



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020006931-0 A2



(22) Data do Depósito: 05/10/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 06/10/2020

(54) **Título:** DERIVADOS DE ÁCIDO GLUCÔNICO PARA USO NO TRATAMENTO E/OU PREVENÇÃO DE INFECÇÕES MICROBIANAS

(51) **Int. Cl.:** A61K 31/191; A61K 31/365; A61K 31/366; A61P 31/04; A61P 31/10.

(30) **Prioridade Unionista:** 06/10/2017 EP 17195192.4.

(71) **Depositante(es):** GEDEA BIOTECH AB.

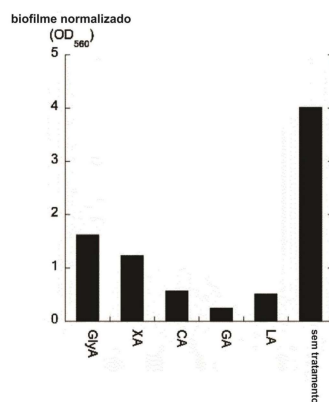
(72) **Inventor(es):** ULF ELLERVIK; OLOV STERNER; HELENA STREVEN; SOPHIE MANNER.

(86) **Pedido PCT:** PCT EP2018077129 de 05/10/2018

(87) **Publicação PCT:** WO WO/2019/068862 de 11/04/2019

(85) **Data da Fase Nacional:** 06/04/2020

(57) **Resumo:** A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas. Além disso, a presente invenção refere-se a um método para prevenção e/ou redução da formação de biofilme.



## **“DERIVADOS DE ÀCIDO GLUCÔNICO PARA USO NO TRATAMENTO E/OU PREVENÇÃO DE INFECÇÕES MICROBIANAS”**

### **CAMPO TÉCNICO**

[0001] A presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas. Além disso, a presente invenção refere-se a um método para prevenção e/ou redução da formação de biofilme.

### **ANTECEDENTES**

[0002] Agentes antimicrobianos têm sido usados nos últimos 70 anos para tratar pacientes com doenças infecciosas. Desde a década de 1940, esses medicamentos reduziram muito as doenças e mortes por doenças infecciosas. No entanto, esses medicamentos têm sido usados tão amplamente e por tanto tempo que os organismos infecciosos que os agentes antimicrobianos são projetados para matar se adaptaram a eles. Como resultado, os medicamentos se tornam ineficazes e as infecções persistem no organismo, aumentando o risco de propagação para outras pessoas.

[0003] A resistência antimicrobiana ameaça a prevenção e o tratamento eficazes de uma gama cada vez maior de infecções causadas por bactérias, parasitas, vírus e fungos.

[0004] Assim, a resistência antimicrobiana é uma ameaça cada vez mais séria à saúde pública global que requer ação em todos os setores governamentais e na sociedade.

[0005] Todas as classes de micróbios desenvolvem resistência: fungos desenvolvem resistência antifúngica, vírus desenvolvem resistência antiviral, protozoários desenvolvem resistência antiprotozoária e bactérias desenvolvem resistência a antibióticos.

[0006] O problema com a resistência a antibióticos é um fenômeno comum. As infecções fúngicas resistentes ao tratamento são um problema emergente de saúde pública. No geral, a resistência antifúngica ainda é relativamente incomum, mas o problema provavelmente continuará

evoluindo, a menos que seja feito mais para impedir o desenvolvimento de mais resistência e impedir a propagação dessas infecções. Embora a maior parte da resistência antifúngica ocorra nas espécies de *Candida*, a resistência em outros tipos de fungos, como *Aspergillus*, também é uma questão emergente.

[0007] Como os fungos são eucariontes, assim como os hospedeiros humanos que infectam, existem apenas alguns alvos distintos que podem ser empregados no desenvolvimento de medicamentos antifúngicos. Por esta razão, os antifúngicos se restringem principalmente a medicamentos direcionados a algumas vias metabólicas

[0008] Um alvo para agentes antimicrobianos é o biofilme, produto de um processo de desenvolvimento microbiano. Os biofilmes são formados por células microbianas grudadas umas nas outras e cercadas pela matriz polimérica extracelular autoproduzida. A formação de biofilme é uma estratégia de sobrevivência para que bactérias e fungos se adaptem ao seu ambiente de vida, especialmente em um ambiente hostil. Quando uma célula muda para o modo de crescimento do biofilme, ela sofre uma mudança fenotípica de comportamento, na qual grandes conjuntos de genes são regulados diferencialmente. Os biofilmes podem conter muitos tipos diferentes de microrganismos, por exemplo, bactérias, arqueas, protozoários, fungos e algas.

[0009] Estima-se que os biofilmes estejam associados a 80% das infecções microbianas e o crescimento de microrganismos nos biofilmes pode aumentar sua resistência a agentes antimicrobianos. Além disso, as bactérias do biofilme são até 1000 vezes mais tolerantes e/ou resistentes aos antibióticos do que as células planctônicas.

[00010] Na maioria dos fungos, as hifas são o principal modo de crescimento vegetativo e são coletivamente chamadas de micélio. Por exemplo, a virulência de *Candida albicans* é mediada por uma transformação de células planctônicas em hifas. A forma hifal, isto é, células filamentosas, tem

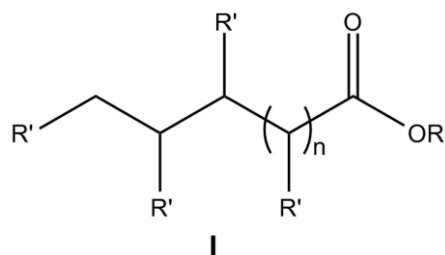
a capacidade de invadir tecidos e induzir inflamação, mediada por candidalisina, uma toxina peptídica citotóxica que destrói as células epiteliais (Moyes et al., Nature, 2016, 532, 64).

[00011] A resistência antimicrobiana não é apenas problemática nas infecções primárias, mas também nas infecções secundárias. Sem antimicrobianos eficazes para prevenção e tratamento de infecções, procedimentos médicos como transplante de órgãos, quimioterapia para câncer, controle de diabetes e grandes cirurgias tornam-se um risco muito alto. Além disso, as infecções fúngicas tornaram-se uma das principais causas de morbimortalidade em pacientes imunocomprometidos, como aqueles com HIV/AIDS, tuberculose ou recebendo quimioterapia. Apesar do aumento da conscientização e melhores estratégias de tratamento, o desenvolvimento frequente de resistência aos antifúngicos usados em contextos clínicos contribui para o aumento do número de micoses.

[00012] Assim, há uma necessidade emergente de novos agentes antimicrobianos.

### SUMÁRIO

[00013] Os presentes inventores desenvolveram um método para prevenir e/ou reduzir a formação de biofilme. Quando a formação de biofilme é reduzida ou impedida, as células microbianas individuais não podem mais se fixar à superfície. Portanto, mais infecções são evitadas e as células microbianas, que não formam mais um biofilme, são descartadas. Os presentes inventores mostraram que o tratamento com um composto de Fórmula I,



ou uma lactona deste, caracterizado pelo fato de que



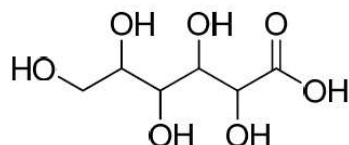
R é selecionado do grupo que consiste em -H, -alquila, -C(O)alquila e fenil;

R' é selecionado independentemente do grupo que consiste em -OR, -H e halogênio; e

*n é um número inteiro 1, 2 ou 3;*

*reduz a presença de biofilme de espécies de fungos e exerce um efeito citotóxico em várias espécies de fungos. Além disso, os presentes inventores mostraram que um composto de fórmula I é útil como um agente antibacteriano.*

[00014] *Assim, em um aspecto, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I ou uma composição farmacêutica compreendendo um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas, com a condição de que, se a infecção microbiana for uma infecção fúngica, então o composto da Fórmula I não é um composto da Fórmula (XIV)*



*ou uma lactona da mesma.*

#### **XIV**

[00015] *Numa modalidade, a presente invenção refere-se à glucona-Delta-lactona para uso no tratamento de uma infecção bacteriana ou uma infecção mista, bacteriana e fúngica.*

[00016] *Em outro aspecto, a presente invenção refere-se a um método para prevenção e/ou redução da formação de biofilme, em que o método compreende a administração de um composto de Fórmula I.*

[00017] *Num aspecto adicional, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I para uso na prevenção de nascimentos prematuros.*

### DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[00018] **Figura 1.** Formação normalizada de biofilme de *Candida albicans* tratada com diferentes ácidos. GlyA = ácido glicérico (pH = 7), XA = ácido xilônico (pH = 7), CA = ácido cítrico (pH = 4,6), GA = ácido glucônico (pH = 6,5), LA = ácido láctico (pH = 4,9), o biofilme foi medido após 24h.

[00019] **Figura 2. Alterações** na rotação óptica na hidrólise de glucona-Delta-lactona (GDL) em água destilada (círculos não preenchidos), tampão de pH 4 (quadrados preenchidos), tampão de pH 5 (quadrados não preenchidos) e tampão de pH 7 (círculos preenchidos).

[00020] **Figura 3. Formação** normalizada de biofilme de *Candida albicans* nos meios mínimos a pH 2,6 a 6,6 com tampão fosfato (círculos não preenchidos, linha pontilhada) ou glucona-Delta-lactona (quadrados preenchidos, linha sólida). O biofilme foi medido após 24h e a coloração foi realizada com violeta cristal.

[00021] **Figura 4. (A) Formação** normalizada de biofilme de *Candida albicans* tratada com GA lactonizado/oligomerizado. Um grânulo de ácido glucônico lactonizado/oligomerizado foi adicionado a uma solução tampão de pH 3,71 (10 ml) a 37°C. As amostras (4 ml) foram coletadas a cada hora (em intervalo de tempo diferente) e foi adicionada nova solução tampão (4 ml). As amostras foram diluídas 50 vezes com meio de biofilme e a quantidade de formação de biofilme foi medida após 24h. **(B)** Formação normalizada de biofilme de *Candida glabrata* tratada com GA lactonizado/oligomerizado. Um grânulo de ácido glucônico lactonizado/oligomerizado foi adicionado a uma solução tampão de pH 3,71 (10 ml) a 37°C. As amostras (4 ml) foram coletadas a cada hora (em intervalo de tempo diferente) e foi adicionada nova solução tampão (4 ml). As amostras foram diluídas 50 vezes com meio de biofilme e a quantidade de formação de biofilme foi medida após 24h.

[00022] **Figura 5. (A) Formação** normalizada de biofilme de *Candida albicans* tratada com glucona-Delta-lactona (GDL). Um grânulo de GDL foi adicionado a uma solução tampão de pH 3,71 (10 ml) a 37 °C. As amostras (4 ml) foram coletadas após 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24h e foi adicionada nova solução tampão (4 ml). As amostras foram diluídas 50 vezes com meio de biofilme e a quantidade de formação de biofilme foi medida após 24h. **(B)** formação normalizada de biofilme de *Candida glabrata* tratada com GDL. Um grânulo de GDL foi adicionado a uma solução tampão de pH 3,71 (10 ml) a 37 °C. As amostras (4 ml) foram coletadas após 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24h e foi adicionada nova solução tampão (4 ml). As amostras foram diluídas 50 vezes com meio de biofilme e a quantidade de formação de biofilme foi medida após 24h.

[00023] **Figura 6. (A) Viabilidade** de biofilmes de *C. albicans* e *C. glabrata* após tratamento com glucona-Delta-lactona (GDL) em diferentes concentrações por 24h. A coloração do biofilme foi realizada com XTT. Densidade óptica medida em 485 nm. As listras diagonais indicam dados para *C. albicans*. As colunas pretas preenchidas indicam dados para *C. glabrata*. **(B)** Viabilidade de biofilmes de *C. albicans* e *C. glabrata* após tratamento com GDL em diferentes concentrações por 48 h. A coloração do biofilme foi realizada com XTT. Densidade óptica medida em 485 nm. Listras diagonais indicam dados para *C. albicans*. As colunas pretas preenchidas indicam dados para *C. glabrata*.

[00024] **Figura 7.** Efeito da glucona-Delta-lactona (GDL) no biofilme maduro de *C. albicans* e *C. glabrata*. O biofilme maduro (cultivado por 48 h) foi incubado com GDL por 5 h a 37 °C e, em seguida, as células com diluição em série foram plaqueadas na placa YPD para estimar a sobrevivência das células.

[00025] **Figura 8. (A)** Estudo microfluídico do desenvolvimento de biofilme de *C. albicans* não tratada em meio mínimo pH 7,0. As células não tratadas formam principalmente hifas. **(B)** Estudo microfluídico do

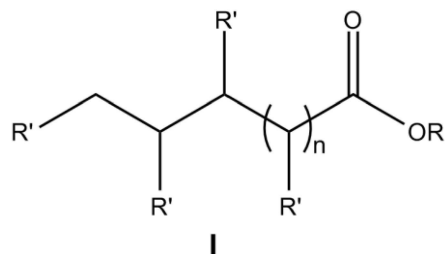
desenvolvimento de biofilme de *C. albicans* tratado em meio mínimo com um hidrolisado de glucona-Delta-lactona (GDL) na concentração final x50 pH 3,8. A adição de GDL fez com que *C. albicans* crescesse predominantemente como forma de levedura, mas não como hifas.

[00026] **Figura 9.** A formação de biofilme de *Escherichia coli* K12 tratada com tampão fosfato (quadrados preenchidos), ácido cítrico (quadrados não preenchidos), ácido láctico (triângulos preenchidos), ácido glucônico (círculos preenchidos) ou glucona-Delta-lactona (círculos não preenchidos) para obter meios com pH diferente (2,6 a 6,6). O biofilme foi tingido com violeta cristal.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA

#### COMPOSTOS

[00027] Em um aspecto, a presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo um composto de Fórmula I,



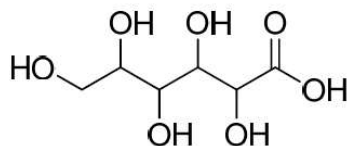
ou uma lactona deste, caracterizado pelo fato de que

R é selecionado do grupo que consiste em -H, -alquila, -C(O)alquila e fenil;

R' é selecionado independentemente do grupo que consiste em -OR, -H e halogênio; e

n é um número inteiro 1, 2 ou 3,

para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas, com a condição de que, se a infecção microbiana for uma infecção fúngica, o composto da Fórmula I não será um composto da Fórmula (XIV)



ou uma lactona da mesma.

#### XIV

[00028] Numa modalidade, a alquila é uma cadeia alifática  $C_1$  a  $C_{20}$ . O termo "cadeia alifática", conforme aqui usado, refere-se a hidrocarbonetos não aromáticos. As referidas cadeias alifáticas podem ser lineares, ramificadas e/ou cíclicas. As referidas cadeias alifáticas podem ser saturadas ou insaturadas. Nas referidas cadeias alifáticas, um ou mais hidrogênios podem ser substituídos por uma fração aromática, compreendendo uma ou mais frações de benzeno

[00029] Em uma modalidade, a alquila é uma cadeia alifática de  $C_1$  a  $C_{20}$  em que um ou mais hidrogênios são opcionalmente substituídos por  $-OH$ ,  $=O$  ou fenil e em que um ou mais dos grupos  $CH_2$  da cadeia alifática são opcionalmente substituídos por  $O$ ,  $S$  ou  $NH$ . Exemplos não limitativos de alquilas em que um ou mais dos grupos  $CH_2$  da cadeia alifática são opcionalmente substituídos por  $O$ ,  $S$  ou  $NH$  são éteres, tioéteres e aminas terciárias. Em uma modalidade, alquila é uma cadeia alifática de  $C_1$  a  $C_{20}$ , como uma cadeia alifática de  $C_1$  a  $C_{15}$ , cadeia alifática de  $C_1$  a  $C_{10}$ , cadeia alifática de  $C_1$  a  $C_5$ , como uma cadeia alifática de  $C_5$  a  $C_{20}$ , como uma cadeia alifática  $5$  a  $C_{15}$ , como uma cadeia alifática  $C_5$  a  $C_{10}$  como uma cadeia alifática  $C_{10}$  a  $C_{20}$  como uma cadeia alifática  $C_{10}$  a  $C_{15}$ . Numa modalidade preferida, alquila é selecionada a partir do grupo que consiste em metil, etil e propil.

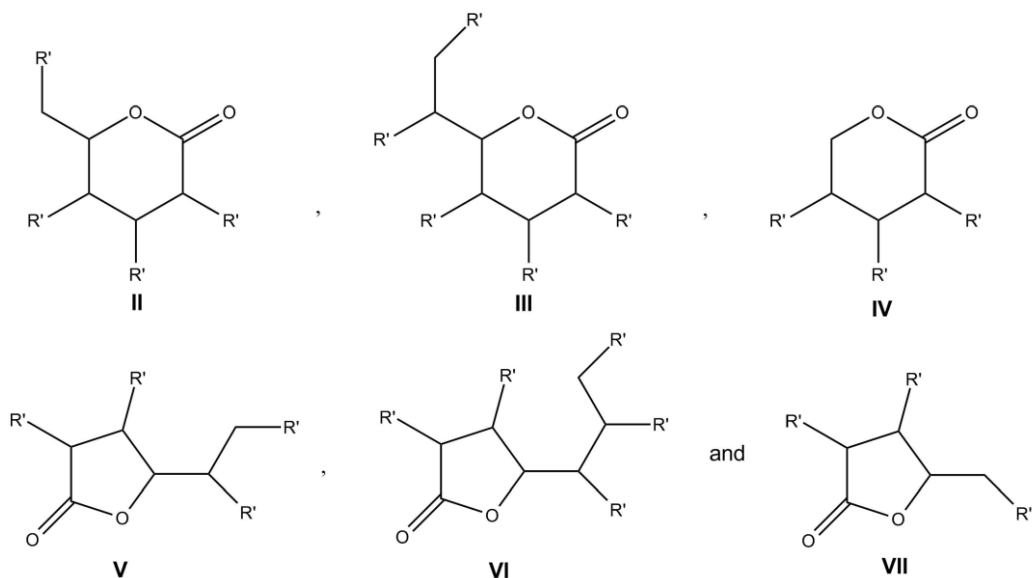
[00030] Em uma modalidade, pelo menos um de  $R'$  é  $-OR$ . Em uma modalidade, pelo menos dois, como pelo menos três, como pelo menos quatro, como pelo menos cinco, como pelo menos seis de  $R'$  são  $OR$ . Numa modalidade preferida,  $R'$  é  $-OR$ .

[00031] Em uma modalidade, pelo menos um de R' é -OH. Em outra modalidade, não mais que um de R' é -H, como não mais que dois de R' é -H. Numa modalidade preferida, R é -H.

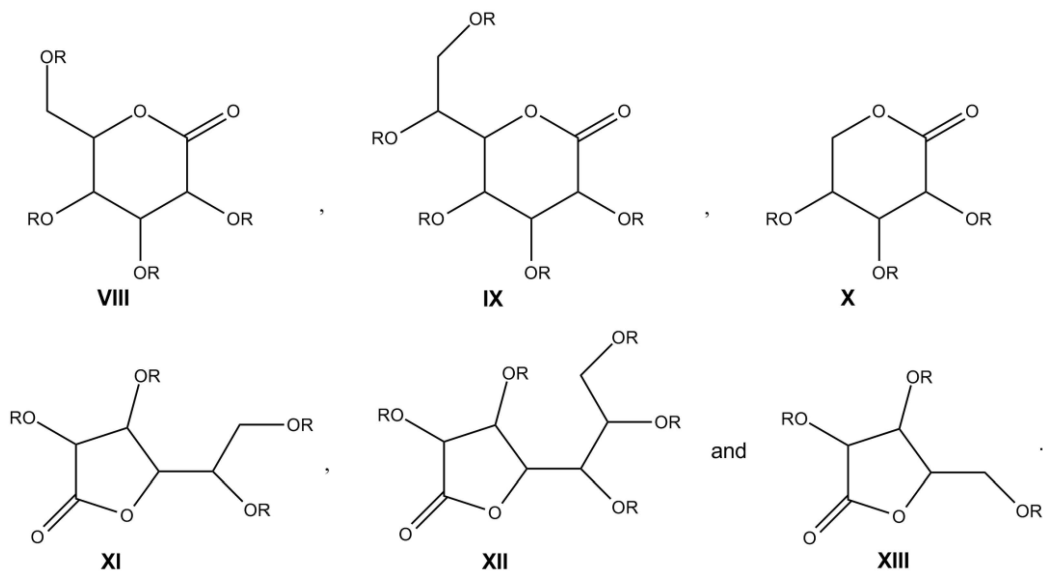
[00032] Numa modalidade, -OR é acetato ou lactato.

[00033] Em solução aquosa, os compostos de acordo com a Fórmula I podem estar em equilíbrio com as lactonas correspondentes, por exemplo, Delta-lactona ou Gama-lactona. Numa modalidade, o composto de Fórmula I é uma lactona desta. A referida lactona pode preferencialmente ser uma Delta-lactona ou uma Gama-lactona.

[00034] Numa modalidade, o composto de Fórmula I é selecionado do grupo que consiste em

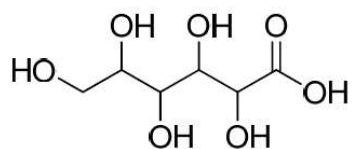


[00035] Em outra modalidade, o composto de Fórmula I é selecionado do grupo que consiste em

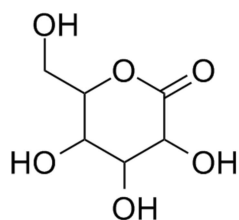


[00036]                      Numa modalidade preferida, n é 2.

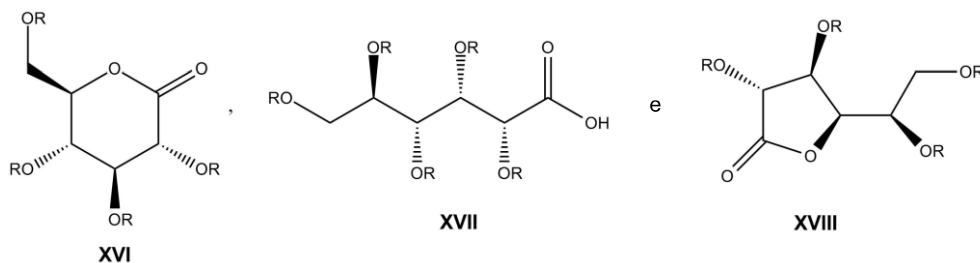
[00037]                      Numa modalidade, o composto de Fórmula I é



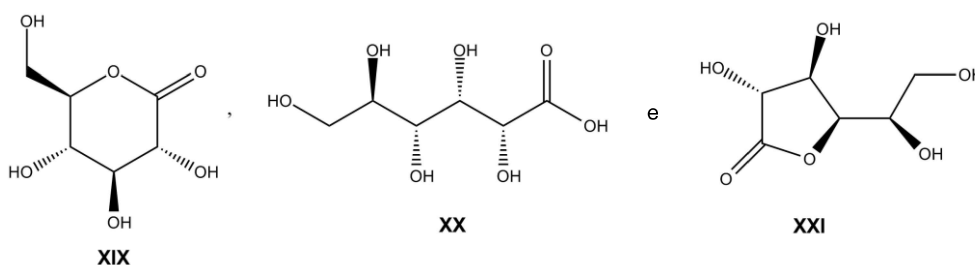
[00038]                      Numa modalidade, o composto da Fórmula I é um composto da Fórmula XV,



[00039]                      Numa modalidade, o composto de Fórmula I é selecionado do grupo que consiste em

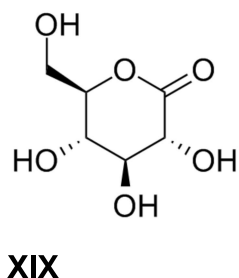


[00040] Numa modalidade, o composto de Fórmula I é selecionado do grupo que consiste em



[00041] Numa modalidade, os compostos XIX, XX e XXI estão em equilíbrio em solução aquosa.

[00042] Numa modalidade preferida, o composto de Fórmula I é glucona-Delta-lactona (GDL, Fórmula XIX),



[00043] Noutra modalidade, o composto não é glucona-Delta-lactona (Fórmula XIX). Assim, num aspecto, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas, com a condição de que o composto de Fórmula I não seja glucona-Delta-lactona (Fórmula XIX).

[00044] Em uma modalidade, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas, com a condição de que, se o composto de Fórmula I for



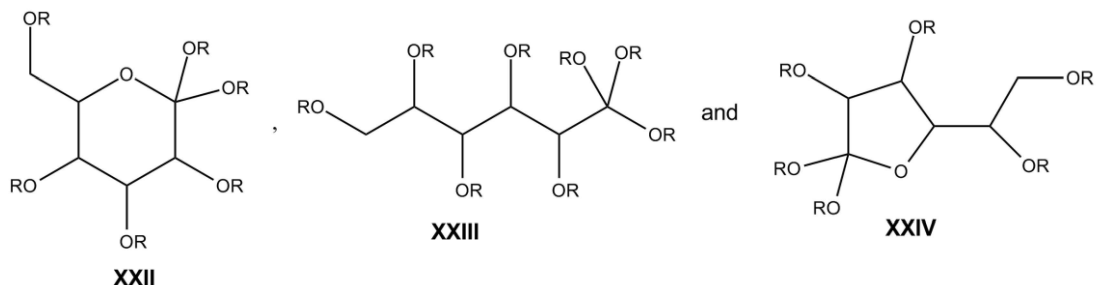
o composto de Fórmula XIX, a infecção microbiana não será uma infecção por fungos.

[00045] Em uma modalidade, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas, com a condição de que, se o composto de Fórmula I for o composto de Fórmula XIX, a infecção microbiana não será uma infecção fúngica urogenital.

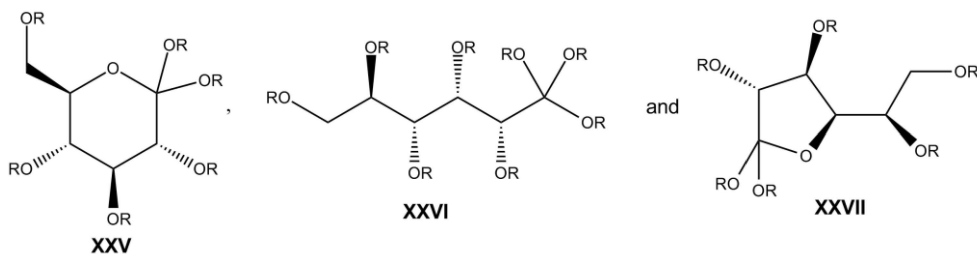
[00046] Numa modalidade, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I para uso no tratamento e / ou prevenção de infecções microbianas, com a condição de que, se o composto de Fórmula I for o composto de Fórmula XIX, a infecção microbiana não será candidose vulvovaginal. .

[00047] Numa modalidade, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas, com a condição de que se a infecção microbiana for uma infecção fúngica urogenital, o composto de Fórmula I não será um composto da Fórmula XIV.

[00048] Numa modalidade, o composto é um acetal de um composto de Fórmula I. Numa modalidade, o grupo oxo do composto é um acetal correspondente, isto é, o composto de Fórmula I é selecionado a partir do grupo que consiste em



[00049] Numa modalidade, o composto de Fórmula I é selecionado do grupo que consiste em



### POLÍMERO/OLIGÔMERO

[00050] Numa modalidade, o composto de Fórmula I é oligomerizado para formar um oligômero. Noutra modalidade, o composto de Fórmula I é polimerizado para formar um polímero.

[00051] Numa modalidade, o oligômero ou polímero compreende um composto de Fórmula I, isto é, é um homo-oligômero/polímero em que um composto de Fórmula I é o monômero. Noutra modalidade, o oligômero ou polímero é um oligômero/polímero misto, isto é, um hétero-oligômero/polímero. Numa modalidade, o oligômero compreende pelo menos dois compostos diferentes da Fórmula I.

[00052] Numa modalidade, o oligômero ou polímero compreende ainda ácido láctico, isto é, um oligômero/polímero de ácido láctico.

[00053] Numa modalidade, dois compostos de Fórmula I estão ligados para formar um dímero. Numa modalidade, o dímero compreende dois compostos de fórmula XIV. Numa modalidade, o dímero compreende dois compostos diferentes da Fórmula I.

### INFECÇÕES

[00054] Num aspecto, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I ou a uma composição farmacêutica compreendendo um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas. Numa modalidade, a presente invenção refere-se à glucona-Delta-lactona para uso no tratamento de uma infecção bacteriana ou uma infecção mista, bacteriana e fúngica.

[00055] Numa modalidade, a infecção microbiana é uma infecção urogenital. Numa modalidade, a infecção microbiana é uma infecção vaginal.

[00056] Numa modalidade, a infecção é uma infecção em um mamífero, isto é, o paciente que precisa do referido tratamento é um mamífero. De preferência, o mamífero é um humano. Numa modalidade, o humano é uma mulher. A referida mulher pode ser uma mulher grávida.

[00057] Numa modalidade, a infecção é dermatite e/ou eczema. A referida dermatite e/ou eczema pode ser dermatite seborréica. A infecção também pode ser uma infecção secundária da referida dermatite ou eczema.

[00058] O termo "infecção secundária", conforme usado aqui, refere-se a uma sequela ou complicação de uma causa raiz. A causa raiz pode ser uma infecção primária.

[00059] Numa modalidade, a infecção é acne de todas as gravidades ou condições acneiformes, como rosácea, dermatite perioral ou periorbital.

[00060] Numa modalidade, a infecção é furunculose, carbunculose ou foliculite.

[00061] Numa modalidade, a infecção é queilite. A referida queilite pode ser queilite angular.

[00062] Numa modalidade, a infecção é uma infecção da face, couro cabeludo, tronco e/ou virilha. A infecção pode ser uma infecção de feridas cutâneas infectadas nas referidas áreas. A infecção também pode estar localizada nas dobras cutâneas do corpo.

[00063] Numa modalidade, a infecção é impetigo ou erisipela.

[00064] Numa modalidade, a infecção é uma infecção dos pés. A referida infecção dos pés pode estar associada a feridas diabéticas nos pés. Numa modalidade, a infecção dos pés é secundária a unhas encravadas ou bolhas dos pés.

[00065] Numa modalidade, a infecção é uma infecção secundária que surge após uma mordida de animal. O referido animal pode ser um inseto. Numa modalidade, a infecção é uma infecção secundária que surge após picadas de insetos, picadas de mosquito, picadas de carrapato, eritema migratório ou linfadenose cutânea benigna.

[00066] Numa modalidade, a infecção é uma infecção secundária do herpes simplex, dermatológica, oral ou genital, ou uma infecção secundária do herpes zóster ou varicela zóster.

[00067] Numa modalidade, a infecção é uma infecção secundária de lesão na pele, como queimaduras ou cortes.

[00068] Numa modalidade, a infecção é uma blefarite fúngica, bacteriana ou mista.

[00069] Numa modalidade, a infecção é conjuntivite.

[00070] Numa modalidade, a infecção é uma vaginite ou cervicite.

[00071] Numa modalidade, a infecção é causada por *Trichomonas vaginalis*. Numa modalidade, a infecção é tricomoníase.

[00072] Numa modalidade, a infecção microbiana é selecionada do grupo que consiste em infecções fúngicas, infecções bacterianas e infecções fúngicas e bacterianas mistas.

### INFECÇÕES BACTERIANAS

[00073] Em algumas modalidades, a infecção microbiana é uma infecção bacteriana. Numa modalidade, a infecção microbiana é uma infecção fúngica e bacteriana mista.

[00074] Numa modalidade, a infecção bacteriana é periodontite.

[00075] Numa modalidade, a infecção bacteriana é vaginose bacteriana.

[00076] Numa modalidade, a infecção bacteriana é selecionada do grupo que consiste em *Gardnerella vaginalis*-, *Chlamydia*

*trachomatis*-, *Neisseria gonorrhoeae*-, *Treponema pallidum* (sífilis)-, *Atopobium vaginae*-, *Prevotella* spp-, *Mobiluncus* spp-, *Peptostreptococcus* spp-, *Poryphyromonas* spp-, *Mycoplasma hominis*-, *Bacteroides* spp-, *Ureaplasma urealyticum*-, *Streptococcus* spp-, *Enterobacteriaceae*-, *Enterococci*-, *Staphylococcus* spp-, *Propionibacterium*-, *Escherichia coli*-, *Klebsiella*-, *Staphylococcus epidermidis*-, *Staphylococcus aureus*-, *Pseudomonas aeruginosa*-, *Acetivobacter baumanii*-, *Streptococcus pyogenes*-, *Streptococcus agalactiae*-, *Beta-Hemolytic Streptococci Grupos C e G*- e/ou infecção *Porphyromonas gingivalis*.

[00077] Numa modalidade, a infecção é secundária à colonização oral, nasal ou anogenital de estreptococos do grupo A ou do grupo B ou bactérias multirresistentes.

[00078] Numa modalidade, a infecção é dermatite estreptocócica perianal.

#### INFECÇÕES MISTAS DE BACTERIANAS E FÚNGICAS

[00079] Numa modalidade, a referida infecção microbiana é uma infecção mista fúngica e bacteriana. O componente bacteriano da referida infecção fúngica e bacteriana mista pode ser a infecção bacteriana como aqui definida. O componente fúngico da referida infecção fúngica e bacteriana mista pode ser a infecção fúngica como aqui definida. Numa modalidade, o referido componente fúngico da infecção fúngica e bacteriana mista é uma candidíase.

[00080] A referida infecção fúngica e bacteriana mista pode ser dermatite intertriginosa ou paroníquia.

#### INFECÇÕES FÚNGICAS

[00081] Em algumas modalidades, a infecção microbiana é uma infecção fúngica. Numa modalidade, a infecção microbiana é uma infecção bacteriana e fúngica mista. Numa modalidade, a referida infecção fúngica é uma micose. A referida micose pode ser selecionada do grupo que consiste em Dermatofitose, Candidíase, Coccidioidomicose, Histoplasmosse,

Blastomicose, Paracoccidioidomicose, Esporotricose, Cromomicose e Abscesso Feiomicótico, Aspergilose, Criptococose e Zigomicose.

[00082] Numa modalidade preferida, a micose é candidíase. A referida candidíase pode ser seleccionada do grupo que consiste em candidíase da vulva e da vagina; candidíase da pele e unhas; candidíase de locais urogenitais e gastrointestinais; estomatite por cândida; cândida da mama e mamilo; candidíase pulmonar; meningite por cândida; endocardite por cândida; e sepse por cândida.

[00083] Numa modalidade, a micose é dermatofitose. A referida dermatofitose pode ser seleccionada do grupo que consiste em dermatofitose inguinal; onicomomicose nas unhas dos pés; *Tinea inguinalis*, *Tinea pedis*; *Tinea manuum*; *Tinae barbae*, *Tinea amiantacea* *Tinea capitis*; *Tinea corporis*; *Tinea imbricata*; e *Tinea cruris*.

[00084] Numa modalidade, a infecção fúngica é seleccionada do grupo que consiste em Infecções por espécies de *Cândida*, como *Candida albicans*-, *Candida krusei*-, *Candida glabrata*-, *infecções por Candida tropicalis*; Infecções por espécies de *Trichophyton*, como *Trichophyton verrucosum*-, *Trichophyton rubrum*-, *Trichophyton violaceum*-, *Trichophyton tonsurans*-, e *infecções por* espécies de *Microsporum*, como *infecção por Microsporum canis*; *Infecções por Aspergillus* e *Malassezia*.

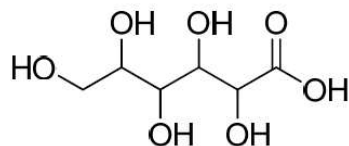
[00085] Numa modalidade, a infecção é causada por *Saccharomyces cerevisiae*.

[00086] Numa modalidade, a micose é pitiríase versicolor.

[00087] Numa modalidade, o composto da Fórmula I não é o composto da Fórmula XIX e a infecção fúngica não é uma infecção fúngica urogenital.

[00088] Noutra modalidade, o composto de Fórmula I não é o composto de Fórmula XIX e a infecção fúngica não é candidose vulvovaginal.

[00089] Em ainda outra modalidade, a infecção fúngica não é uma infecção fúngica urogenital e o composto da Fórmula I não é



**XIV**

#### INFECÇÕES VIRAIS

[00090] Numa modalidade, a infecção microbiana é uma infecção viral. Numa modalidade, a infecção viral é HIV.

#### FORMULAÇÕES

[00091] Em algumas modalidades, a presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo um composto de fórmula I para uso no tratamento de uma infecção microbiana. Em uma modalidade, a composição farmacêutica é formulada como um comprimido, comprimido desintegrador por via oral (ou comprimido dissolvente por via oral (ODT)), pastilha, goma, goma de mascar, creme, loção, gel, emulsão, solução, espuma, pomada, spray, suspensão enxaguatório bucal, enxaguatório bucal, enxaguatório bucal, banho bucal, esmalte de unha, adesivo dérmico ou xampu. Numa modalidade, a referida solução é adaptada para uso em um curativo, curativo e/ou compressa.

[00092] Em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende pelo menos 5% em peso, como pelo menos 10% em peso, como pelo menos 15% em peso, como pelo menos 20% em peso, como pelo menos 25% em peso, como pelo menos 30% em peso, como pelo menos 40% em peso, como pelo menos 50% em peso, como pelo menos 60% em peso do composto de Fórmula (I).

[00093] Em uma modalidade, a composição farmacêutica para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que a composição farmacêutica compreende não mais que 99% em peso, como não mais que 95% em peso, como não mais que 90% em

peso, como não mais que 85% em peso, como não mais que 80% em peso, como não mais que 75% em peso do composto de Fórmula (I).

[00094] Numa modalidade, a composição farmacêutica compreende 5 a 99% em peso, como em 10 a 95% em peso, como em 15 a 95% em peso, como em 20 a 90% em peso, como em 40 a 95% em peso, como em 40 a 95% em peso, como em 50 a 95% em peso do composto de Fórmula (I).

[00095] Numa modalidade, a composição farmacêutica compreende não mais que 10% em peso de água, como não mais que 5% em peso de água.

[00096] Um "agente antimicrobiano", como usado aqui, refere-se a um agente que é capaz de diminuir, eliminar ou inibir o crescimento de microrganismos, como o termo conhecido no estado da técnica (microrganismos exemplares incluem micróbios como bactérias, fungos, vírus e outros patógenos). Da mesma forma, o termo "agente antifúngico" refere-se a um agente capaz de diminuir, eliminar ou inibir o crescimento de fungos, e o termo "agente antibacteriano" refere-se a um agente capaz de diminuir, eliminar ou inibir o crescimento de bactérias.

[00097] Numa modalidade, a composição farmacêutica compreende ainda um ou mais agentes antifúngicos. Numa modalidade, a presente invenção refere-se a um método de tratamento de uma ou mais infecções microbianas compreendendo a co-administração de um composto de Fórmula I e um agente antimicrobiano a um paciente em necessidade do mesmo. Numa modalidade, o referido agente antimicrobiano é um agente antifúngico ou um agente antibacteriano. O referido agente antifúngico pode ser selecionado do grupo que consiste em miconazol, terconazol, isoconazol, fenticonazol, fluconazol, nistatina, cetoconazol, clotrimazol, butoconazol, econazol, tioconazol, itraconazol, 5-fluoracil e metronidazol.

[00098] Numa modalidade, a composição farmacêutica compreende ainda um ou mais agentes antibacterianos. Antibióticos são um



tipo de agentes antimicrobianos usados no tratamento e prevenção de infecções bacterianas. O referido agente antibacteriano pode ser selecionado do grupo que consiste em clindamicina, tetraciclina, amoxicilina, ampicilina, eritromicina, doxiciclina, lomefloxacina, norfloxacin, afloxam, ciproflaxina, azitromicina e cefltoxina.

[00099] Numa modalidade, a composição farmacêutica compreende ainda um esteróide. O referido esteróide pode ser cortisona.

[000100] Em uma modalidade, a composição farmacêutica é formulada como um tampão, vagitorium, aerossol vaginal, copo vaginal, gel vaginal, inserção vaginal, adesivo vaginal, anel vaginal, esponja vaginal, supositório vaginal, creme vaginal, emulsão vaginal, espuma vaginal, loção vaginal, pomada vaginal, pó vaginal, xampu vaginal, solução vaginal, spray vaginal, suspensão vaginal, comprimido vaginal, haste vaginal, disco vaginal, dispositivo vaginal e qualquer combinação dos mesmos, ou em que a composição farmacêutica esteja presente em um artigo sanitário, como um tampão, um absorvente higiênico, uma almofada ou fralda para incontinência ou um forro de roupas íntimas.

[000101] Numa modalidade, a composição farmacêutica é adaptada para administração pelo menos uma vez ao dia, como pelo menos duas vezes ao dia, como pelo menos três vezes ao dia.

[000102] Numa modalidade, a composição farmacêutica é adaptada para administração não mais que a cada dois dias, como não mais que a cada três dias, como não mais que uma vez por semana.

[000103] Numa modalidade, a composição farmacêutica é adaptada para administração por não mais de seis dias.

[000104] Numa modalidade, a composição farmacêutica é adaptada para administração durante pelo menos uma semana, como durante pelo menos duas semanas, como durante pelo menos três semanas, como durante pelo menos quatro semanas.

[000105] Numa modalidade, a composição farmacêutica é adaptada para administração por pelo menos uma vez ao dia durante pelo menos uma semana.

[000106] Em uma modalidade, a composição farmacêutica é formulada para liberar o composto de acordo com a Fórmula I durante um período prolongado de tempo, como por pelo menos 4 horas, como por pelo menos 6 horas, como por pelo menos 24 horas após a administração.

#### MÉTODO PARA PREVENÇÃO E/OU REDUÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME

[000107] Num aspecto, a presente invenção refere-se a um método para prevenção e/ou redução da formação de biofilme, caracterizado pelo fato de que o método compreende a administração de um composto de Fórmula I. O termo "biofilme", conforme aqui usado, refere-se a um agregado de microrganismos nos quais células microbianas aderem um ao outro e/ou a uma superfície. Estas células aderentes são frequentemente cobertas com uma matriz de substância polimérica extracelular, por exemplo, compreendendo DNA extracelular, proteínas e polissacarídeos que é produzido pelas células. As células microbianas que crescem em um biofilme são frequentemente fisiologicamente distintas das células planctônicas do mesmo organismo.

[000108] Tais biofilmes podem se formar em qualquer superfície viva ou não viva. Numa modalidade, o biofilme é um biofilme dentro ou sobre um mamífero.

[000109] Numa modalidade, o biofilme é um biofilme de um implante ou prótese. O termo "implante ou prótese", conforme usado aqui, refere-se a substitutos artificiais de partes do corpo e materiais inseridos no tecido para fins funcionais, cosméticos ou terapêuticos. Os implantes ou próteses podem ser funcionais, como no caso de braços e pernas artificiais, ou cosméticos, como no caso de um olho artificial. Os implantes, todos inseridos ou enxertados cirurgicamente no corpo, tendem a ser usados terapeuticamente.

[000110] O referido implante ou prótese pode ser selecionado do grupo que consiste em cateter, cateter venoso periférico, cateter venoso central, válvulas cardíacas, dispositivos de assistência ventricular, stents coronários, derivações ventriculares neurocirúrgicas, estimuladores neurológicos implantáveis, artropróteses, dispositivos de fixação de fraturas, infláveis implantes penianos, implantes mamários, cocleares, lentes intraoculares, implantes dentários, implante para laringectomia, implante para traqueostomia, prótese vocal, implante para mobilidade da mandíbula, implante para timpanostomia e implantes dentários.

#### MÉTODO PARA USO NA PREVENÇÃO DO PARTO PREMATURO

[000111] Numa modalidade, a infecção microbiana é vulvovaginite bacteriana. Com o amadurecimento cervical ou a insuficiência cervical, a referida infecção pode migrar para o útero e causar corioamnionite e, posteriormente, parto prematuro. Existem evidências que sustentam que a inflamação excessiva, como uma vaginite ou cervicite, através da produção de prostaglandinas, pode causar contrações prematuras e parto prematuro, mesmo na ausência de corioamnionite manifesta. O recém-nascido prematuro pode subsequentemente enfrentar infecção bacteriana invasiva; pneumonia, meningite ou sepse, devido à imunodeficiência neonatal no bebê prematuro. Os estreptococos do grupo A e B e as bactérias multirresistentes podem causar infecções perinatais graves no bebê e endometrite pós-parto na recém-nascida e ser a causa de morbimortalidade grave neonatal e materna.

[000112] Noutra modalidade, a infecção microbiana é candidose vulvovaginal. O recém-nascido prematuro pode enfrentar infecção invasiva por *Candida*, uma das infecções hospitalares mais graves, causando maior morbimortalidade do que a infecção bacteriana, principalmente em unidades de terapia intensiva neonatal.

[000113] Assim, num aspecto, a presente invenção refere-se a um composto de Fórmula I para uso na prevenção de nascimentos prematuros. Numa modalidade preferida, o referido composto é administrado por via

vaginal. O composto pode ser formulado como um tampão, vagitorium, aerossol vaginal, copo vaginal, gel vaginal, inserção vaginal, adesivo vaginal, anel vaginal, esponja vaginal, supositório vaginal, creme vaginal, emulsão vaginal, espuma vaginal, loção vaginal, pomada vaginal, pó vaginal, xampu vaginal, solução vaginal, spray vaginal, suspensão vaginal, comprimido vaginal, haste vaginal, disco vaginal, dispositivo vaginal e qualquer combinação dos mesmos, ou em que o composto esteja presente em um artigo sanitário, como um tampão, um produto sanitário guardanapo, almofada ou fralda para incontinência ou forro de roupas íntimas.

### EXEMPLOS

#### EXEMPLO 1: EFEITOS DE DIFERENTES ÁCIDOS CARBOXÍLICOS HIDROXILADOS

##### ENSAIO DE FORMAÇÃO DE BIOFILME

[000114] As cepas de leveduras (Tabela 1) foram cultivadas a 37 °C em meio YPD completo (extrato de levedura a 0,5%, peptona a 1%, glicose a 2%) ou meio mínimo constituído por YNB (base de nitrogênio da levedura sem aminoácidos e sulfato de amônio, FORMEDIUM™, CYN0505) suplementado com 0,5% de sulfato de amônio, 0,2% de glicose e 100 mm de L-prolina. Se necessário, foi usado 2% de agar para solidificar o meio. O meio mínimo líquido (YNB (base de nitrogênio da levedura sem aminoácidos e sulfato de amônio, FORMEDIUM™, CYN0505) suplementado com 0,5% de sulfato de amônio, 0,2% de glicose e 100 mm de L-prolina) foi usado para o ensaio de biofilme (meio de biofilme).

[000115] Nas experiências sobre o impacto do pH no biofilme, os valores de pH (de 2,6 a 6,6) foram obtidos usando tampões de fosfato de potássio diferentes na concentração final de 0,25 M ou pela adição de ácido cítrico, ácido láctico e ácido glucônico ao meio de biofilme

**TABELA 1. CEPAS DE LEVEDURAS USADAS NESTE ESTUDO.**

Nome original	Designação da cepa de	Descrição	Referência
---------------	-----------------------	-----------	------------

laboratório				
<b>Candida</b> <b>SC5314</b>	<b>albicans</b>	Y775	Tipo selvagem, virulento em um modelo de camundongo com infecção sistêmica, cepa sequenciada	[A. M. Gillum, et al. Mol. Gen. Genet. 1984, 198, 179-182]
<b>Candida</b> <b>CBS138</b>	<b>glabrata</b>	Y1092	Cepa de tipo selvagem, isolada de fezes humanas, cepa sequenciada	[B. Dujon, et al. Nature, 2004, 430, 35-44]

[000116] O biofilme foi medido em cultura líquida como descrito [K. Scherz et al., G3 (Bethesda), 2014, 4, 1671-1680. I. Serrano-Fujarte et al. Biomed Res Int. 2015; 2015:783639] com algumas modificações. Antes do ensaio de biofilme, as culturas de leveduras foram cultivadas em meio YPD líquido por 24 horas até a fase estacionária ( $OD_{600}$  11-17) <sup>2</sup>, as células foram granuladas por centrifugação (1699 g), lavadas com água estéril e as células foram posteriormente inoculadas no meio de teste do biofilme (YNB (base de nitrogênio de levedura sem aminoácidos e sulfato de amônio) suplementado com sulfato de amônio a 0,5%, glicose a 0,2% e prolina-L 100 mm pH7,0) na concentração final de 0,2  $OD_{600}$ /ml e incubado em placas de microtitulação de poliestireno de fundo plano com 96 poços (Sigma Aldrich, placas de cultura Corning® Costar®, CLS3596-50EA) por 72 horas a termostato a 37 °C. Em pontos de tempo definidos, violeta cristal (HT901-8FOZ; Sigma Aldrich) foi adicionado ao meio na concentração final de 0,05%, além disso foi medida a biomassa total. Após 24 horas de coloração das células, os poços da placa foram lavados quatro vezes com 200 ml de água para remover as células planctônicas, os biofilmes foram então secos e dissolvidos em 200 µl de etanol a 96%. As medições da biomassa total e da coloração com biofilme violeta de cristal foram realizadas no  $OD_{560}$  com o leitor de placas FLUOstar OPTIMA, BMG LABTECH. As medições de biofilme de violeta cristal foram normalizadas para a biomassa total ( $OD_{560}$ Biofilm/ $OD_{560}$  biomassa total).

## EFEITOS DE DIFERENTES ÁCIDOS CARBOXÍLICOS HIDROXILADOS

[000117] Para comparar os efeitos de diferentes ácidos carboxílicos hidroxilados em baixas concentrações, a formação de biofilme foi medida 24h após a adição de 0,06% em peso de ácido glicérico, ácido xilônico, ácido cítrico, ácido glucônico e ácido láctico, em condições não-tamponadas. Os dados são mostrados na Tabela 2 e na Figura 1.

**TABELA 2. EFEITO DE BAIXAS CONCENTRAÇÕES (0,06%) DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS HIDROXILADOS NA FORMAÇÃO DE BIOFILME DE *CANDIDA ALBICANS*. O BIOFILME FOI MEDIDO APÓS 24H.**

	pH resultante	biofilme normalizado (% de controle)
ácido glicérico (GlyA)	7,0	40
ácido xilônico (XA)	7,0	31
ácido cítrico (CA)	4,6	14
ácido glucônico (GA)	6,5	6
ácido láctico (LA)	4,9	13

[000118] Como pode ser visto na Tabela 2, o ácido glucônico é o composto mais eficiente, seguido pelo ácido láctico e pelo ácido cítrico. A substituição do ácido láctico pelo ácido glucônico resultou em > 50% menos formação de biofilme (6% vs 13% do controle). Dado que a formação do biofilme é muito sensível ao pH baixo e que o ácido glucônico apenas induz uma diminuição moderada do pH em comparação com o ácido láctico e o ácido cítrico, o resultado é impressionante.

## EXEMPLO 2: FORMAÇÃO DE BIOFILME DE *CANDIDA ALBICANS* EM PH DIFERENTE

[000119] A fim de avaliar melhor o efeito do ácido glucônico na prevenção da formação de biofilme, a formação de biofilme em pH diferente foi determinada (como descrito no Exemplo 1) para ácido glucônico, ácido láctico e ácido cítrico.

[000120] Como pode ser visto na Tabela 3, o ácido glucônico mostra fortes efeitos na formação de biofilme de *Candida albicans*, enquanto os efeitos do ácido láctico e do ácido cítrico são muito menos pronunciados. Além disso, o ácido glucônico mostra forte efeito também em valores de pH de pelo menos 6, enquanto o efeito observado com o ácido láctico e o ácido cítrico começa a diminuir já em pH 5. Além disso, o ácido glucônico resulta em uma perda completa da formação de biofilme a pH 2,6. Os dados estão resumidos na Tabela 3.

**TABELA 3. FORMAÇÃO DE BIOFILME DE CANDIDA ALBICANS POR ADIÇÃO DE ÁCIDO GLUCÔNICO, ÁCIDO LÁCTICO OU ÁCIDO CÍTRICO (TRATAMENTO DE 24H).**

	ácido glucônico	ácido láctico	ácido cítrico	tampão
<b>biofilme normalizado (OD560) a pH 6,1</b>	0,17	3,1	4,6	3,2
<b>biofilme normalizado (OD560) a pH 2,6</b>	0	1,6	0,34	0,25

**EXEMPLO 3: FORMAÇÃO DE BIOFILME DE CANDIDA GLABRATA EM DIFERENTES PH**

[000121] *Candida glabrata* é muito mais complicada de tratar, em comparação com *Candida albicans*. No entanto, um efeito claro é obtido por um tratamento mais longo, isto é, 72 h com ácido glucônico (Tabela 4).

**TABELA 4. FORMAÇÃO DE BIOFILME DE CANDIDA GLABRATA POR ADIÇÃO DE ÁCIDO GLUCÔNICO, ÁCIDO LÁCTICO OU ÁCIDO CÍTRICO (TRATAMENTO DE 72 H).**

	ácido glucônico	ácido láctico	ácido cítrico	tampão
<b>biofilme normalizado (OD560) a pH 6,1</b>	1,6	2,8	2,9	4,7

---

biofil	0,07	0,9	1,0	4,
me normalizado			8	
(OD560) a pH 2,6				

---

[000122] Com base nesses resultados, concluiu-se que o ácido glucônico tem efeito superior no direcionamento da formação de biofilme por candida em comparação ao ácido láctico e ácido cítrico. Em contraste com o efeito observado para o ácido láctico e o ácido cítrico, o efeito observado para o ácido glucônico não é meramente um efeito relacionado ao pH. O efeito está presente mesmo em pH 6.

[000123] Conclui-se assim que o ácido glucônico é útil como composto antifúngico, como indicado pela redução da formação de biofilme. O composto é fisiológica e farmacêuticamente aceitável. O ácido glucônico é, portanto, útil para fornecer formulações farmacêuticas para uso no tratamento da candidose vulvovaginal.

#### EXEMPLO 4: PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DO ÁCIDO GLUCÔNICO

##### LACTONIZAÇÃO / OLIGOMERIZAÇÃO DO ÁCIDO GLUCÔNICO:

[000124] O ácido glucônico (GA) (50% em peso de H<sub>2</sub>O, 4 g) foi vertido em um frasco aberto e aquecido a 120 °C. Após 24h, a mistura foi resfriada até a temperatura ambiente, enquanto solidificou.

[000125] Para analisar a composição da solução aquosa de ácido glucônico (GA), o GA (50% em peso de H<sub>2</sub>O) foi dissolvido em DMSO-*d*<sup>6</sup> e analisado por <sup>1</sup>H- e <sup>13</sup>C-NMR. O ácido glucônico lactonizado/oligomerizado (cf. acima) foi dissolvido em DMSO-*d*<sup>6</sup> e analisado por <sup>1</sup>H- e <sup>13</sup>C-NMR, vide Tabela 5.

**TABELA 5. COMPOSIÇÃO DE GA, GA LACTONIZADO E OLIGOMERIZADO, ANALISADA POR <sup>1</sup>H- E <sup>13</sup>C-NMR.**

Composto	DMSO- <i>d</i> <sup>6</sup> ( <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C)
GA [526-95-4]	70% de ácido glucônico
	15% glucona- $\delta$ -lactona

---



---

	15% $\gamma$ - Glucona lactona
<b>GA lactonizado e oligomerizado</b>	10% de ácido glucônico
	25% $\delta$ - glucona lactona
	50% $\gamma$ Glucona lactona
	15% de material oligomerizado

[000126] Concluiu-se que o GA forma uma mistura complexa de diferentes lactonas, bem como material oligomerizado após desidratação prolongada.

#### EXEMPLO 5: HIDRÓLISE DE GLUCONA -- $\delta$ - LACTONA (GDL)

[000127] Em solução aquosa, a glucona  $\delta$ lactona (GDL) está em equilíbrio com o ácido glucônico (GA, CAS 526-95-4). Foi adicionado GDL (200 mg) a H<sub>2</sub>O destilada (20 ml), tampão de pH 4, tampão de pH 5 ou tampão de pH 7 a 37 °C. A rotação óptica e o pH foram medidos ao longo do tempo. Rotação óptica, medida a 37°C, linha D de sódio, C = 10 mg/ml, comprimento do caminho = 10 cm. A rotação óptica do GDL é de aproximadamente 66°. A rotação óptica do ácido glucônico é de aproximadamente 5 ° [D. T. Sawyer, J.B. Bagger, J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 5302-5306].

[000128] Esta experiência mostra que o GDL é hidrolisado lentamente para uma mistura de GDL e GA (Figura 2). O equilíbrio é dependente do pH e concentrações relevantes de GDL estão presentes em todas as condições tamponadas.

#### EXEMPLO 6: FORMAÇÃO DE BIOFILME EM UM MODELO DE CONDIÇÕES IN VIVO USANDO ÁCIDO GLUCÔNICO (GA)

[000129] Grânulos de ácido glucônico lactonizado/oligomerizado (1,3 g, amostras duplicadas) foram adicionados à solução tampão de pH 3,71 (KH<sub>2</sub>PO 0,5 M/ácido ortofosfórico, 10 ml) a 37° C. Amostras (4 ml) foram coletadas a cada hora (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24h) e foi adicionada nova solução tampão (4 ml). As amostras foram diluídas 50 vezes com meio de biofilme (vide acima) e a quantidade de formação de biofilme foi medida após 24h, como

descrito acima. Como visto na Figura 4A, o GA liberado reduz significativamente a quantidade de formação de biofilme em *Candida albicans*. Além disso, a hidrólise do grânulo é aparentemente lenta o suficiente para fornecer um efeito preventivo por pelo menos até 6 horas, provavelmente muito mais. O efeito é menos pronunciado com *Candida glabrata* (Figura 4B). Os dados estão resumidos na Tabela 6.

**TABELA 6. FORMAÇÃO DE BIOFILME DE CANDIDA ALBICANS E CANDIDA GLABRATA TRATADAS COM GA LACTONIZADO/OLIGOMERIZADO EM UM MODELO DE CONDIÇÕES IN VIVO. AS AMOSTRAS FORAM COLETADAS APÓS 1H, DILUÍDAS 50 VEZES COM MEIO DE BIOFILME E A QUANTIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME FOI MEDIDA APÓS 24H.**

biofilme normalizado (% de controle), 1 h	
<b>Candida albicans</b>	6,5
<b>Candida glabrata</b>	42

**EXEMPLO 7: FORMAÇÃO DE BIOFILME EM UM MODELO DE CONDIÇÕES IN VIVO USANDO GLUCONA-DELTA-LACTONA**

[000130] Grânulos de glucona-Delta-lactona (GDL) (2,5 g, amostras duplicadas) foram adicionados à solução tampão de pH 3,71 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5 M/ ácido ortofosfórico, 10 ml) a 37 ° C. Amostras (4 ml) foram colhidas em pontos de tempo fixo (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24h) e foi adicionada nova solução tampão (4 mL). As amostras foram diluídas 50 vezes com meio de biofilme (vide acima) e a quantidade de formação de biofilme foi medida após 24h, como descrito acima. Como visto na Figura 5A, o GDL liberado reduz significativamente a quantidade de formação de biofilme em *C. albicans*. Além disso, a hidrólise do grânulo é aparentemente lenta o suficiente para fornecer um efeito preventivo por pelo menos até 24 horas, provavelmente muito mais. O efeito é menos pronunciado com *C. glabrata* (Figura 5B).

**TABELA 7. FORMAÇÃO DE BIOFILME DE C. ALBICANS E C. GLABRATA TRATADOS COM GDL EM UM MODELO DE CONDIÇÕES IN VIVO. AS AMOSTRAS FORAM COLETADAS APÓS 1 H, DILUÍDAS 50 VEZES COM MEIO DE ENSAIO DE BIOFILME E A QUANTIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME FOI MEDIDA APÓS 24H.**

	Biofilme normalizado (% de controle), 1 h
<b>Candida albicans</b>	8,3
<b>Candida glabrata</b>	71

[000131] Os resultados mostram que a formação de biofilme de *C. albicans* e *C. glabrata* foi reduzida na presença de GDL. Além da diminuição da formação de biofilme, o GDL pode afetar a viabilidade do biofilme maduro de *C. albicans* e *C. glabrata*.

**EXEMPLO 8: VIABILIDADE DE BIOFILMES MADUROS DE C. ALBICANS E C. GLABRATA TRATADOS COM GLUCONA-DELTA-LACTONA**

[000132] A viabilidade dos biofilmes de *C. albicans* e *C. glabrata* após tratamento com glucona-Delta-lactona (GDL) em diferentes concentrações e diferentes períodos de tempo foi avaliada através da coloração das células com XTT. XXT é um ensaio colorimétrico para quantificação da viabilidade celular e citotoxicidade. O ensaio é baseado na clivagem do sal de tetrazólio XTT, uma conversão que ocorre apenas em células viáveis. O biofilme maduro foi exposto ao GDL por 24h. Em seguida, as células foram lavadas 2 vezes com PBS, após o que a mistura de reação XTT foi adicionada. Após 30 min, a densidade óptica foi medida a 485 nm.

[000133] O ensaio XTT mostrou uma forte diminuição na viabilidade de *C. glabrata* já após 24h de incubação (Figura 6A). O efeito foi menos pronunciado para *C. albicans*, mas claramente observado após 48 h (Figura 6B).

[000134] Além disso, o biofilme maduro (cultivado por 48 h em YNB, glicose a 0,2%, prolina 100 mM) de *C. albicans* e *C. glabrata* foi incubado com GDL de diferentes concentrações (0,05 - 0,5 g/ml) a 37 °C. Para

este fim, o meio de biofilme (YNB, glicose a 0,2%, prolina 100 mM) foi removido e foi adicionado GDL, que foi dissolvido em água nas concentrações 0,05, 0,1, 0,2 e 0,5 g/ml. Após incubação com GDL por 5 h ou 73 h, 5 µl de células foram plaqueadas em diluição serial (1:10 a 1: 1000) no meio de agar YPD para estimar a sobrevivência celular. As células plaqueadas foram incubadas por 24 horas a 37 °C e analisadas visualmente. As células do biofilme maduro tratadas com água foram usadas como controle. Verificou-se que o GDL diminuiu a viabilidade celular de *C. albicans* e *C. glabrata*, particularmente em altas concentrações. Nas concentrações de 0,2 e 0,5 g/ml após 5 h de incubação, a viabilidade celular diminuiu cerca de 100 vezes para *C. albicans* e *C. glabrata*. Após 73 h de incubação com 0,5 g/ml de GDL, a viabilidade celular de *C. albicans* diminuiu cerca de 1000 vezes (dados não mostrados). *C. glabrata* provou ser mais sensível ao GDL (Figura 7).

#### EXEMPLO 9: ESTUDO MICROFLUÍDICO DO DESENVOLVIMENTO DE BIOFILME

[000135] Para monitorar a morfologia celular de *C. albicans*, estudamos o desenvolvimento do biofilme também usando microscopia e microfluídica. Após a inoculação das células de levedura, as hifas começaram a se formar dentro da primeira hora de incubação no meio de biofilme (YNB suplementado com prolina 100 mM e glicose a 0,2%, pH 7,0). A Figura 8A mostra células não tratadas após 5 h. Um grânulo de glucona-Delta-lactona (2,5 g) foi adicionado à solução tampão de pH 3,71 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5 M / ácido ortofosfórico, 10 mL) a 37 °C. Uma amostra foi coletada após 1 h e diluída 50 vezes com meio de biofilme e adicionado a *C. albicans*. Após 5 h, a maioria das células tratadas era planctônica (Figura 8B).

#### EXEMPLO 10: VIABILIDADE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE CANDIDA NA PRESENÇA DE GLUCONA-DELTA-LACTONA

[000136] Outros *Candida* sp. estudados também foram sensíveis (por exemplo, medida de viabilidade celular usando o ensaio XTT, cf.

Exemplo 8) a glucona-Delta-lactona (GDL). No entanto, eles exibiram diferentes níveis de sensibilidade. *Candida albicans* SC5314 apresentou a menor susceptibilidade e *Candida krusei* silicone isolado A4-1 exibiu a maior susceptibilidade. A toxicidade do GDL é mediada através de danos na parede celular, pois as células expostas ao GDL apresentaram menor viabilidade no meio com calcofluor branco em comparação com o suplementado com estabilizador osmótico (sacarose 0,5 M) e comparado com as células não tratadas nesses meios. A Tabela 3 resume os efeitos qualitativos mostrados pelo GDL.

**TABELA 8. SENSIBILIDADE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE CANDIDAAO**

**GDL**

Cepa	Sensibilidade ao GDL, exposição a 24h, placas
<i>C. albicans</i> SC5314	+
<i>C. glabrata</i> CBS138	+++ + ++
isolado de silicone U3-3 de <i>C. tropicalis</i>	+++++++
isolado de silicone de <i>C. krusei</i>	++
isolado de silicone A6-1 de <i>C. tropicalis</i>	++ + +
isolado de silicone U2-12 <i>C. krusei</i>	+++++++
Isolado de silicone de <i>C. krusei</i>	++
Isolado de silicone A4-1 de <i>C. krusei</i>	+++++++

[000137] Para concluir, (i) o GDL pode quebrar o biofilme maduro formado por *C. albicans* e *C. glabrata*, (ii) mediante exposição ao GDL, *C. albicans* se transforma em forma de levedura, enquanto a viabilidade de *C. glabrata* diminui, (iii) a o efeito é claro mesmo em outras linhagens, por exemplo, *C. tropicalis* e *C. krusei*.

**EXEMPLO 11: COOLIGOMERIZAÇÃO DO ÁCIDO GLUCÔNICO (GA) COM ÁCIDO LÁCTICO (LA)**

**LA: GA (PROPORÇÃO MOLAR DE 4: 1)**

[000138] DL- ácido láctico (563 mg, 6,26 mmol) e o ácido D-glucônico (50% em água, 0,50 ml, 1,57 mmol) foram misturados em um tubo de ensaio e aquecidos a 130 °C. Após 4 h, a temperatura foi aumentada para 140

°C. Após um total de 27 h, foi permitida que a reação da mistura atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação solidificou após arrefecimento.

LA: GA (PROPORÇÃO MOLAR 8: 1)

[000139] DL-Ácido láctico (569 mg, 6,32 mmol) e ácido D-glucônico (50% em água, 0,25 ml, 0,78 mmol) foi misturado em um tubo de ensaio e aquecido a 130 °C. Após 4 h, a temperatura foi aumentada para 140 °C. Após um total de 27 h, foi permitida que a reação da mistura atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação solidificou após arrefecimento.

LA: GA (PROPORÇÃO MOLAR DE 16:1)

[000140] DL-Ácido láctico (565 mg, 6,28 mmol) e ácido D-glucônico (50% em água, 0,35 ml, 0,39 mmol) foi misturado em um tubo de ensaio e aquecido a 130 °C. Após 4 h, a temperatura foi aumentada para 140 °C. Após um total de 27 h, foi permitida que a reação da mistura atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação solidificou após arrefecimento.

LA: GA (PROPORÇÃO MOLAR DE 10:1, MISTURA DIRETA)

[000141] DL-Ácido láctico (1 g, 11 mmol) e ácido D-glucônico (50% em água, 0,35 ml, 0,78 mmol) foram misturados em um tubo de ensaio e aquecidos a 130 °C sob vácuo. Após um total de 22 h, foi permitida que a reação da mistura atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação tornou-se quase totalmente sólida após arrefecimento.

LA: GA (PROPORÇÃO MOLAR DE 10:1, PRÉ-AQUECIMENTO POR 5 H)

[000142] DL ácido láctico (1 g, 11 mmol) foi pré-aquecido a 130 °C sob vácuo. Após 5 h, foi adicionado ácido D-glucônico (50% em água, 0,35 ml, 1,1 mmol). Após outras 16 h sob vácuo a 130 °C, foi permitida que a reação da mistura atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação solidificou após arrefecimento.

1 EM PESO% DE CA EM GA

[000143] D ácido glucônico (50% em água, 4 g) e o ácido cítrico monohidratado (20 mg, 1% em peso) foram misturados em um tubo de ensaio

e aquecidos a 120 ° C. Após um total de 15 h, foi permitida que a reação da mistura atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação não solidificou após arrefecimento.

#### 5 EM PESO % DE CA EM GA

[000144] Ácido D-glucônico (50% em água, 4 g) e ácido cítrico monohidratado (105 mg, 5 em peso % ) foram misturados num tubo de ensaio e aquecidos a 120 °C. Após um total de 15 h, foi permitida que a reação da mistura atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação não solidificou após arrefecimento.

#### 10 EM PESO % CA EM GA

[000145] O ácido D-glucônico (50% em água, 4 g) e o ácido cítrico monohidratado (222 mg, 10% em peso) foram misturados em um tubo de ensaio e aquecidos a 120 °C. Após um total de 15 h, foi permitida que a reação da mistura atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação não solidificou após arrefecimento.

[000146] A partir desses resultados, mostramos que o ácido glucônico pode ser oligomerizado com ácido láctico para formar um sólido, ao contrário do ácido glucônico puro ou do ácido láctico, ambos líquidos.

### EXEMPLO 12: EFEITO DE GLUCONA-DELTA-LACTONA E ÁCIDOS DE AÇÚCAR SOBRE E COLI

#### CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO

[000147] A cepa bacteriana *Escherichia coli* K12 foi usada para o estudo do biofilme. Esta cepa foi mantida em meio LB a 37 ° C. O biofilme foi estudado em meio sintético M9 (sais mínimos x1 M9 (Sigma M6030), 2 mM MgSO<sub>4</sub>, 0,1 mM CaCl<sub>2</sub>, e 0.2% glucose), ), que continham tampão fosfato, ácido cítrico, ácido láctico, ácido láctico, ácido glucônico ou glucona-Delta - lactona para obter meios com pH diferente (2,6 a 6,6).

#### BIOFILME

[000148] A cultura durante a noite de *E. coli* K12 (OD<sub>600</sub> ~ 5,0) foi lavada com água estéril e inoculada até a concentração final de 0,2 OD/ml

de meio M9 com pH diferente de diferentes compostos. O desenvolvimento do biofilme foi estudado em placas de microtitulação de poliestireno de fundo plano de 96 poços (Sigma Aldrich, placas de cultura Corning® Costar®). O biofilme foi tingido com violeta cristal.

[000149] Durante o experimento de biofilme (24 a 48 horas), a cepa bacteriana aumentou sua biomassa (2 a 3 vezes) apenas no meio M9 suplementado com tampão fosfato em pH 6,1 e pH 6,6 (**Figura 9**). A biomassa foi menor em outros meios e observamos a diminuição da biomassa bacteriana com a diminuição do pH do meio. Ácidos (ácido cítrico, ácido láctico, ácido glucônico) e glucona-Delta-lactona tiveram efeito inibidor no crescimento. Além da inibição do crescimento, a redução do pH do meio resultou na diminuição da formação de biofilme. A menor quantidade de biofilme foi observada no meio suplementado com ácido glucônico. O segundo mais eficaz na inibição de biofilme foi o ácido láctico, seguido de glucona-Delta-lactona. Comparando com o meio fosfato, o biofilme no meio ácido glucônico foi 38 vezes menor em pH 2,6 e 15 vezes menor em pH 3,0. A pH 6,6, o glucônico e o láctico reduziram o biofilme em aproximadamente 2 vezes. A glucona-Delta-lactona a pH 2,6 diminuiu a formação de biofilme 14,2 vezes às 24h e 30 vezes às 48h correspondentemente

[000150] A redução do pH do meio teve um efeito claro no desenvolvimento do biofilme de *E. coli*, que provavelmente está associado ao efeito bactericida (o biofilme inferior foi acompanhado de menor biomassa).

EXEMPLO 13: TESTE CIM DE GLUCONA-DELTA-LACTONA EM GARDNERELLA VAGINALIS, LACTOBACILLUS CRISPATUS, E LACTOBACILLUS INERS

CEPA

[000151] *Gardnerella vaginalis* CCUG 3717

[000152] *Lactobacillus crispatus* CCUG 44128

[000153] *Lactobacillus iners* CCUG 44025

Preparação de inóculos



[000154] *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus iners*, e *Lactobacillus crispatus* foram recuperados pelo CCUG (Coleção de Culturas da Universidade de Gotemburgo). Placas de subcultura foram feitas para *G. vaginalis* em placas Chocolate-GL e *Lactobacillus* spp. em M.R.S. placas de ágar a 5% de CO<sub>2</sub>, 36 °C. Os inóculos foram preparados a partir das placas de subcultura. As colônias foram inoculadas em tubos de cultura com 5 ml de meio de teste e submetidas a vórtice durante 2 minutos com cerca de 10 esferas de vidro com 3 mm de diâmetro. As colônias foram mantidas até a turbidez da solução ser OD<sub>475</sub> de 0,4 a 0,5. As soluções bacterianas foram verificadas em microscopia óptica a x40 com contraste de fase para garantir que as células foram dispersas. Cada suspensão bacteriana foi diluída em seu meio de teste, 1: 100, para igual 1-3 x 10<sup>6</sup> UFC/ml. As soluções microbianas foram armazenadas a 20 °C durante a preparação dos inóculos

#### PREPARAÇÃO PARA MICRODILUIÇÃO E TESTE CIM

[000155] A solução da substância de teste foi preparada de modo asséptico a 1 g/ml em H<sub>2</sub>O estéril. A primeira fila de poços foi preenchida com 100 µL de substância e depois foram feitas diluições de 2 vezes verticalmente em 8 etapas. Os controles foram incluídos: i) controles de crescimento para cada cepa (+ctrl) = respectivo microrganismo no meio de teste sem agente antimicrobiano (AM); ii) nenhum controle de crescimento (-ctrl) = meio de teste e substância na concentração mais alta testada; certifique-se de que a substância sozinha não gere uma mudança de cor do meio de teste; iii) controle da gentamicina para cada cepa

[000156] Em seguida, 100 µl de microorganismos foram adicionados e as placas foram agitadas suavemente a 500 rpm por 30 segundos antes da incubação a 35 °C e 90% de UR na incubadora de CO<sub>2</sub> ajustada em 5% de CO<sub>2</sub>. Após 48 e 72 horas de incubação, a DO foi medida e as avaliações oculares foram realizadas. O pH também foi medido para todas as diluições, n = 1, pH = 6,8 -7,1

[000157] Os ensaios de microdiluição CIM foram realizados em triplicado para avaliar os valores de CIM para GDL contra *G. vaginalis* (CAMHB) e *L. crispatus* (IsoS-MRS) após 48 horas de incubação a 5% de CO<sub>2</sub> e *L. iners* cultivados em condições anaeróbias após 120 horas (tabela 7)

**TABELA 9. CONCENTRAÇÕES INIBITÓRIAS MÍNIMAS (CIMS) PARA GDL CONTRA G. VAGINALIS (CAMHB), L. CRISPATUS (ISOS-M.R.S.) E L. INERS (CAMHB).**

Cepa	Identificação CCUG	CIM (g/ml)
<i>G. vaginalis</i>	CCUG 3717	0,001
<i>L. crispatus</i>	CCUG 44128	0,0078
<i>L. iners</i>	CCUG 44025	0,0078

[000158] O valor da concentração inibitória mínima (CIM) do GDL contra *Gardnerella vaginalis* é muito inferior ao valor da CIM do GDL contra *Lactobacillus iners* e *Lactobacillus crispatus*. Assim, o GDL é mais eficaz contra a *Gardnerella vaginalis* do que contra os *Lactobacillus iners* benignos e *Lactobacillus crispatus*.

EXEMPLO 14: TESTE CIM DE GDL EM ESCHERICHIA COLI, STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS, STAPHYLOCOCCUS AUREUS, PSEUDOMONAS AERUGINOSA, ACETINOBACTER BAUMANII, STREPTOCOCCUS PYOGENES, STREPTOCOCCUS AGALACTIAE, BETA-HEMOLYTIC STREPTOCOCCI GROUPS C E G E PORPHYROMONAS GINGIVALIS.

CEPA

[000159] Aeróbicos:

[000160] *Escherichia coli* CCUG 3274/ATCC 10536

[000161] *Staphylococcus epidermidis* CCUG 23118

[000162] *Staphylococcus aureus* CCUG 15915/ATCC 29213

[000163] *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1) CCUG 56489/ATCC

15692

[000164] *Acetivobacter baumanii* CCUG 57035

[000165] Aeróbicos exigentes:

[000166] *Streptococcus pyogenes* CCUG 47803/ATCC 700294

[000167] *Streptococcus agalactiae* CCUG 29376

[000168] Grupos *Estreptococos* *Beta-Hemolíticos* C

*Streptococcus dysgalactiae* ss *equisimilis* CCUG 4211

[000169] Grupos *Estreptococos* *Beta-Hemolíticos* G

*Streptococcus dysgalactiae* ss *equisimilis* CCUG 7975

[000170] Anaeróbicos:

[000171] *Porphyromonas gingivalis* CCUG 25893/ATCC 33277

#### PREPARAÇÃO DE INÓCULOS

[000172] Todas as estirpes foram recuperadas de microbancos e foram feitas placas de tiras e subculturas. Os aeróbicos nas placas TSA, os aeróbicos exigentes nas placas de sangue de cavalo e o anaeróbio nas placas FAA. Ao longo do estudo, os aeróbicos foram cultivados em condições aeróbicas, o exigente a 5% de CO<sub>2</sub> e o anaeróbio em condições anaeróbicas estritas a 37 °C. No momento do teste, suspensões de colônias selecionadas de placas de ágar de 18 a 24 horas para os aeróbios e aeróbios exigentes foram suspensas em 5 ml de solução salina em tubos de 10 ml contendo 10 esferas de vidro com 3 mm de diâmetro.

[000173] Os anaeróbios foram suspensos no Concept 400 e o diluente foi reduzido com caldo de Brucella suplementado com hemina (5 µg/ml), vitamina K1 (1 µg/ml) e sangue de cavalo lisado (5%). As suspensões celulares foram então agitadas em vórtice vigorosamente por 1 minuto para obter uma suspensão turva. Cada suspensão dos aeróbicos e aeróbicos exigentes foi ajustada para OD igual a 0,28 a 475 nm usando um espectrofotômetro, que se correlaciona aproximadamente com 1-3 x 10<sup>8</sup> UFC/ml com a maioria das espécies. Para o anaeróbio, a medição da DO acabou sendo difícil devido ao uso de sangue no meio de cultura. Por isso, foi suspenso para igualar o padrão 0,5 Mc Farland e a densidade celular do inóculo verificada por contagem de placas. Os aeróbicos e aeróbicos exigentes

foram posteriormente diluídos em solução salina 10 vezes para que a concentração de inóculo fosse igual a  $1,5 - 3,0 \times 10^7$  UFC/ml. O anaeróbio não foi diluído, mas usado diretamente como é. As diferentes suspensões bacterianas aeróbicas fastidiosas foram transferidas para os respectivos poços de uma placa de 96 poços. *A. baumannii*, *E. coli*, e *P. aeruginosa* foram colocadas em uma linha, *Staphylococci* spp foram colocados em uma segunda fila, e os aeróbicos fastidiosos foram colocados em uma terceira fila da placa. O anaeróbio foi transferido de um reservatório de pipeta multicanal de 25 ml.

#### PREPARAÇÃO PARA MICRODILUIÇÃO E TESTE CIM

[000174] As preparações de microdiluição e os testes CIM foram realizados como no Exemplo 13.

[000175] Os ensaios de microdiluição da CIM foram realizados em triplicado para avaliar os valores CIM para glucona-Delta-lactona (GDL) (Tabela 10).

**TABELA 10. AS CONCENTRAÇÕES INIBITÓRIAS MÍNIMAS (CIMS) PARA GDL CONTRA ESCHERICHIA COLI, STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS, STAPHYLOCOCCUS AUREUS, PSEUDOMONAS AERUGINOSA, ACETINOBACTER BAUMANII, STREPTOCOCCUS PYOGENES, STREPTOCOCCUS AGALACTIAE, STREPTOCOCCUS AGALACTIAE, ESTREPTOCOCOS BETA HEMOLÍTICOS DOS GRUPOS C E G E PORPHYROMONAS GINGIVALIS.**

Cepa	Identificação CCUG	CIM (g/ml)
A. baumannii	CCUG 57035	0,0031
E. coli	CCUG 3274	0,0063
P. aeruginosa	CCUG 56489	0,0031
S. aureus	CCUG 15915	0,0063
S. epiderme	CCUG 23118	0,0031
S. agalactiae	CCUG 29376	0,0031
Grupo C de estreptococos Beta-Hemolíticos	CCUG 4211	0,0016

Grupo G de Streptococcus Beta- Hemolíticos	CCUG7975	0,0031
S. pyogenes	CCUG 47803	0,0031
P. gingivalis	CCUG 25893	0,0031

[000176] O valor de concentração inibidora mínima (CIM) de GDL contra *a Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acetivobacter baumannii*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, Grupos C e G de beta-hemolítico *Streptococcus* e *Porphyromonas gingivalis* é geralmente mais baixa do que o valor de CIM de GDL contra *Lactobacillus iners* e *Lactobacillus crispatus* (Exemplo 13). Assim, o GDL é mais eficiente contra estes patógenos do que contra os benignos *Lactobacillus iners* e *Lactobacillus crispatus*.



fúngica e bacteriana mista e uma infecção viral, ou uma combinação dos mesmos.

4. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção microbiana é uma infecção bacteriana.

5. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção microbiana é uma infecção urogenital.

6. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção microbiana é uma infecção vaginal.

7. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção bacteriana é vaginose bacteriana.

8. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é dermatite e/ou eczema.

9. Composto, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado** pelo fato de que a dermatite e/ou eczema é dermatite seborréica.

10. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção secundária de dermatite ou eczema.

11. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é acne e/ou condições acneiformes.

12. Composto, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que a acne ou condições acneiformes são rosácea, dermatite perioral ou dermatite periorbital.

13. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é furunculose, carbunculose ou foliculite.

14. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é impetigo ou erisipela.

15. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é queilite.

16. Composto, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que a queilite é queilite angular.

17. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção bacteriana é periodontite.

18. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é secundária a secundária à colonização de bactérias multirresistentes aos estreptococos do grupo A ou B.

19. Composto, de acordo com a reivindicação 18, **caracterizado** pelo fato de que a colonização é oral, nasal ou anogenital.

20. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é dermatite estreptocócica perianal.

21. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é dermatite intertriginosa ou paroníquia.

22. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção bacteriana é selecionada do grupo que é causado por *Gardnerella vaginalis*-, *Chlamydia trachomatis*-, *Neisseria gonorrhoeae*-, *Treponema pallidum* (sífilis)-, *Atopobium vaginae*-, *Prevotella* spp-, *Mobiluncus* spp-, *Peptostreptococcus* spp-,



*Poryphyromonas* spp-, *Mycoplasma hominis*-, *Bacteroides* spp-, *Ureaplasma urealyticum*-, *Streptococcus* spp-, *Enterobacteriaceae*-, *Enterococci*-, *Staphylococcus* spp-, *Propionibacterium*-, *Escherichia coli*-, *Klebsiella*-, *Staphylococcus epidermidis*-, *Staphylococcus aureus*-, *Pseudomonas aeruginosa*-, *Acetivobacter baumannii*-, *Streptococcus pyogenes*-, *Streptococcus agalactiae*-, grupos G e C de *Estreptococos Beta-Hemolíticos* e/ou infecção de *Poryphyromonas gingivalis*.

23. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção por *Saccharomyces cerevisiae*.

24. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção fúngica é uma micose.

25. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a micose é selecionada a partir do grupo que consiste em Dermatofitose, Candidíase, Coccidioidomicose, Histoplasmose, Blastomicose, Paracoccidioidomicose, Esporotricose, Cromomicose e Abscesso Feomicótico, Aspergilose, Ziperocitose, Zika .

26. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a micose é candidíase.

27. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a candidíase é selecionada do grupo que consiste em candidíase de vulva e vagina; Candidíase da pele e unhas; Candidíase de locais urogenitais; Candidíase de locais gastrointestinais; Estomatite candida; Cândida da mama e mamilo; Candidíase pulmonar; Meningite candidal; Endocardite candidal; e sepse candidal.

28. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a micose é dermatofitose.

29. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a Dermatofitose é selecionada do grupo que consiste em *Tinea unguium*; onicomiose nas unhas dos pés; *Tinea inguinal*; *Tinea amiantacea*; *Tinea pedis*; *Tinea manuum*; *Tinea barbae*, *Tinea capitis*; *Tinea corporis*; *Tinea imbricata*; e *Tinea cruris*.

30. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a micose é Pitíriase versicolor.

31. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção fúngica é selecionada do grupo que consiste em *Candida albicans*-, *Candida krusei*-, *Candida glabrata*-, *Candida tropicalis*-, *Trichophyton verrucosum*-, *Trichophyton rubrum*-, *Trichophyton violaceum*-, *Trichophyton tonsurans*-, *Microsporum canis*-, *Malassezia* e infecção de *Aspergillus* .

32. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção em um mamífero.

33. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o mamífero é um humano.

34. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o humano é uma mulher.

35. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a mulher está grávida.

36. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção da face, couro cabeludo, tronco e/ou virilha.

37. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção de feridas na pele infectadas.

38. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção dos pés.

39. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção dos pés é secundária a unhas encravadas ou bolhas dos pés.

40. Composto, de acordo com a reivindicação 39, **caracterizado** pelo fato de que a infecção está associada a feridas diabéticas nos pés.

41. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção secundária que surge após a mordida do animal.

42. Composto, para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção secundária que ocorre após picadas de insetos, picadas de mosquito, picadas de carrapatos, eritema migratório ou linfadenose cutânea benigna.

43. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção secundária do herpes simplex.

44. Composto, de acordo com a reivindicação 43, **caracterizado** pelo fato de que a infecção secundária do herpes simplex é oral ou genital.

45. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção secundária por herpes zoster ou varicela zoster.

46. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção secundária de lesão na pele.

47. Composto, de acordo com a reivindicação 46, **caracterizado** pelo fato de que a lesão na pele é queimadura ou corte.

48. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é blefarite.

49. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é conjuntivite.

50. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma vaginite ou uma cervicite.

51. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é tricomoníase.

52. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é uma infecção por *Trichomonas vaginalis*.

53. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção microbiana é uma infecção viral.

54. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que a infecção viral é HIV.

55. Composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é uma lactona do mesmo.

56. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que alquil é uma cadeia alifática de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, em que um ou mais hidrogênios são opcionalmente substituídos por –OH, = O ou fenil e em que um ou mais dos grupos CH<sub>2</sub> da cadeia alifática é opcionalmente substituído por O, S ou NH.

57. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos um de R' é –OR.

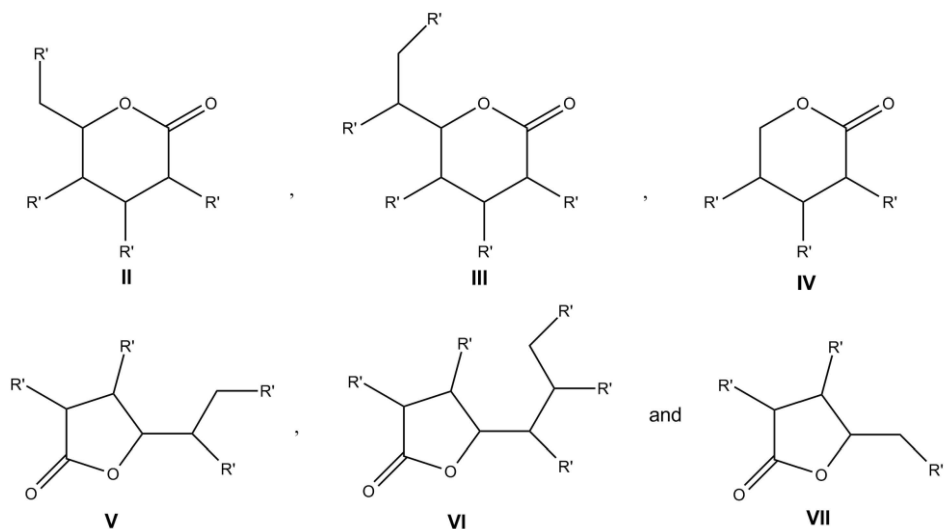
58. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos dois, como pelo menos três, como pelo menos quatro, como pelo menos cinco, como pelo menos cinco, como pelo menos seis de R' é OR.

59. O composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que R' é -OR.

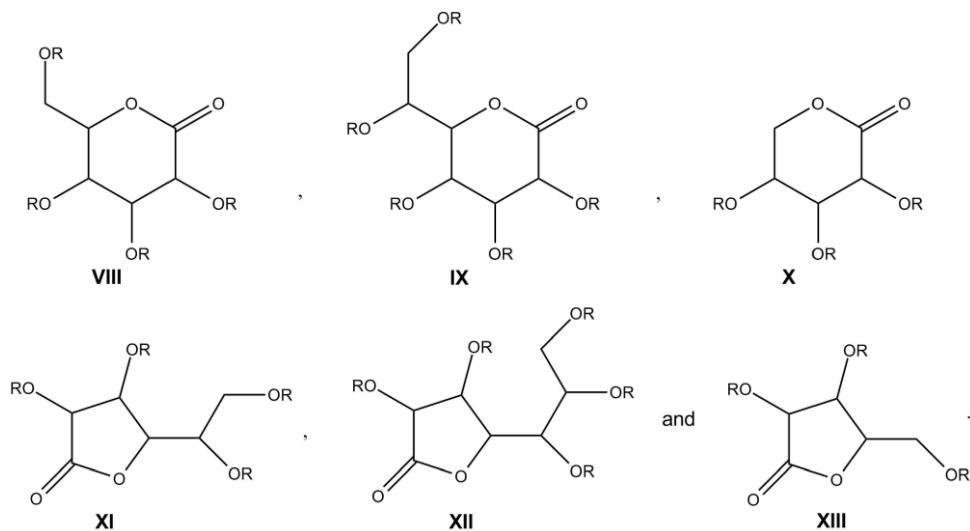
60. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos um de R' é –OH.

61. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que não mais que um de R' é –H, tal como não mais que dois de R' é –H.

62. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é selecionado a partir do grupo que consiste em



63. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é selecionado a partir do grupo que consiste em



64. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que alquil é uma cadeia alifática de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, como uma cadeia alifática de C<sub>1</sub> a C<sub>15</sub> cadeia alifática de C<sub>1</sub> a C<sub>10</sub>, cadeia alifática de C<sub>1</sub> a C<sub>5</sub> como uma cadeia alifática de C<sub>5</sub> a C<sub>20</sub> cadeia alifática, como uma cadeia alifática de C<sub>5</sub> a C<sub>15</sub> como uma cadeia alifática de C<sub>5</sub> a C<sub>10</sub> como uma cadeia alifática de C<sub>10</sub> a C<sub>20</sub>, como uma cadeia alifática de C<sub>10</sub> a C<sub>15</sub>

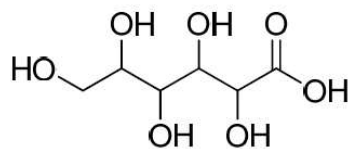
65. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o alquil é selecionado a partir do grupo que consiste em metil, etil e propil.

66. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que -OR é acetato ou lactato.

67. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que R é -H.

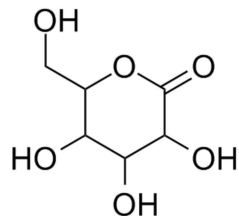
68. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que n é 2.

69. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto da Fórmula I é



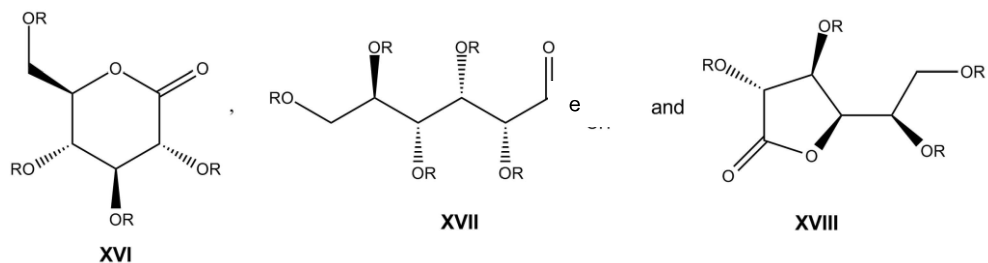
#### XIV

70. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto da Fórmula I é um composto da Fórmula XV,

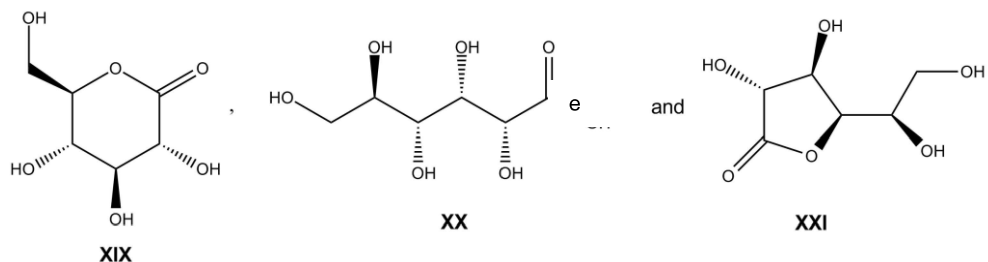


#### XV

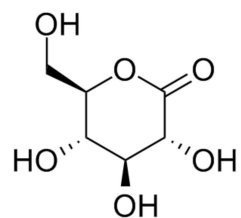
71. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é selecionado a partir do grupo que consiste em



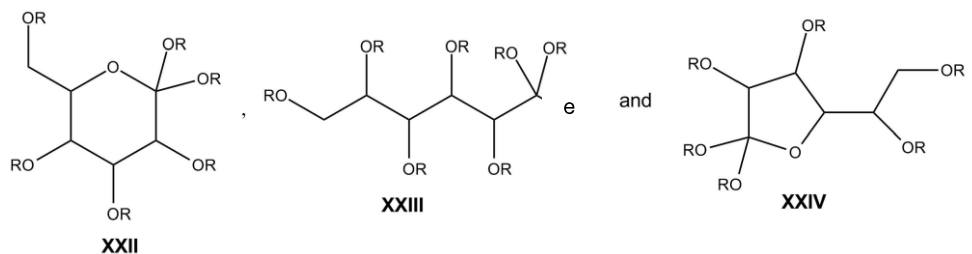
72. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é selecionado a partir do grupo que consiste em



73. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto da Fórmula I é glucona-Delta-lactona (Fórmula XIX),

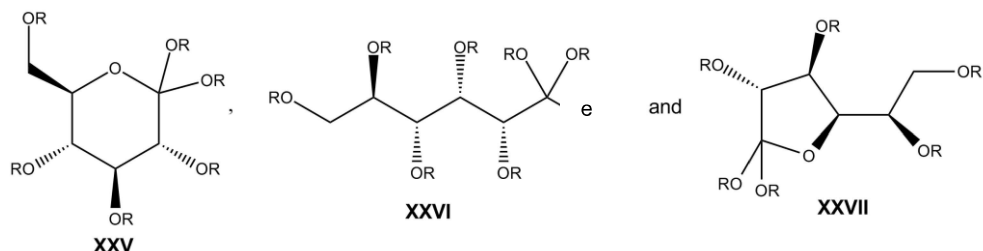


74. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é selecionado a partir do grupo que consiste em





75. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é selecionado a partir do grupo que consiste em



76. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é oligomerizado para formar um oligômero.

77. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto de Fórmula I é polimerizado para formar um polímero.

78. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o oligômero ou polímero compreende um composto de Fórmula I.

79. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o oligômero ou polímero é um oligômero/ polímero misto.

80. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o oligômero ou polímero compreende ainda ácido láctico.

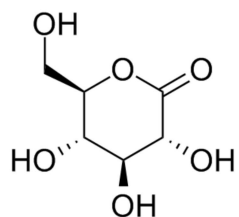
81. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o oligômero compreende pelo menos dois compostos diferentes da Fórmula I.

82. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que dois compostos de Fórmula I estão ligados para formar um dímero.

83. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o dímero compreende dois compostos de Fórmula XIV.

84. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o dímero compreende dois compostos diferentes da Fórmula I.

85. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto não é glucona-Delta-lactona (Fórmula XIX),



**XIX**

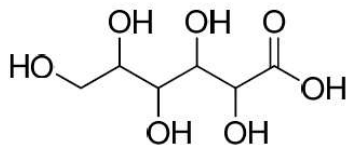
86. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato e com a condição de que, se o composto de Fórmula I for o composto de Fórmula XIX, a infecção microbiana não será uma infecção fúngica.

87. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato e com a condição de que, se o composto de Fórmula I for o composto de Fórmula XIX, a infecção microbiana não será uma infecção fúngica urogenital.

88. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato e com a condição de que, se o composto da Fórmula I for o composto da Fórmula XIX, a infecção microbiana não será a candidose vulvovaginal.

89. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato e com a condição de que, se

a infecção microbiana for uma infecção fúngica urogenital, o composto da Fórmula I não será um composto da Fórmula XIV,



#### XIV

90. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o composto está em uma composição farmacêutica.

91. Composto, de acordo com a reivindicação 90, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica é formulada como um comprimido, comprimido desintegrador por via oral, pastilha, goma, goma de mascar, creme, loção, gel, emulsão, solução, espuma, pomada, spray, enxaguatório bucal em suspensão, esmalte para unhas, adesivo cutâneo ou xampu.

92. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 91, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende pelo menos 5% em peso, como pelo menos 10% em peso, como pelo menos 15% em peso, como pelo menos 20% em peso, como pelo menos 25% em peso, tal como pelo menos 30% em peso, tal como pelo menos 40% em peso, tal como pelo menos 50% em peso, tal como pelo menos 60% em peso do composto de Fórmula (I).

93. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 92, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende não mais que 99% em peso, como não mais que 95% em peso, como não mais que 90% em peso, como não mais que 85% em peso, como não mais que 80% em peso, como não mais que 75% em peso do composto de Fórmula (I).

94. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 93, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende 5 a 99% em peso, como em 10 a 95% em peso, como em 15 a 95% em peso, como em 20 a 90% em peso, como em 40 a 95% em peso, tal como em 40 a 95% em peso, tal como em 50 a 95% em peso do composto de Fórmula (I).

95. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 94, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende não mais que 10% em peso de água, como não mais que 5% em peso de água.

96. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 95, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende ainda um ou mais agentes antifúngicos.

97. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 96, **caracterizado** pelo fato de que o agente antifúngico é selecionado do grupo que consiste em miconazol, terconazol, isoconazol, fenticonazol, fluconazol, nistatina, cetconazol, clotrimazol, butoconazol, econazol, tioconazol, itraconazol, 5-fluoracil, e metronidazol.

98. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 97, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende ainda um ou mais agentes antibacterianos.

99. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 98, **caracterizado** pelo fato de que o agente antibacteriano é selecionado do grupo que consiste em clindamicina, tetraciclina, amoxicilina, ampicilina, eritromicina, doxiciclina, lumefloxacina, norfloxacina, afloxam, ciproflaxina, azitromicina e ceftioxima.

100. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 99, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende ainda um esteróide.

101. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 100, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende ainda cortisona.

102. Composto para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 101, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica é formulada como um tampão, vagitorium, aerossol vaginal, copo vaginal, gel vaginal, inserção vaginal, adesivo vaginal, anel vaginal, esponja vaginal, supositório vaginal, creme vaginal, emulsão vaginal, espuma vaginal, loção vaginal, pomada vaginal, pó vaginal, xampu vaginal, solução vaginal, spray vaginal, suspensão vaginal, comprimido vaginal, haste vaginal, disco vaginal, dispositivo vaginal e qualquer combinação dos mesmos, ou em que a composição é presente em um artigo sanitário, como um absorvente interno, um absorvente, uma almofada ou fralda para incontinência ou um forro de roupa íntima.

103. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 90 a 102, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica é adaptada para administração por pelo menos uma vez ao dia durante pelo menos uma semana.

104. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 103, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica é formulada para liberar o composto de acordo com a Fórmula I durante um período prolongado de tempo, como durante pelo menos 4 horas, como durante pelo menos 6 horas, como pelo menos 24 horas após a administração.

105. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 104, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica é adaptada para administração pelo menos uma vez ao dia, como pelo menos duas vezes ao dia, como pelo menos três vezes ao dia.

106. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 105 **caracterizado** pelo fato de que a composição

farmacêutica é adaptada para administração não mais que a cada dois dias, como não mais que a cada três dias, como não mais que uma vez por semana.

107. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 106, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica é adaptada para administração por não mais que seis dias.

108. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 a 107, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica é adaptada para administração durante pelo menos uma semana, como durante pelo menos duas semanas, como durante pelo menos três semanas, como durante pelo menos quatro semanas.

109. Método, para prevenção e/ou redução da formação de biofilme, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende a administração de um composto de Fórmula I ou uma composição compreendendo um composto de Fórmula I.

110. Método, de acordo com a reivindicação 109, **caracterizado** pelo fato de que o biofilme é um biofilme dentro ou sobre um mamífero.

111. Método, de acordo com a reivindicação 109, **caracterizado** pelo fato de que o biofilme é um biofilme de um implante ou prótese.

112. Método, de acordo com a reivindicação 111, **caracterizado** pelo fato de que o implante ou prótese é selecionado do grupo que consiste em cateter, cateter venoso periférico, cateter venoso central, válvulas cardíacas, dispositivos de assistência ventricular, stents coronários, derivações ventriculares neurocirúrgicas, estimuladores neurológicos implantáveis, estimuladores neurológicos implantáveis, prótese de artrose, dispositivos de fixação de fraturas, implantes penianos infláveis, implantes mamários, implantes cocleares, lentes intraoculares, implantes dentários, implante para laringectomia, implante para traqueostomia, prótese vocal,

implante para mobilidade da mandíbula, implante para timpanostomia e implantes dentários.

113. Composto de Fórmula I, **caracterizado** pelo fato de que é para uso na prevenção de nascimentos prematuros.

114. Composto, de acordo com a reivindicação 113, **caracterizado** pelo fato de que os compostos são administrados por via vaginal.

115. O composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 113 a 114, **caracterizado** pelo fato de que o composto é formulado como um tampão, vagitorium, aerossol vaginal, copo vaginal, gel vaginal, inserção vaginal, adesivo vaginal, anel vaginal, esponja vaginal, supositório vaginal, creme vaginal, emulsão vaginal, espuma vaginal, loção vaginal, pomada vaginal, pó vaginal, xampu vaginal, solução vaginal, spray vaginal, suspensão vaginal, comprimido vaginal, haste vaginal, disco vaginal, dispositivo vaginal e qualquer combinação dos mesmos, ou em que o composto está presente em um artigo sanitário, como um absorvente interno, um absorvente, uma almofada ou fralda para incontinência ou um forro de roupa íntima.

116. Método de tratamento de uma ou mais infecções microbianas, **caracterizado** pelo fato de que compreende a coadministração de um composto de Fórmula I e um agente antimicrobiano a um indivíduo em necessidade do mesmo.

117. Método, de acordo com a reivindicação 116, **caracterizado** pelo fato de que o agente antimicrobiano é um agente antifúngico ou um agente antibacteriano.

118. Método de tratamento de uma ou mais infecções microbianas, **caracterizado** pelo fato de que compreende a coadministração de um composto de Fórmula I, conforme definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, a um indivíduo em necessidade do mesmo.

119.                Uso de um composto de Fórmula I, tal como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento e/ou prevenção de uma infecção microbiana.

120.                Uso de um composto de Fórmula I, tal como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento e/ou prevenção da formação de biofilme.



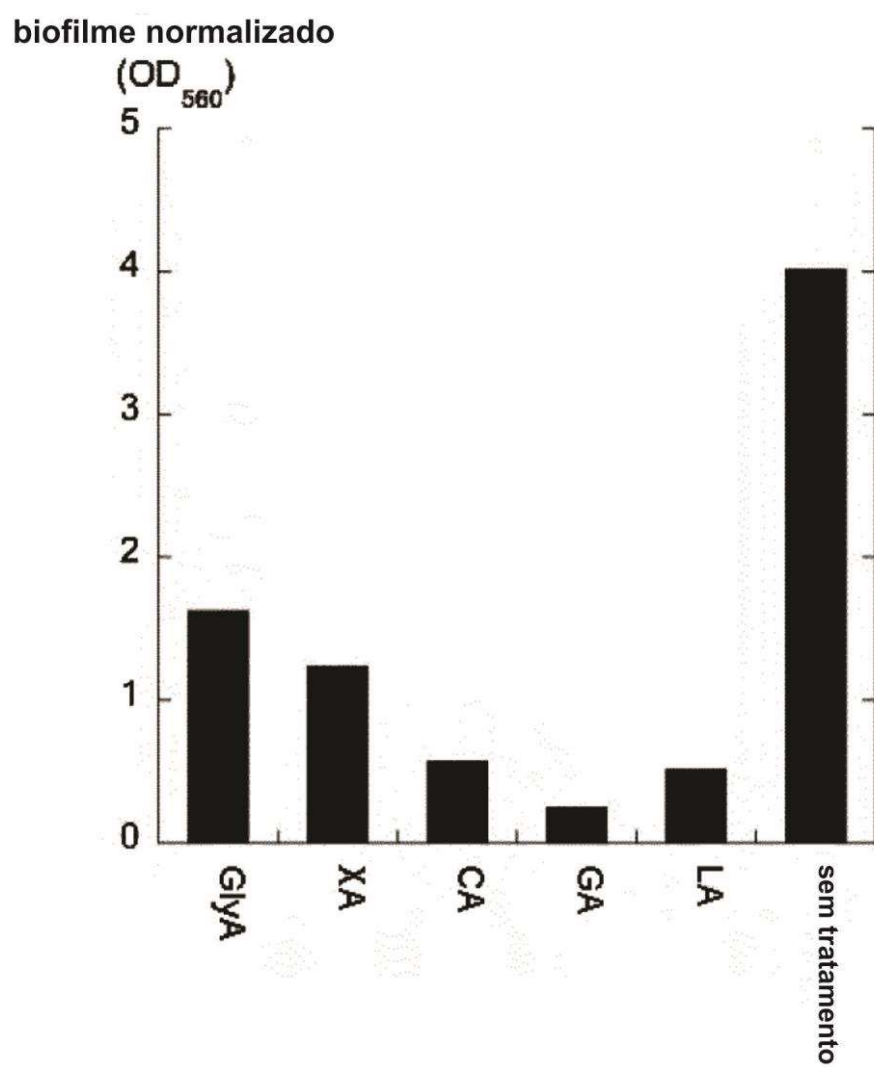


Figura 1

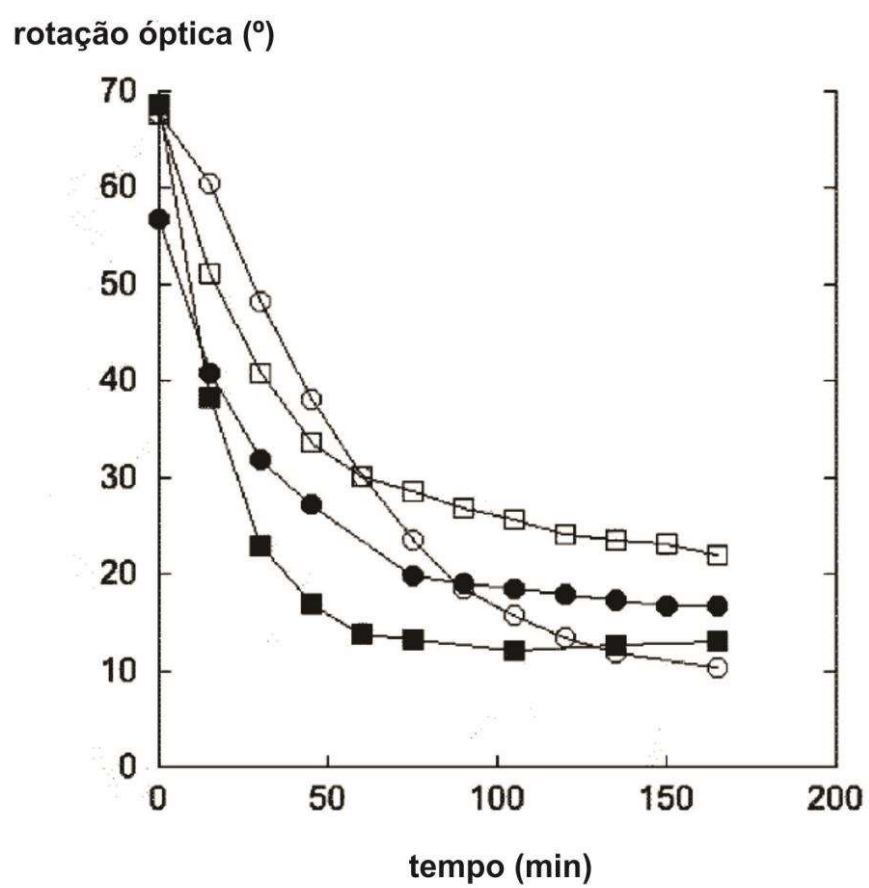


Figura 2

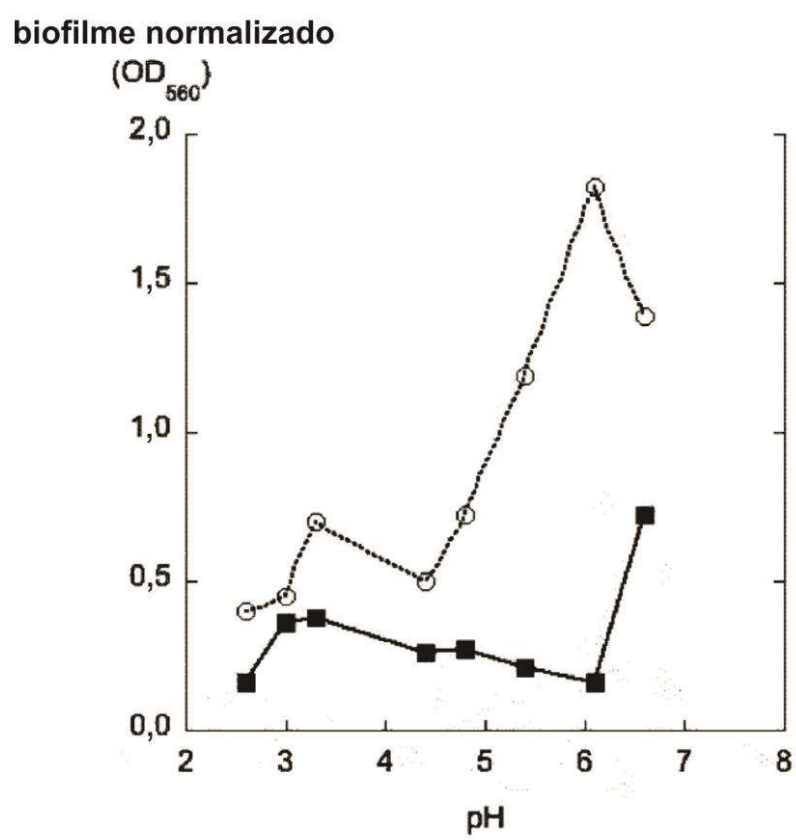
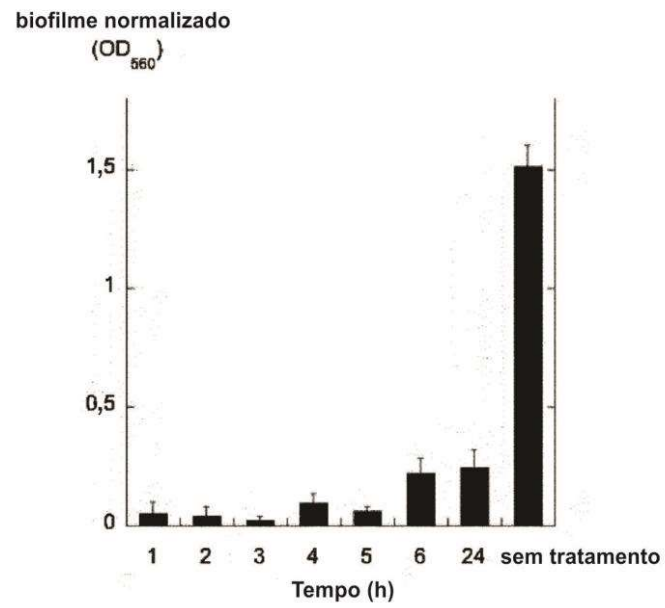
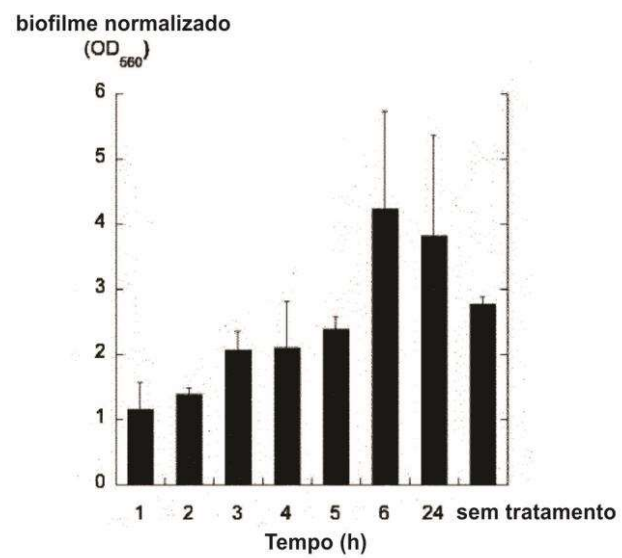


Figura 3

A



B



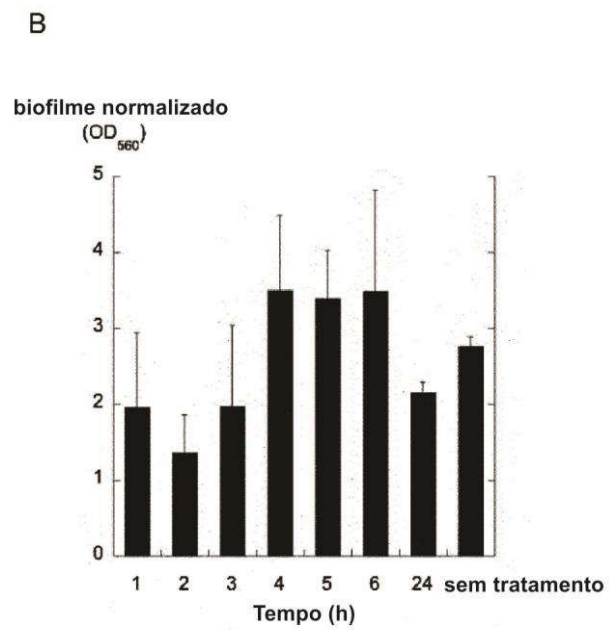
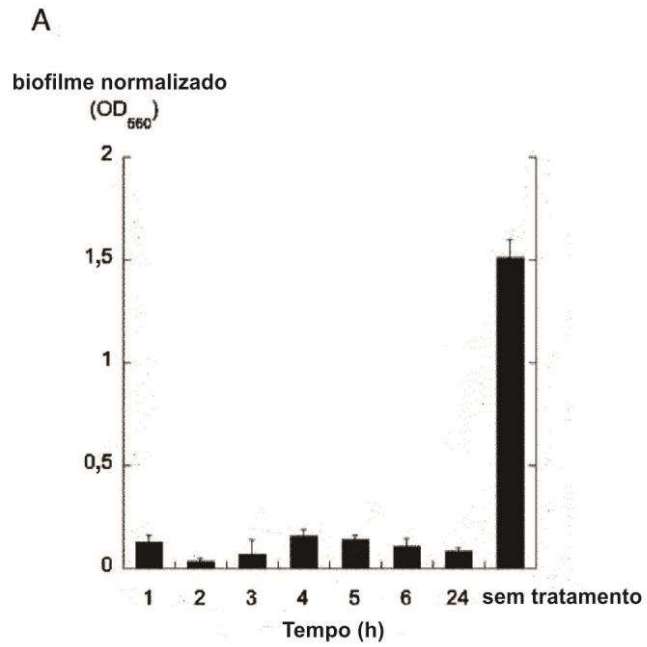
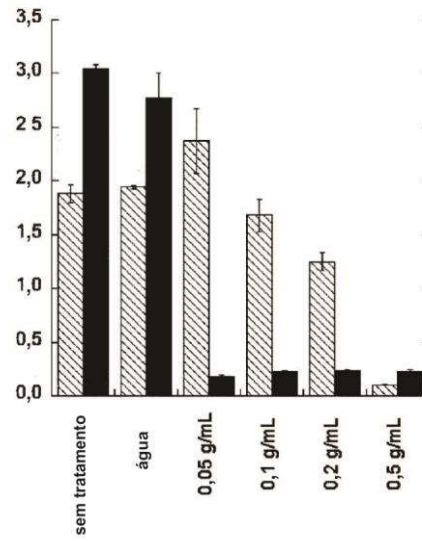


Figura 5

A



B

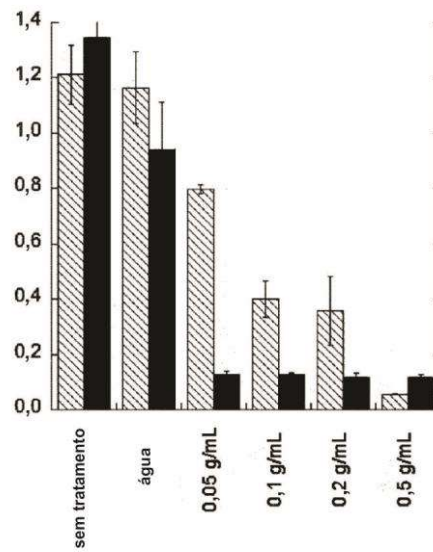


Figura 6

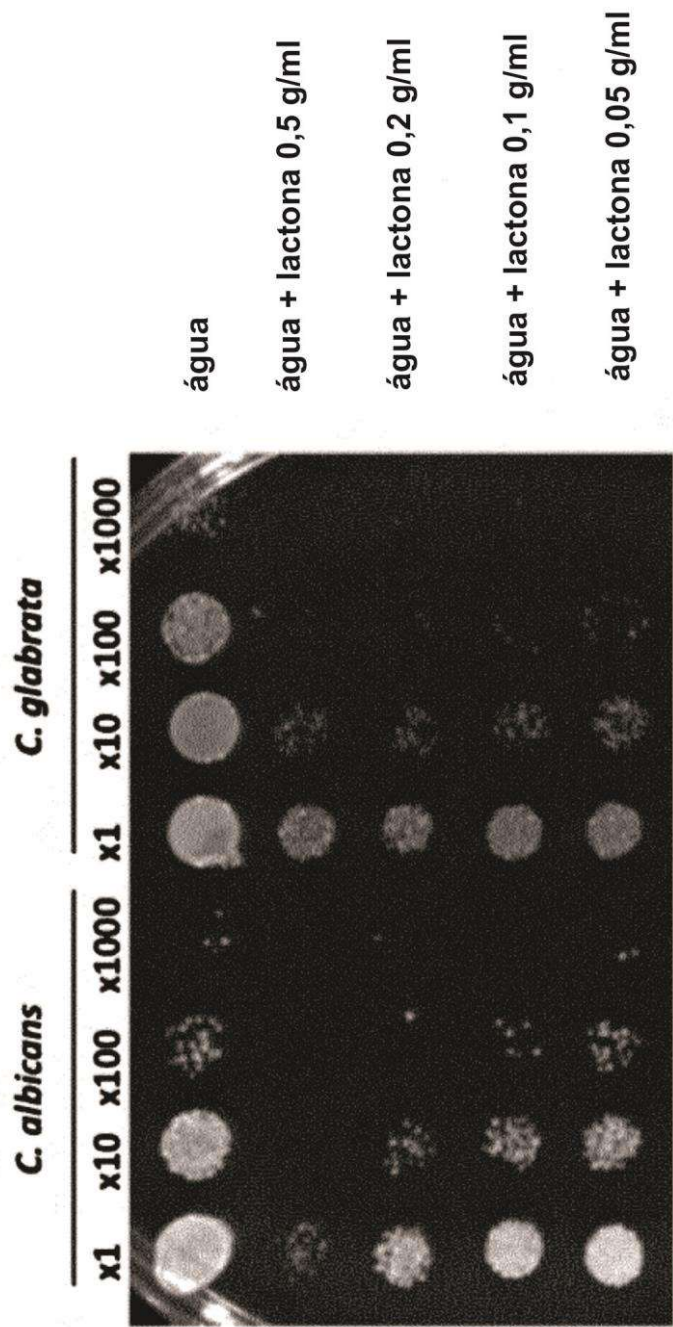


Figura 7

A

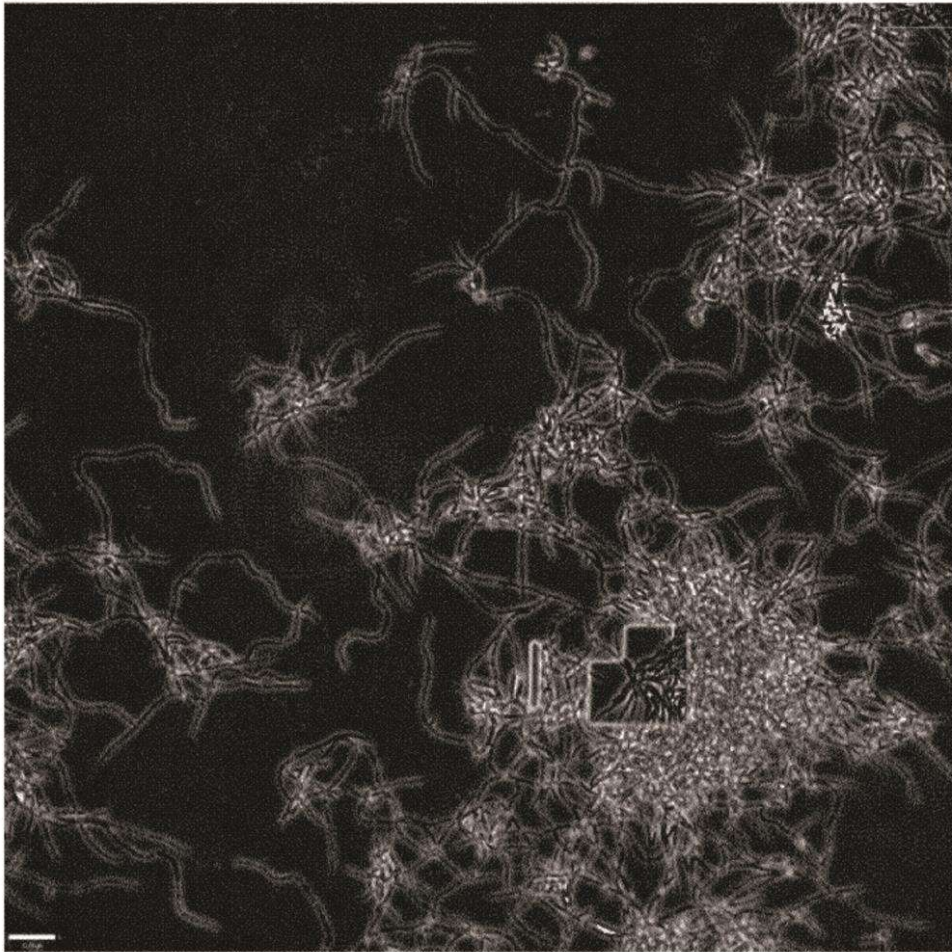


Figura 8



B

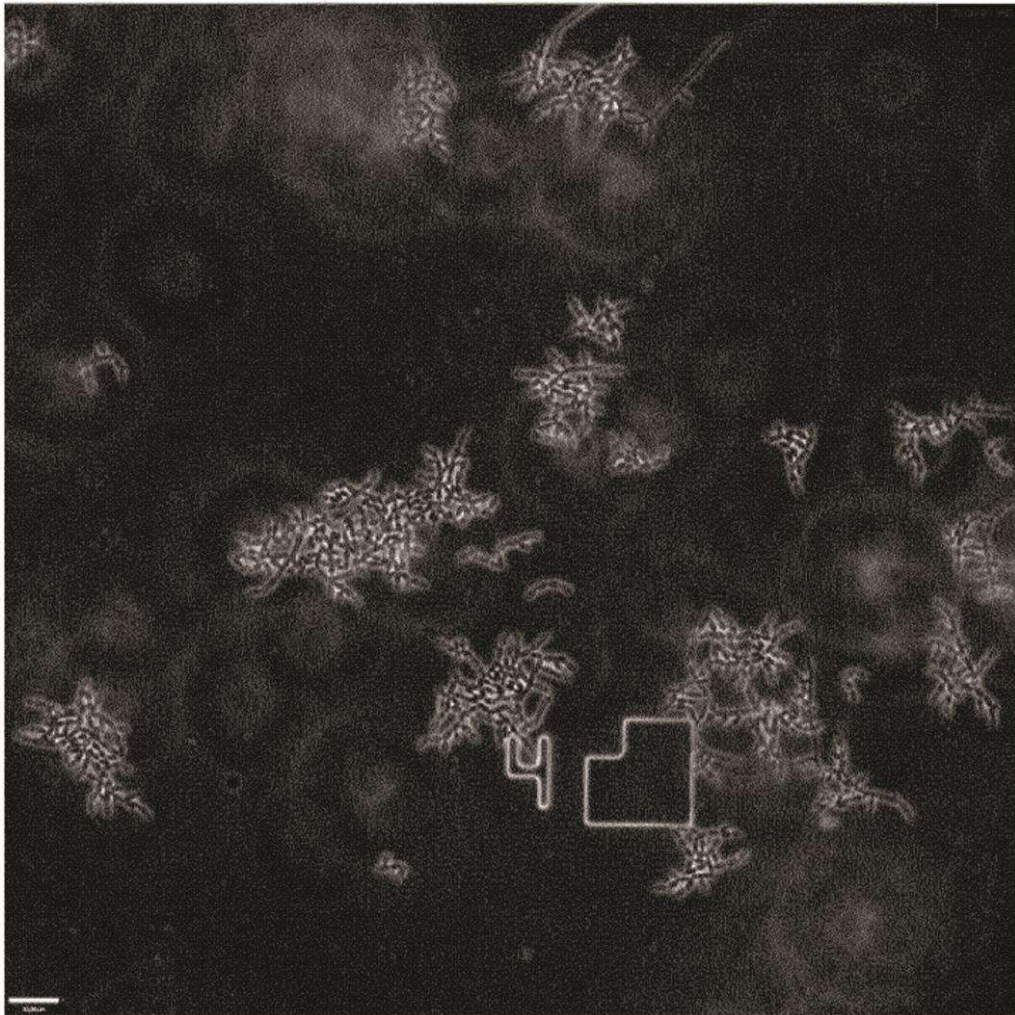


Figura 8 cont.

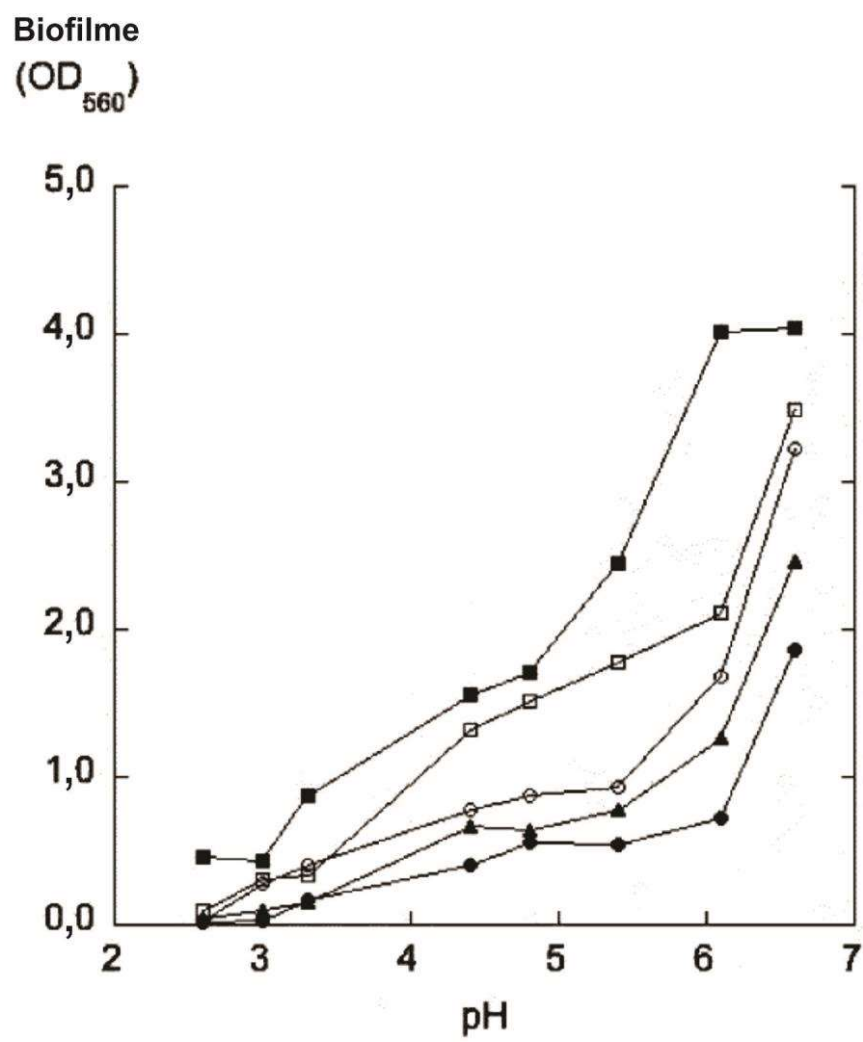


Figura 9

## **RESUMO**

### **“DERIVADOS DE ÁCIDO GLUCÔNICO PARA USO NO TRATAMENTO E/OU PREVENÇÃO DE INFECÇÕES MICROBIANAS”**

A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo um composto de Fórmula I para uso no tratamento e/ou prevenção de infecções microbianas. Além disso, a presente invenção refere-se a um método para prevenção e/ou redução da formação de biofilme.