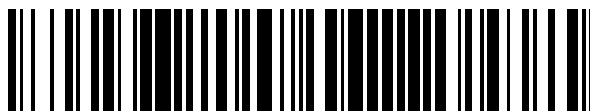


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 588 437**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 33/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2008** **E 13187971 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016** **EP 2684574**

54 Título: **Composiciones y métodos para tratar infecciones vaginales y biopelículas vaginales patógenas**

30 Prioridad:

30.11.2007 US 991308 P

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

02.11.2016

73 Titular/es:

TOLTEC PHARMACEUTICALS, LLC (100.0%)
1115 W. Wrightwood Avenue, Suite 1W
Chicago, IL 60614, US

72 Inventor/es:

GORDON, SUZANNE y
FLYNN, DAWN

74 Agente/Representante:

CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes

ES 2 588 437 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones y métodos para tratar infecciones vaginales y biopelículas vaginales patógenas.

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere en general a composiciones para su uso en el tratamiento de infecciones vaginales.

10 **Antecedentes de la invención**

Según los Centros para el Control de Enfermedades (CDC), la vaginitis es un diagnóstico extremadamente común entre las mujeres de edad reproductiva, dando como resultado más de 10 millones de visitas médicas cada año. La gran mayoría de casos de vaginitis están relacionados con una de tres infecciones: vaginosis bacteriana (VB), candidiasis vulvovaginal (CVV) (también conocida como "infección vaginal por hongos") y tricomonosis. La vaginosis bacteriana representa aproximadamente el 40-45 % de todas las infecciones, mientras que la CVV y la tricomonosis representan aproximadamente el 20-25 % y el 15-20 %, respectivamente. En algunos casos, la etiología de la vaginitis puede ser mixta. Desafortunadamente, se carece de datos de vigilancia nacional sobre la vaginitis, ya que ninguna es una enfermedad notificable; sin embargo, estimaciones de prevalencia del National Health and Nutrition Examination Survey for BV muestran que cerca de un tercio (el 29 %) de las mujeres en la población de Estados Unidos general entre las edades de 14-49 años son positivas para esta infección.

Aunque están disponibles varias terapias aprobadas por la FDA para la gestión de la vaginitis, el tratamiento constituye a menudo un reto y es además complicado por las tasas crecientes de organismos resistentes al tratamiento e infecciones recurrentes y persistentes. Además, existe un conjunto creciente de evidencias científicas que identifica estas infecciones como factores de riesgo importantes para complicaciones de la salud más graves, particularmente durante el embarazo. Según se informa, las estimaciones del coste directo de la vaginitis por visitas médicas y autotratamiento son de más 1 billón de dólares al año; sin embargo, los costes indirectos relacionados con complicaciones secundarias (por ejemplo, morbilidad en el embarazo, enfermedad inflamatoria pélvica e infecciones posoperatorias) y la pérdida de productividad laboral son mucho mayores.

Por consiguiente, las implicaciones de salud pública de estas infecciones son significativas y existe la necesidad de enfoques terapéuticos mejorados.

Las infecciones relacionadas con biopelículas se describieron por primera vez en 1978 y ahora se cree que son un factor causante en más del 60 % de las infecciones humanas, particularmente en su persistencia y reaparición. Se han descrito biopelículas para una amplia gama de infecciones crónicas provocadas por organismos bacterianos y fúngicos, incluyendo heridas y quemaduras en la piel, otitis media, enfermedad periodontal, endocarditis, infecciones de las vías urinarias e infecciones relacionadas con dispositivos (por ejemplo, catéteres, válvulas cardíacas), pero no se reconocen como importantes en la causalidad de infecciones vaginales y, por lo tanto, no se han abordado en la práctica por los expertos en la técnica del tratamiento de la vaginitis.

Las biopelículas son poblaciones altamente organizadas de microorganismos incrustados en una matriz de exopolisacáridos (es decir, hidratos de carbono) protectora que se adhieren a superficies de membrana inertes y vivas (es decir, poblaciones sésiles) a modo de proteínas de adhesión. A diferencia de sus homólogos de libre flotación o "planctónicos", los microorganismos asociados a biopelículas son notoriamente resistentes a terapia antimicrobiana, hasta 1000 veces o más, y son una fuente de muchas infecciones recurrentes y recalcitrantes. Se cree que su persistencia está relacionada, en parte, con la regulación ascendente de genes que confieren un fenotipo de biopelícula altamente distinto y resistente que perpetúa el crecimiento y la supervivencia de la comunidad de la biopelícula. Esto incluye la formación de material de matriz de biopelícula, que restringe la penetración antimicrobiana e interfiere con los mecanismos de defensa del huésped normales y la generación de organismos "persistentes" que son básicamente intolerantes a la destrucción.

Se cree que la capacidad de las biopelículas para migrar sobre superficies sólidas lejos de áreas de alto estrés, una capacidad conocida como enjambrazón, y su baja tasa de crecimiento también contribuyen a su patogenicidad y persistencia. Las evidencias sugieren además que las biopelículas establecidas desempeñan una función en la persistencia de otros patógenos secundarios, tales como virus, actuando como reservorios protectores que protegen estos organismos frente a la destrucción mediante el sistema inmunitario y terapias antimicrobianas convencionales.

El ácido bórico o ácido borácico $[B(OH)_3]$ es un ácido inorgánico débil con propiedades antimicrobianas débiles. *In vitro*, el ácido bórico es débilmente fungistático contra aislados clínicos de *C. albicans* así como especies no *albicans*, incluyendo *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. paraptiosis* (Shubair, 1990; Prutting 1998). Aunque el ácido bórico también presenta actividad bacteriostática *in vitro* contra una gama de patógenos bacterianos comunes, incluyendo estafilococos y estreptococos, *P. aeruginosa*, *E. coli* y especies de *Proteus*, *Klebsiella* y *Enterobacter* (Meers 1990), los efectos antibacterianos del ácido bórico son de actuación lenta y, a diferencia de muchos antibióticos, parecen ser independientes del crecimiento celular ya que se ha mostrado que las células en división y en fase estacionaria

se ven afectadas igualmente (Meers 1990). Las propiedades antimicrobianas débiles del ácido bórico hacen que sea sorprendente que el ácido bórico sea eficaz en el tratamiento de infecciones vaginales, particularmente las que son de naturaleza resistente, persistente y recurrente.

- 5 El ácido bórico también muestra otros efectos biológicos. Por ejemplo, se ha mostrado que el ácido bórico desempeña un papel en la modulación del calcio y estimula la cicatrización de heridas a través de la acción sobre la formación de matriz extracelular y la síntesis de factores de crecimiento (Dzondo 2002). También se ha mostrado que el ácido bórico tiene efectos antiproliferativos en líneas celulares de cáncer de próstata y efectos citoprotectores en modelos animales de lesión gástrica (Barranco 2006); (Alsaif 2004). También existen evidencias que sugieren
10 además que el ácido bórico tiene actividad antivírica, específicamente contra el virus del herpes simple (Skinner 1979; Rodu 1988). A nivel molecular, el ácido bórico se une a compuestos *cis*-diol, incluyendo polisacáridos de membrana y restos de hidrato de carbono de ácidos nucleicos implicados en el metabolismo y la señalización celular (por ejemplo, ARN, NAD, ATP), que pueden explicar, en parte, los efectos indicados del ácido bórico sobre la membrana y el funcionamiento celular (Kim 2006); mientras que la combinación de ácido bórico y ácido
15 etilendiaminatetraacético (EDTA) ha demostrado una sinergia única en la permeabilidad de membrana corneal *in vitro* (Kikuchi 2005).

Resumen de la invención

- 20 La invención se refiere a ácido bórico en ausencia de cualquier cantidad terapéutica de ácido acético, para su uso en el tratamiento de infecciones vaginales, donde la infección se selecciona entre el grupo que consiste en infecciones bacterianas y tricomoniasis.

- 25 La invención también se refiere a ácido bórico, en ausencia de cualquier cantidad terapéutica de ácido acético, para su uso en un método para prevenir la vaginosis bacteriana.

- La cantidad de ácido bórico en una composición farmacéutica de la invención es preferiblemente de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 10 g, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1 g, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 250 mg.

- 30 EDTA también puede estar presente en una composición farmacéutica de la invención en una cantidad preferiblemente de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 1 g, y más preferiblemente de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 250 mg.

- 35 En una realización, la cantidad relativa de ácido bórico con respecto a EDTA está en el intervalo de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1000:1 basándose en el peso.

- En otra realización, las cantidades relativas de EDTA y ácido bórico están en el intervalo de aproximadamente 2:1 a 100:1.

- 40 En otra realización, las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden además uno o más agentes bioactivos seleccionados entre el grupo que consiste en aceite de bergamota, aceite de árbol de té u otros aceites esenciales, ión cinc y galio.

- 45 En otra realización, las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden además al menos un aditivo seleccionado entre el grupo que consiste en agentes gelificantes, tampones, conservantes, tensioactivos, detergentes, aceites, alcoholes, emulsionantes, solubilizantes, humectantes y bioadhesivos.

- 50 En una realización, las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado para la administración vaginal y/o vulvar del fármaco.

- Un método de tratamiento y/o prevención de infecciones vaginales comprende administrar a un paciente que necesita el mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido bórico en ausencia de cualquier cantidad terapéutica de ácido acético.

- 55 Otro método para tratar y/o prevenir una infección vaginal comprende administrar a una paciente que necesita el mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende ácido bórico y EDTA.

- 60 Los métodos pueden comprender aplicar composiciones farmacéuticas a una vagina y/o una vulva desde una vez al día hasta tres veces al día.

- Otros métodos pueden comprender aplicar composiciones farmacéuticas a una vagina y/o una vulva de manera intermitente, tal como dos veces por semana, como profilaxis.

- 65 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden aplicarse por vía tópica a una vagina y/o una vulva de una

paciente.

Las composiciones farmacéuticas pueden aplicarse en forma de un supositorio, una pomada, crema, sólido (por ejemplo, comprimido, cápsula, óvulo, supositorio), solución, suspensión, gel, espuma, película o composición liposómica. Las composiciones farmacéuticas también pueden estar contenidas dentro de un anillo vaginal, tampón, supositorio, esponja, almohadilla, dosis de inhalador o sistema de bombeo osmótico.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden coadministrarse con otros compuestos farmacéuticamente activos, como por ejemplo, con metronidazol.

Las formas de dosificación de las composiciones farmacéuticas también pueden formularse en forma de liberación sostenida, empleando diversos polímeros, fibras, resinas, ceras, aceites u otros excipientes farmacéuticos usados por los expertos en la técnica de la química médica para producir una liberación prolongada de los constituyentes activos de las composiciones farmacéuticas.

En una realización, la infección vaginal es una infección bacteriana.

Aún en otra realización, la infección vaginal es tricomonosis.

Si no se trata apropiadamente, las infecciones vaginales pueden dar como resultado infecciones de las vías urinarias.

En otra realización, la invención se refiere a un artículo de fabricación que comprende material de envasado y una composición farmacéutica de la invención dentro del material de envasado. La composición farmacéutica está presente en una cantidad suficiente para tratar una infección vaginal o biopelículas vaginales patógenas en una paciente, preferiblemente en una cantidad equivalente a, al menos, una dosis unitaria. El material de envasado comprende una etiqueta que indica que la composición farmacéutica puede usarse para tratar infecciones vaginales y biopelículas vaginales patógenas asociadas. Preferiblemente, la etiqueta incluye otras indicaciones impresas, tal como una lista de ingredientes, el nombre y la dirección del fabricante, y similares. Preferiblemente, el material de envasado también incluye un prospecto impreso que incluye información detallada sobre la composición, su método de administración para el tratamiento de infecciones vaginales y biopelículas patógenas, efectos secundarios, contraindicaciones e indicaciones similares, que pueden requerir las agencias gubernamentales responsables de la regulación de productos farmacéuticos.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama que ilustra una relación simbiótica de patógenos de VB.

La figura 2 es un gráfico que ilustra el efecto del ácido bórico y EDTA sobre la biopelícula de *C. albicans* en cuanto a la reducción logarítmica en la carga de biopelícula frente a controles de biopelícula sin tratar.

La figura 3 es un gráfico que ilustra el efecto del ácido bórico y EDTA sobre la biopelícula de *G. vaginalis* en cuanto a la reducción logarítmica en la carga de biopelícula frente a controles de biopelícula sin tratar.

La figura 4 es un gráfico Kaplan-Meier que ilustra la probabilidad de curación de mujeres con VB resistente que fueron tratadas con ácido bórico.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Una "biopelícula", como se usa en el presente documento, se refiere a una población de microorganismos unida a la superficie, altamente estructurada, de una o múltiples especies, enredados en una matriz de exopolisacáridos autoproducida que facilita la adherencia, colonización y crecimiento sobre una superficie, tal como la mucosa vaginal y muestra un fenotipo de biopelícula distinto.

Cuando se hace referencia a un compuesto como agente activo, los solicitantes pretenden que el término "compuesto" o "agente activo" incluya no sólo la entidad molecular especificada sino también sus sales farmacéuticamente aceptables, farmacológicamente activas.

Los términos "tratar" y "tratamiento" como se usan en el presente documento, se refieren a provocar una reducción en la gravedad y/o la frecuencia de síntomas, eliminación de síntomas y/o causa subyacente, prevención de la aparición de síntomas y/o su causa subyacente, y/o mejora. Por lo tanto, "tratar" una paciente con dichas composiciones de la invención incluye la prevención de un trastorno particular en un individuo susceptible, así como el manejo de un individuo clínicamente sintomático para inhibir o provocar la regresión de un trastorno o una enfermedad. El tratamiento puede incluir profilaxis, terapia o curación. Por ejemplo, el tratamiento de una biopelícula incluye la prevención de la formación de una biopelícula en una paciente susceptible de desarrollar una biopelícula, así como el tratamiento de una paciente con una biopelícula inhibiendo, controlando o provocando la regresión de la

enfermedad subyacente.

El término "vagina" como se usa en el presente documento, pretende incluir la región vaginal en general, incluyendo además la vulva, el vestíbulo y el cuello uterino.

5 La expresión "infección vaginal" incluye cualquier trastorno infeccioso, incluyendo infecciones asociadas con biopelícula, de cualquier zona vaginal, incluyendo la vulva, el vestíbulo y el cuello uterino. La expresión también incluye una pluralidad de infecciones vaginales.

10 El término "alterar" pretende incluir provocar algún daño y un daño total a las biopelículas.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" de las composiciones farmacéuticas de la invención se refiere a una cantidad suficiente de la composición para tratar trastornos, a una relación de beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de las composiciones de la presente invención se decidirá por el médico encargado dentro del alcance del criterio médico razonable. El nivel de dosis eficaz específica para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores incluyendo el trastorno que está tratándose y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el momento de administración, vía de administración y tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos usados en combinación o de manera fortuita con el compuesto específico empleado; y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. Por ejemplo, está bien dentro de la experiencia de la técnica empezar las dosis de la composición a niveles inferiores a los requeridos para lograr el efecto terapéutico deseado y para aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logre el efecto deseado.

25 Como se usa en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un/uno", "una" y "el/la" incluyen referencias a plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un agente bioactivo" incluye una mezcla de dos o más agentes bioactivos, la referencia a "un excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye mezclas de tales excipientes y similares.

30 En realizaciones, la invención se refiere a una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento y/o prevención de una infección vaginal que comprende ácido bórico y EDTA.

La cantidad de ácido bórico en las composiciones farmacéuticas de la invención es preferiblemente de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 10 g, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1 g, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 250 mg.

La cantidad de EDTA en las composiciones farmacéuticas de la invención es preferiblemente de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 1 g, y más preferiblemente de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 250 mg.

40 En una realización, la cantidad relativa de ácido bórico con respecto a EDTA está en el intervalo de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1000:1 basándose en el peso.

45 En otra realización, las cantidades relativas de EDTA con respecto a ácido bórico están en el intervalo de aproximadamente 2:1 a 100:1.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden comprender además uno o más agentes bioactivos seleccionados entre el grupo que consiste en aceite de bergamota, aceite de árbol de té u otros aceites esenciales, ión cinc y galio. Estos agentes bioactivos pueden potenciar y/o complementar los efectos de alteración de biopelícula del ácido bórico y el EDTA.

Por ejemplo, puede añadirse galio a la composición farmacéutica para potenciar los efectos de alteración de la biopelícula del ácido bórico y el EDTA seleccionando como diana el metabolismo del hierro de microorganismos patógenos e interfiriendo con su papel de señalización en la formación de biopelículas.

55 Puede añadirse ión cinc o una sal del mismo para potenciar el efecto de alteración de biopelícula del ácido bórico y el EDTA.

60 Pueden añadirse tensioactivos a las composiciones farmacéuticas. Los tensioactivos pueden proporcionar una mejor superficie de contacto de las composiciones con la mucosa vaginal reduciendo adicionalmente la tensión superficial y promoviendo la dispersión de los principios activos, o puede poseer propiedades antibiopelícula que pueden complementar las de dichas composiciones de ácido bórico y EDTA. Los tensioactivos que pueden añadirse incluyen, pero sin limitación, sulfato de laurilo y Teepol, y similares.

65 Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden comprender además otros aditivos tales como agentes

gelificantes, tampones, conservantes, detergentes, aceites, alcoholes, emulsionantes, solubilizantes, humectantes y bioadhesivos.

5 Las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden además un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado para la administración vaginal y/o vulvar del fármaco.

Las composiciones de la presente invención pueden incluir un conservante fisiológicamente tolerable.

10 Los conservantes fisiológicamente tolerables adecuados incluyen bacteriostáticos, conservantes, inhibidores y similares, tales como esteres metílico, etílico, propílico y butílico de ácido parahidroxibenzoico (parabeno); galato de propilo; ácido sórbico y sus sales de sodio y potasio; ácido propiónico y sus sales de calcio y sodio; 6-acetoxi-2,4-dimetil-m-dioxano; 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol; salicilanilidas tales como dibromosalicilanilida y tribromosalicilanilida, el isómero cis de cloruro de 1-(3-cloroalil-3,5,7-triaza-1-azanidadamantano; hexaclorofeno; benzoato de sodio; compuestos fenólicos tales como butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno, cloro y bromocresoles y cloro y bromooxilenoles; compuestos de amonio cuaternario, tales como cloruro de benzalconio; alcoholes aromáticos tales como alcohol 2-feniletílico y alcohol bencílico; clorobutanol; derivados de quinolina, tales como yodoclorohidroquinolina; y similares. Preferiblemente, el conservante está incluido en una cantidad en el intervalo de aproximadamente el 0,05 a aproximadamente el 0,2 por ciento de peso, basándose en un peso de composición total.

20 Los excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden incluirse en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, por ejemplo, tensioactivos, disolventes, emolientes, colorantes, fragancias y similares fisiológicamente tolerables, que se conocen bien en la técnica. Las composiciones tienen preferiblemente un valor de pH en el intervalo de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 7, más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 4 a 4,5.

Un método de tratamiento y/o prevención de infecciones vaginales comprende administrar a una paciente que necesita el mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido bórico.

30 Otro método de tratamiento y/o prevención de infecciones vaginales comprende administrar una paciente necesita el mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido bórico y EDTA.

Sin quedar ligado a teoría alguna, se cree que el ácido bórico puede actuar uniéndose preferentemente con componentes de hidrato de carbono de *cis*-diol de la matriz de biopelícula patógena y estimulando la síntesis de enzimas proteasa, alterando de ese modo la integridad estructural de la biopelícula y su adherencia a la mucosa vaginal. El ácido bórico también puede ofrecer una ventaja adicional en biopelículas de VB debido a su capacidad para "atrapar" químicamente el amoníaco formando borato de amonio (Thiex NJ y col. 2002). La relevancia de esto está relacionada con la relación simbiótica descrita por *G. vaginalis*, el constituyente bacteriano primario de biopelículas de VB, y *P. bivia*, un patógeno de VB secundario (Pybus 1997). La investigación *in vitro* sugiere que *G. vaginalis* neutraliza los subproductos del amoníaco del metabolismo de *P. bivia* mientras que *P. bivia* neutraliza los subproductos de aminoácidos del metabolismo de *G. vaginalis*. La figura 1 muestra esta relación simbiótica en forma de un diagrama. Por consiguiente, la administración vaginal de ácido bórico puede interrumpir esta simbiosis atrapando el amoníaco y reduciendo el microentorno vaginal de nutrientes de VB esenciales requeridos para el crecimiento bacteriano y la formación y supervivencia de la biopelícula.

45 Un método de tratamiento y/o prevención de una infección vaginal comprende administrar a una paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende ácido bórico y EDTA.

50 La cantidad de ácido bórico en las composiciones farmacéuticas de la invención es preferiblemente de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 10 g, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1 g, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 250 mg.

55 La cantidad de EDTA en las composiciones farmacéuticas de la invención es preferiblemente de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 1 g, y más preferiblemente de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 250 mg.

En una realización, la cantidad relativa de ácido bórico con respecto a EDTA está en el intervalo de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1000:1 basándose en el peso.

60 En otra realización, la cantidad relativa de EDTA con respecto a ácido bórico está en el intervalo de aproximadamente 2:1 a 100:1.

Los métodos pueden comprender aplicar las composiciones farmacéuticas a una vagina y/o una vulva de una vez al día hasta tres veces al día.

65

Los métodos pueden comprender aplicar las composiciones farmacéuticas a una vagina y/o una vulva de manera intermitente, tal como dos veces por semana, como profilaxis.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se aplican por vía tópica a una vagina y/o una vulva de una paciente.

Las composiciones farmacéuticas pueden aplicarse en forma de un supositorio, una pomada, crema, sólido (por ejemplo, comprimido, cápsula, óvulo y supositorio), solución, suspensión, gel, espuma, película o composición liposómica. Las pomadas y cremas, pueden, por ejemplo, formularse con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Una técnica para aplicar las composiciones de la invención reivindicada es emplear un paquete de uso individual (tal como una estructura similar a un sobre pequeño, o similares) que contiene una dosis unitaria individual pretendida. Inicialmente el paquete se sella, pero se abre en el momento de su uso rasgando, cortando o similar en una ubicación deseada o planificada en el paquete tras lo cual el contenido puede administrarse directamente como se etiquetó.

Las composiciones farmacéuticas también pueden estar contenidas dentro de un anillo vaginal, tampón, supositorio, esponja, almohadilla, dosis de inhalador o sistema de bombeo osmótico.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden coadministrarse con otras composiciones farmacéuticas, por ejemplo, con metronidazol.

Las formas farmacéuticas de las composiciones farmacéuticas también pueden formularse en forma de liberación sostenida, empleando diversos polímeros, fibras, resinas, ceras, aceites u otros excipientes farmacéuticos usados por los expertos en la técnica de química médica para producir una liberación prolongada de los constituyentes activos de las composiciones farmacéuticas.

En una realización, la infección vaginal es una infección bacteriana.

Aún en otra realización, la infección vaginal es tricomonosis.

Los métodos y composiciones farmacéuticas pueden usarse en combinación con otras terapias antimicrobianas, incluyendo agentes antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios o antivirales, para potenciar su eficacia antimicrobiana y/o reducir sus requisitos de dosificación cuando se emplean para el tratamiento de infecciones vaginales asociadas con formación de biopelícula.

Además, las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden usarse como material de vehículo para otros medicamentos, tales como antibióticos, antifúngicos, antiparasitarios y antiinflamatorios, ampliando adicionalmente de ese modo la eficacia médica de las composiciones.

La dosis diaria total de las composiciones de esta invención administrada a un ser humano o animal inferior puede variar de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 15 g/día. Dosis más preferibles pueden estar en el intervalo de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 5 g/día. Si se desea, la dosis diaria eficaz puede dividirse en dosis múltiples con fines de administración; en consecuencia, las composiciones de dosis individual pueden contener tales cantidades o submúltiplos de las mismas para constituir la dosis diaria.

Un artículo de fabricación puede comprender material de envasado y una composición farmacéutica de la invención dentro del material de envasado. La composición farmacéutica está presente en una cantidad suficiente para tratar una infección vaginal en una paciente, preferiblemente en una cantidad equivalente a al menos una dosis unitaria. El material de envasado comprende una etiqueta que indica que la composición farmacéutica puede usarse para tratar infecciones vaginales. Preferiblemente, la etiqueta incluye otras indicaciones impresas tal como una lista de ingredientes, el nombre y la dirección del fabricante, y similares. Preferiblemente, el material de envasado también incluye un prospecto impreso que incluye información detallada sobre la composición, su método de administración para el tratamiento de infecciones vaginales, efectos secundarios, contraindicaciones e indicaciones similares, que pueden requerir las agencias gubernamentales responsables de la regulación de productos farmacéuticos.

Como muestran los Ejemplos, las composiciones y los métodos proporcionados demuestran de manera inesperada propiedades ventajosas de las composiciones farmacéuticas según la invención. Los Ejemplos se presentan sólo con fines ilustrativos y no pretenden limitar la invención a menos que se indique lo contrario en las reivindicaciones.

EJEMPLO 1

Alteración de biopelículas de *C. albicans* y *G. vaginalis* mediante ácido bórico y EDTA

A) Métodos experimentales:

Los efectos de alteración de biopelícula del ácido bórico y EDTA a diversas concentraciones de ensayo, en solitario y en combinación, frente a biopelículas de *C. albicans* y *G. vaginalis* se estudiaron *in vitro* usando reactores de biopelícula de CDC (Biosurface Technologies Corporation). Los experimentos se realizaron en el Center for Biofilm Engineering en Bozeman, Montana. El método de reactor de biopelícula de CDC se seleccionó basándose en su reproducibilidad y capacidad para proporcionar muestras de biopelícula consistentes y las condiciones de crecimiento necesarias para la evaluación de agentes antimicrobianos. Como preámbulo a los experimentos de biopelícula, los valores de CIM planctónicos (es decir, de flotación libre frente a asociados a biopelícula) para el ácido bórico y EDTA frente a ambos organismos de prueba se establecieron utilizando metodologías de CIM convencionales. A diferencia de *C. albicans*, los valores de CIM planctónicos para el ácido bórico y EDTA frente a *G. vaginalis* no se habían notificado previamente.

El reactor de CDC consiste en ocho soportes de muestras de policarbonato suspendidos de una tapa con orificios. Cada soporte aloja 3 muestras separadas. La tapa con soportes de muestra y muestras, 24 en total, se monta en un recipiente de vidrio de 1 litro con una abertura de descarga lateral. Las biopelículas se forman haciendo circular medios de crecimiento líquidos a través del recipiente mientras que se mezcla y se genera un esfuerzo cortante mediante una barra/hélice de agitación magnética que se hace rotar mediante una placa de agitación magnética.

En la preparación de los experimentos de biopelícula relacionados con la invención, se prepararon cultivos durante una noche de *C. albicans* y *G. vaginalis* añadiendo 1 ml de solución madre a 9 ml de medios de crecimiento (*G. vaginalis* ATCC n.º 14018 en caldo BHI al 50 % + almidón al 1 %, o *C. albicans* ATCC n.º 96113 en caldo SD al 50 % + sacarosa al 1 %) y se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Se hizo crecer *C. albicans* en condiciones atmosféricas mientras que se hizo crecer *G. vaginalis* con la adición de CO₂ al 5 %.

Una vez que estuvieron listos los cultivos durante una noche, se colocaron 24 muestras de policarbonato en los soportes de muestra del reactor de biopelícula de CDC y se fijaron usando un destornillador. Después, los extremos de los tubos de entrada/efluente se cubrieron con una lámina y se sujetaron, y todo el recipiente se sometió a autoclave durante 20 minutos. Se añadió el medio apropiado directamente al interior del reactor hasta la parte lateral de efluente (aproximadamente 350 ml). Después, el reactor se inoculó con 4 ml de cultivo durante una noche. Para facilitar el crecimiento de biopelícula óptimo, se incubaron reactores de *C. albicans* en condiciones atmosféricas a 37 °C, con agitación continua a la configuración más baja durante 24 horas. Se colocaron reactores de *G. vaginalis* en un incubador de CO₂ al 5 % con agitación continua a la configuración más baja durante 120 horas. Esta fase de formación de biopelícula se denomina "modo discontinuo". Tras completarse el modo discontinuo, se inició el flujo de medio de crecimiento a 1 ml/min durante 24 horas más mediante una bomba peristáltica.

A continuación, se extrajeron asépticamente las 24 muestras cubiertas con biopelícula del reactor de CDC y se colocaron en una placa de 24 pocillos, conteniendo cada pocillo 2 ml de solución de ensayo. Las soluciones de ensayo se realizaron por triplicado e incluyeron concentraciones variadas de ácido bórico (BA) y EDTA o una combinación de los mismos. También se incluyeron un control de crecimiento y un control activo, basándose en estándares de tratamiento actuales para las respectivas infecciones. Se seleccionó fluconazol a una concentración de 8 µg/ml como tratamiento control para *C. albicans*. Esto representa el extremo superior del intervalo de niveles de fármaco logrado en fluidos y tejidos biológicos (4,12-8,08 µg/ml), incluyendo secreciones y tejidos vaginales, tras la dosificación oral de fluconazol a una dosis diaria máxima de 400 mg (más del doble de la dosis actual aprobada por la FDA para candidiasis vaginal). El control activo para *G. vaginalis* era metronidazol a una concentración de 192 µg/ml. Esta concentración se basó en parte en el valor de CIM planctónico del metronidazol frente a *G. vaginalis* que se halló en este estudio (128 µg/ml), y representa un nivel conservador que se encuentra en el extremo superior de los valores de CIM indicados por otros investigadores. Obsérvese también que este nivel es más de 8 veces superior a los niveles sistémicos máximos de metronidazol logrados con el régimen de VB de 750 mg aprobado (Flagyl ER®).

Cada solución de ensayo se disolvió en el medio apropiado y se esterilizó por filtración antes de su uso. Después, las placas se incubaron durante 24 horas en condiciones de crecimiento apropiadas. Tras el periodo de tratamiento de 24 horas se aclararon todas las muestras eliminando la solución en el pocillo y añadiendo 2 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) estéril. Se repitió el procedimiento durante un total de dos aclarados. Después, las muestras se transfirieron de manera aséptica a un vial cónico de 15 ml estéril que contenía 10 ml de PBS estéril. Los tubos se agitaron vorticialmente durante 30 segundos, se sonicaron durante 2 minutos y después se agitaron vorticialmente durante 30 segundos más. La suspensión de células se diluyó en serie y se puso en placas sobre agar (agar SD para *C. albicans* y BHI + almidón al 1 % para *G. vaginalis*). Las placas se incubaron durante 24-48 horas y se contaron las colonias. Se notificaron los resultados como número de unidades formadoras de colonias (ufc) por cm² y reducciones logarítmicas medias en la carga de biopelícula en respecto a controles de biopelícula sin tratar.

B) Alteración de biopelícula:

En estos experimentos, el ácido bórico y el EDTA mostraron profundos efectos sobre las biopelículas establecidas, mucho más allá de lo observado para controles activos y de manera consistente por encima del umbral de 3 log

requerido para la destrucción eficaz (es decir, actividad bactericida frente a bacteriostática). De hecho, ninguno de los controles activos, ambos antimicrobianos aprobados por la FDA, tuvieron un impacto apreciable sobre las respectivas biopelículas patógenas.

- 5 Para *C. albicans*, se observó un efecto sinérgico para la combinación de ácido bórico y EDTA como se muestra en la figura 2.

10 La figura 2 es un gráfico que ilustra el efecto del ácido bórico y el EDTA sobre la biopelícula de *C. albicans*. Como demuestra la figura 2, se logró la mayor reducción logarítmica en la carga de biopelícula de 3,67 ufc/cm² cuando se combinaron ácido bórico y EDTA en sus valores de CIM planctónicos (1,56 mg/ml y 0,78 mg/ml, respectivamente) en comparación con concentraciones superiores de los agentes individuales en solitario. Esto representa una reducción del 99,8 % en la carga de biopelícula en comparación con controles de biopelícula sin tratar y muestra que el ácido bórico, particularmente cuando se combina con EDTA, confiere actividad fungicida frente a biopelículas de *C. albicans*. Estos hallazgos son notable y completamente inesperados en base a la actividad fungistática débil del ácido bórico frente a las células planctónicas y sorprendentemente en línea con la magnitud de destrucción logarítmica indicada para antimicrobianos aprobados por la FDA frente a patógenos planctónicos susceptibles, en general en el intervalo de aproximadamente 2-4 reducciones logarítmicas.

20 Se mostraron resultados incluso más excelentes frente a biopelícula de *G. vaginalis*, lográndose un claro efecto sinérgico con combinaciones de ácido bórico y EDTA. La figura 3 es un gráfico de datos que ilustra este efecto como reducción logarítmica en la carga de biopelícula. El ácido bórico a una concentración de 40 mg/ml combinado con EDTA a una concentración de 10 mg/ml dio como resultado la erradicación completa de la biopelícula de *G. vaginalis*, mientras que la combinación de estos agentes a sus valores de CIM planctónicos bajos, 3,125 mg/ml y 0,19 mg/ml respectivamente, condujeron a una disminución del 99,7 % en la carga de biopelícula frente a controles de biopelícula sin tratar. En un claro contraste, el control activo de metronidazol tuvo poco impacto sobre la biopelícula de *G. vaginalis*, y la diferencia comparada con las combinaciones de ácido bórico y EDTA fue bastante drástica. De nuevo, estos hallazgos no tienen precedentes y son impredecibles basándose en las propiedades antimicrobianas débiles del ácido bórico y los valores de CIM planctónicos de estos agentes frente a *G. vaginalis* que se establecieron para este estudio.

30 La sinergia inesperada lograda con los valores de CIM planctónicos de los agentes de la invención frente a biopelículas tanto de *Candida* como de *Gardnerella* es notable cuando se considera que los agentes bactericidas (tales como antibióticos de betalactama) requieren concentraciones de hasta 1000 veces superiores (o más) que sus CIM planctónicos para inhibir eficazmente organismos susceptibles en un modo de crecimiento de biopelícula. Estos hallazgos apoyan el mecanismo de acción propuesto de ácido bórico como alterador de biopelícula.

Los resultados son bastante notables a la luz del hecho de que la alteración de biopelícula no se habría pronosticado en base a la actividad antimicrobiana relativamente débil de estos agentes y los valores de CIM planctónicos que se establecieron por primera vez en este estudio frente a *G. vaginalis*.

40 La relevancia terapéutica de estos datos es triple: 1) eficacia clínica superior frente a infecciones vaginales asociadas con biopelícula en comparación con las terapias disponibles; 2) seguridad de las pacientes mejorada con concentraciones extremadamente bajas de principios activos y riesgos de exposición local y sistémica reducidos drásticamente; y 3) bajo potencial para el desarrollo de infecciones secundarias (particularmente candidiasis vulvovaginal), que a menudo complican el tratamiento de la vaginitis.

Ejemplo Comparativo

50 Con fines comparativos, se hace referencia a un estudio de Swidsinski, y col. An adherent Gardnerella vaginalis biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. Am J Obstet Gynecol 2008; 198(1): 97.e1-6, que evaluaron las características de la biopelícula de VB en biopsias vaginales tras terapia con metronidazol oral convencional. En este estudio, se trataron 18 pacientes con VB durante 7 días con metronidazol oral, administrado como 500 mg dos veces al día y se evaluaron usando métodos clínicos y microbiológicos convencionales para confirmar el diagnóstico y evaluar la respuesta clínica. Se requirió que cada paciente regresara para una visita de seguimiento individual en la que se sometieron a biopsia vaginal, lo que permitió la visualización directa de biopelículas vaginales usando técnicas de hibridación fluorescente *in situ*. Se asignaron aleatoriamente las mujeres a regresar para una visita de seguimiento en uno de 6 posibles puntos temporales el Día 3 de tratamiento o los días 7, 14, 21, 28 o 35 tras la finalización de la terapia.

60 Los resultados demostraron la resolución de VB basándose en métodos clínicos y microbiológicos convencionales en cada punto temporal. Sin embargo, los resultados de biopsia vaginal revelaron una imagen diferente, mostrando una acumulación persistente de bacterias patógenas de núcleo, particularmente *G. vaginalis* y *Atopobium*, en una biopelícula adherente que se volvía más pronunciada con el tiempo. De manera notable, todos los aislados de *G. vaginalis* que se obtuvieron de estas mujeres mostraron buena susceptibilidad al metronidazol con pruebas de CIM planctónicas convencionales. Esto puede explicar bien las bajas tasas de curación notificadas para terapias de VB

convencionales y vincula además estos resultados con la incapacidad de estas intervenciones para alterar eficazmente la biopelícula patógena subyacente. Los resultados obtenidos en este Ejemplo Comparativo contrastan claramente con los resultados demostrados en el Ejemplo, que mostró la erradicación completa de biopelículas de *G. vaginalis* con una combinación de ácido bórico y EDTA y validaron el impacto mínimo del metronidazol.

EJEMPLO 2

Tratamiento de pacientes con VB recurrente altamente resistente al tratamiento mediante el uso de ácido bórico

Se realizó una revisión de casos retrospectiva del uso de ácido bórico en una serie de pacientes con VB recurrente. Se empleó ácido bórico como agente antimicrobiano como parte de un protocolo de tratamiento secuencial de 6 meses. Para estar cualificadas para el tratamiento de protocolo, todas las mujeres habían fracasado previamente con una inducción y un régimen de mantenimiento a largo plazo de gel vaginal de metronidazol y, por lo tanto, tenían infecciones altamente resistentes.

Con la excepción de ácido bórico, los demás antimicrobianos usados estaban aprobados por la FDA para VB. El protocolo de 6 meses fue como se indica a continuación:

1. Inducción: Metronidazol o tinidazol oral dos veces al día durante 7-10 días
2. Tratamiento con ácido bórico: Cápsula de gelatina de 600 mg insertada por vía vaginal diariamente durante 21 días
3. Mantenimiento: Gel vaginal de metronidazol dos veces por semana durante 5 meses

Los resultados al cabo de 6 meses mostraron que el 77 % (24/31) de las pacientes se curaron clínicamente, es decir, eran asintomáticas y negativas para los criterios clínicos de Amsel para VB. El sesenta y siete por ciento permanecieron curadas a los 9 meses (es decir, 3 meses después del mantenimiento). La duración media de la remisión fue de 8,7 meses. De manera notable, ninguno de los fracasos de tratamiento se produjo durante la terapia con ácido bórico y ninguna de las pacientes experimentó una infección por levadura secundaria o la interrumpió debido a un evento adverso o intolerancia a algún componente del régimen.

Para validar adicionalmente estos hallazgos, se emprendió un estudio clínico diseñado de manera prospectiva del uso de ácido bórico en mujeres con VB altamente resistente al tratamiento. De manera similar a la serie de casos retrospectivos, se empleó ácido bórico como agente antimicrobiano como parte de un protocolo de tratamiento secuencial; sin embargo, las mujeres inscritas en este estudio diferían de aquéllas en la serie de casos en que sus infecciones fueron incluso más resistentes al tratamiento, todas las mujeres habían fracasado en al menos tres regímenes de supresión previos en el plazo de 12 meses antes de la inscripción. Del mismo modo, todas las pacientes tenían síntomas floridos de infección, con flujo maloliente y presentaban los cuatro criterios de diagnóstico clínico (de Amsel), incluyendo >20 % de células indicadoras en el examen en fresco vaginal.

Se trataron un total de 58 pacientes "en estudio abierto" con dosis orales convencionales de terapia con nitroimidazol (metronidazol o tinidazol) dos veces al día durante 7 días seguido de ácido bórico en forma de una cápsula de gelatina de 600 mg insertada por vía vaginal diariamente durante 21 días. Las pacientes que se determinó que estaban clínicamente curadas se pusieron entonces en un régimen de mantenimiento de gel vaginal de metronidazol dos veces por semana durante hasta 5 meses más.

Se mostraron pronto resultados excelentes con una baja tasa de fracaso clínico del 8 % tras inducción con nitroimidazol/ácido bórico. De manera similar, las infecciones intermenstruales mientras se estaba en mantenimiento con gel de metronidazol fueron excepcionalmente bajas, tal sólo un 12 %. Como se muestra en la figura 4, la proporción acumulativa de curación fue sorprendentemente superior en estos casos resistentes después de 12, 16 y 28 semanas, el 87 %, el 78 % y el 65 %, respectivamente. Del mismo modo, la duración media de la remisión fue de 9 meses, que fue similar a la observada en la serie de casos inicial (8,7 meses).

Estos hallazgos son más impresionantes cuando se combinan con las tasas de curación a corto plazo del 30 % al 70 % notificadas por mujeres con VB primaria, sin complicación, tratadas con terapias convencionales, y la alta probabilidad de reaparición, hasta el 80 % en el plazo de 9 meses.

Ejemplo comparativo

Con fines comparativos, se hace referencia a Sobel JD y col., *Suppressive therapy with 0.75 % metronidazole vaginal gel to prevent recurrent bacterial vaginosis*, Am J Obstet Gynecol 2006; 194: 1283-1290 que indicaron los resultados de un estudio clínico controlado más riguroso de gel vaginal de metronidazol en mujeres con VB recurrente, usando un protocolo de tratamiento similar al descrito para el Ejemplo anterior pero sin ácido bórico.

El estudio implicaba una fase de inducción de gel vaginal de metronidazol de 10 días seguido de un régimen de mantenimiento de dos veces por semana durante 4 meses y un periodo de seguimiento de 3 meses sin tratamiento.

Al finalizar la fase de mantenimiento de 4 meses, el 74,5 % (38/51) de las pacientes estaban curadas clínicamente. Sin embargo, la probabilidad de permanecer curadas fue sólo del 34 % 3 meses después del mantenimiento, y la duración media de la remisión fue entre 4 y 5 meses (frente a de 8,7 a 9 meses en el Ejemplo). La tasa de infecciones intermenstruales que se producían durante la fase de mantenimiento fue del 25 %. Esto contrasta claramente con la tasa notificada en el Ejemplo, que era menos de la mitad de ésta, un 12 %. Además, el 59,3 % de las mujeres en el Ejemplo Comparativo requirieron terapia antifúngica para CVV en algún momento durante el estudio mientras que ninguna de las mujeres en la serie de casos tuvo infecciones secundarias por levaduras.¹

¹ Obsérvese que algunas pacientes en la parte prospectiva del Ejemplo se pusieron en terapia antifúngica profiláctica, lo que excluyó una evaluación precisa de esta complicación

Las diferencias entre el Ejemplo y el Ejemplo Comparativo son notables, particularmente considerando que muchas de estas pacientes se incluyeron como fracasos del estudio de mantenimiento controlado más riguroso del gel vaginal de metronidazol. La contribución relativa del ácido bórico y su mecanismo de acción en el Ejemplo siguen sin conocerse pero prestan apoyo clínico al descubrimiento *in vitro* de que el ácido bórico tiene propiedades de alteración de biopelícula terapéuticamente relevantes, que se potencian con la adición de EDTA. La falta de complicación por CVV observada en el Ejemplo está relacionada probablemente con la actividad antifúngica del ácido bórico y representa otra ventaja importante del ácido bórico con respecto a terapias de VB aprobadas actualmente.

REIVINDICACIONES

1. Ácido bórico, en ausencia de cualquier cantidad terapéutica de ácido acético, para su uso en un método para el tratamiento de una infección vaginal, en el que la infección vaginal se selecciona entre el grupo que consiste en infecciones bacterianas y tricomoniasis.
5
2. Ácido bórico, en ausencia de cualquier cantidad terapéutica de ácido acético, para su uso en un método para prevenir la vaginosis bacteriana.
- 10 3. El ácido bórico para su uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para aplicación tópica a una vagina y/o una vulva.
- 15 4. El ácido bórico para su uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende adicionalmente un agente bioactivo seleccionado entre el grupo que consiste en aceite de bergamota, aceite de árbol de té u otros aceites esenciales, ión cinc y galio.
- 20 5. El ácido bórico para su uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende adicionalmente un aditivo seleccionado entre el grupo que consiste en agentes gelificantes, tampones, conservantes, tensioactivos, detergentes, aceites, alcoholes, emulsionantes, solubilizantes, humectantes y bioadhesivos.
- 25 6. El ácido bórico para su uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el ácido bórico es para aplicación tópica como una pomada, crema, gel, comprimido, cápsula, óvulo, supositorios, solución, suspensión, espuma, película o composición liposomal o está contenido dentro de un anillo vaginal, tampón, supositorio, esponja, almohadilla, dosis de inhalador o sistema de bombeo osmótico.

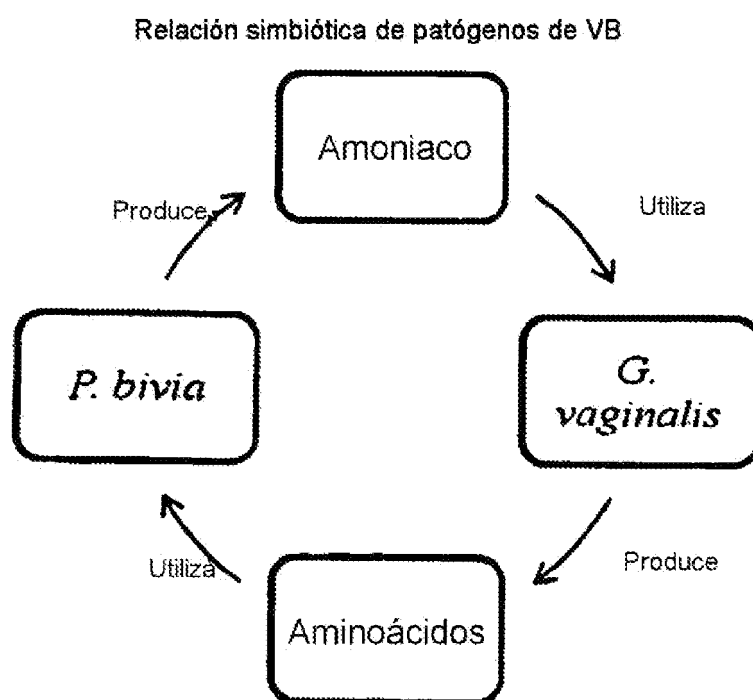
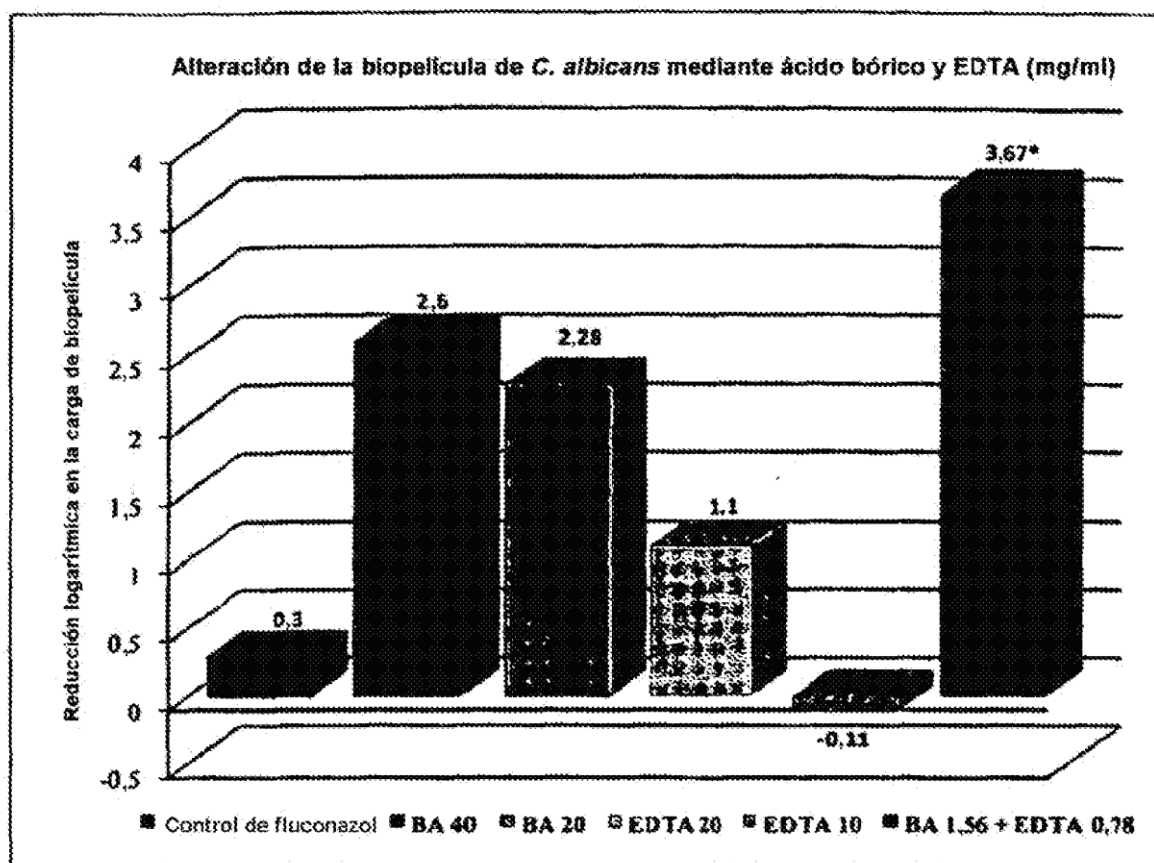
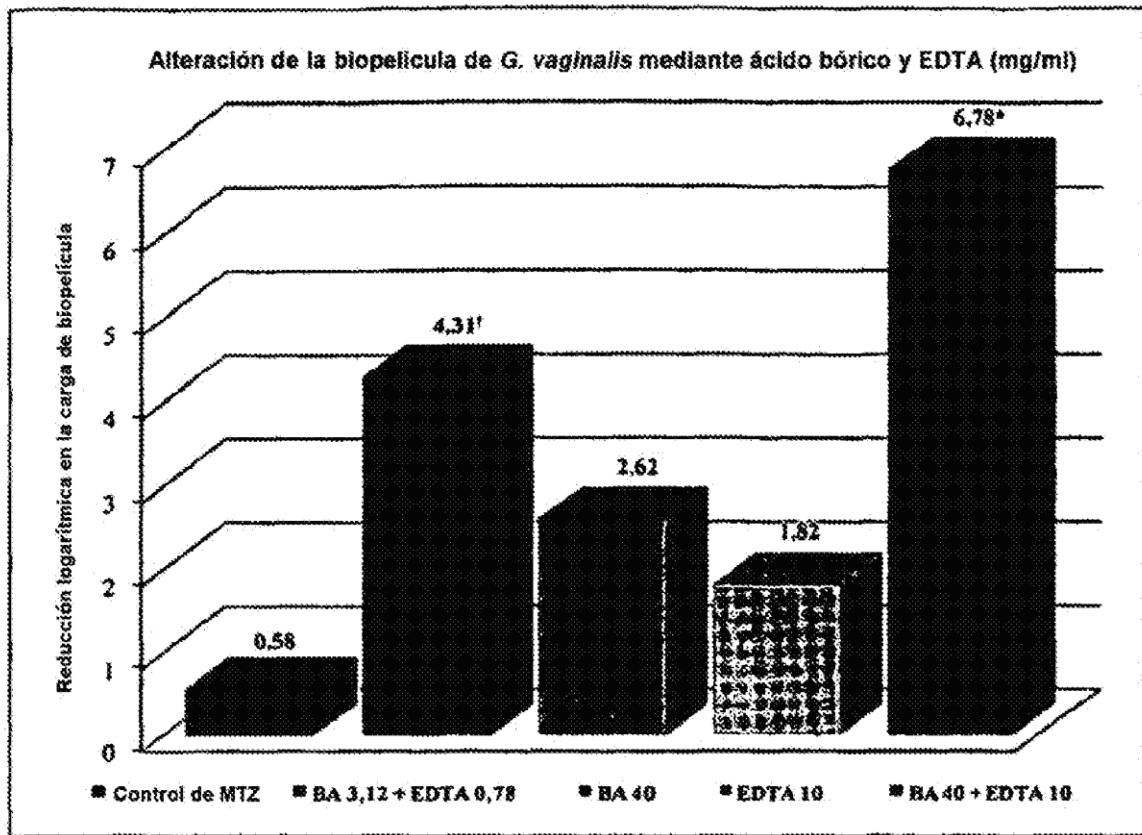


FIG. 1



* Representa una disminución del 99,8% en la carga de biopelícula frente a control de biopelícula sin tratar.

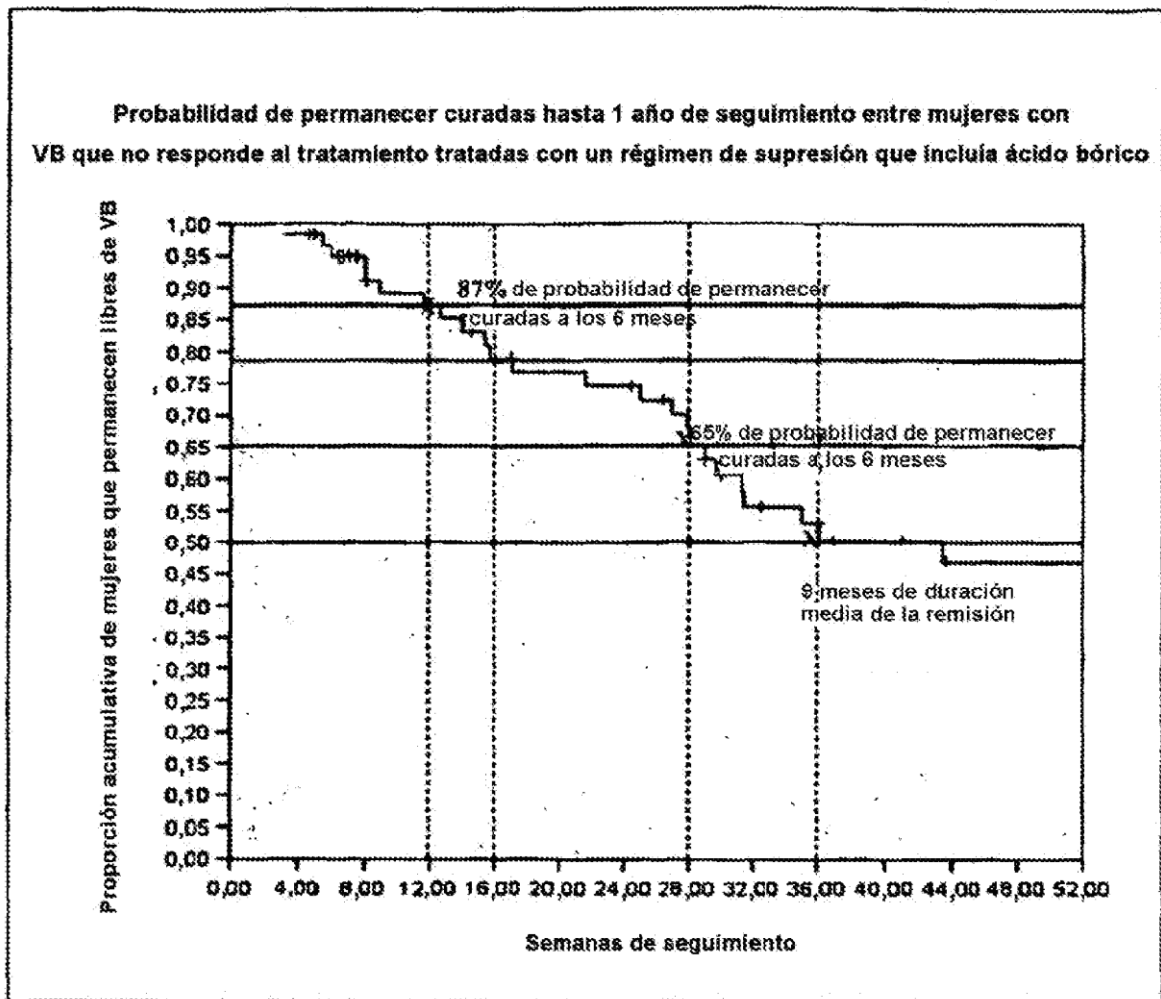
FIG. 2



* Erradicación completa de la biopelícula en base a la carga de biopelícula sin tratar de 6,78 ufc/m².

† Reducción del 99,7% en la carga de biopelícula frente a controles sin tratar.

FIG. 3

**FIG. 4**