos grasos saturados de cadena media o los derivados de éster de glicerol de los mismos y mezclas relativas para su uso como agentes bacteriostáticos o bactericidas en la prevención y en el tratamiento de las infecciones bacterianas del tracto vaginal. Tales infecciones bacterianas del tracto vaginal son en particular infecciones por *Streptococcus agalactiae*.

40 Los ejemplos de ácidos grasos saturados de cadena media o los derivados de éster de glicerol de los mismos que pueden usarse para el objeto de la invención son: ácido láurico, ácido cáprico, ácido caprílico y ácido caproico y los derivados de éster de glicerol de los mismos. Estas sustancias están disponibles comúnmente en el mercado. Pueden usarse preferiblemente ácido láurico y monolaurato (éster de monoglicerol del ácido láurico) y mezclas de los mismos en la fórmula. Fuentes naturales comunes de ácido láurico son aceite de cacao o aceite de corteza de palma y pueden usarse para el objeto de esta invención.

45 El uso de un alquilglucósido o alquilpoliglucósido en asociación con ácido láurico o monolaurato según la invención comprende tanto la presencia de principios activos en la composición misma como el uso separado, simultáneo o diferido de los diversos principios activos.

50 La invención también se refiere a un compuesto seleccionado de entre caprilil/caprilglucósido, laurilglucósido, (alquil C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)poliglucósido, (alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>)poliglucósido y mezclas de los mismos para su uso en la prevención y en el tratamiento de infecciones bacterianas del tracto vaginal.

55 El término "infecciones bacterianas del tracto vaginal" comprende infecciones por *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Atopobium vaginae*, *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium/urealiticum/hominis/parvum*, *Treponema pallidum* y *Streptococcus agalactiae*.

60 Un objeto adicional de la invención es el de proporcionar una formulación vaginal bacteriostática o bactericida que comprende al menos un compuesto que pertenece a la clase de los alquilglucósidos o alquilpoliglucósidos, tal como se definió anteriormente, posiblemente en asociación con un principio activo seleccionado de entre ácido láurico, monolaurato y mezclas de los mismos.

El compuesto de alquilglucósido, alquilpoliglucósido, (alquil C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)poliglucósido, (alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>)poliglucósido y el principio activo adicional seleccionado de entre ácido láurico, monolaurato y mezclas de los mismos están preferiblemente a una razón comprendida entre 1:10 y 10:1.

65 Evaluación de la actividad inhibitoria y bactericida de los compuestos de la invención con respecto a *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Candida albicans*

Se llevaron a cabo los experimentos usando dos alquilglucósidos diferentes, es decir: caprilil/caprilglucósido/(alquil C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)poliglucósido n.º de CASR 68515-73-1 (A1) y laurilglucósido/(alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>)poliglucósido n.º de CASR 110615-47-9 (A2).

5 También se sometieron a prueba dos principios activos diferentes, ácido láurico (F) y monolaurato (G) tanto solos como combinados con un alquilglucósido.

10 También se sometieron a prueba por comparación las cepas de *Lactobacillus* que dominan en la colonización fisiológica de la mucosa vaginal típica en mujeres sanas.

Se sabe que las tres cepas que dominan la colonización de la mucosa vaginal en las mujeres sanas son: *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* y *Lactobacillus gasseri*.

15 Por tanto, se llevó a cabo tal actividad exploratoria en tales cepas con el objetivo de evaluar una selectividad de los compuestos de la invención con respecto a los microorganismos patógenos con respecto a la flora bacteriana de *Lactobacillus*.

#### 20 CEPAS BACTERIANAS

Se usaron tres cepas de *Streptococcus agalactiae* aisladas de tampones vaginales y rectales durante los chequeos prenatales para el ensayo. Se denominaron las cepas "cepa 2", "cepa 10" y "cepa 11". Se llevó a cabo el aislamiento en un medio de agar sangre y se obtuvo la identificación a través de pruebas bioquímicas del sistema API 20 Strep (Bio-Merieux) y a través de la identificación del grupo de Lancefield.

25 También se llevaron a cabo los experimentos en una cepa ATCC 12386 de *Streptococcus agalactiae*.

También se usaron la cepa ATCC 14018 de *Gardnerella vaginalis*, la cepa ATCC 43069 de *Neisseria gonorrhoeae* y la cepa ATCC 10231 de *Candida albicans* para el experimento.

30 Las cepas vaginales de *Lactobacillus* usadas son la cepa NCIMB 4505 de *Lactobacillus crispatus*, la cepa NCIMB 13279 de *Lactobacillus jensenii* y la cepa NCIMB 702820 de *Lactobacillus gasseri*.

35 Se reconstituyeron las cepas y se mantuvieron a una temperatura de -80°C en una suspensión al 20% de medio de sangre líquida + glicerol.

#### MEDIOS DE CULTIVO Y DISOLUCIONES

40 Se usó un medio de "caldo de infusión cerebro corazón" (BHIB, Becton Dickinson) para el cultivo de *Streptococcus agalactiae*, se usaron un medio de "caldo Mueller-Hinton" (M-Hb) tras añadir sangre de caballo "lacada" al 2% y el medio de "agar Mueller-Hinton" (M-Ha) con adición de sangre de caballo desfibrinada al 5% (Oxoid) para los ensayos de actividad antimicrobiana.

45 La siguiente tabla muestra los medios y las condiciones de cultivo de los inóculos, para determinar la CMI y para determinar la CMB en cuanto a las otras cepas sometidas a ensayo.

TABLA A

	<b>ATCC 14018 de <i>Gardnerella vaginalis</i></b>	<b>ATCC 43069 de <i>Neisseria gonorrhoeae</i></b>	<b>ATCC 10231 de <i>Candida albicans</i></b>	<b><i>Lactobacillus crispatus/jensenii/gasseri</i></b>
<b>Cultivo de inóculo</b>	BHIB (BD*) + 2%	BHIB(BD*) + Vitox al 2%	RPMI 1640-15-702	BHIB (BD*) + sangre de caballo "lacada" al 2%
<b>Medio</b>	Suero de caballo (Oxoid)	(Oxoid)	(sin bicarbonato de sodio) (Lonza) + glucosa al 2%	(Oxoid) o caldo MRS
<b>Condiciones de cultivo</b>	37°C + el 5% de CO <sub>2</sub> x 48 h	37°C + el 5% de CO <sub>2</sub> x 48 h	35°C x 24 h	37°C + el 5% de CO <sub>2</sub> x 48 h
<b>Medio de cultivo para determinar la CMI</b>	BHIB (BD*) + suero de caballo al 2% (Oxoid)	BHIB (BD*) + Vitox al 2% (Oxoid)	RPMI 1690-15-702 (sin bicarbonato de sodio) (Lonza) + glucosa al 2%	BHIB (BD*) + suero de caballo al 2% (Oxoid) o caldo MRS

<b>Medio de cultivo para determinar la CMB</b>	Agar BHI (BD*) + sangre al 7%, calentada ("agar chocolate")	Agar BHI (BD*) + sangre al 7%, calentada ("agar chocolate")	Agar dextrosa Sabouraud (Oxoid)	M-Ha + sangre de caballo desfibrinada al 5% (Oxoid) o "Agar Rogosa" (Oxoid)
--	---	---	---------------------------------	---

\*Becton-Dickinson

#### PREPARACIÓN DEL INÓCULO BACTERIANO

- 5 Se cultivaron las cepas de *Streptococcus agalactiae* en caldo BHIb durante 24 horas a 37°C. Inmediatamente antes del ensayo, se diluyeron las suspensiones bacterianas hasta la obtención de una turbidez equivalente al patrón 0,5 de McFarland. Se distribuyeron 50 µl de una dilución 1:100 adicional en el caldo + sangre al 2% en los pocillos de las placas de microtitulación. El presunto título del inóculo hallado a través de este procedimiento es de aproximadamente  $5 \times 10^4$  ufc (unidades formadoras de colonias)/pocillo.
- 10 También se diluyeron los cultivos bacterianos en serie según un valor de 10 (hasta un valor de dilución equivalente a  $10^{-7}$ ) y se cultivó en estrías por duplicado una alícuota de 0,1 ml de cada dilución en M-Ha + el 5% de sangre para determinar el título real que va usarse, posteriormente, para determinar la CMB (concentración mínima bactericida).
- 15 Se cultivaron las otras cepas microbianas sometidas a ensayo en los medios líquidos y en las condiciones de incubación especificadas en la tabla A, siguiendo el procedimiento de funcionamiento descrito anteriormente.

#### PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DEL PRODUCTO ANALIZADO

- 20 Se prepararon las sustancias que van a someterse al análisis para el ensayo a través de dilución y esterilización tal como se describe a continuación en el presente documento.

25 La concentración de las sustancias denominadas "madre" representa la concentración más alta a la que pudo obtenerse la solubilización completa y es 4 veces mayor que la concentración más alta sometida a ensayo en la prueba.

Sustancia	disolvente	conc. "madre"
A1	agua	100,16 mg/ml
A2	agua	48,4 mg/ml
F	30% de propilenglicol en agua	10,08 mg/ml
G	50% de propilenglicol en agua	34,7 mg/ml
A1+F	agua 25% de propilenglicol en agua	3,12-2,48 mg/ml
A1+G	25% de propilenglicol en agua	3,12-1,09 mg/ml
A2+F	25% de propilenglicol en agua	0,76-2,48 mg/ml
A2+G	25% de propilenglicol en agua	0,76-1,09 mg/ml

#### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)

- 30 *Streptococcus agalactiae*

35 Se llevó a cabo el ensayo en placas de microtitulación de 96 pocillos. Se depositaron 50 µl de M-Hb a concentración normal en el primer pocillo de cada una de las 5 filas. Comenzando a partir del primer pocillo de cada fila, se transfirieron volúmenes de 50 µl desde cada pocillo hasta el siguiente 10 veces, obteniendo así una serie de diluciones después de la duplicación. Se mantuvo el 12º pocillo de cada fila libre de sustancia como control positivo del crecimiento bacteriano.

40 Posteriormente, se depositaron 50 µl de inóculo bacteriano de M-Hb + sangre de concentración doble (al 4%) en todos los pocillos de la placa, excepto por el 11º de cada fila. Se depositaron sólo M-Hb + sangre de concentración doble pero libre de bacterias en el 11º pocillo, con el objetivo de proporcionar un control negativo para cada fila. Se usó el esquema descrito para el ensayo de cada una de las tres cepas de *Streptococcus agalactiae*.

45 Después de la incubación a 37°C durante 24 horas, se examinaron las placas de microtitulación para verificar, en cada pocillo, la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano. Se determinó para cada sustancia la concentración mínima inhibitoria definida como la concentración más baja que podía inhibir el crecimiento bacteriano, es decir impedir que el líquido en el pocillo se vuelva turbio.

*Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri*

Se llevó a cabo el ensayo en placas de microtitulación de 96 pocillos. Se depositaron 50 µl de disolución de sustancia a la concentración "madre" junto con 50 µl de medio líquido a concentración doble en el primer pocillo de cada una de las 8 filas mientras que se depositaron 50 µl de medio líquido a concentración normal en los 11 pocillos restantes. Comenzando a partir del primer pocillo de cada fila, se transfirieron volúmenes de 50 µl desde cada pocillo hasta el siguiente 10 veces, obteniendo así una serie de 11 diluciones después de la duplicación. Se mantuvo el 12º pocillo de cada fila libre de sustancia como función de control positivo del crecimiento bacteriano.

Posteriormente, se depositaron 50 µl de inóculo bacteriano diluido tal como se especificó anteriormente en todos los pocillos de la placa, excepto por el 11º de cada fila. Se depositó sólo el medio líquido a concentración simple pero libre de bacterias en el 11º pocillo, con el objetivo de proporcionar un control negativo por cada fila. Se usó el esquema descrito para el ensayo con cada una de las cepas bacterianas sometidas a ensayo.

Después de la incubación en las condiciones indicadas en cuanto a cada microorganismo, se examinaron las placas de microtitulación para verificar, en cada pocillo, la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano. La concentración mínima inhibitoria se define como la concentración más baja de la sustancia que todavía puede inhibir el crecimiento bacteriano, es decir impedir que el líquido en el pocillo se vuelva turbio.

#### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

Inmediatamente después de determinar el valor de la CMI para cada sustancia, se tomó un volumen equivalente a 50 µl de cada pocillo y se cultivó en estrías sobre la superficie de las placas que contenían el medio sólido. Se incubaron posteriormente las placas en las condiciones indicadas para cada cepa microbiana. Después de la incubación a 37°C durante 24 horas, se contó el número de colonias crecidas sobre la superficie del medio determinando así el número de bacterias que sobrevivieron tras 24 horas de contacto con la sustancia a la concentración presente en el pocillo. Se determinó el valor de la CMB definida como la concentración más baja de cada sustancia que podía reducir la carga bacteriana en un 99,9% en las condiciones de ensayo definidas anteriormente a través de la comparación entre el número de bacterias que sobrevivieron en cada pocillo y el del inóculo bacteriano depositado inicialmente.

#### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) EN MEDIO AGARIZADO

Se llevó a cabo el ensayo en un medio M-Ha + sangre al 5%. Se preparó el medio a una concentración un 33% superior con respecto a la final usada en la prueba correspondiente a lo indicado por el proveedor. Después de la esterilización en autoclave, se equilibró el medio a la temperatura de 48°C y se añadió sangre de caballo a la concentración del 6,6% (un 33% superior a la concentración final del ensayo). Se transfirieron alícuotas de 15 ml de medio M-Ha + sangre a tubos de ensayo Falcon de 50 ml mantenidos a 48°C, a los que se añadieron 5 ml de las diluciones de las sustancias que iban a someterse a ensayo, se mezclaron, se vertieron en placas de Petri y se dejaron solidificar. Se depositaron veinticinco inóculos bacterianos, cada uno con un volumen aproximado de aproximadamente 5 µl y que contenían aproximadamente 10<sup>5</sup> ufc sobre la superficie del medio M-Ha + sangre de cada placa. Después de la incubación a 37°C durante 18 horas, se leyó la concentración mínima inhibitoria (CMI) definida como la concentración mínima de sustancia que podía inhibir un crecimiento bacteriano perceptible a simple vista en el área de deposición de los inóculos.

#### RESULTADOS

En la prueba con *Streptococcus agalactiae* no pudieron determinarse las concentraciones mínimas inhibitorias con suficiente fiabilidad en el ensayo en medio líquido debido a la turbidez de las disoluciones que contenían las sustancias, por lo que sólo se indican los valores de concentración mínima bactericida. Se llevó a cabo la "determinación de la concentración mínima inhibitoria en medio agarizado" para obtener los valores de CMI.

La tabla I muestra los valores de la concentración bacteriana de los cultivos usados para preparar los inóculos y las concentraciones de las suspensiones de los inóculos.

Las tablas II y III muestran respectivamente los valores de CMI y los valores de CMB de las sustancias que están analizándose con respecto a las cepas bacterianas de *Streptococcus agalactiae* sometidas a ensayo.

Las tablas IV, V, VI muestran respectivamente los valores de CMI y CMB en cuanto a *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Candida albicans*.

También se muestran datos de comparación de CMI y CMB en cuanto a sustancias conocidas para determinar su actividad antibacteriana con respecto a las cepas sometidas a ensayo. Las tablas VII, VIII y IX muestran respectivamente los valores de CMI y CMB en cuanto a *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* y *Lactobacillus*

*gasseri*.

## CONCLUSIONES

5 Pudo determinarse la CMB para todas las sustancias examinadas. Los valores de CMB en cuanto a *S. agalactiae* parecen similares entre diversas cepas bacterianas. Los valores más altos observados con la cepa 10 en cuanto a las sustancias A2 y G se deben a la mayor resistencia revelada por la cepa 10 con respecto a los agentes antibacterianos sometidos a prueba, porque esta cepa era más resistente al tratamiento con antibiótico de referencia, ampicilina. En realidad, las concentraciones de ampicilina requeridas para realizar la acción bactericida eran al menos 15 veces superiores en la cepa 10 con respecto a aquellas contra la cepa 2 y 11 (tabla II).  
10 Observaciones similares a las indicadas en cuanto a la prueba de CMB también se aplican en cuanto a los resultados de la prueba de CMI (tabla III).

15 En conclusión, los experimentos revelan que las moléculas sometidas a prueba realizan una actividad bacteriostática y bactericida tanto sobre las cepas ATCC de *Streptococcus agalactiae* como sobre las cepas bacterianas aisladas de pacientes, e incluso más importante sobre la cepa ATCC que representa el serotipo III responsable de al menos el 60% de las infecciones tempranas del recién nacido, también denominadas enfermedades de aparición temprana, que están asociadas con una mayor tasa de morbilidad y un mayor riesgo de mortalidad neonatal.

20 Los alquilpoliglucósidos revelaron alta actividad bacteriostática y antibacteriana tanto cuando se usaron solos como en asociación con ácido láurico y monolaurato.

En particular, la tabla II muestra que la asociación entre un alquilpoliglucósido y un ácido láurico o monolaurato conduce a un efecto sinérgico.

25

Tabla I - Concentración de las suspensiones usadas como inóculo de los cultivos bacterianos sometidos a ensayo

Cepa bacteriana	Suspensión de inóculo (ufc/ml)
Cepa 2 ( <i>S. agalactiae</i> )	2,5x10 <sup>6</sup>
Cepa 10 ( <i>S. agalactiae</i> )	7x10 <sup>6</sup>
Cepa 11 ( <i>S. agalactiae</i> )	3,85x10 <sup>6</sup>
ATCC 12386 ( <i>S. agalactiae</i> )	1,4x10 <sup>6</sup>
ATCC 14018 ( <i>G. vaginalis</i> )	4,5x10 <sup>6</sup>
ATCC 43069 ( <i>N. gonorrhoeae</i> )	7,5x10 <sup>5</sup>
ATCC 10231 ( <i>C. albicans</i> )	1x10 <sup>4</sup>
NCIMB 4505 ( <i>L. crispatus</i> )	5,7x10 <sup>5</sup>
NCIMB 13279 ( <i>L. jensenii</i> )	6,4x10 <sup>5</sup>
NCIMB 702820 ( <i>L. gasseri</i> )	1,58x10 <sup>7</sup>

Tabla II- Actividad antibacteriana de las sustancias que están analizándose contra *Streptococcus agalactiae*, expresada como CMB

Sustancia	Cepa 11 en M-Hb el 2% de sangre	Cepa 10 en M-Hb el 2% de sangre	Cepa 2 en M-Hb el 2% de sangre	ATCC 12386 en M-Hb el 2% de sangre
A1	0,097	0,194	0,097	0,097
A2	0,0097	0,019	0,0097	0,0097
F	0,25	≥0,25	≥0,25	0,25
G	0,107	0,428	0,107	0,107
A1 + F	-	-	-	0,048-0,061
A1 + G	0,048-0,027	>0,048-0,027	0,024-0,014	0,024-0,014
A2 + F	-	-	-	0,0048-0,03
A2 + G	>0,0097/0,027	0,0048-0,013	0,0048-0,013	0,0048/0,013
Ampicilina (µg/ml)	<0,06	1	<0,06	0,5

30 A1 = Caprilil/caprilglucósido, (alquil C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)poliglucósido (n.º de CASR 968515-73-1)

A2 = Laurilglucósido, (alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>)poliglucósido (n.º de CASR 9110615-47-9)

## ES 2 532 884 T3

F = ácido láurico

G = monolaurato (éster de monoglicerol de ácido láurico)

5 Los dos valores de CMB indicados en la tabla II para A1+F, A1+G, A2+F y A2+G consideran respectivamente el primer y el segundo principio activo usados combinados.

Tabla III - Actividad inhibitoria de las sustancias que están analizándose contra *Streptococcus agalactiae*, expresada como CMI en medio agarizado

CMI (concentración mínima inhibitoria) expresada en %												
	A1	A1F		A1G		A2	A2F		A2F		G	F
5	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,019	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
6	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
7	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
8	0,19	0,024	0,03	0,024	0,014	0,019	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,22	0,25
9	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
10	0,19	0,024	0,03	0,024	0,014	0,019	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,22	0,25
11	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
12	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
13	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
14	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
15	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,019	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
16	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
17	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
18	0,19	0,024	0,03	0,024	0,014	0,019	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,22	0,25
19	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
2	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
12386	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
12403	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
27956	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,019	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
20	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
21	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,007	0,0048	0,03	0,11	0,25
22	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
23	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
24	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
25	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25

10 También en cuanto a las otras cepas bacterianas sometidas a prueba, se reveló una actividad bacteriostática y antibacteriana considerable de los alquilpoliglucósidos objeto de la invención.

Se observó un efecto sinérgico significativo de los alquilpoliglucósidos tanto con ácido láurico como con monolaurato en todos los casos.

15 Clave:

A2 = Laurilglucósido, (alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>)poliglucósido (n.º de CASR 9110615-47-9)

20 F = ácido láurico

G = monolaurato (éster de monoglicerol de ácido láurico)

Tabla IV - CMI y CMB contra *Gardnerella vaginalis*

	CMI (%)	CMB (%)
A2	0,0048	0,0048
A2 + F	0,00008/0,00047	0,0003/0,0019
A2 + G	0,00015/0,00042	0,0003/0,00083
metronidazol	0,0004	0,0008

Tabla V - CMI y CMB contra *Neisseria gonorrhoeae*

	CMI (%)	CMB (%)
A2	≤0,0012	≤0,0012
A2 + F	≤0,00004/0,00024	≤0,00004/0,00024
A2 + G	≤0,00004/0,00011	≤0,00004/0,00011
Ampicilina	≤0,000012	≤0,000012

5

Tabla VI - CMI y CMB contra *Candida albicans*

	CMI (%)	CMB (%)
A2	0,077	0,154
A2 + F	0,0048/0,03038	0,00969/0,06076
A2 + G	0,0048/0,0132	0,0048/0,0132
econazol	0,000025	0,0008
metronidazol	0,000012	0,0008

En cuanto a los lactobacilos vaginales sometidos a prueba, se observó una actividad bacteriostática y antibacteriana marginal, tal como se muestra en las tablas VII, VIII y IX.

10

De ahí surgió la siguiente situación interesante:

- en cuanto a las sustancias A2, A1+G, A2+G y A1 se observaron valores de CMB que oscilaban entre 2 y 8 veces mayores que los observados en las cepas de *S. agalactiae*;

15

- en cuanto a las sustancias A2, A2+F y A2+G se observaron valores de CMB aproximadamente 15 veces mayores que los observados en *G.vaginalis* y que oscilaban entre 60 y 120 veces mayores que los observados en *N. gonorrhoeae*.

20

Todo esto para la ventaja de eficacia contra las cepas patógenas sometidas a prueba (excluyendo los lactobacilos), aunque manteniendo una acción neutra con respecto a los lactobacilos vaginales.

Tabla VII - CMI y CMB contra *Lactobacillus crispatus*

	CMI (%)	CMB (%)
A1	0,097	0,193
A1 + F	0,012/0,0152	0,0242/0,0304
A1 + G	0,0242/0,0136	0,0484/0,0272
A2	0,038	0,077
A2 + F	0,0024/0,0152	0,0048/0,0304
A2 + G	0,0048/0,0136	0,0096/0,0272

25

Tabla VIII - CMI y CMB contra *Lactobacillus jensenii*

	CMI (%)	CMB (%)
A1	0,193	0,193

A1 + F	0,0242/0,0304	0,0242/0,0304
A1 + G	0,0242/0,0136	0,0242/0,0136
A2	0,077	0,077
A2 + F	0,0048/0,0304	0,0048/0,0304
A2 + G	0,0048/0,0136	0,0048/0,0136

Tabla IX - CMI y CMB contra *Lactobacillus gasseri*

	CMI (%)	CMB (%)
A1	0,097	0,193
A1 + F	0,0242/0,0304	0,0484/0,06076
A1 + G	0,0484/0,026	0,0968/0,0544
A2	0,077	0,077
A2 + F	0,0048/0,0304	0,0048/0,0304
A2 + G	0,0096/0,026	0,0192/0,0544

- 5 Según la presente invención la dosificación de los compuestos propuesta para su administración a una mujer (con un peso corporal de aproximadamente 70 kg) oscila entre 0,01 mg y 1 g y, preferiblemente, entre 0,1 mg y 100 mg de principio activo por unidad de dosis. La dosis puede administrarse, por ejemplo, desde 1 hasta 4 veces al día. Debe considerarse que pueden requerirse variaciones continuas de la dosificación dependiendo de la gravedad de los estados clínicos que van a tratarse. La dosificación exacta está a criterio del médico.
- 10 El tratamiento según la invención puede comprender la administración tópica de formulaciones que contienen los compuestos mencionados anteriormente comenzando a partir de la 32ª o a partir de la 35ª semana de embarazo hasta el parto o, si necesario, incluso después. En realidad, los compuestos de la invención tienen una baja toxicidad y no dan lugar a fenómenos de resistencia.
- 15 Las formulaciones vaginales bacteriostáticas y/o bactericidas según la invención pueden estar por ejemplo en forma de un gel vaginal, un lavado vaginal, una crema vaginal, pomada, espuma vaginal, comprimidos vaginales, cápsulas vaginales blandas y duras. Las formas farmacéuticas mencionadas anteriormente en el presente documento pueden liberarse inmediatamente o a través de una liberación modificada dependiendo de la necesidad.
- 20 La introducción de la unidad de dosificación en la cavidad vaginal puede facilitarse mediante el uso de técnicas adecuadas específicas (aplicadores, jeringas, tampones de algodón vaginales, etc.).

25 Se proporciona normalmente un disolvente para facilitar la incorporación de los principios activos objeto de la presente invención. Aunque pueden usarse diferentes compuestos para tal fin, el agua representa el disolvente preferido debido a la mayor biocompatibilidad de la misma. También pueden usarse para este fin compuestos no acuosos tales como glicoles, por ejemplo propilenglicol, butilenglicol, etilenglicol, hexilenglicol, polietilenglicol, etc.; y alcoholes tales como etanol, propanol, isopropanol y mezclas de los mismos.

30 Normalmente, el disolvente está presente en cantidades mayores de aproximadamente el 75%, en algunas formulaciones pueden ser mayores de aproximadamente el 90%; por último, en otros casos puede estar comprendido entre aproximadamente el 90% y aproximadamente el 99,99% de la fórmula final.

EJEMPLO 1 - gel vaginal

N.º	COMPONENTE	TÍTULO	%	Var.	% del tit. real
1	AGUA PURIFICADA	pura	50,265		
2	PROPILENGLICOL	puro	40,000		
3	HIDROXIPROPILCELULOSA	pura	1,300		
4	A1 - CAPRILIL-CAPRILGLUCÓSIDO	62,00	0,156		0,097
6	GLICERINA	9,00	6,779		0,0048/0,0304
7	ÁCIDO CÍTRICO MONOHIDRATADO	puro	1,500	Hasta pH 4,5	0,0048/0,0136
TOTAL			100,00		

EJEMPLO 2 - gel vaginal

N.º	COMPONENTE	TÍTULO	%	Var.	% del tit. real
1	AGUA PURIFICADA	pura	50,305		
2	PROPILENGLICOL	puro	31,676		
3	HIDROXIETILCELULOSA	pura	1,500		
4	A2 - LAURILGLUCÓSIDO	51,00	0,019		0,0097
6	GLICERINA	89,00	15,00		
7	ÁCIDO CÍTRICO MONOHIDRATADO	puro	1,500	Hasta pH 4,5	
TOTAL			100,00		

EJEMPLO 3 - lavado vaginal

N.º	COMPONENTE	TÍTULO	%	Var.	% del tit. real
1	AGUA PURIFICADA	pura	50,316		
2	PROPILENGLICOL	puro	35,000		
3	PEG 70	30,00	5,000		
4	A1 - CAPRILIL-CAPRILGLUCÓSIDO	62,00	0,078		0,0484
5	G - MONOLAURATO	99,00	0,027		0,0270
6	GLICERINA	89,00	8,579		
7	ÁCIDO CÍTRICO MONOHIDRATADO	puro	1,000	Hasta pH 4,5	
TOTAL			100,00		

5 EJEMPLO 4 - lavado vaginal

N.º	COMPONENTE	TÍTULO	%	Var.	% del tit. real
1	AGUA PURIFICADA	pura	53,4605		
2	PROPILENGLICOL	puro	15,000		
3	PEG 70	30,00	15,000		
4	A2 - LAURILGLUCÓSIDO	51,00	0,0095		0,048
5	F - ÁCIDO LÁURICO	98,00	0,03		0,03
6	GLICERINA	89,00	15,00		
7	ÁCIDO CÍTRICO MONOHIDRATADO	puro	1,000	Hasta pH 4,5	
TOTAL			100,00		

**Referencias bibliográficas**

1. Blond MH, Poulain P, Gold F, Bingen E, Watier H; Quentin R. Infección bacterienne materno-foetale. EMC 2004  
 10 Obstétrique vol. 2, página 14.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Compuesto seleccionado de entre caprilil/caprilglucósido, laurilglucósido, (alquil C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)poliglucósido, (alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>)poliglucósido y mezclas de los mismos para su uso como agente bacteriostático o bactericida en la prevención y en el tratamiento de infecciones bacterianas del tracto vaginal.
- 10 2. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso según la reivindicación 1, en el que dichas infecciones bacterianas del tracto vaginal comprenden infecciones por *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Atopobium vaginae*, *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium/urealiticum/hominis/parvum*, *Treponema pallidum* y *Streptococcus agalactiae*.
- 15 3. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso según la reivindicación 1, en el que dichas infecciones bacterianas del tracto vaginal son infecciones por *Streptococcus agalactiae*.
- 20 4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso según la reivindicación 1, en el que dicha prevención y/o tratamiento proporciona la administración de dicho compuesto comenzando a partir de la 32<sup>a</sup> o a partir de la 35<sup>a</sup> semana de embarazo.
- 25 5. Formulación vaginal bacteriostática y/o bactericida para su uso en la prevención y en el tratamiento de infecciones bacterianas del tracto vaginal, que comprende al menos un compuesto según la reivindicación 1, posiblemente en asociación con un principio activo seleccionado de entre ácido láurico, éster de monoglicerol del ácido láurico y mezclas de los mismos.
- 30 6. Formulación vaginal bacteriostática y/o bactericida para el uso según la reivindicación 5, en la que dicho compuesto seleccionado de entre caprilil/caprilglucósido, laurilglucósido, (alquil C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)poliglucósido, (alquil C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>)poliglucósido y mezclas de los mismos y dicho principio activo seleccionado de entre ácido láurico, éster de monoglicerol del ácido láurico y mezclas de los mismos están preferiblemente a una razón comprendida entre 1:10 y 10:1.
- 30 7. Formulación vaginal bacteriostática y/o bactericida para el uso según la reivindicación 5 o 6, en la que dicha formulación es un gel vaginal, un lavado vaginal, una crema vaginal, pomada, espuma vaginal, comprimidos vaginales, cápsulas vaginales blandas y duras.