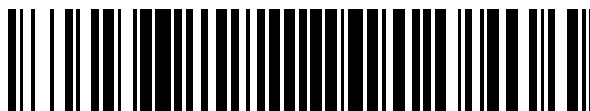


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 753 531**

51 Int. Cl.:

A61K 31/795 (2006.01)

A61P 15/02 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.07.2011** **PCT/AU2011/000891**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.11.2012** **WO12155172**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.07.2011** **E 11865925 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2019** **EP 2709633**

54 Título: **Método de tratamiento o profilaxis de la vaginosis bacteriana**

30 Prioridad:

16.05.2011 US 201161486700 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.04.2020

73 Titular/es:

STARPHARMA PTY LTD (100.0%)
PO Box 2022
Preston, VIC 3072, AU

72 Inventor/es:

PAULL, JEREMY ROBERT ARTHUR;
FAIRLEY, JACINTH KINCAID;
PRICE, CLARE FRANCES y
LEWIS, GARETH RHYS

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 753 531 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

Método de tratamiento o profilaxis de la vaginosis bacteriana

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una macromolécula para usar en el tratamiento o profilaxis de la vaginosis bacteriana, o alivio o profilaxis de uno o más síntomas de la vaginosis bacteriana. Una macromolécula para usar en la profilaxis de la recurrencia de la vaginosis bacteriana se describe también.

Antecedentes de la invención

10 La vaginosis bacteriana (VB) es la infección vaginal más común en el mundo y la causa más común de irritación vaginal, descarga y mal olor. Se estima que la prevalencia de la VB es aproximadamente 30% en los Estados Unidos, 44% en África sub-sahariana y aproximadamente 10% en Australia. La VB está relacionada con serios problemas de salud tales como nacimiento adelantado, infección post-operatoria y susceptibilidad aumentada al VIH y otras infecciones de transmisión sexual.

15 Aunque la VB se ha estudiado durante muchos años, su causa permanece desconocida y los tratamientos disponibles no siempre son efectivos. La VB se caracteriza por un desequilibrio en la flora vaginal en que normalmente los abundantes *Lactobacillus spp.* productores de peróxido son escasos y otras bacterias anaeróbicas, tales como *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, *Atopibium vaginae* y *Prevotella spp.* son abundantes.

20 Los tratamientos actuales recomendados para el tratamiento de VB incluyen metronidazol, clindamicina y tinidazol. Sin embargo, estos tratamientos se están volviendo menos efectivos debido a bacterias resistentes y tienen además significativos efectos secundarios. El metronidazol y tinidazol portan un riesgo potencial de carcinogenicidad y además provocan náusea, calambres abdominales, vómitos, dolores de cabeza y sofocos si se consume alcohol durante el tratamiento o durante hasta tres días después del tratamiento. Hay además una alta incidencia de infección fúngica, tal como *Candida albicans* (Candidiasis), durante el tratamiento antibiótico de VB. Además, las cremas de clindamicina están formuladas con aceites minerales inadecuados para el uso con condones de látex u otros productos de goma tales como diafragmas y por lo tanto puede necesitarse la abstinencia de las relaciones sexuales durante el tratamiento para evitar el embarazo y/o la infección del compañero sexual. Hay una necesidad de tratamientos que no se absorben sistémicamente y además minimizan los efectos secundarios sistémicos o locales y son compatibles con dispositivos profilácticos tales como condones.

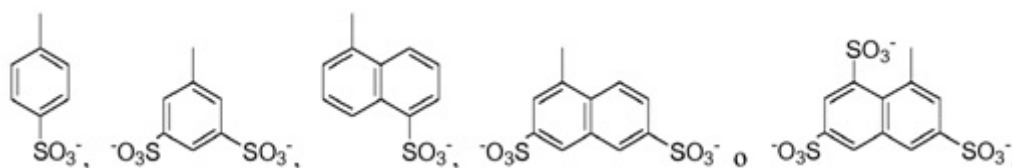
30 Algunas dificultades reconocidas con el tratamiento de VB son que el tratamiento antibiótico actual no siempre distingue entre las bacterias normalmente presentes en la flora vaginal sana y los anaerobios infecciosos, y no todos los anaerobios presentes son necesariamente susceptibles al mismo antibiótico. Hay una necesidad de que el tratamiento para la VB tenga alguna selectividad para la actividad frente a bacterias indeseadas y ninguna o baja actividad frente a la flora vaginal normal. En particular, hay una necesidad de un tratamiento que reduzca los niveles de bacterias Gram negativas dañinas mientras que no inhiban el re-establecimiento de lactobacilos productores de peróxido de hidrógeno.

35 Otra dificultad es que después del tratamiento, la VB a menudo se repite. En base a los resultados de recientes ensayos clínicos, aproximadamente dos tercios de los pacientes experimentan múltiples episodios de VB. Debido a la prevalencia de VB en los EE.UU. es aproximadamente 30%, esto significa que el 20% de las mujeres en los EE.UU. tienen VB recurrente. Además, el tratamiento recurrente con antibióticos lleva a la incidencia aumentada de bacterias resistentes a antibióticos y efectividad reducida del tratamiento. Actualmente no hay un agente terapéutico recomendado aprobado por la FDA de EE.UU. para la profilaxis de la recurrencia de la VB. Hay por lo tanto una necesidad de una terapia para la profilaxis de la recurrencia de la VB.

Resumen de la invención

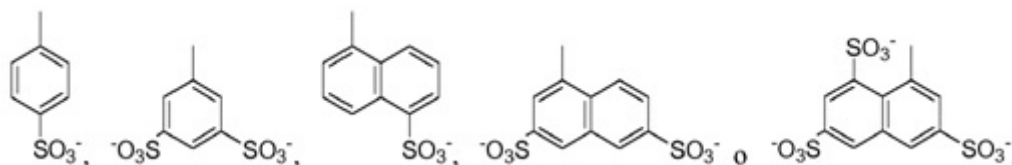
45 La presente invención se predice al menos en parte por la observación de que un agente microbicida dendrímero tiene actividad antibacteriana selectiva frente a las bacterias anaeróbicas tales como *G. vaginalis* mientras que tiene ninguna o baja actividad antibacteriana frente a la flora de *Lactobacillus* vaginal normal. Se observó además que el agente microbicida dendrímero tiene actividad particular cuando se administra en una cantidad de 40 a 100 mg por día en una única dosis.

50 En un primer aspecto se proporciona una macromolécula que comprende un dendrímero de polilisina de 3 a 4 generaciones y que tiene uno o más restos que contienen ácido sulfónico unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero, para usar en el tratamiento de vaginosis bacteriana en un sujeto, en donde la macromolécula se administra por administración vaginal en una cantidad de 40 mg a 100 mg por día, y en donde el resto que contiene ácido sulfónico se selecciona de:



En una realización particular, la macromolécula se administra en una cantidad de 40 mg a 60 mg por día.

- 5 En otro aspecto de la invención, se proporciona una macromolécula que comprende un dendrímero de polilisina de 3 a 4 generaciones y que tiene uno o más restos que contienen ácido sulfónico unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero, para usar en la profilaxis o reducción de la recurrencia de vaginosis bacteriana en un sujeto, en donde la macromolécula se administra por administración vaginal 1 a 7 veces por semana, y en donde el resto que contiene ácido sulfónico se selecciona de:



- 10 En algunas realizaciones, la macromolécula se administra 3 a 4 días por semana, tal como en días alternos. En algunas realizaciones, la administración se continúa durante un periodo prolongado, por ejemplo, meses o años, tal como hasta 25 años. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la administración continuará durante 1, 5, 10, 15 o 20 años.

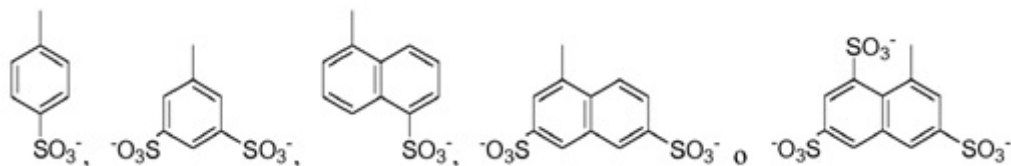
Descripción de la invención

- 15 Las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen aspectos plurales a menos que el contexto claramente dicte otra cosa.

A lo largo de esta memoria y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto necesite otra cosa, la palabra “comprenden”, y variaciones tales como “comprende” y “que comprende”, se entenderá que implica la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas expresadas pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

- 20 Como se usa en la presente memoria, el término “aproximadamente” se refiere a una cantidad, nivel, valor, dimensión, tamaño o cantidad que varía tanto como 20%, 15%, 10% o 5% a una cantidad, nivel, valor, dimensión, tamaño o cantidad de referencia.

- 25 En un aspecto, la presente invención proporciona una macromolécula que comprende un dendrímero de polilisina de 3 a 4 generaciones y que tiene uno o más restos que contienen ácido sulfónico unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero, para usar en el tratamiento de la vaginosis bacteriana en un sujeto, en donde la macromolécula se administra mediante administración vaginal en una cantidad de 40 mg a 100 mg por día, y en donde el resto que contiene ácido sulfónico se selecciona de:



- 30 En algunas realizaciones, la macromolécula se administra en una cantidad de 40 mg a 90 mg por día, 40 mg a 80 mg por día, 40 mg a 70 mg por día, especialmente 40 mg a 60 mg por día y lo más especialmente aproximadamente 50 mg por día.

- 35 En una realización particular, la macromolécula se formula como un gel, especialmente un gel formulado con un pH entre 4,5 y 5,5, especialmente aproximadamente pH 5. Ventajosamente, esta formulación puede ayudar en la reducción de pH vaginal a entre 4 y 5 o en el mantenimiento de pH vaginal entre 4 y 5. En algunas realizaciones, la formulación en gel de la macromolécula comprende un agente modificador de la reología, especialmente un polímero de Carbopol® tal como Carbopol® 971P. El modificador de la reología puede estar presente en una cantidad de 2-10%, especialmente aproximadamente 5%. La formulación en gel de la macromolécula puede además incluir un agente quelante, tal como un ácido poliaminocarboxílico. Un agente quelante particularmente útil es ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) y sus sales. Las cantidades adecuadas de agente quelante están en el intervalo de 40 0,001% a 2%, especialmente 0,005% a 1%. En algunas realizaciones, el agente quelante está presente en una baja

cantidad, tal como 0,001% a 0,1%, especialmente aproximadamente 0,005%. Otros ingredientes que pueden incluirse en la formulación en gel incluyen conservantes tales como parabenos, por ejemplo metilparabeno y propilparabeno o mezclas de los mismos, disolventes tales como agua, agentes de ajuste de pH tal como hidróxido y emolientes y humectantes tales como glicerina y propilenglicol.

- 5 En algunas realizaciones, la macromolécula o una formulación de macromolécula se administra en dosis múltiples más que una vez por día, por ejemplo mañana y noche. En otras realizaciones, la macromolécula o formulación que comprende la macromolécula se administra en una única dosis una vez al día, por ejemplo, por la noche.

- 10 La macromolécula o formulación que comprende la macromolécula se administra vaginalmente. En algunas realizaciones, la dosificación puede administrarse en un volumen de 3,5-5 gramos, especialmente 4-5 gramos y más especialmente aproximadamente 5 gramos, particularmente cuando se administra por la noche o inmediatamente antes de que el sujeto se vaya a dormir. La posición no ambulante y predominantemente horizontal asumida durante el sueño ayuda en la retención de la formulación de la macromolécula en la vagina aumentando el tiempo de exposición.

- 15 En algunos ejemplos, la dosificación se da en la cercanía de actividad sexual tal como relación sexual, especialmente en las 24 horas previas a o después de la relación sexual, más especialmente en las 3 horas anteriores a o después de la relación sexual.

En algunas realizaciones, la dosificación se da durante o después de la menstruación, especialmente en las 24 horas del final de la menstruación y más especialmente la dosificación se administra durante 2, 3, 4 o 5 días después del final de la menstruación.

- 20 El término "tratamiento", como se usa en la presente memoria, se refiere a la obtención al menos parcialmente de un resultado terapéutico deseado. El resultado terapéutico puede ser una curación terapéutica al final del tratamiento (FDT) o una fecha posterior después del final del tratamiento (prueba de curación, PDC). El resultado terapéutico puede ser una curación clínica al FDT o PDC. El resultado terapéutico puede ser el alivio de uno o más síntomas de la VB tal como el alivio del olor vaginal o la descarga vaginal o puede ser la reducción o normalización (o mantenimiento) de los criterios diagnósticos para la VB tal como el pH vaginal, presencia de células clave o prueba de aminas como se define por los criterios de Amsel o alcanzando una puntuación de Nugent normal (Curación de Nugent, <3).

- 30 El término "profilaxis" se refiere a la prevención o retraso del inicio de la VB en un sujeto en riesgo de contraer la VB por primera vez, o en riesgo de experimentar episodios recurrentes de VB. Aquellas en riesgo de VB incluyen mujeres con múltiples compañeros sexuales o nuevos compañeros sexuales con una alta frecuencia de relaciones sexuales vaginales. Sin embargo, algunos estudios han mostrado que la actividad sexual no es necesaria para el desarrollo de la VB (Yen et al., Obstet. Gynecol. 2003, 102:927-933; Bump et al., Am. J. Obstet. Gynecol., 1988, 158:935-939) y por lo tanto la VB no se considera necesariamente una infección de transmisión sexual. Algunos estudios han mostrado también una alta prevalencia de VB en mujeres que tienen sexo con mujeres (Marrazzo et al., J. Infect. Dis., 2002, 185:1307-1313). Además, los estudios muestran que el 50% de las mujeres que tienen VB sintomática y se tratan con las terapias existentes experimentan un episodio recurrente de VB en 6 meses (Marrazzo et al., Sex. Trans. Dis., 2010, 37(12):732-744).

El término "final del tratamiento" (FDT) durante el tratamiento agudo de un episodio de VB se refiere a un periodo de 9 a 12 días después de que la primera dosis de terapia se ha administrado.

- 40 El término "prueba de curación" (PDC) durante el tratamiento agudo de un episodio de VB se refiere a un periodo de tiempo después de que la última dosis de terapia se ha administrado para evaluar si ha ocurrido una recaída o recurrencia. Un ejemplo de la prueba de curación puede ser 21 a 30 días después de que la primera dosis de terapia se ha administrado.

- 45 El término "criterios de Amsel" se refiere a los criterios diagnósticos usados para identificar la VB. Estos criterios incluyen:

- Descarga blanca homogénea que recubre suavemente la mucosa vaginal;
 - Presencia de células clave (bacterias que se adhieren a las células epiteliales vaginales, $\geq 20\%$ de células totales en el examen en fresco);
 - pH vaginal de $>4,5$;
 - prueba de aminas positiva (olor a pescado con adición de hidróxido de potasio (KOH) al 10% al fluido vaginal).
- 50

Para un diagnóstico clínico de VB, deben estar presentes tres de los cuatro criterios de Amsel.

El término "puntuación de Nugent" se refiere a una puntuación ponderada entre 0 y 10 que se deriva de un análisis microbiológico usando una mancha vaginal teñida Gram (Nugent et al., 1991, J. Clin. Microbiol., 29(2):297-301). La puntuación compuesta se basa en:

Morfotipos de *Lactobacillus spp.* – 0 (abundante) – 4 (ninguno)

Morfotipos de *Gardnerella/Bacteroides spp.* – 0 (ninguno) – 4 (abundante)

Bastones gram-variables curvados – 0 (ninguno) – 2 (abundante)

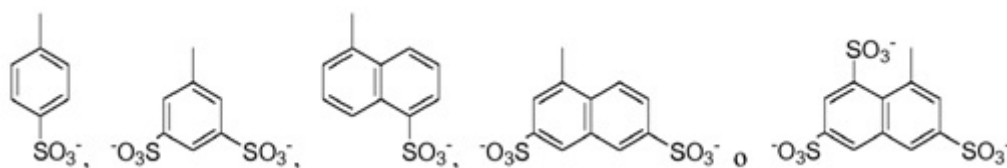
- 5 Una puntuación de Nugent de 0-3 se considera normal, mientras que una puntuación de 4-6 (intermedia) es indicativa de un microentorno vaginal perturbado, y 7-10 se define como VB. Para los propósitos de evaluar una curación, la Administración de alimentos y medicamentos de EE.UU. considera una puntuación de 0-3 normal y 4-10 anormal. El término “Curación por puntuación de Nugent” o “curación de Nugent” se refiere a una terapia que da por resultado una puntuación de Nugent de 0-3.
- 10 El término “Curación clínica” como se usa en la presente memoria se refiere que el sujeto es asintomático y la resolución de al menos tres de los cuatro criterios de Amsel en el FDT y/o PDC. Por ejemplo, se dan al menos tres de una vuelta a una descarga fisiológica normal, un examen fresco salino negativo para células clave, pH vaginal < 4,7 y una prueba de aminas negativa.

El término “curación terapéutica” se refiere a alcanzar tanto la curación clínica como la curación de Nugent después de la terapia.
- 15 Como se usa en la presente memoria, el término “resolución terapéutica” se refiere a alcanzar la curación clínica y una puntuación de Nugent de ≤6.

En algunos casos, una curación clínica o terapéutica no necesita alcanzarse ya que uno o más de los síntomas o criterios diagnósticos evidentes al comienzo del tratamiento pueden resolverse. Por ejemplo, la descarga vaginal inicial puede volver a normal, el mal olor asociado con la VB puede resolverse, la prueba de aminas puede ser negativa, el pH vaginal puede volver a normal, las células clave pueden desaparecer o la puntuación de Nugent puede pasar a menos de 4, aunque uno o más de los demás síntomas permanezcan presentes. Por ejemplo, la resolución terapéutica puede alcanzarse porque la descarga, el mal olor y el pH vaginal pueden resolverse aunque las células clave estén aún presentes y la puntuación de Nugent sea anormal.
- 20 En algunos casos, la puntuación de Nugent vuelve al intervalo normal (0-3). En algunos casos, las células clave desaparecen. En algunos casos, el mal olor desaparece. En algunos casos, la descarga vaginal desaparece. En algunos casos, el pH vaginal vuelve a normal. En algunos casos, la prueba de aminas es negativa.

En algunos casos dos, tres o cuatro de los síntomas o criterios diagnósticos de la VB se resuelven, por ejemplo, la puntuación de Nugent y el mal olor; la puntuación de Nugent y la prueba de aminas; la puntuación de Nugent y las células clave; la puntuación de Nugent y la descarga vaginal; la puntuación de Nugent y el pH vaginal; las células clave y el mal olor; las células clave y la prueba de aminas; las células clave y la descarga vaginal; las células clave y el pH vaginal; el mal olor y la prueba de aminas; el mal olor y la descarga vaginal; el mal olor y el pH vaginal; la descarga vaginal y el pH vaginal; la puntuación de Nugent, el mal olor y las células clave; la puntuación de Nugent, el mal olor y la descarga vaginal; la puntuación de Nugent, el mal olor y el pH vaginal; la puntuación de Nugent, el mal olor y la prueba de aminas; la puntuación de Nugent, las células clave y la descarga vaginal; la puntuación de Nugent, las células clave y el pH vaginal; la puntuación de Nugent, la descarga vaginal y el pH vaginal; la puntuación de Nugent, la descarga vaginal y la prueba de aminas; el mal olor, la descarga vaginal y el pH vaginal; el mal olor, la descarga vaginal y la prueba de aminas; la puntuación de Nugent, las células clave, el mal olor y el pH vaginal; la puntuación de Nugent, las células clave, el mal olor y la descarga vaginal; la puntuación de Nugent, el mal olor y la prueba de aminas; la puntuación de Nugent, el mal olor, la prueba de aminas y la descarga vaginal; la puntuación de Nugent, el mal olor, la prueba de aminas y el pH vaginal; la puntuación de Nugent, las células clave, la descarga vaginal y el pH vaginal; la puntuación de Nugent, las células clave, la prueba de aminas y la descarga vaginal; la puntuación de Nugent, las células clave, la prueba de aminas y el pH vaginal; las células clave, el mal olor, la prueba de aminas y la descarga vaginal; las células clave, el mal olor, la prueba de aminas y el pH vaginal; y las células clave, el mal olor, la descarga vaginal y el pH vaginal.
- 30 En algunas realizaciones, la cantidad efectiva está en el intervalo de 40 a 90 mg por día, 40 a 80 mg por día, 40 a 70 mg por día, más especialmente 40 a 60 mg por día, y lo más especialmente aproximadamente 50 mg por día.

En algunas realizaciones, la macromolécula se formula en una composición. Las formas de dosificación adecuadas incluyen geles, pomadas, pesarios, tampones, espumas, lociones y cremas.
- 35 Con las terapias actuales, la recurrencia de la VB es normal, por ejemplo, porque la terapia original no era completamente efectiva o el sujeto tiene un alto riesgo de re-infección.
- 40 En otro aspecto de la invención, se proporciona una macromolécula que comprende un dendrímero de polilisina de 3 a 4 generaciones y que tiene uno o más restos que contienen ácido sulfónico unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero, para usar en la profilaxis o reducción de la recurrencia de vaginosis bacteriana en un sujeto, en donde la macromolécula se administra mediante administración vaginal 1 a 7 veces a la semana, y en donde el resto que contiene ácido sulfónico se selecciona de:
- 55



El término "profilaxis o reducción de la recurrencia" incluye donde la frecuencia de la recurrencia de la VB se reduce y/o donde la gravedad de la infección de VB en un episodio recurrente se reduce o donde se evita que se dé la recurrencia de la infección de VB.

5 En algunas realizaciones, la macromolécula se administra 2 a 3 veces por semana, por ejemplo, cada tres días. En otras realizaciones, la macromolécula se administra 3 a 4 veces a la semana, por ejemplo, en días alternos. En algunas realizaciones, la macromolécula se administra cada día. En realizaciones particulares, la terapia se continúa durante un periodo prolongado, tal como meses o años, por ejemplo, hasta 25 años, tal como durante 1, 5, 10, 15 o 20 años. En otras realizaciones, la terapia se continúa durante 1 a 6 meses, especialmente 2 a 5 meses o 3 a 4 meses, especialmente aproximadamente 4 meses o 16 semanas.

10 En algunas realizaciones, la macromolécula se administra en una cantidad de 0,1 a 1000 mg por dosis, que incluye 0,1 a 500 mg por dosis, 0,1 a 400 mg por dosis, 0,1 a 300 mg por dosis, 0,5 a 300 mg por dosis, 0,5 a 200 mg por dosis, 1 a 200 mg por dosis, 2,5 a 200 mg por dosis, 5 a 200 mg por dosis, 10 a 200 mg por dosis, 15 a 200 mg por dosis, especialmente 30 a 200 mg por dosis, 40 a 160 mg por dosis, 40 a 150 mg por dosis, 40 a 120 mg por dosis, especialmente dosificaciones tales como aproximadamente 50 mg por dosis, 105 mg por dosis y 150 mg por dosis.

15 En algunas realizaciones, particularmente donde la terapia se continúa durante un periodo prolongado, la macromolécula puede administrarse en una cantidad en el extremo inferior del intervalo de dosis. Por ejemplo, cuando la terapia se continúa durante un periodo de meses o años, la macromolécula puede administrarse en una cantidad de 0,1 a 200 mg por dosis, especialmente 0,1 a 100 mg por dosis, 0,1 a 50 mg por dosis, 0,1 a 25 mg por dosis o 0,1 a 15 mg por dosis.

En algunas realizaciones, la administración está en una única dosificación. Las composiciones de dosificación adecuadas son geles, pomadas, tampones, pesarios, espumas, cremas y lociones, especialmente geles tales como formulaciones de geles descritos anteriormente.

25 La macromolécula o formulación que comprende la macromolécula se administra vaginalmente. En algunas realizaciones, la dosificación puede administrarse en un volumen de 3,5-5 gramos, especialmente 4-5 gramos, más especialmente 5 gramos, particularmente cuando se administra por la noche o inmediatamente antes de que el sujeto se vaya a dormir. La posición no ambulante y predominantemente horizontal asumida durante el sueño ayuda en la retención de la formulación de la macromolécula en la vagina aumentando el tiempo de exposición.

30 En algunas realizaciones, la dosificación se da en la cercanía de actividad sexual tal como relación sexual, especialmente en las 24 horas previas a o después de la relación sexual, más especialmente en las 3 horas previas a o después de la relación sexual. Dicha dosificación es ventajosa donde un compañero sexual es o se sospecha que es la fuente de re-infección en la VB recurrente.

35 En algunas realizaciones, la dosificación se da durante o después de la menstruación, especialmente en las 24 horas del final de la menstruación y más especialmente la dosificación se administra durante 2, 3, 4 o 5 días después del final de la menstruación. Dicha dosificación es ventajosa ya que la menstruación se asocia con la recurrencia de la VB.

40 Se describe también en la presente memoria una macromolécula que comprende un dendrímero de polilisina de 1 a 5 generaciones y uno o más restos que contienen ácido sulfónico unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero, para usar en un método para reducir la incidencia de infección fúngica u otra infección microbiana en un sujeto durante el tratamiento de la VB que comprende tratar la VB administrando al sujeto una cantidad efectiva de la macromolécula.

45 Muchos tratamientos habituales para la VB incluyen la administración de antibióticos tales como metronidazol, clindomicina y tinidazol. Estos tratamientos son incapaces a menudo de distinguir entre los microbios infecciosos y las bacterias normalmente presentes en la flora vaginal sana, y dan por resultado una reducción en la flora normal. Esta reducción en la flora normal permite que otros microbios infecciosos tales como hongos u otros microbios tales como microbios de transmisión sexual y microbios gastrointestinales crezcan dando por resultado una susceptibilidad aumentada a infecciones fúngicas o infección microbiana tales como enfermedades de transmisión sexual.

50 En algunos casos, el hongo es *Candida albicans* (Candidiasis) o *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*, especialmente *C. albicans*. En otros casos, la infección microbiana de transmisión sexual es el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), virus de papiloma humano (VPH), virus de herpes simple

(VHS), *Molluscum contagiosum*, *Neisseria gonorrhoeae* (Gonorrea), *Chlamydia trachomatis* (Clamidia), *Trichomonas vaginalis*, chancroide (*Haemophilus ducreyi*), *Klebsiella granulomatis* (granuloma inguinal) o *Treponema pallidum* (Sífilis). En aún otros casos, la infección microbiana puede derivarse de la flora gastrointestinal tal como *Escherichia spp.* tal como *E. Coli*, *Clostridial spp.* tal como *C. difficile*, *Fusobacterial spp.*, *Saccharomyces spp.* y *Aspergillus spp.*

5 En aún otros casos, la infección microbiana puede estar provocada por *Staphylococcus aureus*.

Los dendrímeros útiles en la invención son dendrímeros de polilisina que tienen 3 a 4 generaciones. La macromolécula también comprende uno o más restos que contienen ácido sulfónico unidos al uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero.

10 Los dendrímeros son macromoléculas poliméricas ramificadas compuestas de múltiples monómeros ramificados que radian desde un resto nuclear central. El número de puntos de ramificación aumenta con el movimiento desde el núcleo del dendrímero a su superficie y se define por capas sucesivas o "generaciones" de unidades de monómero (o de construcción). Cada generación de unidades de construcción se enumera para indicar la distancia desde el núcleo. Por ejemplo, la Generación 1 (G1) es la capa de unidades de construcción unida al núcleo, la Generación 2 (G2) es la capa de unidades de construcción unidas a la Generación 1, la Generación 3 (G3) es la capa de unidades

15 de construcción unida a la Generación 2, la Generación 4 (G4) es la capa de unidades de construcción unida a la Generación 3, la Generación 5 (G5) es la capa de unidades de construcción unida a la Generación 4.

La generación más externa de unidades de construcción proporciona la superficie del dendrímero y presenta grupos funcionales, en el presente caso grupos amino, a los que el al menos un resto que contiene ácido sulfónico se une de forma covalente. El grupo que contiene ácido sulfónico puede unirse directamente al grupo funcional amino

20 superficial o puede unirse al grupo funcional amino superficial a través de un conector.

Los dendrímeros comprenden un único tipo de unidad monomérica (denominada además en la presente memoria como una unidad de construcción). Cada "rama" que se extiende desde el núcleo de la molécula de dendrímero tiene al menos una capa o generación de unidades de construcción. Como se usa en la presente memoria, el término "rama" se refiere a al menos una generación de unidades de construcción que está unida a un grupo

25 funcional en el núcleo. En ciertas realizaciones, cada una o cualquier rama puede tener al menos dos capas o generaciones de unidades de construcción. En realizaciones adicionales, cada una o cualquier rama puede tener al menos tres o cuatro capas o generaciones de unidades de construcción. En realizaciones aún adicionales, cada una o cualquier rama puede tener independientemente cinco capas o generaciones de unidades de construcción.

Los dendrímeros contemplados en la presente memoria pueden prepararse por métodos conocidos en la técnica y pueden prepararse en una manera convergente (donde, de forma efectiva, las ramas se pre-forman y después se unen al núcleo) o una manera divergente (donde las capas o generaciones se construyen sucesivamente hacia afuera del núcleo). Ambos de estos métodos se entenderían bien por el experto.

30

Los dendrímeros pueden estar compuestos por cualquier núcleo adecuado y monómero de polilisina o unidades de construcción.

35 Como se usa en la presente memoria, "núcleo" se refiere al resto sobre el que se construyen capas o generaciones sucesivas de monómeros o unidades de construcción (o a través de un proceso divergente o un proceso convergente), y puede ser cualquier resto que tenga al menos un sitio reactivo o funcional desde el que se generan sucesivas capas de monómero o unidades de construcción (o al que se une una "rama" pre-formada). Algunos núcleos adecuados ejemplares contemplados en la presente memoria incluyen aquellos que tienen 1, 2, 3 o 4

40 grupos reactivos seleccionados independientemente de grupos amino, carboxilo, tiol, alquilo, alquinilo, nitrilo, halo, azido, hidroxilamina, carbonilo, maleimida, acrilato o hidroxilo a los que pueden unirse capas o generaciones de unidades de construcción o monómeros. Un resto de núcleo puede ser el mismo que una unidad de construcción o puede ser diferente.

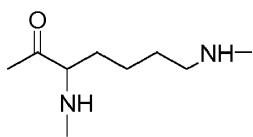
Los núcleos ejemplares incluyen poliaminohidrocarburos, poliaminas que contienen disulfuro, poli(glicidiléteres), aminoetanol, amonio, arilmetilhaluros, piperazina, aminoetilpiperazina, poli(etilenimina), ditioles de alquileo/arileno, ácido 4,4-ditiobutírico, mercaptoalquilaminas, tioéter alquilaminas, isocianurato, heterociclos, macrociclos, poliglicidilmetacrilato, fosfina, porfinas, oxiranos, tioranos, oxetanos, aziridinas, azetidinas, multiazidofuncionalidades, siloxanos, oxazolininas, carbamatos o caprolactonas.

45

Algunos ejemplos no limitantes de restos de núcleo contemplados en la presente memoria incluyen diaminoalcanos C₂-C₁₂ tales como etilendiamina, 1,4-diaminobutano y 1,6-diaminohexano. Sin embargo, se apreciará que el núcleo no es necesariamente un resto lineal con un único grupo reactivo en cada extremo. Los restos de núcleo no lineales, cíclicos o ramificados se contemplan también por la presente invención. Por ejemplo, las arilmetilaminas tales como benzhidrilamina (BHA), son núcleos adecuados.

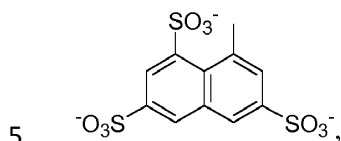
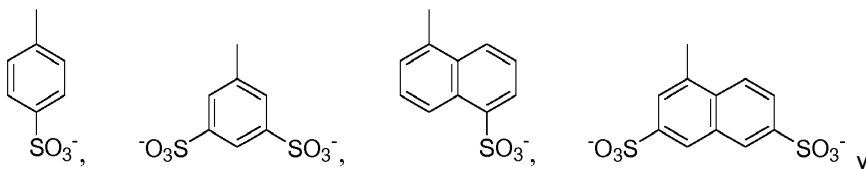
50

Las unidades de construcción del dendrímero son unidades de construcción de lisina:

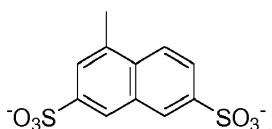


En una realización particular, el dendrímero es un dendrímero de polilisina con un núcleo de benzhidrilamina.

El resto que contiene ácido sulfónico se selecciona de:



especialmente



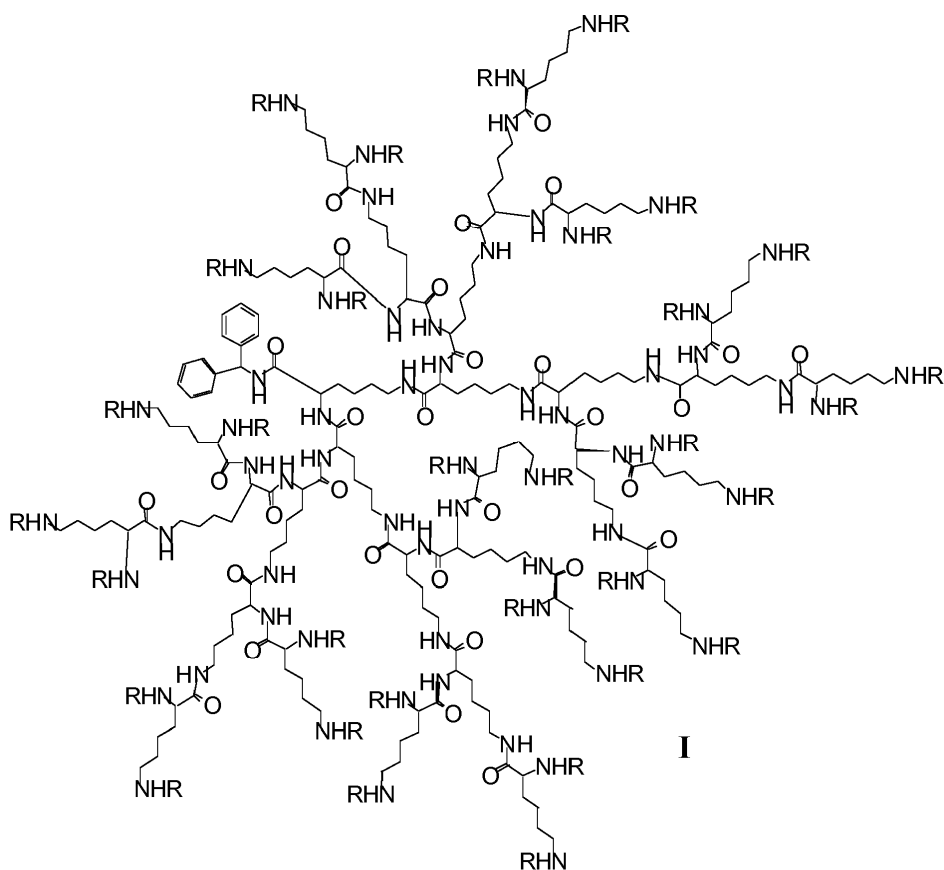
10 En algunas realizaciones, el resto que contiene ácido sulfónico se une directamente al grupo amino superficial del dendrímero. En otras realizaciones, el resto que contiene ácido sulfónico se une al grupo amino superficial del dendrímero a través de un grupo conector.

15 Los grupos conectores adecuados incluyen grupos alquileo o alquilenilo en que uno o más átomos de carbono no adyacentes se sustituyen opcionalmente por un átomo de oxígeno o azufre para proporcionar un éter, tioéter, poliéter o politioéter; o un grupo $-X_1-(CH_2)_q-X_2$ en donde X_1 y X_2 se seleccionan independientemente de $-NH-$, $-C(O)-$, $-O-$, $-S-$ y $-C(S)-$, y q es 0 o un número entero de 1 a 10, y en que uno o más grupos (CH_2) no adyacentes pueden estar sustituidos con $-O-$ o $-S-$ para formar un éter, tioéter, poliéter o politioéter.

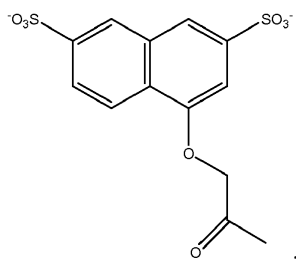
En una realización particular, el conector es

$\#-O-CH_2-C(O)-*$ en que $\#$ designa la unión al resto que contiene ácido sulfónico y $*$ designa la unión al grupo amino superficial del dendrímero.

Los dendrímeros ejemplares útiles en la invención incluyen la fórmula I (SPL-7013):



En que el grupo R está representado por:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 La síntesis de la Fórmula I se describe en el documento WO 02/079299.

Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, aunque no están limitadas a, sales metálicas tales como las sales de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc, además de sales orgánicas hechas a partir de aminas orgánicas tales como N,N'-dibencil-etilendiamina, cloroprocaína, dietanolamina, etilendiamina, dicitohexilamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína, aminas cuaternarias tales como colina, y sales de sulfonio y fosfonio.

10

La presente invención se describirá ahora más completamente con referencia a los ejemplos de acompañamiento. Debería entenderse, sin embargo, que la descripción siguiente es solo ilustrativa y no debería tomarse de ninguna manera como una restricción en la generalidad de la invención descrita anteriormente.

Ejemplos

- 15 Ejemplo 1: Selectividad de la Fórmula I en anaerobios

Artículos de prueba

Los artículos de prueba (Fórmula I, también denominada como SPL-7013, polvo y placebo en gel) se almacenaron a condiciones ambiente hasta que se probaron.

Se realizaron ensayos que tenían como objetivo la concentración de prueba de polvo de SPL-7013 de 1, 5, 10 y 30 mg/mL. Para estos ensayos, el polvo de SPL-7013 se disolvió y se diluyó en agua desionizada para alcanzar las concentraciones objetivadas finales en los diversos medios de agar.

- 5 El fármaco comparador, Imipenem se obtuvo de la Farmacopea de los Estados Unidos (cat. núm. 1337809, Lat núm. HOE040) y se almacenó a -20°C en tampón a pH 7,2 y una concentración madre de 320 µg/mL.

Organismos

Los organismos de prueba para los ensayos eran aislados clínicos recientes o cepas de referencia adquiridos de la Colección americana de cultivo tipo (ATCC; Manassas, VA). El organismo de control de calidad incluido en el ensayo fue *Bacteroides fragilis* 0123 (ATCC 25285).

- 10 Los medios de crecimiento y prueba fueron los recomendados por el Instituto de estándares de laboratorio clínico (CLSI; 1, 2, 3) para las pruebas de crecimiento y susceptibilidad de anaerobios. Los organismos de prueba se mantuvieron congelados a -80°C. Los aislados se sub-cultivaron en placas de agar Brucella suplementado (SBA) (Teknova, Hollister, CA) para los anaerobios. Las bacterias anaeróbicas se incubaron en una cámara anaeróbica Bactron II a 35°C durante 48 horas (atmósfera de hidrógeno al 5%, dióxido de carbono al 5%, nitrógeno al 90%).

- 15 Medios de prueba

- 20 El medio empleado para el ensayo MIC en dilución de agar anaeróbico fue Agar Brucella (Becton Dickinson, Sparks, MD núm. 211086, Lote núm. 7166673) suplementado con hemina (Strem Chemicals, Lote núm. 07.0830), Vitamina K₁ (Pfaltz and Bauer, Lote núm. 9799), y sangre de oveja lisada (Cleveland Scientific, Lote núm. S03582). Todos los medios se prepararon según las guías del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI) (1, 2, 3). Para el ensayo de microdilución del caldo de cultivo, el medio se preparó al 105% del peso normal para compensar el volumen de disolución de fármaco al 5% (10 µL de disolución de fármaco) en los paneles de microdilución final/placas de agar.

Procedimiento del ensayo de concentración mínima inhibidora (CMI) en dilución de agar (anaerobios)

- 25 Las bacterias anaeróbicas se ensayaron usando un método de dilución de agar de referencia previamente descrito (NCCLS. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard – Sexta edición. Documento NCCLS M11-A6 [ISBN 1-56238-517-8]. NCCLS, 940 de la carretera de West Valley, Suite 1400, Wayne, Pensilvania 19087-1898 EE.UU., 2004). Las diluciones de fármaco y las placas de agar suplementadas con fármaco se prepararon manualmente. Después de la inoculación, las placas suplementadas con fármacos se incubaron a 35°C durante 48 horas en el medio anaeróbico del Bactron II. El MIC se leyó por las guías de CLSI (NCCLS referido anteriormente).
- 30

El dato MIC procedente de las pruebas de susceptibilidad en que se probó el polvo de SPL-7013 a concentraciones de 1, 5, 10 o 30 mg/mL se muestra en la Tabla 1. La Tabla 1 muestra que había unos pocos patógenos anaeróbicos que eran sensibles a 30 mg/mL (*B. ovatus*, *P. bivia*), 10 mg/mL (*L. crispatus*) o 5 mg/mL (*G. vaginalis*) de SPL-7013.

Tabla 1

Organismo	Número Micromyx	Polvo de SPL7013 (mg/mL)	Imipenem (µg/mL)
<i>Mobiluncus curtisi</i>	4145	> 30	≤0,03
<i>Mobiluncus mulieris</i>	4146	> 30	≤0,03
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0681	> 30	0,12
<i>Lactobacillus casei</i>	1722	> 30	0,5
<i>Lactobacillus plantarum</i>	2791	> 30	2
<i>Lactobacillus crispatus</i>	4147	10	0,12
<i>Lactobacillus gasseri</i>	4148	> 30	0,25
<i>Lactobacillus jensenii</i>	4149	> 30	0,25
<i>Bacteroides fragilis</i>	3374	> 30	2
<i>B. fragilis</i>	0123	>30	0,12 Intervalo QC (0,03-0,12) ¹
<i>Bacteroides ovatus</i>	3503	> 30	0,25
<i>B. ovatus</i>	3508	30	≤0,03
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	4150	>30	0,25
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1269	> 30	≤0,03
<i>Anaerococcus prevotii</i>	4151	> 30	0,06
<i>Anaerococcus tetradius</i>	4152	>30	≤0,03
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	3526	> 30	≤0,03
<i>Prevotella bivia</i>	3447	30	≤0,03
<i>Prevotella intermedia</i>	3002	>30	≤0,03
<i>Prevotella melaninogenica</i>	3005	>30	≤0,03
<i>Porphyromonas levii</i>	3003	>30	0,06
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	3004	> 30	≤0,03
<i>Gardnerella vaginalis</i>	4153	5	0,12

¹() Límites aceptables del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio para las cepas de control de calidad

Como puede verse a partir de la Tabla 1, *Gardnerella vaginalis*, una bacteria asociada con la VB, era sensible a SPL-7013 a 5 mg/mL mientras que muchas de las especies de *Lactobacillus* que están presente en la flora vaginal normal no se afectaron por SPL-7013 o se afectaron a mayores concentraciones (*Lactobacillus crispatus*, 10 mg/mL).

5 Ejemplo 2

Para evaluar las propiedades anti-microbianas de una disolución de SPL-7013 acuosa, se prepararon dos disoluciones acuosas, una al 5% en p/v, y la segunda 28% en p/v. Las pruebas de efectividad conservativa estándar (según USP <51> "Prueba de efectividad antimicrobiana") se realizaron para desafiar la capacidad de cada disolución para limitar el crecimiento microbiano durante un periodo de un mes.

10 Todas las muestras se prepararon en viales de tapón de rosca HDPE de 250 mL, y no estériles.

Disolución al 5% en p/p

Una muestra de SPL-7013 (7,5402 g) se disolvió en agua (150 mL), con la muestra agitada para facilitar la disolución. La mezcla resultante tenía una concentración calculada como 5,0268% en p/v.

Disolución al 28% en p/p

15 Una muestra de SPL-7013 (42,0012 g) se disolvió en agua (150 mL), con la muestra agitada para facilitar la disolución. La mezcla resultante tenía una concentración calculada como 28,0008% en p/v.

Método de prueba

Las disoluciones de muestra de SPL-7013 se usaron como se preparan, y se probaron según USP <51> "Prueba de efectividad antimicrobiana". En esto, las disoluciones se desafiaron con 5 organismos microbianos, y la población de cada microorganismo se monitoriza como una función del tiempo.

20 Los microorganismos de desafío fueron como sigue:

Los microorganismos de desafío fueron como sigue:

- *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 9027
- *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538
- *Candida albicans*, ATCC 10231
- 25 - *Aspergillus niger*, ATCC 16404
- *Escherichia coli*, ATCC 8739

El inóculo de prueba se añade a cada muestra de manera que la concentración final después de la inoculación está entre 1×10^5 y 1×10^6 cfu por mL de producto. La concentración inicial de microorganismos viables en cada preparación de prueba se estima en base a la concentración de microorganismos en cada uno de los inóculos estandarizados como se determina por el método de conteo en placa. Los recipientes inoculados se incuban a $22,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ y se muestrean después de 14 y 28 días. En el muestreo, la concentración de cada microorganismo se determina por el método de conteo de placa. Los cambios en las concentraciones de los microorganismos se expresan en términos de reducción logarítmica. El no incremento en la concentración del microorganismo se define como no más de un valor 0,5log que el medido antes.

35 Resultados y discusión

Tabla 2: disolución al 5% de p/v

Organismo	Conteo inicial / cfu por g	Conteo final / cfu por g *	
		14 días	28 días
<i>P. aeruginosa</i>	$1,0 \times 10^6$	< 10	< 10
<i>S. aureus</i>	$8,6 \times 10^5$	< 10	< 10
<i>C. albicans</i>	$1,3 \times 10^6$	$6,6 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$
<i>A. niger</i>	$8,0 \times 10^5$	$7,0 \times 10^5$	$4,1 \times 10^5$
<i>E. Coli</i>	$7,9 \times 10^5$	15 (est)	25 (est)

*< indica "menos que", est indica "estimado"

40 Como se muestra en la Tabla 2, la disolución al 5% en p/v de SPL-7013 actuó como un bacteriocida frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en un periodo de 14 días, sin aumento posterior observado en la concentración del microorganismo. La misma disolución de prueba demostró un efecto bactericida reducido con respecto a los inóculos de *Candida albicans* y *Aspergillus niger* después de 14 días, con reducción gradual en la concentración del microorganismo (es decir disminución de > 0,5log de la unidad) en el punto temporal del día 28.

Tabla 3: disolución al 28% en p/v

Organismo	Conteo inicial / cfu por g	Conteo final / cfu por g *	
		14 días	28 días
<i>P. aeruginosa</i>	$1,0 \times 10^6$	< 10	< 10
<i>S. aureus</i>	$8,5 \times 10^5$	< 10	< 10
<i>C. albicans</i>	$1,3 \times 10^6$	$7,3 \times 10^4$	340
<i>A. niger</i>	$8,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$8,9 \times 10^5$
<i>E. Coli</i>	$7,9 \times 10^5$	< 10	< 10

* < indica "menos que"

Como se muestra en la Tabla 3, la disolución al 28% en p/v de SPL-7013 actuó como un bactericida frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en un periodo de 14 días, y también frente a *Candida albicans* en 28 días. La misma disolución de prueba evitó el crecimiento del inóculo de *Aspergillus niger* durante la duración de la prueba.

Las propiedades antibacterianas de las dos disoluciones de prueba (5% y 28% en p/v de SPL-7013 en agua) como se determina por la USP <51> "Prueba de efectividad antimicrobiana" indican que ambas cumplen los criterios de paso de la prueba para preparados tópicos.

Ejemplo 3

Se realizó un estudio clínico en que 66 mujeres con VB diagnosticada clínicamente se aleatorizaron en cuatro grupos.

1. 5 g de gel de SPL-7013 al 3% cada noche durante 7 noches
2. 5 g de gel de SPL-7013 al 1% cada noche durante 7 noches
3. 5 g de gel de SPL-7013 al 0,5% cada noche durante 7 noches
4. 5 g de gel de placebo HEC cada noche durante 7 noches

Los criterios para la inclusión en el estudio fueron mujeres de 18-45 años de edad, con un diagnóstico clínico de VB según los criterios de Amsel y una puntuación de Nugent de ≥ 4 . Los sujetos estaban sanos por lo demás. Los sujetos se excluyeron si tenían infecciones de transmisión sexual.

Cada sujeto se evaluó en el día 9-12 desde el inicio del tratamiento (final del tratamiento, FDT) y de nuevo entre el día 21-30 (Prueba de curación, PDC).

Cada sujeto se evaluó para la curación clínica, la curación de Nugent, la curación terapéutica y la resolución terapéutica tanto al FDT como PDC. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Los resultados adicionales del ensayo en participantes adicionales usando el mismo protocolo de estudio clínico se muestran en la Tabla 5.

Tabla 4

Punto final	FDT (%)					PDC (%)				
	SPL7013 al 3%	SPL7013 al 1%	SPL7013 al 0,5%	cualquier SPL7013	Placebo HEC	SPL7013 al 3%	SPL7013 al 1%	SPL7013 al 0,5%	Cualquier SPL7013	Placebo HEC
Curación clínica (sin descarga y ≤ 1 de otros Amsel)	50	83,3	57,1	62,2	11,1	8,3	54,6	21,4	27	10,0
Curación de Nugent (puntuación de Nugent ≤ 3)	25	33,4	14,2	23,7	0	0	27,3	10	13	0
Curación terapéutica (curaciones tanto clínica como de Nugent)	0	25	14,3	13,2	0	0	27,3	7,7	11,1	0
Descarga homogénea de blanca a gris (presente en la base a ausente)	81,8	100	85,7	89,2	37,5	20	63,6	45,5	43,8	28,6
Prueba de aminas (presente en la base a ausente)	63,6	91,7	57,1	70,3	12,5	20	63,6	54,5	46,9	28,6
pH vaginal >4,5 (presente en la base a ausente)	54,5	50	28,6	43,2	0	10	50	18,2	25,8	14,3
Células clave (presente en la base a ausente)	63,6	91,7	64,3	73	12,5	20	72,7	27,3	40,6	14,3
Puntuación de Nugent	≥7 a ≤3 ¹	25	16,7	7,1	15,8	0	0	9,1	6,5	0
	≥7 a 4-6 ²	50	50	28,6	42,1	0	10	18,2	0	14,3
	≥7 a ≥7 ³	0	16,7	21,4	13,2	100	70	45,5	50	85,7
	≥4 a ≤3 ⁴	25	33,4	14,2	23,7	0	0	27,3	10	0
Sin descarga anormal	≥7 a 0-6	75	66,7	35,7	57,9	0	10	27,3	10	14,3
	investigador	50	75	71,4	65,8	22,2	16,7	63,6	42,9	50
Sin olor desagradable	sujeto	69,2	91,7	75	78,4	42,9	50	72,7	61,1	30
	Investigador	66,7	100	71,4	78,9	22,2	41,7	64,3	59,5	50
	Sujeto	76,9	91,7	84,6	84,2	42,9	50	69,2	61,1	66,7

1 = VB a normal; 2 = VB a intermedio; 3 = VB a VB; 4 = anormal a normal.

Los resultados en la Tabla 4 muestran que una curación clínica se alcanzó en el FDT en el 62,2% de los sujetos tratados con gel de SPL-7013, y 27% de los sujetos tratados con SPL-7013 en la PDC. Sorprendentemente la formulación en gel de SPL-7013 al 1% funcionó significativamente mejor en el FDT (83% de curación clínica) y en PDC (55% de curación clínica) que otras formulaciones de SPL-7013.

5 Los resultados en la Tabla 4 muestran que la puntuación de Nugent se redujo a normal en el FDT en aproximadamente 25% de los sujetos tratados con gel de SPL-7013 al 3%, aproximadamente el 33% de los sujetos tratados con gel de SPL-7013 al 1% y el 14% en sujetos tratados con gel de SPL-7013 al 0,5%. La puntuación de Nugent se redujo a normal en la PDC en el 0% de los sujetos tratados con gel de SPL-7013 al 3%, 27% de los sujetos tratados con gel de SPL-7013 al 1% y aproximadamente el 10% de los sujetos tratados con gel de SPL-7013 al 0,5%.

Los resultados en la Tabla 4 muestran que la curación terapéutica en el FDT fue aproximadamente 25% y en la PDC fue el 27% de los sujetos tratados con gel de SPL-7013 al 1%. Esta es una mayor tasa de curación que la vista con otras dosis de gel de SPL-7013. La curación terapéutica para los grupos de placebo en el FDT y la PDC fue 0%.

15 Igualmente, la Tabla 4 muestra que el gel de SPL-7013 al 1% funcionó mejor en relación a la resolución de los criterios de Amsel también. En el FDT, la resolución de descarga vaginal fue 100%, la prueba de aminas fue 92%, el pH vaginal fue el 50% y las células clave fue el 92% con el gel de SPL-7013 al 1% en comparación con el 82%, 64%, 55% y 64% respectivamente para el gel de SPL-7013 al 3% y 86%, 57%, 29% y 64% respectivamente para el gel de SPL-7013 al 0,5%. En la PDC, la resolución de descarga vaginal fue 64%, la prueba de aminas fue 64%, el pH vaginal fue 50% y las células clave 73% para el gel de SPL-7013 al 1% en comparación con 20%, 20%, 10% y 20% respectivamente para el gel de SPL-7013 al 3% y 46%, 55%, 18% y 27% respectivamente para el gel de SPL-7013 al 0,5%.

25 Durante el estudio ninguna participante que recibió gel de SPL-7013 y dos participantes que recibieron el gel de placebo HEC experimentaron un suceso adverso (SA) grave durante el tratamiento. Solo una participante experimentó un SA serio, pero esto fue antes de la administración de algo de producto de estudio. Estos datos indican un nivel muy bajo de SA en este estudio.

Tabla 5

Punto final	FDT (%)					PDC (%)				
	SPL7013 al 3%	SPL7013 al 1%	SPL7013 al 0,5%	Cualquier SPL7013	Placebo HEC	SPL7013 al 3%	SPL7013 al 1%	SPL7013 al 0,5%	Cualquier SPL7013	Placebo HEC
Curación clínica (sin descarga y ≤ 1 de otros Amsel)	62,5	74,1	55,2	63,8	22,2	28,0	46,2	23,3	32,1	11,5
Curación terapéutica (curaciones tanto clínicas como de Nugent)	8,3	26,9	17,2	17,7	7,4	16,0	19,2	10,0	14,8	7,7
Resolución terapéutica (curación clínica y puntuación de Nugent < 6)	54,2	50,0	37,9	46,8	11,1	20,0	34,6	10,0	21,0	11,5
Puntuación de Nugent ≥ 7 a ≤ 3*	30,0	21,7	28,6	26,6	0	15,0	21,7	13,6	16,9	4,2

* = VB a normal.

ES 2 753 531 T3

Estos resultados son coherentes con los datos presentados en la Tabla 4 anterior en que la formulación al 1% funciona mejor en el tratamiento de la VB en el FDT y la PDC.

Ejemplo 4: Estudio clínico para la profilaxis de la recurrencia de la VB

5 Se planea un estudio doble ciego, multi-centro, aleatorio, controlado por placebo, con intervalo de dosis para determinar la seguridad y eficacia del gel de SPL-7013 administrado de forma vaginal para la profilaxis de la recurrencia de la VB.

10 El ensayo evaluará la eficacia clínica de dos niveles de dosis, elegidos de gel de SPL-7013 al 0,5%, 1% y 3% en comparación con el gel de placebo y determinará la eficacia microbiológica y total de dos niveles de dosis, elegidos de gel de SPL-7013 al 0,5%, 1% y 3%, determinará la seguridad y tolerabilidad y determinará la resolución de síntomas percibidos por el paciente.

Punto final primario

El punto final primario será la presencia o ausencia de VB al final de 16 semanas de uso del gel de SPL-7013.

Puntos finales secundarios

- 15 • Presencia o ausencia de VB en la visita de seguimiento de 8 semanas (semana 24).
- Tiempo a la recurrencia de VB desde el final del tratamiento inicial de metronidazol.
- Presencia o ausencia de criterios individuales de VB, que incluyen síntomas presentados por el sujeto, criterios de Amsel, criterios de puntuación de Nugent, y resultados de prueba Blue® de VB.
- 20 • Aceptabilidad de tratamiento evaluada usando el cuestionario de satisfacción del tratamiento para la medicación (TSQM).
- Incidencia de infecciones vaginales que no son VB.

Los puntos finales de seguridad incluirán la incidencia de SA y clasificaciones ordinales de signos y síntomas de irritación genital.

Población del estudio

25 Los sujetos mujeres de edad de 18-45 años inclusive con un episodio actual de VB y un historial de VB recurrente (definido como al menos 3 episodios documentados en los 12 meses anteriores, incluyendo el episodio actual).

Duración/participación

30 Duración total de aproximadamente 26 semanas que comprende: hasta 1 semana de periodo de cribado; un periodo de etiqueta abierta de 7 días de tratamiento con metronidazol ("fase de tratamiento agudo"); un periodo de 16 semanas de tratamiento con gel de SPL-7013 o gel de placebo de HEC ("fase de tratamiento doble ciego") y un periodo de seguimiento de 8 semanas ("fase de seguimiento").

Procedimiento de estudios

35 Después de la provisión de consentimiento informado escrito y un máximo de 1 semana de periodo de cribado, las participantes elegibles recibirán un tratamiento de 7 días de metronidazol administrado de forma oral (500 mg de BD). Las participantes tendrán entonces una evaluación de su VB en el día 4 +/- 1 día después de la terminación del tratamiento de etiqueta abierta con metronidazol.

40 Las mujeres que se encontró que habían respondido al tratamiento (resolución definida como sin síntomas clínicos (asintomática) y no más de 2 de 4 criterios de Amsel) y que cumplieron la parte 2 de los criterios de inclusión y exclusión serán elegibles para entrar a la fase de tratamiento doble ciego. Las participantes elegibles se aleatorizarán en una relación de 1:1:1 para recibir dos niveles de dosis, elegidos de gel de SPL-7013 al 0,5%, 1% y 3% o gel de placebo de HEC a una dosis de 5 g administrada vaginalmente por la noche (antes de ir a dormir) en cada segundo día durante 16 semanas consecutivas.

Durante la fase de tratamiento doble ciego de 16 semanas, las participantes visitarán la clínica cada 4 semanas. Al final de la semana 16, la visita del final del tratamiento (FDT) se realizará. Las participantes continuarán después a la fase de seguimiento, durante la cual las visitas clínicas se realizarán en las semanas 20 y 24.

45 Los detalles de procedimientos a realizar en las visitas del estudio se presentan en la Tabla 6 Horario de las evaluaciones y procedimientos del estudio.

Las participantes del estudio que no responden al régimen de tratamiento de metronidazol de una semana (según la definición del protocolo) se designarán como un "no respondedora al metronidazol" y se interrumpirán las evaluaciones adicionales del estudio.

ES 2 753 531 T3

A las participantes que experimentan una recurrencia de VB (según la definición del protocolo) durante o después de la fase de tratamiento doble ciego (es decir, entre la visita 1 (base)) se les ofrecerá terapia de rescate que incluiría solo antibióticos administrados de forma oral (p.ej., metronidazol, clindamicina) en línea con la práctica local. Las participantes que reciben terapia de rescate cesarán el tratamiento adicional con el fármaco de estudio, completarán los procedimientos de visita de terminación temprana y se interrumpirán del estudio.

5

Parámetros de seguridad

Los sucesos adversos y signos y síntomas de irritación genital observados por o informados al investigador o anotados en los diarios del sujeto se evaluarán. La incidencia de infecciones vaginales que no son VB, el uso de medicación simultánea y el cumplimiento con el régimen de tratamiento también se evaluará. Los parámetros de seguridad adicionales incluirán urinalisis, examen físico y pélvico/ginecológico, historial médico y sexual, signos vitales, prueba de embarazo de orina y evaluación de síntomas.

10

Análisis estadísticos

El análisis primario será una comparación de las dos dosis de gel de SPL-7013 elegidas (de 0,5% o 1% o 3%) frente al gel de placebo HEC.

15

Asumiendo que la proporción de mujeres que no recaen en la visita de la semana 16 está entre 65-70% para el gel de SPL-7013 y es 40% para el gel de placebo HEC, un tamaño de muestra de un mínimo de 54 sujetos evaluables por brazo de tratamiento proporcionará el 80% de potencia para detectar una diferencia de tratamiento con un nivel de significancia alfa de 0,05.

20

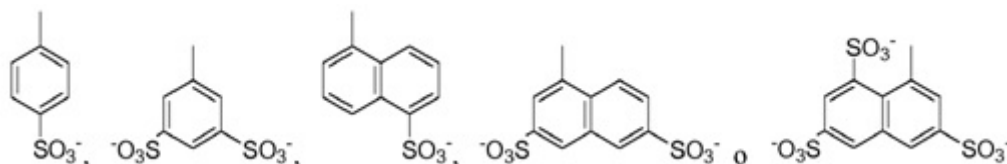
Ambos escenarios asumen una tasa de fallo del tratamiento de metronidazol de 12%, y una tasa de abandono de participantes a los 4 meses de 12%.

Tabla 6: Horario de evaluaciones y procedimientos del estudio

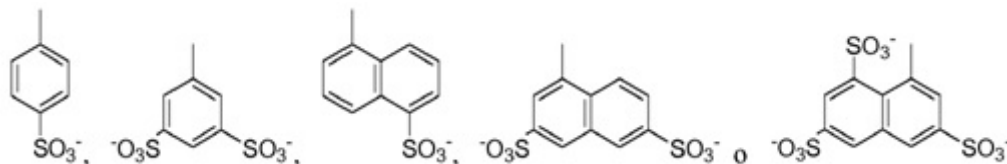
	Cribado	Fase de tratamiento agudo	Fase de tratamiento doble ciego				Fase de seguimiento	
	Visita 1 Día -16 a día -9	Día -11 a día -4 (± 1 día)	Visita 2 Día 1 base	Visitas 3, 4, 5 semanas 4, 8,12	Visita 6 / retirada semana 16/FDT	Visita 7 Semana 20	Visita 8 semana 24/FDE	
Examen	X							
	X							
Consentimiento informado	X							
Información demográfica	X							
Historial médico	X							
Cuestionario de historial sexual	X							
Medicaciones previas y simultáneas	X		X	X	X	X	X	
Criterios de inclusión/exclusión ^a	X		X					
Signos vitales	X							
Examen físico ^b	X		X	X	X	X	X	
Prueba de embarazo en orina	X		X		X			
Prueba de la tira reactiva de orina ^c	X		X					
Muestras de sangre para pruebas de VIH	X							
Muestras de sangre para la prueba de VHS-2			X		X			
Examen pélvico	X		X	X	X	X	X	
Frotis de Papanicolaou (Thin Prep®), si se necesita ^d	X							
Muestra vaginal (Thin Prep®) para el análisis de VPH potencial			X		X			
Muestra vaginal para células clave, candidiasis	X		X	X	X	X	X	
Muestra vaginal para el almacenaje y análisis potencial de la microflora vaginal	X		X		X	X		
Muestra vaginal para la puntuación de Nugent (tinción Gram)	X		X		X			
Muestra(s) vaginal(es) para la prueba de ITS ^e	X		X ^e	X ^e	X ^e	X ^e	X ^e	
Prueba de BVBlue®	X		X	X	X	X	X	
Evaluación de VB (síntomas del sujeto presentados y criterios de Amsel ^f)	X		X	X	X	X	X	
Dispensar metronidazol	X							
Terapia de Metronidazol		X						
Aleatorización			X					
Dispensar la medicación de estudio			X	X				

REIVINDICACIONES

1. Una macromolécula que comprende un dendrímero de polilisina de 3 a 4 generaciones y que tiene uno o más restos que contienen ácido sulfónico unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero, para usar en el tratamiento de la vaginosis bacteriana en un sujeto, en donde la macromolécula se administra por administración vaginal en una cantidad de 40 mg a 100 mg por día, y en donde el resto que contiene ácido sulfónico se selecciona de:

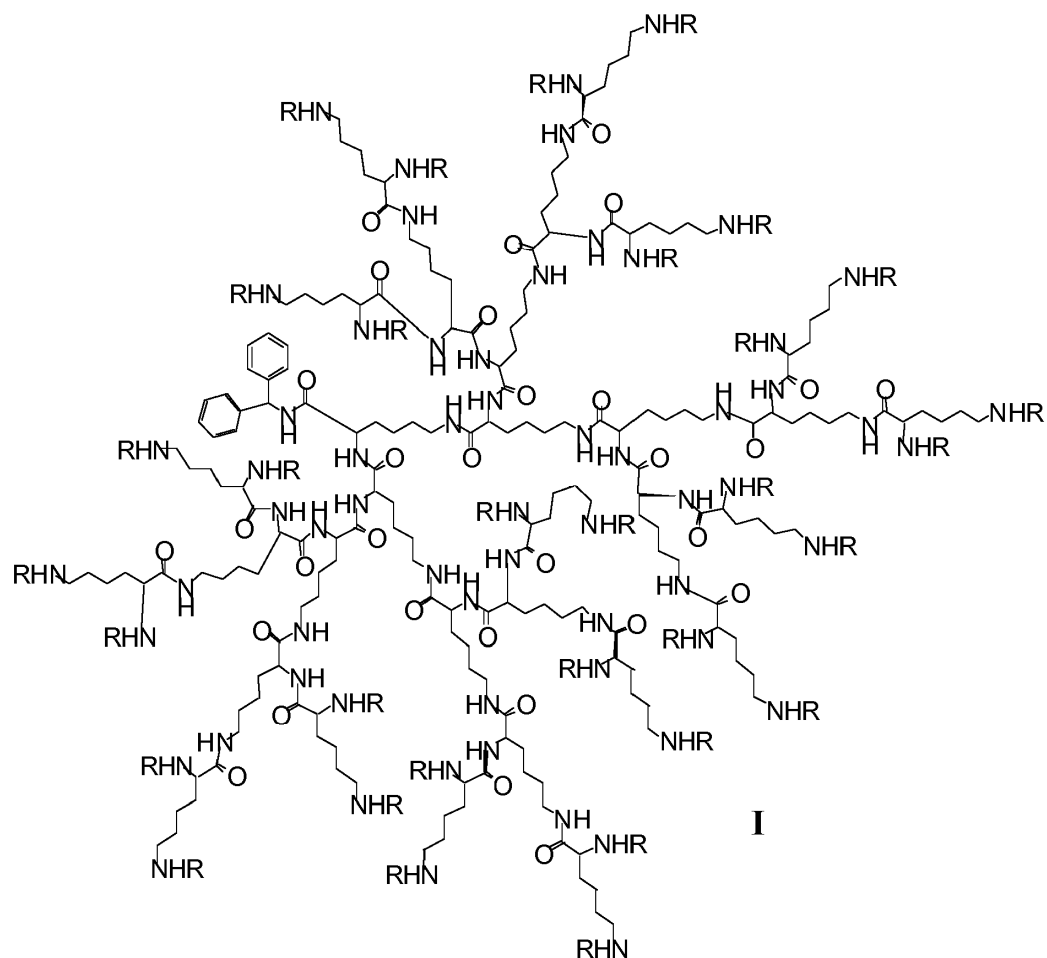


2. Una macromolécula para usar según la reivindicación 1, en donde la macromolécula se administra en una cantidad de 40 mg a 60 mg por día.
3. Una macromolécula para usar según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la macromolécula reduce un síntoma de vaginosis bacteriana en un sujeto seleccionado de mal olor vaginal y/o descarga vaginal.
4. Una macromolécula para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la macromolécula normaliza o mantiene una puntuación de Nugent de < 4 en el sujeto.
5. Una macromolécula para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la macromolécula se administra en una formulación en gel con un pH entre 4,5 y 5,5.
6. Una macromolécula que comprende un dendrímero de polilisina de 3 a 4 generaciones y que tiene uno o más restos que contienen ácido sulfónico unidos a uno o más grupos amino superficiales de la generación más externa del dendrímero, para usar en la profilaxis o reducción de la recurrencia de vaginosis bacteriana en un sujeto, en donde la macromolécula se administra mediante administración vaginal 1 a 7 veces por semana, y en donde el resto que contiene ácido sulfónico se selecciona de:



7. Una macromolécula para usar según la reivindicación 6, en donde la macromolécula se administra en una cantidad de 30 mg a 200 mg por dosis, o 40 mg a 160 mg por dosis.
8. Una macromolécula para usar según la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en donde la macromolécula se administra 3 a 4 veces por semana y/o en días alternos.
9. Una macromolécula para usar según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde la macromolécula se administra en la cercanía de actividad sexual, o durante o después de la menstruación.
10. Una macromolécula para usar según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la macromolécula no es inhibidora frente a *Lactobacillus acidophilus*.
11. Una macromolécula para usar según cualquier reivindicación anterior, en donde la macromolécula es inhibidora frente a *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia* y/o *B. ovatus*.
12. Una macromolécula para usar según cualquier reivindicación anterior, en donde la macromolécula tiene actividad antibacteriana frente a *Gardnerella vaginalis* y no actividad antibacteriana frente a *Lactobacillus acidophilus*.
13. Una macromolécula para usar según cualquier reivindicación anterior, en donde el resto que contiene ácido sulfónico se une al grupo amino terminal del dendrímero mediante un conector, en donde el conector es un grupo alqueno o alquénico en que uno o más átomos de carbono no adyacentes está opcionalmente con un átomo de oxígeno o azufre, o un grupo $-X_1-(CH_2)_q-X_2-$ en donde X_1 y X_2 se seleccionan independientemente de $-NH-$, $-C(O)-$, $-O-$, $-S-$, $-C(S)-$ y q es 0 o un número entero de 1 a 10, y en que uno o más grupos (CH_2) no adyacentes puede sustituirse con $-O-$ o $-S-$.
14. Una macromolécula para usar según la reivindicación 13, en donde el conector es $\#-O-CH_2-C(O)-*$ en que $\#$ designa la unión al resto que contiene ácido sulfónico y $*$ designa la unión al grupo aminoácido terminal del dendrímero.

15. Una macromolécula para usar según cualquier reivindicación anterior, en donde el dendrímero es



en donde R es

