



## (12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 35097 B1**
- (51) Cl. internationale : **A61K 31/70; A61K 31/20;  
A61K 31/23; A61P 15/02;  
A61P 31/04; A61K 45/06**
- (43) Date de publication : **02.05.2014**
- 
- (21) N° Dépôt : **36359**
- (22) Date de Dépôt : **24.10.2013**
- (30) Données de Priorité : **29.04.2011 IT MI2011A000715 ; 29.04.2011 IT MI2011A000716 ; 29.04.2011 IT MI2011A000717**
- (86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/IB2012/052119 27.04.2012**
- (71) Demandeur(s) : **EFFIK S.A, BATIMENT LE NEWTON 9/11, RUE JEANNE BRACONNIER F-92366 MEUDON-LA-FORET (FR)**
- (72) Inventeur(s) : **ARDOLINO, Luca Ivan ; BRUGALI, Giuseppe**
- (74) Mandataire : **SABA & CO**
- 
- (54) Titre : **COMPOSITION VAGINALE À BASE D'ALKYLPOLYGLUCOSIDES**
- (57) Abrégé : La présente invention porte sur une composition vaginale à base d'alkylpolyglycosides, en particulier pour le traitement d'infections à

**COMPOSITION VAGINALE À BASE D'ALKYLPOLYGLYCOSIDES****ABREGE**

La présente invention porte sur une composition vaginale à base d'alkylpolyglycosides, en particulier pour le traitement d'infections à *Streptococcus agalactiae* et d'autres pathogènes. En particulier, l'invention porte sur un composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou des alkylpolyglycosides destiné à être utilisé dans la prévention et dans le traitement d'infections bactériennes du tractus vaginal, en particulier d'infections à *Streptococcus agalactiae* et d'autres pathogènes. L'invention porte également sur l'utilisation d'un tel composé en association avec un autre principe actif choisi dans la catégorie des acides gras saturés à chaîne moyenne ou des dérivés esters de glycérol de ceux-ci et d'un mélange apparenté comme agent bactériostatique ou bactéricide dans la prévention et dans le traitement d'infections bactériennes du tractus vaginal. Les exemples d'acides gras saturés à chaîne moyenne ou des dérivés esters de glycérol de ceux-ci qui peuvent être utilisés pour l'objet de l'invention sont: l'acide laurique, l'acide caprique, l'acide caprylique et l'acide caproïque et les dérivés esters de glycérol de ceux-ci. Ces substances sont communément disponibles sur le marché. L'acide laurique et le monolaurate (monoester du glycérol et de l'acide laurique) et les mélanges de ceux-ci seront utilisés dans les formulations préférées. Les formulations de l'invention sont de préférence des gels vaginaux, des onguents, une mousse vaginale, des comprimés vaginaux, des capsules vaginales dures et molles ou des lavages vaginaux.

## COMPOSITION VAGINALE À BASE D'ALKYLPOLYGLYCOSIDES

## DESCRIPTION

02 MAI 2014

Domaine de l'invention

La présente invention porte sur une composition vaginale à base d'alkylpolyglycosides, en particulier  
5 pour le traitement d'infections à *Streptococcus agalactiae* et d'autres pathogènes.

Art antérieur

Streptocoque groupe B ou *Streptococcus agalactiae* (SGB), est l'agent étiologique des infections  
néonatales graves dans les pays industrialisés et il se produit chez 15-35% des femmes enceintes. Selon  
Blond et al. (1), l'analyse de huit études publiées a révélé que SGB a été observé chez les mères dans 7,6  
10 à 22,8% des grossesses. Ce pourcentage varie selon les ethnies et le site de collecte, qui peut être le  
vagin seul ou le vagin et le rectum. La présence vaginale asymptomatique de SGB pendant la grossesse  
varie. La présence au niveau vaginal peut être associée à une vaginite, des infections urinaires et elle  
augmente le risque de chorioamniotite. Après l'accouchement, les conséquences de l'infection à SGB  
peuvent varier, allant de la chorioamniotite et l'endométrite post-partum, de la bactériémie et la  
15 septicémie. Les infections chez la femme enceinte peuvent aussi conduire à un accouchement  
prématuré, la rupture précoce des membranes et un faible poids du nouveau-né à la naissance.  
L'infection chez le nouveau-né contaminé peut également causer une septicémie accompagnée par le  
choc, la pneumonie, le syndrome de détresse respiratoire aiguë et les infections neurologiques telles  
que la méningite qui peut conduire à un handicap permanent, ou même la mort.

20 Le traitement antibiotique de l'infection asymptomatique pendant la grossesse n'est pas recommandé.  
Les femmes enceintes qui sont porteuses asymptomatiques de SGB ne devraient pas être traitées avant  
le travail, étant donné que le traitement antibiotique ne réduit pas le niveau de bactéries observées

pendant le travail. En outre, un problème typique lié à l'administration d'antibiotiques réside dans l'apparition de phénomènes de résistance qui peuvent compromettre l'efficacité du traitement pendant l'accouchement.

Par conséquent, la thérapie normale consiste à traiter -avec des antibiotiques par voie intraveineuse -la femme pendant l'accouchement, ce qui ne garantit pas cependant l'élimination totale des risques sur le bébé à naître.

Le nombre de nouveau-nés infectés est compris entre 3 et 12% des grossesses.

Les données du domaine public indiquent que chaque année dans les États-Unis 12000 nouveau-nés sont infectés et environ 2000 meurent.

10 Aussi la vaginose bactérienne (VB) est une infection vaginale qui affecte les femmes enceintes. La VB est caractérisée par une modification profonde de la flore vaginale normale avec la disparition des lactobacilles et le développement anormal d'une flore multiformes, parmi lesquels *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* et des micro-organismes anaérobies.

15 La VB peut provoquer un avortement spontané et des naissances prématurées et elle est associée à un risque accru de contracter le VIH. Tous les cas de VB doivent être traités pendant la grossesse.

Le traitement antibiotique de la VB n'est pas suffisant pour éliminer l'infection, même dans ce cas.

La VB et le SGB sont sources de risques élevés qui influent sur le résultat de la grossesse, à la fois pour le nouveau-né et de la mère.

Résumé de l'invention

Par conséquent, un objet de la présente invention est de fournir un traitement pour les infections vaginales qui soit sûr et efficace, de façon à être proposé à la fois pour le traitement des infections asymptomatiques et celles présentant des symptômes, à un stade aussi précoce de la grossesse.

Un tel traitement est effectué, selon l'invention, au moyen d'un agent bactéricide ou bactériostatique, seul ou combiné avec d'autres principes actifs. L'agent bactériostatique ou bactéricide selon l'invention appartient à la classe des alkylglucosides ou des alkylpolyglycosides.

Dans un mode de réalisation, le traitement selon l'invention vise à prévenir et traiter les infections à *Streptococcus agalactiae*.

Ainsi, une formulation vaginale bactéricide ou bactériostatique contenant un ou plusieurs principes actifs selon l'invention, parmi lesquels au moins un est choisi dans la classe des alkylglucosides ou des polyalkylglucosides, des excipients aux côtés pharmaceutiquement acceptables et des transporteurs forment un autre objet de l'invention.

Des objets particuliers de l'invention sont ceux mentionnés dans les revendications jointes, dont les définitions sont une partie intégrante de la présente description.

## 15 Description détaillée de l'invention

La présente invention vise à fournir un composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou les alkylpolyglycosides pour utilisation dans la prévention et dans le traitement des infections vaginales provoquées par le *Streptococcus agalactiae* et par d'autres agents pathogènes.

Les alkylglucosides ou alkylpolyglycosides sont des agents tensioactifs non ioniques qui dérivent de la réaction de l'amidon avec un alcool gras. Des exemples d'alkylglucosides ou des alkylpolyglycosides qui peuvent être utilisés pour les objets de l'invention sont: le glucoside de décyle, le caprylyl glucoside/

capryl glucoside, le lauryl glucoside, le coco-glucoside, l'alkylpolyglycoside C8-C10, l'alkylpolyglycoside C12 -C16. Ces substances sont couramment disponibles sur le marché.

Dans un mode de réalisation préféré, le caprylyl glucoside/ capryl glucoside, le lauryl glucoside, l'alkylpolyglycoside C8-C10, l'alkylpolyglycoside C12 -C16 ou des mélanges de ceux-ci seront utilisés.

- 5 L'invention concerne également un composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou alkylpolyglycosides en association avec un principe actif choisi dans la catégorie des acides gras saturés à chaîne ou des dérivés esters de glycérol de ceux-ci et les mélanges apparentés pour une utilisation comme bactériostatique ou des agents bactéricides dans la prévention et dans le traitement des infections bactériennes du tractus vaginal. De telles infections bactériennes du tractus vaginal sont en particulier des infections à *Streptococcus agalactiae*.
- 10

Des exemples d'acides gras saturés à chaîne ou de dérivés esters de glycérol de ceux-ci qui peuvent être utilisés pour l'objet de l'invention sont: l'acide laurique, l'acide caprique, l'acide caprylique et l'acide caproïque et les dérivés esters de glycérol de ceux-ci. Ces substances sont couramment disponibles sur le marché. L'acide laurique et de monolaurate (ester de monoglycérol d'acide laurique) et les mélanges de ceux-ci peuvent de préférence être utilisés dans la formulation. Des sources naturelles communes de l'acide laurique sont l'huile de coco ou l'huile de palme et ils peuvent être utilisés pour l'objet de la présente invention.

15

Utilisation d'un alkylglucoside ou un alkyl polyglucoside en association avec de l'acide laurique ou le monolaurate selon l'invention comprend à la fois la présence de principes actifs dans la même composition et l'utilisation séparée, simultanée ou différée des principes actifs divers.

20

L'invention concerne également un composé choisi parmi le caprylyl/capryl glucoside, le laurylglucoside, Alkylpolyglycoside C8-C10, alkylpolyglycoside C12-C16 et leurs mélanges pour une utilisation dans la prévention et le traitement des infections bactériennes du tractus vaginal.

Le terme « infections bactériennes du tractus vaginal » comprend *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Atopobium vaginae*, *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium/urealyticum/hominis/parvum*, *Treponema pallidum* et *Streptococcus agalactiae*.

Un autre objet de l'invention est de fournir un agent bactéricide et/ou une formulation vaginale bactériostatique comprenant au moins un composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou alkylpolyglycosides, tel que défini ci-dessus, éventuellement en association avec un principe actif choisi parmi l'acide laurique, monolaurate, et leurs mélanges.

L'alkylglucoside, alkylpolyglycoside, alkylpolyglycoside C8-C10, composé alkylpolyglycoside C12 C16 et l'autre principe actif choisi parmi l'acide laurique, le monolaurate et leurs mélanges sont de préférence à un rapport compris entre 1:10 et 10:1.

Evaluation de l'activité inhibitrice et bactéricide des composés de l'invention par rapport à *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Candida albicans*

Les expériences ont été réalisées en utilisant deux alkylglucosides différents, à savoir: caprylyl/capryl glucoside/ alkylpolyglycoside C8-C10 CASR-No. 68515-73-1 (A1) et le lauryl glucoside/ alkylpolyglycoside C12-C16 RCSA-No. 110615-47-9 (A2).

Deux principes actifs différents, l'acide laurique (C) et le monolaurate (G) ont également été testés à la fois seuls et combinés avec un alkylglucoside.

Par comparaison, les souches de lactobacilles qui dominent dans la colonisation physiologique de la muqueuse vaginale chez les femmes en bonne santé typique ont également été testés.

Il est connu que les trois souches qui dominent la colonisation de la muqueuse vaginale chez les femmes en bonne santé sont:

*Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* et *Lactobacillus gasseri*.

Ainsi, une telle activité exploratrice a été réalisée sur de telles souches dans le but d'évaluer une sélectivité des composés de l'invention en ce qui concerne les micro-organismes pathogènes à l'égard de la flore bactérienne *Lactobacillus*.

## SOUCHES BACTERIENNES

Trois souches de *Streptococcus agalactiae* isolées à partir de tampons vaginaux-rectaux au cours des visites prénatales ont été utilisées pour le dosage. Les souches ont été nommées « souche 2 », « souche 10 » et « souche 11 ». L'isolement a été effectué sur un milieu de gélose au sang et d'identification a été obtenu par des tests biochimiques de l'angine (Bio-Mérieux) système API 20 et grâce à l'identification du groupe Lancefield.

Les expériences ont également été réalisées sur une souche de *Streptococcus agalactiae* 12386 ATCC.

La souche *Gardnerella vaginalis* ATCC 14018, la souche 43069 *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 10231 et la souche *Candida albicans* ATCC ont également été utilisées pour l'expérience.

Les souches de lactobacilles vaginaux utilisés sont la souche *Lactobacillus crispatus* NCIMB 4505, la souche *Lactobacillus jensenii* NCIMB 13279, la souche *Lactobacillus gasseri* NCIMB 702820.

Les souches ont été reconstituées et conservées à une température de -80°C dans un milieu de sang + glycérol suspension liquide à 20%.

## 20 MILIEUX DE CULTURE ET SOLUTIONS



Un milieu « Brain Heart Infusion broth » (BHib, Becton Dickinson) a été utilisé pour la culture de *Streptococcus agalactiae*, un milieu « Mueller-Hinton broth » (M-Hb) après addition de 2% de sang de cheval « laked » et le milieu « Mueller-Hinton agar » (M-Ha) avec addition de sang de cheval défibriné à 5% (Oxoid) ont été utilisés pour les essais d'activité antimicrobienne.

- 5 Le tableau suivant indique les milieux et les conditions de culture des inoculum, pour la détermination de la CMI et de détermination de la CMB en ce qui concerne les autres souches testés.

TABLEAU A

	<i>Gardnerella vaginalis</i> ATCC 14018	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Lactobacillus crsipatus/jensenii/gasseri</i>
Culture d'inoculum	BHIB (BD*) + 2%	BHIB(BD*) + 2% Vitox	RPMI 1640-15-702	BHIB (BD*) + 2% sang de cheval « laked »
milieu	Sérum de cheval	(Oxoid)	(sans bicarbonate de sodium) (Lonza) + 2% glucose	(Oxoid) Ou MRS broth
Conditions de culture	37°C + 5%CO2 x 48 h	37°C + 5%CO2 x 48 h	35°C x 24 h	37° C + 5% CO2 x 48 h
Milieu de culture pour la détermination de la CMI	BHIB (BD*) + 2% sérum de cheval (Oxoid)	BHIB(BD*) + 2% Vitox (Oxoid)	RPMI 1640-15-702 (sans bicarbonate de	BHIB (BD*) + 2% Sérum de cheval (Oxoid) Ou MRS broth

			sodium) (Lonza) + 2% glucose	
Milieu de culture pour la détermination de la CMB	BHI agar (BD*) + 7% sang, chauffé (« chocolate agar »)	BHI agar (BD*) + 7% sang, chauffé (« chocolate agar »)	Sabouraud dextrose agar (Oxoid)	M-Ha +5% sang de cheval défibriné (Oxoid) Ou « Rogosa agar » (Oxoid)

\* Becton-Dickinson

## PREPARATION DE L'INOCULUM BACTERIEN

Les souches de *Streptococcus agalactiae* ont été cultivées dans du bouillon BHIb pendant 24 heures à 37°C. Immédiatement avant l'essai, les suspensions bactériennes ont été diluées jusqu'à obtenir une turbidité équivalente à 0,5 McFarland. 50 µl d'une nouvelle dilution à 1:100 dans un bouillon + sang à 2% ont été distribués dans les puits des plaques de microtitration. Le titre présumé de l'inoculum réalisé par cette procédure est d'environ  $5 \times 10^4$  ufc (unité formant colonie)/puits.

Les cultures bactériennes ont également été diluées en série en fonction d'une valeur de 10 (jusqu'à une valeur de dilution équivalente à  $10^{-7}$ ) et une partie aliquote de 0,1 ml de chaque dilution a été le double strié sur M-Ha + de sang de 5% pour déterminer le titre réel à utiliser, par la suite, pour déterminer la CMB (Concentration minimale bactéricide).

Les autres souches microbiennes dosées ont été cultivées dans les milieux liquides et dans les conditions d'incubation indiquées dans le tableau A, en suivant le mode opératoire décrit ci-dessus.

## 15 PREPARATION DES DILUTIONS DU PRODUIT ANALYSE

Les substances à être soumises à l'analyse ont été préparées pour le dosage par dilution et stérilisation comme décrit ci-après.

La concentration des substances appelées « mère » représente la concentration la plus élevée à laquelle

- 5 la solubilisation complète peut être obtenue et elle est quatre fois supérieure à la concentration la plus élevée testée dans le test.

Substance	Solvant	Conc. « mère »
A1	Eau	100,16 mg/ml
A2	Eau	48,4 mg/ml
F	Prop glycol 30% dans l'eau	10,08 mg/ml
G	Prop glycol 50% dans l'eau	34,7 mg/ml
A1+F	Prop glycol eau 25% dans l'eau	3,12-2,48 mg/ml
A1+G	Prop glycol eau 25% dans l'eau	3,12-1,09 mg/ml
A2+F	Prop glycol	0,76-2,48 mg/ml

	25% dans l'eau	
A2+G	Prop glycol	0,76-1,09 mg/ml
	25% dans l'eau	

DETERMINATION DE LA CMI

*Streptococcus agalactiae*

Le test a été effectué dans des plaques de microtitration à 96 puits. 50 µl de M-Hb à concentration normale ont été déposés dans le premier puits de chacune des 5 lignes. A partir du premier puits de chaque rangée, des volumes de 50 µl ont été transférés de chaque puits à la suite une 10 fois, pour obtenir ainsi une série de dilutions après doublement. Le 12<sup>ème</sup> puits de chaque ligne a été maintenu sans substance, comme un contrôle positif de la croissance bactérienne.

Par la suite, 50 µl d'inoculum bactérien de M-Hb + double sang de concentration (4%) ont été déposés dans tous les puits de la plaque, sauf pour le 11<sup>ème</sup> de chaque rangée. Seulement M-Hb + double sang de concentration, mais exempte de bactéries, ont été déposés dans le 11<sup>ème</sup> puits, dans le but de fournir un contrôle négatif pour chaque ligne. Le système décrit a été utilisé pour le dosage de chacune des trois souches de *Streptococcus agalactiae*.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les plaques de microtitration ont été examinées pour vérifier, dans chaque puits, la présence ou l'absence de croissance bactérienne. Pour chaque substance, il a été déterminé la concentration inhibitrice minimale définie comme la concentration la plus faible capable d'inhiber la croissance bactérienne à-dire d'empêcher le liquide de devenir trouble à l'intérieur du puits.

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

Le test a été effectué dans des plaques de microtitration à 96 puits. 50 µl de solution de substance à la concentration « mère » aux côtés de 50 µl de milieu liquide à concentration double ont été déposés dans le premier puits de chacune des 8 lignes tandis que 50 µl de milieu liquide à concentration normale ont été déposés dans les 11 puits restants. A partir du premier puits de chaque rangée, des volumes de 50 ont été transférés de chaque puits pour les suivants une 10 fois, obtenant ainsi une série de 11 dilutions après avoir doublé. Le 12<sup>ème</sup> puits de chaque rangée a été maintenu sans substance, comme une fonction de contrôle positif de la croissance bactérienne.

Par la suite, 50 µl d'inoculum bactérien dilué comme indiqué précédemment ont été déposés dans tous les puits de la plaque, sauf pour le 11<sup>ème</sup> de chaque rangée. Seul le milieu liquide à concentration unique, mais exempt de bactéries, a été déposé dans le 11<sup>ème</sup> ainsi, dans le but de fournir un contrôle négatif pour chaque ligne. Le système décrit a été utilisé pour l'essai avec chacune des souches microbiennes dosées.

Après incubation dans les conditions indiquées en ce qui concerne chaque micro-organisme, les plaques de microtitration ont été examinées pour vérifier, dans chaque puits, la présence ou l'absence de croissance bactérienne. La concentration minimale inhibitrice est définie comme la plus faible concentration de la substance encore capable d'inhiber la croissance bactérienne, c'est-à-dire d'empêcher le liquide de devenir trouble à l'intérieur du puits.

## 20 DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE DE BACTERICIDES (CMB)

Immédiatement après la détermination de la valeur de la CMI pour chaque substance, un volume équivalent à 50 µl a été pris à partir de chaque puits et on ensemence en stries sur la surface des plaques contenant le milieu solide. Les plaques ont ensuite été incubées dans les conditions indiquées

pour chaque souche microbienne. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, le nombre de colonies développées sur la surface du milieu a été pris en compte en déterminant ainsi le nombre de bactéries qui ont survécu après 24 heures de contact avec la substance à la concentration présente dans le puits. La valeur CMB définie comme la plus faible concentration de chaque substance capable de réduire la charge bactérienne de 99,9% dans les conditions d'essai définies précédemment, a été déterminée grâce à la comparaison entre le nombre de bactéries qui ont survécu dans chaque puits et celle de l'inoculum bactérien déposé initialement.

## DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE (CMI) SUR UN MILIEU AGARISE

Le test a été effectué sur un milieu M-Ha + sang à 5%. Le milieu a été préparé à une concentration de 33% plus élevé par rapport à la dernière utilisée dans le test correspondant à celui indiqué par le fournisseur. Après stérilisation en autoclave, le milieu a été équilibré à la température de 48°C et additionné au sang de cheval à la concentration de 6,6% (33% plus élevée que la concentration finale de l'essai). 15 ml aliquotes de milieu M-Ha + du sang ont été transférés dans des tubes de 50 ml de test falcon maintenus à 48°C, ajoutés avec 5 ml des dilutions des substances à doser, mélangés, coulés dans des boîtes de Pétri et laissés se solidifier. Vingt-cinq inoculums bactériens, chacun avec un volume approximatif d'environ 5 µl et contenant environ 10 ufc, ont été déposés sur la surface du milieu M-Ha + de sang de chaque plaque. Après incubation à 37°C pendant 18 heures, la concentration minimale inhibitrice (CMI), définie comme la concentration minimale de substance capable d'inhiber une croissance bactérienne visible à l'œil nu à l'endroit de dépôt des inoculums a été lu.

## 20 RESULTATS

Dans le test avec *Streptococcus agalactiae* les concentrations minimales inhibitrices dans l'essai en milieu liquide, à l'égard desquels seules les valeurs minimales de concentration bactéricides sont

indiquées, n'a pu être déterminée avec suffisamment de fiabilité en raison de la turbidité des solutions contenant les substances.

« Détermination de la concentration minimale inhibitrice sur milieu agarisé » a été réalisée pour obtenir les valeurs de la CMI.

5 Le tableau I montre les valeurs de concentrations bactériennes des cultures utilisées pour la préparation des inoculums et les concentrations des suspensions des inoculums.

Les tableaux II et III montrent les valeurs de CMI et, respectivement, les valeurs CMB des substances en cours d'analyse par rapport aux souches *Streptococcus agalactiae* bactériennes dosées.

10 Les tableaux IV, V, et VI montrent les valeurs de CMI et CMB respectivement en ce qui concerne *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, et *Candida albicans*.

Les données de comparaison CMI et CMB relatives à des substances connues pour leur activité antibactérienne par rapport aux souches testées sont également présentées. Les tableaux VII, VIII et IX montrent les valeurs de CMI et CMB respectivement concernant *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, et *Lactobacillus gasseri*.

15

## CONCLUSIONS

La CMB pourrait être établie pour toutes les substances examinées. Les valeurs CMB concernant *S. agalactiae* semblent similaires entre les différentes souches bactériennes. Les valeurs les plus élevées observées avec la souche 10 en ce qui concerne les substances A2 et G sont dues à la plus grande  
20 résistance révélée par la souche 10 en ce qui concerne les agents antibactériens testés, en ce que cette souche a été plus résistante à l'antibiotique de référence de traitement, l'ampicilline. En fait, les

concentrations de l'ampicilline permettant d'effectuer l'action bactéricide étaient au moins 15 fois plus élevées dans la souche 10 par rapport à celles contre la souche 2 et 11 (tableau II). Des remarques similaires à celles indiquées en ce qui concerne le test CMB s'appliquent également en ce qui concerne les résultats de l'essai de CMI (tableau III).

- 5 En conclusion, les expériences montrent que les molécules testées exercent une activité bactériostatique et bactéricide à la fois sur les souches de *Streptococcus agalactiae* ATCC et sur les souches bactériennes isolées à partir de patients, et d'autant plus importante sur la souche ATCC représentant sérotype III responsable d'au moins 60% des infections du nouveau-né, aussi appelées premières maladies à déclenchement, qui sont associées à un taux plus élevé de morbidité et un risque
- 10 plus élevé de mortalité néonatale.

Les alkylpolyglycosides ont révélé une grande activité bactériostatique et antibactérienne, qu'ils soient utilisés seuls ou en association avec l'acide laurique et monolaurate.

En particulier, le tableau II montre que l'association entre un polyalkylglucoside et de l'acide laurique ou le monolaurate conduit à un effet synergique.

- 15 Tableau I - Concentration des suspensions utilisées comme inoculum des cultures bactériennes doses

Souche bactérienne	Suspension d'inoculum (cfu/ml)
Souche 2 ( <i>S. agalactiae</i> )	$2,5 \times 10^6$
Souche 10 ( <i>S. agalactiae</i> )	$7 \times 10^6$
Souche 11 ( <i>S. agalactiae</i> )	$3,85 \times 10^6$
ATCC 12386 ( <i>S. agalactiae</i> )	$1,4 \times 10^6$



ATCC 14018 ( <i>G. vaginalis</i> )	4,5x10 <sup>6</sup>
ATCC 43069 ( <i>N. gonorrhoeae</i> )	7,5x10 <sup>5</sup>
ATCC 10231 ( <i>C. albicans</i> )	1x10 <sup>4</sup>
NCIMB 4505 ( <i>L. crispatus</i> )	5,7x10 <sup>5</sup>
NCIMB 13279 ( <i>L. jensenii</i> )	6,4x10 <sup>5</sup>
NCIMB 702820 ( <i>L. gasseri</i> )	1,58x10 <sup>7</sup>

Tableau II- L'activité antibactérienne des substances en cours d'analyse contre *Streptococcus agalactiae*, exprimée comme CMB

Substance	Souche 11 dans M-Hb sang 2%	Souche 10 dans M-Hb sang 2%	Souche 2 dans M-Hb sang 2%	ATCC 12386 dans M-Hb sang 2%
A1	0,097	0,194	0,097	0,097
A2	0,0097	0,019	0,0097	0,0097
F	0,25	>0,25	>0,25	0,25
G	0,107	0,428	0,107	0,107
A1 + F	-	-	-	0,048-0,061
A1 + G	0,048-0,027	>0,048-0,027	0,024-0,014	0,024-0,014
A2 + F	-	-	-	0,0048-0,03
A2 + G	>0,0097/0,027	0,0048-0,013	0,0048-0,013	0,0048/0,013
Ampicillin (µg/ml)	<0,06	1	<0,06	0,5

A1 = Caprylyl/Capryl Glucoside, alkylpolyglycosides C8-C10 (CASR-no. 68515-73-1)

A2 = Lauryl Glucoside, alkylpolyglucoside C12-C16 (CASR-no. 110615-47-9) F = acide laurique

G = monolaurate (ester monoglycerol d'acide laurique)

Les deux valeurs CMB indiquées dans le tableau II pour A1+F, A1+G, A2+F et A2+G respectivement, concernent le premier et le second principe actif utilisé combiné.

5

Tableau III- L'activité inhibitrice des substances en cours d'analyse contre *Streptococcus agalactiae*, exprimée en CMI sur milieu agarisé

CMI (exprimée en%)

	A1	A1F	A1G	A2	A2G	A2F	G	F
5	0,093	0,024 0,03	0,024 0,014	0,019	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
6	0,048	0,024 0,03	0,024 0,014	0,0097	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
7	0,093	0,024 0,03	0,024 0,014	0,0097	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
8	0,19	0,024 0,03	0,024 0,014	0,019	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,22	0,25
9	0,093	0,024 0,03	0,024 0,014	0,0097	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
10	0,19	0,024 0,03	0,024 0,014	0,019	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,22	0,25
11	0,093	0,024 0,03	0,024 0,014	0,0097	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
12	0,093	0,024 0,03	0,024 0,014	0,0097	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
13	0,093	0,024 0,03	0,024 0,014	0,0097	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
14	0,093	0,024 0,03	0,024 0,014	0,0097	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
15	0,048	0,024 0,03	0,024 0,014	0,019	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25
16	0,093	0,024 0,03	0,024 0,014	0,0097	0,0048 0,014	0,0048 0,03	0,11	0,25

17	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
18	0,19	0,024	0,03	0,024	0,014	0,019	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,22	0,25
19	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
2	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
12386	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
12403	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
27956	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,019	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
20	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
21	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,007	0,0048	0,03	0,11	0,25
22	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
23	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
24	0,093	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25
25	0,048	0,024	0,03	0,024	0,014	0,0097	0,0048	0,014	0,0048	0,03	0,11	0,25

Egalement en ce qui concerne les autres souches bactériennes dosées, il a été révélé une activité antibactérienne et bactériostatique considérable des polyglycosides d'alkyle de l'invention.

Un effet synergique significatif des alkylpolyglucosides avec de l'acide laurique et avec monolaurate a été observé dans tous les cas.

5 Clé :

A2 = Lauryl Glucoside, alkylpolyglucoside C12-C16 (CASR-no. 110615-47-9) F = acide laurique

G = monolaurate (ester monoglycerol d'acide laurique)

Tableau IV -CMI et CMB contre *Gardnerella vaginalis*

/

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

Table V -CMI et CMB contre *Neisseria gonorrhoeae*

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

Tableau VI -CMI et CMB contre *Candida albicans*

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

En ce qui concerne les lactobacilles vaginaux testés il est observé une activité antibactérienne et bactériostatique marginale, comme indiqué dans les tableaux VII, VIII et IX.

Il a émergé la situation intéressante suivante:

5 - En ce qui concerne les substances A2, A1 + G, A2 + G et A1 il a été observé des valeurs de CMB entre 2 et 8 fois supérieures à celles observées dans les souches de *S. agalactiae*;

- En ce qui concerne les substances A2, A2 + F et A2 + G, il a été observé des valeurs de CMB environ 15 fois supérieures à celles observées dans *G. vaginalis* et entre 60 et 120 fois supérieures à celles observées dans *N. gonorrhoeae*.

10 Tout ceci à l'avantage de l'efficacité contre les souches pathogènes testées (à l'exclusion des lactobacilles), mais en maintenant une action neutre par rapport aux lactobacilles vaginaux.

Tableau VII- CMI et CMB contre *Lactobacillus crispatus*

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

Tableau VIII -CMI et CMB contre *Lactobacillus jensenii*

	CMI (%)	CMB (%)
A1	0,193	0,193
A1 + F	0,0242/0,0304	0,0242/0,0304
A1 + G	0,0242/0,0136	0,0242/0,0136
A2	0,077	0,077
A2 + F	0,0048/0,0304	0,0048/0,0304
A2 + G	0,0048/0,0136	0,0048/0,0136

Table IX -CMI et CMB contre *Lactobacillus gasseri*

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

\*\*\* \*\*

- 5 Selon la présente invention, le dosage de composés proposés pour l'administration à une femme (avec environ 70 kg de poids corporel) varie de 0,01 mg à 1 g et, de préférence, de 0,1 mg à 100 mg de principe actif par dose. L'unité de dosage peut être administrée, par exemple, entre 1 et 4 fois par jour.

Il faut considérer que les variations de dosage en continu peuvent être nécessaires en fonction de la gravité des conditions cliniques à traiter. Le dosage exact est à la discrétion du médecin.

Le traitement selon l'invention peut comprendre l'administration de sujet de formulations contenant les composés susmentionnés à partir du 32<sup>ème</sup> ou de la 35<sup>ème</sup> semaine de grossesse jusqu'à la livraison ou, si  
5 nécessaire, même après. En fait, les composés de l'invention ont une faible toxicité et ne donnent pas lieu à des phénomènes de résistance.

Les formulations vaginales de l'agent bactéricide et/ou bactériostatique selon l'invention peuvent par exemple être sous forme d'un gel vaginal, un lavage vaginal, une crème vaginale, une pommade, une mousse vaginale, les comprimés vaginaux, de capsules dures et molles vaginales. Les formes  
10 pharmaceutiques précédemment mentionnés dans ce document peuvent être libérés immédiatement ou par une libération modifiée selon les besoins.

L'introduction de l'unité de dosage dans la cavité vaginale peut être facilitée par l'utilisation de techniques appropriées spécifiques (applicateur vaginal, seringues, bouchons, etc.).

Un solvant est normalement prévu dans le but de faciliter l'incorporation des principes actifs objet de la présente invention. Bien que différents composés puissent être utilisés à cette fin, l'eau représente le  
15 solvant préféré en raison de la plus grande biocompatibilité de ceux-ci. Ainsi que des composés non-aqueux tels que les glycols, par exemple le propylène glycol, le butylène glycol, l'éthylène glycol, l'hexylène glycol, le polyéthylène glycol, etc., et des alcools tels que l'éthanol, le propanol, l'isopropanol, et leurs mélanges peuvent être utilisés pour cet objectif.

20 Typiquement, le solvant est présent en des quantités supérieures à environ 75%, dans certaines formulations, il peut être supérieur à environ 90%, enfin, dans d'autres cas, il peut être compris entre environ 90% et environ 99,99% de la formulation finale.

Exemple 1 - Gel vaginal

N°	INGREDIENT	TITRE	%	Var.	Tit réel %
1	EAU PURIFIEE	pure	50,265		
2	PROPYLENE GLYCOL	pure	40,000		
3	HYDROXYPROPYL CELLULOSE	pure	1,300		
4	A1 - CAPRYLYL-CAPRYL GLUCOSIDE	62,00	0,156		0,097
6	GLYCERINE	9,00	6,779		0,0048/0,0304
7	ACIDE CITRIQUE MONOHYDRATE	pure	1,500	Jusqu'à pH 4,5	0,0048/0,013 6
TOTAL			100,00		

5 Exemple 2 - Gel vaginal

N°	INGREDIENT	TITRE	%	Var.	Tit réel %
1	EAU PURIFIEE	pure	50,305		
2	PROPYLENE GLYCOL	pure	31,676		



3	HYDROXYETHYL CELLULOSE	pure	1,500		
4	A2 -LAURYL GLUCOSIDE	51,00	0,019		0,0097
6	GLYCERINE	89,00	15,00		
7	ACIDE CITRIQUE MONOHYDRATE	pure	1,500	Jusqu'à pH 4,5	
TOTAL			100,00		

Exemple 3 – Lavage vaginal

N°	INGREDIENT	TITRE	%	Var.	Tit réel %
1	EAU PURIFIEE	pure	50,316		
2	PROPYLENE GLYCOL	pure	35,000		
3	PEG 70	30,00	5,000		
4	A1 - CAPRYLYL-CAPRYL GLUCOSIDE	62,00	0,078		0,0484
5	G -MONOLAURATE	99,00	0,027		0,0270
6	GLYCERINE	89,00	8,579		
7	ACIDE CITRIQUE MONOHYDRATE	pure	1,000	Jusqu'à pH 4,5	

TOTAL			100,00		
-------	--	--	--------	--	--

## Exemple 4 – Lavage vaginal

N°	INGREDIENT	TITRE	%	Var.	Tit réel %
1	EAU PURIFIEE	pure	53,4605		
2	PROPYLENE GLYCOL	pure	15,000		
3	PEG 70	30,00	15,000		
4	A2 -LAURYL GLUCOSIDE	51,00	0,0095		0,048
5	F -LAURIC ACID	98,00	0,03		0,03
6	GLYCERINE	89,00	15,00		
7	ACIDE CITRIQUE MONOHYDRATE	pure	1,000	Jusqu'à pH 4,5	
TOTAL			100,00		

### Références bibliographiques:

- 5            1. Blond MH, Poulain P, Gold F, Bingen E, Watier H, Quentin R. Infection bactérienne materno-foetale. EMC 2004 Obstétrique vol 2, page 14.

## REVENDEICATIONS

1. Composé choisi parmi le caprylyl/capryl glucoside, le laurylglucoside, l'alkylpolyglycoside C8-C10, l'alkylpolyglycoside C12-C16 et leurs mélanges pour une utilisation comme agent bactéricide ou bactériostatique dans la prévention et le traitement des infections bactériennes du tractus vaginal.
- 5 2. Composé selon la revendication 1, dans lequel les infections bactériennes du tractus vaginal comprennent *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Atopobium vaginae*, *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium/urealiticum/hominis/parvum*, *Treponema pallidum* et les infections à *Streptococcus agalactiae*.
3. Composé selon la revendication 1, dans lequel lesdites infections bactériennes du tractus vaginal sont  
10 des infections à *Streptococcus agalactiae*.
4. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel ladite prévention et/ou ledit traitement prévoient l'administration dudit composé à partir de la 32<sup>ème</sup> ou la 35<sup>ème</sup> semaine de grossesse.
5. Formulation vaginale bactéricide et/ou bactériostatique comprenant au moins un composé selon la  
15 revendication 6, éventuellement en association avec un principe actif choisi parmi l'acide laurique, l'ester monoglycérol d'acide laurique et des mélanges de ceux-ci.
6. Formulation selon la revendication 10, dans laquelle ledit composé choisi parmi le caprylyl/capryl glucoside, le lauryl glucoside, Alkylpolyglycoside C8-C10, alkylpolyglycoside C12-C16, et leurs mélanges, et ledit principe actif choisi parmi l'acide laurique, l'ester monoglycérol d'acide laurique et des mélanges  
20 de ceux-ci sont de préférence selon un rapport compris entre 1:10 et 10:1.

7. Formulation selon la revendication 10 ou 11, dans laquelle ladite formulation est un gel vaginal, un lavage vaginal, une crème vaginale, des onguents, une mousse vaginale, des comprimés vaginaux, des capsules vaginales dures et molles.
8. Composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou alkylpolyglycosides pour utilisation dans la  
5 prévention et le traitement des infections vaginales à *Streptococcus agalactiae*.
9. Composé selon la revendication 8, ledit composé étant choisi parmi le décyl glucoside, le caprylyl/capryl glucoside, le laurylglucoside, Alkylpolyglycoside C8-C10, alkylpolyglycoside C12-C16, le coco-glucoside et leurs mélanges.
10. Composé selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9, dans lequel ladite prévention et/ou ledit  
10 traitement prévoit l'administration dudit composé à partir de la 32<sup>ème</sup> ou de la 35<sup>ème</sup> semaine de grossesse.
11. Formulation vaginale bactéricide et/ou bactériostatique comprenant au moins un composé selon la revendication 8 ou 9, éventuellement en association avec un principe actif choisi parmi l'acide laurique, l'ester monoglycérol d'acide laurique et des mélanges de ceux-ci, dans laquelle ledit composé  
15 alkylglucoside ou alkyl polyglucoside et ledit principe actif choisi parmi l'acide laurique, l'ester de monoglycérol d'acide laurique et des mélanges de ceux-ci sont de préférence selon un rapport compris entre 1:10 et 10:1.
12. Formulation selon la revendication 11, dans laquelle ladite formulation est un gel vaginal, un lavage vaginal, une crème vaginale, des onguents, une mousse vaginale, des comprimés vaginaux, des capsules  
20 vaginales dures et molles.
13. Composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou alkylpolyglycosides en association avec un principe actif choisi parmi des acides gras saturés à chaîne moyenne ou des dérivés esters de glycérol de

ceux-ci et des mélanges apparentés, pour utilisation en tant qu'agent bactériostatique ou bactéricide dans la prévention et le traitement des infections bactériennes du tractus vaginal pour une administration séparée, séquentielle ou combinée.

14. Composé selon la revendication 13, dans lequel ledit principe actif choisi parmi les acides gras saturés à chaîne moyenne ou les dérivés esters de glycérol de ceux-ci et les mélanges apparentés est choisi parmi l'acide laurique, l'ester de monoglycérol d'acide laurique, et leurs mélanges, pour une utilisation comme bactériostatique ou agent bactéricide dans la prévention et le traitement des infections bactériennes du tractus vaginal.

15. Composé selon la revendication 13 ou 14, dans lequel ledit composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou des polyalkylglucosides est choisi parmi le décyl glucoside, le caprylyl/capryl glucoside, le laurylglucoside, l'alkylpolyglycoside C8-C10, l'alkylpolyglycoside C12-C16, le coco-glucoside et leurs mélanges.

16. Composé selon la revendication 13, 14 ou 15, dans lequel les infections bactériennes du tractus comprennent *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Atopobium vaginae*, *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium/urealiticum/hominis/parvum*, *Treponema pallidum* et les infections à *Streptococcus agalactiae*.

17. Composé selon l'une quelconque des revendications 13 à 16, dans lequel lesdites infections bactériennes du tractus vaginal sont des infections à *Streptococcus agalactiae*.

18. Composé selon l'une quelconque des revendications 13 à 17, dans lequel ladite prévention et/ou ledit traitement prévoit l'administration dudit composé à partir de la 32<sup>ème</sup> ou la 35<sup>ème</sup> semaine de grossesse.

19. Formulation vaginale bactéricide et/ou bactériostatique comprenant au moins un composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou alkylpolyglycosides, en association avec un principe actif choisi parmi des acides gras saturés à chaîne moyenne ou des dérivés esters de glycérol de ceux-ci et des mélanges apparentés.

5 20. Formulation selon la revendication 19, dans laquelle ledit composé appartenant à la classe des alkylglucosides ou alkylpolyglycosides est tel que défini dans la revendication 3 et ledit principe actif choisi parmi des acides gras saturés à chaîne moyenne ou des dérivés esters de glycérol de ceux-ci et des mélanges apparentés est tel que défini dans la revendication 14.

10 21. Formulation selon l'une quelconque des revendications 19 ou 20, dans laquelle ledit composé alkylglucoside ou un alkylpolyglycoside et ledit principe actif choisi parmi des acides gras saturés à chaîne moyenne ou des dérivés esters de glycérol de ceux-ci et des mélanges apparentés sont dans un rapport compris entre 1:10 et 10:1.

15 22. Formulation selon l'une quelconque des revendications 19 à 21, dans laquelle ladite formulation est un gel vaginal, un lavage vaginal, une crème vaginale, des onguents, une mousse vaginale, des comprimés vaginaux, des capsules vaginales dures et molles.