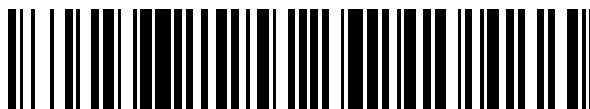


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 303**

51 Int. Cl.:

A61K 41/00 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61K 31/194 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/375 (2006.01)
A61K 33/40 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.06.2014** **PCT/JP2014/065813**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.12.2014** **WO14203833**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.06.2014** **E 14814295 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2019** **EP 3011972**

54 Título: **Composición medicinal para potenciar la síntesis de protoporfirina IX**

30 Prioridad:

19.06.2013 JP 2013129057

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

22.04.2020

73 Titular/es:

SBI PHARMACEUTICALS CO., LTD. (50.0%)
6-1, Roppongi 1-chome, Minato-ku
Tokyo 106-6020, JP y
OSAKA CITY UNIVERSITY (50.0%)

72 Inventor/es:

ISHIZUKA, MASAHIRO;
OTA, URARA;
KAMIYA, ATSUKO;
TAKAHASHI, KIWAMU;
TANAKA, TOHRU;
OZAWA, TOSHIYUKI;
MORIMOTO, KUNIYUKI y
WATANABE, KEITARO

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 755 303 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición medicinal para potenciar la síntesis de protoporfirina IX

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a una sustancia que potencia la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX para su uso en el tratamiento de la infección bacteriana a través de TFD-ALA.

10 **Antecedentes de la técnica**

La terapia fotodinámica (TFD) es un método de tratamiento en el que se administra un fotosensibilizador a un sujeto y utiliza la citotoxicidad de especies reactivas de oxígeno, incluyendo los oxígenos singlete producidos mediante fotoexcitación. La TFD ha sido el centro de atención en los últimos años, debido al hecho de que es un método de tratamiento no invasivo y que tiene una menor tendencia a dejar una cicatriz terapéutica.

Por otro lado, los ácidos 5-aminolevulínicos (también denominados en el presente documento "ALA") son un tipo de aminoácidos naturales comprendidos *in vivo* que existen ampliamente en animales, plantas u hongos. Aunque los ALA no tienen sensibilidad a la luz en sí, la protoporfirina IX (también denominada de aquí en adelante "PpIX"), que es la forma activada metabólicamente por un grupo de una serie de enzimas en la vía biosintética del hemo en las células, se conoce como un fotosensibilizador que posee máximos a 410 nm, 510 nm, 545 nm, 580 nm, 630 nm, etc. Por consiguiente, se ha presentado la investigación de la terapia fotodinámica con ácidos 5-aminolevulínicos (también denominada de aquí en adelante "TFD-ALA") en la que se lleva a cabo la administración combinada de los ALA y la TFD con un sujeto.

Recientemente, se ha llevado a cabo una investigación que emplea la TFD-ALA para tratar la infección, y ha sido objeto de atención como un método de tratamiento de la infección en el que no se emplea antibiótico (Referencia no de patente 1). Sin embargo, los presentes inventores encontraron que, entre los microorganismos patógenos causantes de infecciones, hay algunos que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA. En particular, en *Pseudomonas aeruginosa*, se encontró que aquellas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA incluyen la *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos (MDRP). En otras palabras, los presentes inventores presentaron un nuevo problema en la TFD-ALA para el tratamiento de la infección. Sin embargo, nunca se ha dilucidado el mecanismo en el que los microorganismos patógenos muestran resistencia a la TFD-ALA, y este ha sido el cuello de botella para resolver este problema.

Se han publicado numerosos casos de infección por MDRP en las instituciones médicas. Se ha publicado que la MDRP infecta a aquellos individuos con inmunidad reducida, por ejemplo, debido al uso de un agente inmunosupresor o al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), a aquellos individuos debilitados debido a, por ejemplo, una hospitalización o cirugía a largo plazo, a los ancianos que están postrados en cama y similares, causando síntomas graves, y este ha sido un problema social sumamente importante.

Para resolver estos problemas, se ha investigado un método de uso de dos o más antibióticos combinados para realizar un tratamiento de la infección mediante los efectos sinérgicos y aditivos de los mismos (Referencia no de patente 2). Además, también se están llevando a cabo numerosas investigaciones para encontrar nuevos derivados, tales como un derivado de carbapenem, que tienen una actividad antibiótica superior contra la MDRP (Referencia de patente 1). Sin embargo, aún no se ha establecido un método eficaz de tratamiento de la infección por MDRP, y la prevención es la principal medida correctiva.

Además, incluso si se desarrolla un antibiótico eficaz o una combinación de antibióticos contra la MDRP en el futuro, es inevitable predecir la aparición de *Pseudomonas aeruginosa* que muestren una mayor resistencia a estos agentes. Por las razones anteriores, se ha exigido con contundencia el desarrollo de un nuevo método de tratamiento de la MDRP que no se base únicamente en los antibióticos.

Lista de citas

[Referencia de patente 1] Publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada publicada n.º Hei 7-133277

[Referencia no de patente 1] Chia-Fen Lee, Chi-Jui Lee, Chin-Tin Chen, Ching-Tsan Huang, "d-Aminolaevulinic acid mediated photodynamic antimicrobial chemotherapy on *Pseudomonas aeruginosa* planktonic and biofilm cultures", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. Vol. 75, pág. 21-25 (2004). [Referencia no de patente 2] Yoko Oka, "Effect of combination use of antibiotics against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*", *Japanese Journal of Chemotherapy, Japanese Society of Chemotherapy*, agosto de 2005, Vol. 53, n.º 8, pág. 476-482.

65 **Sumario de la invención**

Problemas a resolver por la invención

El objeto de la presente invención es dilucidar el mecanismo de resistencia en las infecciones bacterianas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA, y proporcionar un nuevo método de tratamiento contra estas infecciones bacterianas.

Medios para resolver los problemas

Como se ha descrito anteriormente, los presentes inventores descubrieron por primera vez que existen infecciones bacterianas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA. En particular, se descubrió que las infecciones bacterianas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA incluyen *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos. En otras palabras, los presentes inventores presentaron por primera vez un problema médico y de salud pública sumamente importante en la TFD-ALA para el tratamiento de infecciones bacterianas.

Los presentes inventores llevaron a cabo una investigación exhaustiva del mecanismo de resistencia de las infecciones bacterianas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA para resolver los problemas anteriores. Como resultado de ello, se descubrió que, sorprendentemente, cuando se aplican los ALA a microorganismos patógenos causantes de dichas infecciones bacterianas, la mayoría de los ALA que se incorporan a los microorganismos mencionados anteriormente no se convierten en protoporfirina IX (PpIX), que es el punto de acción de la TFD-ALA, y la metabolización se detiene en su precursor coproporfinógeno III (CPpIX). En otras palabras, los presentes inventores descubrieron por primera vez que este fenómeno es, de hecho, la razón por la que algunas infecciones bacterianas muestran resistencia a la TFD-ALA (véase el Ejemplo 1 del presente documento).

A continuación, basándose en el conocimiento anterior, los presentes inventores llevaron a cabo una exploración exhaustiva de la sustancia que potencia la metabolización del CPpIX a la PpIX. Como resultado de ello, se descubrió que, sorprendentemente, es posible potenciar la conversión del CPpIX en la PpIX combinando la administración de una sustancia dada (como se especifica en la reivindicación 1) a un sujeto con la TFD-ALA, y la TFD-ALA también se puede aplicar de manera eficaz a infecciones bacterianas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA, completándose así la presente invención (véanse los Ejemplos 2 y 3 de la presente memoria).

En otras palabras, la presente invención se refiere a una sustancia que potencia la conversión del coproporfinógeno III en protoporfirina IX para su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas a través de la TFD-ALA, en donde dicha sustancia se selecciona del grupo que consiste en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido *N*-(2-hidroxiethyl)iminodiacético (HI), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido trietilentetramin-*N,N,N',N'',N''',N'''*-hexaacético (TT), deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico.

Además, una realización de la presente invención se caracteriza porque dicho tratamiento de la infección bacteriana es un tratamiento para infecciones bacterianas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA.

Además, una realización de la presente invención se caracteriza porque dicha infección bacteriana es infección por *Pseudomonas aeruginosa*.

Además, una realización de la presente invención se caracteriza porque dicha infección por *Pseudomonas aeruginosa* es una infección por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos.

Además, una realización de la presente invención se caracteriza porque dicha infección por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos es la infección por *Pseudomonas aeruginosa* que muestra resistencia a al menos un antibiótico fluoroquinolona, un antibiótico carbapenem y un antibiótico aminoglucósido.

Además, el presente documento describe un método de potenciación de la producción de protoporfirina IX en la TFD-ALA para el tratamiento de la infección bacteriana en un sujeto, caracterizado por administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una sustancia que potencia la conversión del coproporfinógeno III en protoporfirina IX al sujeto.

Otra realización de la presente invención proporciona una combinación para su uso en el tratamiento de la infección por *Pseudomonas aeruginosa* que muestra resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA, comprendiendo dicha combinación (1) ácidos ALA y (2) una sustancia seleccionada del grupo que consiste en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido *N*-(2-hidroxiethyl)iminodiacético (HI), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido trietilentetramin-*N,N,N',N'',N''',N'''*-hexaacético (TT), deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico, en donde el tratamiento comprende la administración secuencial o simultánea de (1) y (2).

Además, una realización de la presente invención se caracteriza porque un aspecto de dicha combinación de dicho medicamento combinado es un fármaco combinado.

Además, una realización de la presente invención se caracteriza porque un aspecto de dicha combinación de dicho medicamento combinado es un kit.

- 5 Además, el presente documento describe un método de tratamiento de la infección por *Pseudomonas aeruginosa* en un sujeto, caracterizado por administrar secuencial o simultáneamente al sujeto (1) ácidos ALA y (2) una sustancia seleccionada del grupo que consiste en EDTA, HI, DTPA, TT, deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico.

- 10 También se incluye en el alcance de la presente invención una invención que sea cualquier combinación de una o más características de la presente invención descrita anteriormente.

Efectos de la invención

- 15 La sustancia para su uso de acuerdo con la presente invención, permite el tratamiento de infecciones bacterianas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA. En particular, la sustancia para su uso de acuerdo con la presente invención, permite el tratamiento de la infección por MDRP, cuyo método de tratamiento eficaz no se ha encontrado hasta la fecha. En otras palabras, la presente invención es una invención de suma importancia en la ciencia médica.

- 20 Dado que la sustancia para el uso de acuerdo con la presente invención es para su uso en un método de tratamiento con un mecanismo completamente diferente de un método de tratamiento de las infecciones mediante un antibiótico, no hay necesidad de preocuparse por la aparición de bacterias resistentes a los fármacos. En otras palabras, de acuerdo con la presente invención, se puede evitar el problema de la aparición de bacterias resistentes a los fármacos, que actualmente es un gran problema social. En otras palabras, la presente invención también es una
25 invención de suma importancia en términos de salud pública.

- Además, también se pueden usar combinados la sustancia para el tratamiento de infecciones de acuerdo con la presente invención y un tratamiento de infecciones mediante un antibiótico. Por ejemplo, se puede lograr un mayor efecto terapéutico mediante el uso de métodos de tratamiento de dos mecanismos diferentes combinados (es decir,
30 la sustancia para el tratamiento de infecciones de acuerdo con la presente invención y un tratamiento de infecciones mediante un antibiótico) en un paciente de una infección que muestra síntomas graves y requiere un tratamiento urgente.

- En particular, de acuerdo con la presente invención, el tratamiento de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* se puede realizar independientemente de si la *Pseudomonas aeruginosa* es MDRP o no. Por consiguiente, cuando la infección por *Pseudomonas aeruginosa* se trata en un paciente de una institución médica, se puede prevenir la aparición de la MDRP en el paciente tratando al paciente con la sustancia para el uso de la presente invención sin determinar si la bacteria patógena es MDRP o no. Además, se puede evitar el agravamiento de los síntomas si, por casualidad, las bacterias patógenas de la infección por *Pseudomonas aeruginosa* fueran MDRP.
40

- Además, los síntomas que son agravados por la infección por MDRP se informan en gran medida en aquellos individuos con inmunidad reducida, por ejemplo, debido al uso de un agente inmunosupresor o al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), aquellos individuos debilitados debido a, por ejemplo, una hospitalización o cirugía a largo plazo, ancianos que están postrados en la cama y similares. Por otro lado, dado que la TFD-ALA es
45 un método de tratamiento no invasivo, se puede decir que es un método de tratamiento preferido para los sujetos con inmunidad reducida como se ha descrito anteriormente o para los pacientes con fuerza física reducida. Además, los ALA son sustancias muy seguras en el cuerpo humano, y dan menos problemas de alergias a fármacos, etc. en comparación con la administración de los antibióticos. Además, el método de administración de los ALA al paciente se puede seleccionar de acuerdo con la afección o los síntomas del paciente, tal como la aplicación, ingestión y similares. En otras palabras, la presente invención proporciona una sustancia para su uso en un método de
50 tratamiento particularmente apropiado para pacientes con alto riesgo de agravamiento de los síntomas de infección por MDRP.

Breve descripción del dibujo

- 55 La Figura 1 es un gráfico que compara el número de bacterias de MDRP después del tratamiento entre el grupo en el que se añaden ALA y EDTA, y la TFD se lleva a cabo sobre la MDRP (grupo de TFD) y el grupo en el que se añaden ALA y EDTA y la TFD no se lleva a cabo sobre la MDRP (grupo de no TFD).

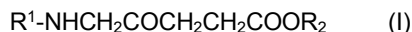
Descripción de realizaciones

Los ALA como se usan en el presente documento se refieren a un ALA o un derivado del mismo, o a sales del mismo.

- 65 ALA, como se usa en el presente documento, significa un ácido 5-aminolevulínico. ALA también se denomina ácido δ-aminolevulínico, y es un tipo de aminoácido.

El compuesto representado por la siguiente Fórmula (I) puede ilustrarse como un ejemplo de un derivado de ALA. En la Fórmula (I), R¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo, y R² representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo lineal o ramificado, un grupo cicloalquilo, un grupo arilo o un grupo aralquilo. Cabe señalar que, en la

[Fórmula química 1]



Los ALA pueden actuar como un principio activo *in vivo* en forma de ALA de Fórmula (I) o un derivado del mismo, y pueden administrarse como un profármaco (precursor) que es degradado por una enzima *in vivo*.

El grupo acilo de R¹ de la Fórmula (I) puede incluir un grupo alcanoilo lineal o ramificado que tenga de 1 a 8 átomos de carbono, tal como un grupo formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, valerilo, isovalerilo, pivaloilo, hexanoilo, octanoilo y bencilcarbonilo, y un grupo aroilo que tenga de 7 a 14 átomos de carbono, tal como un grupo benzoilo, 1-naftoilo y 2-naftoilo.

El grupo alquilo de R² de la Fórmula (I) puede incluir un grupo alquilo lineal o ramificado que tenga de 1 a 8 átomos de carbono, tal como un grupo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butirilo, isobutirilo, *sec*-butirilo, *terc*-butirilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, heptilo y octilo.

El grupo cicloalquilo de R² de la Fórmula (I) puede incluir un grupo cicloalquilo que tenga de 3 a 8 átomos de carbono que pueden estar saturados o tener enlaces parcialmente insaturados, tal como un grupo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclododecilo y 1-ciclohexenilo.

El grupo arilo de R² de la Fórmula (I) puede incluir un grupo arilo que tenga de 6 a 14 átomos de carbono, tal como un grupo fenilo, naftilo, antrilo y fenantrilo.

El grupo aralquilo de R² de la Fórmula (I) puede ilustrarse con los mismos grupos arilo que anteriormente para la fracción arilo y los mismos grupos alquilo que anteriormente para la fracción alquilo, y puede incluir específicamente un grupo aralquilo que tenga de 7 a 15 átomos de carbono, tal como un grupo bencilo, fenetilo, fenilpropilo, fenilbutilo, benzhidrilo, trítilo, naftilmetilo y naftiletilo.

Los derivados de ALA preferidos incluyen compuestos en los que R¹ es un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo butirilo, y similares. Además, los derivados de ALA preferidos también incluyen compuestos en los que el R² anterior es un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo butirilo, un grupo pentilo, y similares. Además, los derivados de ALA preferidos también incluyen compuestos en los que la combinación de los R¹ y R² anteriores es cada combinación de (formilo y metilo), (acetilo y metilo), (propionilo y metilo), (butirilo y metilo), (formilo y etilo), (acetilo y etilo), (propionilo y etilo) y (butirilo y etilo).

Entre los ALA, una sal de un ALA o un derivado del mismo puede incluir una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, una sal metálica, una sal de amonio, una sal de adición de amina orgánica, y similares. Las sales de adición de ácido pueden ilustrarse con, por ejemplo, cada una de las sales de ácido inorgánico tales como una sal de clorhidrato, una sal de bromhidrato, una sal de yodhidrato, una sal de fosfato, una sal de nitrato y una sal de sulfato, y cada una de las sales de adición de ácido orgánico tales como una sal de formiato, una sal de acetato, una sal de propionato, una sal de toluenosulfato, una sal de succinato, una sal de oxalato, una sal de lactato, una sal de tartrato, una sal de glicolato, una sal de metanosulfonato, una sal de butirato, una sal de valerato, una sal de citrato, una sal de fumarato, una sal de maleato y una sal de malato. Las sales metálicas pueden ilustrarse con cada una de las sales de metales alcalinos tales como una sal de litio, una sal de sodio y una sal de potasio, cada una de las sales de metales alcalinotérreos, tales como una sal de magnesio y una sal de calcio, y cada una de sales de metales, tales como aluminio y cinc. Las sales de amonio pueden ilustrarse con sales de alquilamonio, tales como una sal de amonio y una sal de tetrametilamonio. Las sales de aminas orgánicas pueden ilustrarse con cada una de las sales tales como una sal de trietilamina, una sal de piperidina, una sal de morfolina y una sal de toluidina. Cabe señalar que estas sales también pueden emplearse en forma de una solución en el momento de su uso.

Entre los ALA anteriores, los más favorables son ALA y distintos ésteres tales como un éster metílico de ALA, un éster etílico de ALA, un éster propílico de ALA, un éster butílico de ALA y un éster pentílico de ALA, así como sales de clorhidrato, sales de fosfato y sales de sulfato de los mismos. En particular, una sal de clorhidrato de ALA y una sal de fosfato de ALA pueden ilustrarse como particularmente favorables.

Los ALA anteriores se pueden fabricar mediante, por ejemplo, métodos bien conocidos como la síntesis química, la producción por microorganismos y la producción por enzimas. Además, los ALA anteriores también pueden formar un hidrato o un solvato, y pueden emplearse ALA solos o en una combinación apropiada de dos o más.

Quando los ALA anteriores se deben preparar en forma de una solución acuosa, debe prestarse atención en que la solución acuosa no se vuelva alcalina para evitar la degradación de los ALA. En caso de volverse alcalina, se puede prevenir la degradación mediante la eliminación del oxígeno.

- 5 La TFD-ALA como se usa en el presente documento significa terapia fotodinámica (TFD) que emplea ALA, más normalmente, TFD que emplea ALA.

La TFD-ALA anterior es un método empleado para agentes terapéuticos destinados a infecciones bacterianas que utiliza el hecho de que, cuando se realiza la TFD en la que se administra un compuesto que reacciona a la luz e irradia luz para tratar el sitio diana, se administran ALA que no tienen un efecto de fotosensibilización en sí, se permite la acumulación de la PpIX inducida por la vía biosintética del pigmento en el microorganismo patógeno de la infección, la PpIX acumulada en el microorganismo se excita para permitir la fotoexcitación de las moléculas de oxígeno circundantes, y los oxígenos singletes producidos como resultado tienen un efecto citotóxico debido a su intenso poder oxidativo. La longitud de onda de la luz para excitar la PpIX anterior es preferentemente de 400 nm-700 nm.

Una "sustancia que potencia la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX", como se usa en el presente documento, significa, en particular, una sustancia que potencia directa o indirectamente la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX en la vía metabólica de los ALA *in vivo*.

"Una sustancia que potencia la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX" como se usa en el presente documento se selecciona del grupo que consiste en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido *N*-(2-hidroxiethyl)iminodiacético (HI), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido trietilentetramin-*N,N,N',N'',N''',N'''*-hexaacético (TT), mesilato de deferoxamina (Defe), ácido málico y ácido cítrico.

La forma de estos agentes quelantes es arbitraria. En caso de un agente quelante ácido, puede estar en forma de ácido libre o puede estar en forma de una sal tal como una sal de sodio, una sal de potasio y una sal de amonio. Además, estos pueden estar en formas de derivados de éster de las mismas que sean hidrolizables.

Para la deferoxamina, también se pueden emplear sales y derivados de las mismas, aunque, en particular, es favorable emplear mesilato de deferoxamina. El mesilato de deferoxamina también se denomina a veces desferal. Dado que el mesilato de deferoxamina está aprobado para la administración *in vivo* (tal como la administración por inyección), se puede emplear favorablemente en la presente invención, por ejemplo, cuando se administra directamente un agente quelante *in vivo*. Dado que el deferasiro y la deferiprona también están aprobados para la administración *in vivo* (tal como la administración oral), entonces se puede emplear favorablemente en la presente invención, por ejemplo, cuando se administra directamente un agente quelante *in vivo*.

En la presente invención, el agente quelante puede estar compuesto de un compuesto, o se pueden usar combinados dos o más compuestos.

La enfermedad objeto de la TFD-ALA que emplea la presente invención no se limita a una en particular, siempre que sea una infección bacteriana. Las infecciones bacterianas en las que se puede emplear favorablemente la TFD-ALA que emplea la presente invención pueden incluir infección por *Staphylococcus aureus* o infección por *Pseudomonas aeruginosa*.

La "TFD-ALA en la que se usa un solo ALA", como se usa en el presente documento, significa que no se emplea en la TFD-ALA ninguna otra sustancia que no sea ALA que tenga influencia sobre el efecto de la TFD-ALA.

Una infección "muestra resistencia a la ALT-TFD en la que se usa un solo ALA" significa que, incluso cuando la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA se aplica al patógeno causante de la infección mencionada anteriormente, casi no hay cambio en el número de bacterias en comparación con la realización del experimento en las mismas condiciones, pero sin realizarse la TFD. Por ejemplo, puede significar que incluso cuando se aplica la ALT-TFD en la que se usa un solo ALA (por ejemplo, longitud de onda de 410 nm, 50 J/cm²) al patógeno causante de la infección mencionada anteriormente, el 10 % o más del número de bacterias sobrevive en comparación con la realización del experimento en las mismas condiciones, pero sin realizarse la TFD.

Una *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos (MDRP), como se usa en el presente documento, significa *Pseudomonas aeruginosa* que muestra resistencia a al menos un antibiótico fluoroquinolona (tal como ciprofloxacina y levofloxacina), un antibiótico carbapenem (tal como imipenem y meropenem) y un antibiótico aminoglucósido (tal como amikacina). En otras palabras, La *Pseudomonas aeruginosa* que muestra resistencia a al menos uno de los antibióticos fluoroquinolona, al menos uno de los antibióticos carbapenem y al menos uno de los antibióticos aminoglucósido debe incluirse en la "*Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos" de la presente invención.

La confirmación de que la *Pseudomonas aeruginosa* en cuestión es MDRP puede realizarse, por ejemplo, confirmando que la concentración inhibidora mínima (CIM) de dicha *Pseudomonas aeruginosa* es amikacina a $\geq$

32 µg/ml, imipenem a ≥ 16 µg/ml y ciprofloxacina a ≥ 4 µg/ml, respectivamente.

Quando se realiza la TFD-ALA empleando la presente invención, la administración de ALA a un sujeto y la administración de "una sustancia que potencia la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX" puede ser al mismo tiempo o en momentos diferentes. En otras palabras, primero se pueden administrar los ALA al sujeto, y luego se puede administrar "una sustancia que potencie la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX", o viceversa.

Quando se realiza la TFD-ALA empleando la presente invención, El método de administración de los ALA puede incluir la administración oral, incluyendo la administración sublingual, la inyección intravenosa, incluyendo la infusión, y la administración transdérmica, por ejemplo, cataplasmas, supositorios y tipos de soluciones aplicables. Entre estas, se prefiere la administración transdérmica u oral, y la administración transdérmica mediante aplicación puede ilustrarse favorablemente con respecto a su eficacia y conveniencia. La forma farmacéutica del agente terapéutico de la forma farmacéutica de administración oral puede incluir polvos, gránulos, comprimidos, cápsulas, jarabes, suspensiones y similares, pudiendo el agente terapéutico de la forma farmacéutica en inyección intravenosa incluir inyecciones, infusiones y similares. Además, la forma farmacéutica del agente terapéutico en la forma de administración transdérmica puede incluir tipos de soluciones, tipos disueltos en pomadas hidrosolubles, tipos de cremas, tipos disueltos en gelatina, tipos de pulverizaciones y similares. Por ejemplo, el método de administración transdérmica mediante los tipos de soluciones aplicables puede incluir específicamente el método de puesta en contacto de un material de retención de líquido que contenga suficientemente la solución de ALA, tal como una gasa o un algodón absorbente, con la piel infectada con *Pseudomonas aeruginosa*. La dosis de los ALA puede ser una cantidad que permita que la cantidad acumulada de PpIX en el microorganismo en cuestión sea una cantidad eficaz para la TFD-ALA. Las dosis específicas de ALA son, por ejemplo, en caso de la administración oral, 1 mg-1.000 mg, preferentemente 5 mg-100 mg, más preferentemente 10 mg-30 mg y más preferentemente 15 mg-25 mg por kilogramo de peso corporal en equivalencia de ALA, y en caso de la administración transdérmica mediante los tipos de soluciones aplicables, la concentración de la solución de los ALA es del 1 % en peso-90 % en peso, preferentemente del 2 % en peso-40 % en peso, y más preferentemente del 10 % en peso-20 % en peso en equivalencia de ALA. Además, cuando los ALA se usan en forma de solución, es preferible prestar atención a la preparación para que la solución acuosa no se vuelva alcalina a fin de evitar la degradación de los ALA. En caso de volverse alcalina, se puede evitar la degradación del principio activo eliminando el oxígeno.

Quando se realiza la TFD-ALA empleando la presente invención, el método de administración de "una sustancia que potencia la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX" puede incluir la administración oral, incluyendo la administración sublingual, la inyección intravenosa, incluyendo la infusión, y la administración transdérmica, por ejemplo, cataplasmas, supositorios y tipos de soluciones aplicables. El método de administración un agente quelante y un ácido ascórbico puede incluir la administración oral, incluyendo la administración sublingual, la inyección intravenosa, incluyendo la infusión, y la administración transdérmica, por ejemplo, cataplasmas, supositorios y tipos de soluciones aplicables. El método de administración de peróxido de hidrógeno puede incluir la inyección intravenosa, incluyendo la infusión y la administración transdérmica, por ejemplo, mediante cataplasmas, supositorios y tipos de soluciones aplicables. La forma farmacéutica del agente terapéutico de la forma farmacéutica de administración oral puede incluir polvos, gránulos, comprimidos, cápsulas, jarabes, suspensiones y similares, pudiendo el agente terapéutico de la forma farmacéutica en inyección intravenosa incluir inyecciones, infusiones y similares. Además, la forma farmacéutica del agente terapéutico en la forma de administración transdérmica puede incluir tipos de soluciones, tipos disueltos en pomadas hidrosolubles, tipos de cremas, tipos disueltos en gelatina, tipos de pulverizaciones y similares. Por ejemplo, el método de administración transdérmica mediante los tipos de soluciones aplicables puede incluir específicamente el método "una sustancia que potencie la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX", tal como una gasa o un algodón absorbente, con la piel infectada con *Pseudomonas aeruginosa*.

Quando se realiza la TFD-ALA empleando la presente invención, el método de administración de los ALA y el método de administración de "una sustancia que potencia la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX" puede ser el mismo o diferente. Por ejemplo, los ALA pueden administrarse por vía oral al sujeto, y "una sustancia que potencia la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX" puede administrarse por vía transdérmica.

La sustancia para su uso de acuerdo con la presente invención normalmente es para la administración a un ser humano, pero el sujeto en cuestión también incluye animales no humanos tales como animales de compañía, animales de laboratorio y animales de granja. Además, cuando no sea deseable, los seres humanos pueden ser excluidos del sujeto.

Un "medicamento combinado", como se usa en el presente documento, significa un medicamento de una combinación de dos o más sustancias, o una composición en la que el aspecto de la combinación de las mismas no está limitado.

Como se usa en la presente memoria, que el aspecto de la combinación de (1) los ALA y (2) una sustancia seleccionada del grupo que consiste en EDTA, HI, DTPA, TT, deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico sea un "fármaco combinado" significa que, como una realización del medicamento combinado de acuerdo con la presente

invención, cada una de las sustancias se formula en la misma composición para administrar simultáneamente (1) y (2).

Como se usa en la presente memoria, que el aspecto de la combinación de (1) los ALA y (2) una sustancia seleccionada del grupo que consiste en EDTA, HI, DTPA, TT, deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico sea un "kit" significa que, como una realización del medicamento combinado de acuerdo con la presente invención, (1) y (2) se preparan por separado. En dicho aspecto, dado que (1) y (2) se preparan por separado, (1) y (2) pueden administrarse secuencial o simultáneamente a un sujeto.

Como se usa en la presente memoria, "administrar simultáneamente" (1) los ALA y (2) una sustancia seleccionada del grupo que consiste en EDTA, HI, DTPA, TT, deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico comprende, por ejemplo, administrar una composición que comprende simultáneamente (1) y (2) a un sujeto, tal como cuando el aspecto de la combinación de (1) y (2) es un fármaco combinado. Además, también comprende administrar simultáneamente (1) y (2) preparados por separado, tal como cuando el aspecto de la combinación de (1) y (2) es un kit.

Como se usa en la presente memoria, "administrar secuencialmente" (1) los ALA y (2) una sustancia seleccionada del grupo que consiste en EDTA, HI, DTPA, TT, deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico comprende, por ejemplo, administrar (1) y (2) preparados por separado en un momento separado, tal como cuando el aspecto de la combinación de (1) y (2) es un kit.

Otros ingredientes opcionales tales como otros ingredientes medicinales, nutrientes y vehículos se pueden añadir según sea necesario a la composición farmacéutica o al medicamento combinado. Por ejemplo, como ingredientes opcionales, se pueden añadir diversos ingredientes compuestos para la preparación de fármacos, tales como vehículos habituales farmacéuticamente aceptables, aglutinantes, estabilizantes, disolventes, medios de dispersión, expansores, excipientes, diluyentes, tampones de pH, disgregantes, solubilizantes, solubilizantes y agentes isotónicos, tales como celulosa cristalina, gelatina, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, grasa vegetal y animal, aceite, goma y polialquilenglicol.

Cuando se trata una infección con la sustancia para su uso de acuerdo con la presente invención, se pueden usar antibióticos bien conocidos combinados. Dado que se cree que los mecanismos del efecto antibiótico por antibióticos bien conocidos y del efecto de tratamiento de infecciones por la presente invención son fundamentalmente diferentes, cabe esperar un efecto aditivo o, en algunos casos, un efecto sinérgico.

Los términos usados en el presente documento, a excepción de aquellos que se definen en particular, se emplean para describir realizaciones particulares, y no pretenden limitar la invención.

Además, la expresión "que comprende", como se usa en el presente documento, salvo que el contenido indique claramente que debe entenderse de otro modo, se refiere a la presencia de los artículos descritos (tales como componentes, etapas, elementos y números) y no excluye la presencia de otros artículos (tales como componentes, etapas, elementos y números).

Salvo que se defina de otra manera, todos los términos usados en el presente documento (incluyendo términos técnicos y científicos) tienen el mismo significado que reconocen ampliamente los expertos en la materia de la tecnología a la que pertenece la presente invención. Los términos usados en el presente documento, salvo que se definan de forma explícita de otra manera, deben interpretarse con significados coincidentes con los significados del presente documento y de campos técnicos relacionados, y no deben interpretarse con significados idealizados o excesivamente formales.

A continuación, se describirá la presente invención con más detalle con referencia a los ejemplos. Sin embargo, la presente invención puede realizarse mediante diversos aspectos y no debe interpretarse como limitada a los ejemplos descritos en el presente documento.

Ejemplos

Ejemplo 1

Se dispuso *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos (MDRP: ATCC BAA-2110) en medio de caldo de soja triptico (TBS: de DIFCO) y se cultivó a 37 °C durante 24 horas. Con un dispositivo de medición de la absorción, se ajustó el medio de TBS que comprendía la MDRP cultivada a 1×10^9 UFC (unidades formadora de colonias)/ml. En una placa de 12 pocillos, se prepararon y se cultivaron las siguientes soluciones (1)-(3). (1): Medio de TBS que comprende MDRP ajustado a 1×10^9 UFC/ml, (2): una solución de (1) y ALA añadido a una concentración final de 0,5 mg/ml; y (3): una solución de (1) y ALA añadido a una concentración final de 0,5 mg/ml y EDTA añadido a una concentración final de 400 mg/ml. Las soluciones se recogieron 4 horas después del inicio del cultivo y se suspendieron en 0,25 ml de PBS por 1 g de la bacterias aglomeradas. A 0,2 ml de la suspensión, se añadieron 0,01 ml de ácido acético al 50 % y 0,9 ml de DMF/IPA (100:1), se agitó con formación de vórtice y se separó mediante centrifugación (14.000 rpm, 5 min, 4 °C). Se midieron las concentraciones de coproporfirinógeno III

(CPIII) y de protoporfirina IX (PpIX) en el sobrenadante tras la separación centrífuga mediante HPLC. Los resultados de la medición mediante HPLC se muestran en la Tabla 1.

Como se muestra en la Tabla 1, en el grupo en el que se administró ALA solo a MDRP (es decir, (2)), la proporción de PpIX frente a CPIII fue de aproximadamente el 5,5 % ($= (49,0/889,6) \times 100$), que fue similar a la proporción en el grupo en el que no se administró ALA a MDRP (es decir, (1)), de aproximadamente el 4,7 % ($= (19,7/422,2) \times 100$). En otras palabras, sorprendentemente, se descubrió que el ALA incorporado a MDRP apenas se convirtió en PpIX, que es el punto de acción de la TFD-ALA, y la metabolización casi se detiene en su precursor CPIII.

Además, en el grupo en el que se administraron ALA y EDTA a MDRP (es decir, (3)), la proporción de PpIX frente a CPIII aumentó hasta aproximadamente el 30,6 % ($= (233,1/764,8) \times 100$). En otras palabras, sorprendentemente, se descubrió que la conversión de CPIII en PpIX en MDRP puede potenciarse mediante la adición de ALA y EDTA a MDRP.

[Tabla 1]

Tabla 1

Muestra	CPIII (nM)	PpIX (nM)
(1) MDRP	422,2	19,7
(2) MDRP+ALA	889,6	49,0
(3) MDRP+ALA + EDTA	764,8	233,1

Ejemplo 2

Se cultivó *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos (MDRP: ATCC BAA-2110) durante 24 horas a 37 °C con medio de caldo de soja triptico (TBS: de DIFCO). Después, se dispensó el medio de TBS que comprende MDRP a 1×10^9 UFC/ml en una placa de 12 pocillos a 1 ml por pocillo, y se añadió ALA a una concentración final de 1 mg/ml, y se añadió EDTA a una concentración final de 400 mg/ml. Estos se dividieron en el grupo sometido a la TFD (grupo de TFD) y en el grupo no sometido a la TFD (grupo de no TFD) (cada uno n = 1). Para el grupo de control, solo se añadió ALA a una concentración final de 1 mg/ml a 1 ml del medio de TBS que comprendía MDRP a 1×10^9 UFC/ml, y no se realizó la TFD. Se cultivaron el grupo de control y el grupo sin TFD durante 18 horas, y se contó el número de bacterias de cada pocillo. El grupo de TFD se cultivó durante 18 horas, se irradió con LED (410 nm) a 50 J/cm², y luego se contó el número de bacterias.

Como se muestra en la Figura 1 y en la Tabla 2, el número de bacterias del grupo de control tras 18 horas de cultivo fue de $4,2 \times 10^9$ UFC/ml. En el grupo de no TFD, el número de bacterias solo disminuyó hasta $4,42 \times 10^7$. Por otro lado, en el grupo de TFD, el número de bacterias, sorprendentemente, disminuyó hasta $0,94 \times 10^6$ UFC/ml. En otras palabras, en el grupo de TFD, que es una realización de la presente invención, el número de bacterias disminuyó en aproximadamente un 99,98 % en comparación con el grupo de control, y el número de bacterias disminuyó en aproximadamente un 97,9% incluso en comparación con el grupo de no PDT. A partir de los resultados anteriores, Se descubrió que la MDRP puede reducirse de manera sumamente eficaz mediante la realización de la PDT junto con la adición de ALA y de EDTA.

[Tabla 2]

Tabla 2

	Recuento bacteriano (UFC/ml)
Control	$4,2 \times 10^9$
400 mg de EDTA	$4,42 \times 10^7$
400 mg de EDTA y TFD	$0,94 \times 10^6$

Ejemplo 3

Se cultivó *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos (MDRP: BAA-2110) en medio de caldo de soja triptico (TBS: de DIFCO) durante 24 horas a 37 °C. A continuación, se dispensó el medio de TBS que comprendía MDRP en una placa de 12 pocillos a 1 ml por pocillo (1×10^4 - 2×10^5 UFC/ml). Se añadieron ALA a una concentración final de 1 mg/ml y un agente quelante distinto de EDTA (2,5 mg/ml de ácido cítrico, 2,5 mg/ml de ácido málico, 1 mg/ml de ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), 1 mg/ml de ácido trietilentetramin-*N,N,N',N'',N''',N'''*-hexaacético, 1 mg/ml de ácido *N*-(2-hidroxietil)iminodiacético y 1 mg/ml de mesilato de deferoxamina, todos a concentración final) a cada placa. Para el grupo de control, solo se añadió ALA a una concentración final de 1 mg/ml a 1 ml del medio de TBS que comprendía MDRP. A continuación, se cultivaron estos durante 5 horas, y se contó el número de bacterias de cada pocillo. El grupo de TFD se cultivó durante 5 horas y luego se irradió con LED (410 nm) a 50 J/cm², tras lo que se contó el número de bacterias y, además, se contó el número de bacterias a las 19 horas de la irradiación.

Como se muestra en la Tabla 3, se confirmó que el número de bacterias disminuyó significativamente cuando se añadieron 1 mg/ml de ALA y diferentes agentes quelantes a la MDRP, y luego se sometieron a irradiación de LED (TFD). En otras palabras, también se descubrió que la MDRP también puede reducirse significativamente mediante el uso de agentes quelantes distintos del EDTA en combinación con la TFD.

5

[Tabla 3] Tabla 3

	Irradiación (sí o no)	En el momento del cultivo (UFC/ml)	5 horas después de la adición del ALA + agente quelante (UFC/ml)	19 horas después de la irradiación (UFC/ml)
control (n = 4)	No	$5,7 \times 10^4$	$3,6 \times 10^5$	$1,4 \times 10^9$
ALA + ácido cítrico a 2,5 mg/ml (n = 2)	No	$3,8 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	$1,7 \times 10^9$
ALA + ácido cítrico a 2,5 mg/ml (n = 3)	Sí	$7,3 \times 10^4$	$3,8 \times 10^3$	$6,4 \times 10^2$
ALA + ácido málico a 2,5 mg/ml (n = 2)	No	$1,2 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$3,2 \times 10^7$
ALA + ácido málico a 2,5 mg/ml (n = 3)	Sí	$8,5 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3$	$7,3 \times 10^1$
ALA + DT a 1 mg/ml (n = 3)	No	$6,3 \times 10^4$	$6,1 \times 10^4$	$5,7 \times 10^8$
ALA + DT a 1 mg/ml (n = 4)	Sí	$6,5 \times 10^4$	$4,3 \times 10^4$	$2,1 \times 10^2$
ALA + TT a 1 mg/ml (n = 3)	No	$6,3 \times 10^4$	$8,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^6$
ALA + TT a 1 mg/ml (n = 4)	Sí	$6,5 \times 10^4$	$1,3 \times 10^3$	$9,0 \times 10^1$
ALA + HI a 1 mg/ml (n = 3)	No	$6,3 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	$2,2 \times 10^9$
ALA + HI a 1 mg/ml (n = 4)	Sí	$6,5 \times 10^4$	$4,3 \times 10^3$	$3,3 \times 10^2$
ALA + Defe a 1 mg/ml (n = 3)	No	$5,3 \times 10^4$	$3,7 \times 10^5$	$3,1 \times 10^9$
ALA + Defe a 1 mg/ml (n = 4)	Sí	$5,7 \times 10^4$	$3,8 \times 10^2$	$2,0 \times 10^1$

Los valores numéricos de la tabla son valores medios

DT: ácido dietilentriaminopentaacético

TT: ácido trietilentetramin-*N,N,N',N',N'',N''',N'''*-hexaacético

HI: ácido *N*-(2-hidroxietil)iminodiacético

Defe: mesilato de deferoxamina (Desferal)

REIVINDICACIONES

1. Una sustancia que potencia la conversión del coproporfirinógeno III en protoporfirina IX para su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas en un sujeto a través de TFD-ALA, en donde dicha sustancia se selecciona del grupo que consiste en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido *N*-(2-hidroxietil)iminodiacético (HI), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido trietilentetramin-*N,N,N',N'',N''',N'''*-hexaacético (TT), deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico.
2. La sustancia para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque dicho tratamiento de la infección bacteriana es un tratamiento para infecciones bacterianas que muestran resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA.
3. La sustancia para el uso de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizada porque dicha infección bacteriana es infección por *Pseudomonas aeruginosa*.
4. La sustancia para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizada porque dicha infección por *Pseudomonas aeruginosa* es una infección por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos.
5. La sustancia para el uso de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada porque dicha infección por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos es la infección por *Pseudomonas aeruginosa* que muestra resistencia a al menos un antibiótico fluoroquinolona, un antibiótico carbapenem y un antibiótico aminoglucósido.
6. Una combinación para su uso en el tratamiento de la infección por *Pseudomonas aeruginosa* en un sujeto que muestra resistencia a la TFD-ALA en la que se usa un solo ALA, comprendiendo dicha combinación (1) ácidos ALA y (2) una sustancia seleccionada del grupo que consiste en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido *N*-(2-hidroxietil)iminodiacético (HI), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido trietilentetramin-*N,N,N',N'',N''',N'''*-hexaacético (TT), deferoxamina, ácido málico y ácido cítrico, en donde el tratamiento comprende la administración secuencial o simultánea de (1) y (2).
7. La combinación para el uso de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizada porque un aspecto de dicha combinación es un fármaco combinado.
8. La combinación para el uso de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizada porque un aspecto de dicha combinación es un kit.

[Figura 1]

