



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 357 474**

51 Int. Cl.:
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
A61P 15/18 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01916401 .1**
96 Fecha de presentación : **06.03.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1263411**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.12.2002**

54 Título: **Composiciones y su uso para atrapar e inactivar microbios patógenos y espermatozoides.**

30 Prioridad: **07.03.2000 US 187574 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.04.2011

73 Titular/es:
**Rush-Presbyterian-St.Luke's Medical Center
1653 West Congress Parkway
Chicago, Illinois 60612-2833, US**

72 Inventor/es: **Garg, Sanjay;
Zaneveld, Lourens, Jan, Dirk;
Anderson, Robert, Anthony, Jr. y
Waller, Donald, Paul**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 357 474 T3

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

DESCRIPCION

Campo de la Invención

5 Esta invención se refiere, en general, a composiciones y métodos para prevenir la transmisión de enfermedades de transmisión sexual (ETS) y/o para reducir la tasa de transmisión de tales enfermedades de transmisión sexual en individuos sexualmente activos. Esta invención también se refiere, en general, a composiciones y métodos para evitar la concepción y/o reducir el riesgo de concepción en mujeres sexualmente activas. Aunque sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que las composiciones de esta invención, cuando se usan dentro de la vagina durante el acto sexual, tienden a atrapar físicamente e inactivar microbios patógenos asociados con ETS así como espermatozoides contenidos en la eyaculación que pueden depositarse dentro de la vagina. Las presentes composiciones y métodos son especialmente eficaces para prevenir, o reducir la probabilidad de, la concepción en mujeres sexualmente activas y reducir el riesgo de infectarse por, o de transmitir, enfermedades de transmisión sexual durante el acto sexual entre hombre y mujer. Puede, sin embargo, usarse por individuos heterosexuales, homosexuales y bisexuales para reducir el riesgo de infectarse por, o transmitir, una enfermedad de transmisión sexual a través del contacto sexual. El presente método de esta invención es especialmente eficaz cuando se usa junto con técnicas denominadas de "sexo seguro".

10 El método de esta invención generalmente comprende aplicación de una cantidad eficaz del gel inmovilizador dentro de la vagina. Aunque puede usarse un aplicador para aplicar gel inmovilizador dentro de la vagina, dicho aplicador se retiraría antes de la actividad sexual. Preferiblemente, el gel inmovilizador se aplica antes de la actividad sexual. Aunque quizás no sea tan eficaz, también puede aplicarse después de la actividad sexual; dicha aplicación retardada debería realizarse en cuanto fuera posible después de la actividad sexual. Puede obtenerse mayor protección mediante la aplicación del gel inmovilizador justo antes y justo después de la actividad sexual. Aunque el presente gel inmovilizador está diseñado para proporcionar actividad anti-ETS durante la actividad heterosexual, también puede proporcionar protección contra ETS durante otras actividades sexuales (por ejemplo, sexo anal heterosexual u homosexual); a lo largo de esta memoria descriptiva, se entiende que las referencias a acto sexual heterosexual incluyen otras formas de actividad sexual.

20 Los geles inmovilizadores de la presente invención tienen actividades tanto antimicrobianas como anticonceptivas. Las formulaciones antimicrobianas y anticonceptivas de la presente invención generalmente tienen menos efectos secundarios que los anticonceptivos vaginales convencionales (por ejemplo, nonoxinol-9). Por ejemplo, los geles inmovilizadores útiles en esta invención generalmente no son tóxicos (o son sólo ligeramente tóxicos) en sus niveles eficaces para la flora vaginal natural y beneficiosa y, de este modo, no alteran de forma significativa el equilibrio microbiológico local. Por supuesto, la inclusión de anticonceptivos tales como nonoxinol-9 en los presentes geles inmovilizadores aumentarán el riesgo de efectos secundarios. En líneas generales, sin embargo, tales anticonceptivos pueden añadirse generalmente a las presentes composiciones a niveles más bajos que los encontrados en anticonceptivos vaginales convencionales manteniendo aún su eficacia. Además, las presentes composiciones generalmente no son citotóxicas (o al menos lo son sólo mínimamente) y no causan irritación o lesiones de la vagina o del cuello uterino. Además, los geles inmovilizadores de la presente invención ayudan a mantener el nivel de pH dentro de la vagina a niveles ácidos naturales (generalmente aproximadamente un pH de aproximadamente 3,5 a 4,5) y, por lo tanto, proporcionan incluso más protección. El mantenimiento del pH a tales niveles ácidos reduce el riesgo de concepción así como de infección por microbios que causan ETS mientras que mantiene el equilibrio microbiológico local. Además, mediante la reducción del riesgo de daños en el revestimiento vaginal, se reduce adicionalmente el riesgo de infección por ETS, incluyendo VIH. Además, los geles inmovilizadores de esta invención pueden usarse para prevenir y/o tratar vaginitis y/o vaginosis bacteriana.

30 Cuando se eyacula semen en la vagina, el gel inmovilizador de la presente invención provoca el espesamiento de la mezcla de gel/semen, formando una estructura semisólida de la que no pueden escapar los microbios patógenos eyaculados (por ejemplo, microbios que causan ETS, incluyendo VIH) y espermatozoides, o lo hacen solamente de forma lenta, previniendo de este modo o reduciendo significativamente la migración a través del tracto genital inferior. El gel inmovilizador también tiende a endurecer el moco cervical, evitando de este modo o disminuyendo la penetración de esperma del moco vaginal y obstruyendo el paso a través del canal cervical. La prevención adicional de infección por ETS mediante el gel inmovilizador surge de la formación de una barrera protectora bioadhesiva sobre el revestimiento vaginal (por ejemplo, el epitelio escamoso estratificado) o sobre el revestimiento rectal en caso de sexo anal. Para aumentar adicionalmente la actividad anticonceptiva y/o anti ETS de los geles inmovilizadores de esta invención, pueden incluirse microbicidas y/o espermicidas (por ejemplo, nonoxinol-9 y otros) en las presentes formulaciones. Se espera que puedan usarse niveles menores de tales microbicidas y/o espermicidas en las presentes composiciones y métodos al mismo tiempo que se mantiene una alta actividad anticonceptiva, reduciendo de este modo los efectos secundarios de tales microbicidas y/o espermicidas.

Antecedentes de la Invención

60 En los últimos años, las enfermedades de transmisión sexual (ETS) se han convertido en un problema médico y preocupación creciente por todo el mundo. La epidemia de VIH/SIDA a lo largo de la última década aproximadamente ha subrayado de forma significativa y dramática la amenaza de las ETS para la población humana. El enfoque mejor, y quizás el único realista, para este problema creciente de ETS (especialmente VIH/SIDA) parece ser reducir el riesgo de

transmisión de ETS por organismos patógenos y reducir de este modo el número de individuos de nueva infección. Incluso cuando se disponga de tratamientos o curas, la prevención de las infecciones en primer lugar probablemente seguirá siendo la primera línea de defensa. Por razones médicas, fisiológicas y económicas, es preferible prevenir la infección inicial en lugar de tratar, e incluso curar, a individuos con ETS.

5 En la actualidad, la educación con respecto a ETS, su modo de transmisión y las técnicas denominadas de “sexo seguro”, por lo menos en cierto grado en los países más desarrollados, parece prometedora en la reducción de los riesgos de transmisión de ETS a través de la actividad sexual. La exploración del suministro de sangre ha ayudado a reducir el riesgo de transmisión de organismos tales como los que producen ETS mediante transfusiones sanguíneas y prácticas médicas relacionadas. Sin embargo, la extensión de tales ETS no se ha detenido hasta un grado satisfactorio
10 incluso en países desarrollados con programas de educación activos y progresivos. Incluso con su eficacia conocida en la prevención de ETS, no siempre se usan las actuales técnicas de sexo seguro o no siempre se usan de forma apropiada, por muchas razones (por ejemplo, falta de cuidado, falta de conocimiento, técnicas inapropiadas, barreras culturales, actividad sexual no planeada o espontánea, y similares). Además, incluso cuando se usan, las técnicas de sexo seguro (excepto quizás la abstinencia) no siempre son eficaces. Por ejemplo, en general, los preservativos
15 solamente tienen de aproximadamente 80 a 90 por ciento de eficacia para evitar la concepción cuando se usan por sí solos; en el caso de tales fallos, los organismos que provocan ETS, si están presentes, pueden pasar de un miembro de la pareja sexual al otro.

Actualmente están disponibles diversos dispositivos de control de la natalidad, incluyendo métodos de barrera y anticonceptivos vaginales. Algunos de éstos pueden, además, tener también al menos cierto grado de actividad anti-
20 ETS. Por ejemplo, los preservativos pueden ayudar a prevenir la transmisión de ETS siempre que se usen de forma apropiada y/o funcionen de forma apropiada. Se ha notificado que el nonoxinol-9, actualmente uno de los agentes anticonceptivos más ampliamente usados, al menos en algunos casos, reduce el riesgo de transmisión de algunas ETS. El nonoxinol-9, que es un detergente no iónico con propiedades tensioactivas fuertes, actúa, como la mayoría del resto de anticonceptivos de base química, matando o inmovilizando de otro modo los espermatozoides (por ejemplo, actividad
25 espermicida). El nonoxinol-9 es un agente citotóxico potente que tiende a romper de forma no específica las membranas celulares. Estas propiedades, sin embargo, presentan algunos inconvenientes muy significativos. El nonoxinol-9 puede dañar el epitelio vaginal/cervical y otras células a concentraciones tan bajas como de aproximadamente 0,0005 por ciento (*in vitro*). Los estudios clínicos han confirmado la rotura epitelial de la vagina y el cuello uterino a las concentraciones normalmente presentes en las formulaciones anticonceptivas vaginales (generalmente más de
30 aproximadamente 3 por ciento de nonoxinol-9). El nonoxinol-9 también altera la flora vaginal normal que proporciona un mecanismo protector, quizás por mantener un pH bajo, para proteger frente a la invasión de microbios patógenos. El nonoxinol-9 también puede disolver de forma parcial o retirar el recubrimiento de glicoproteínas protectoras en la vagina. Los efectos citotóxicos, que alteran la flora y retiran glicoproteínas del nonoxinol-9 pueden producir daños o heridas vaginales, incluyendo lesiones. Algunas mujeres son especialmente sensibles al nonoxinol-9 y manifiestan estos efectos
35 con un uso solamente ocasional. La alteración de estos mecanismos protectores por nonoxinol-9 puede aumentar realmente los riesgos de infecciones por ETS puesto que la rotura de los mecanismos protectores, y especialmente la aparición de lesiones, proporciona a los organismos que causan ETS una vía más fácil para entrar en las células. Adicionalmente, la alteración de estos mecanismos protectores por nonoxinol puede aumentar el riesgo de vaginitis y/o vaginosis bacteriana.

40 Por supuesto, actualmente están disponibles cremas y pomadas vaginales comerciales de venta directa o por prescripción o están en diversas etapas de desarrollo. El nonoxinol-9, octoxinol-9 y cloruro de benzalconio están generalmente disponibles como supositorios, insertos, cremas, películas, espumas y geles. Los ejemplos de tales productos comerciales incluyen, por ejemplo, K-Y Plus™ (nonoxinol-9 al 2,2 por ciento; Advanced Care Products, Raritan, NJ); Encare™ (nonoxinol-9 al 3 por ciento; Thompson Medical Co., West Palm Beach FL)- Gynol II (Advanced Care Products, Raritan, NJ); Ortho Options Conceptrol (Advanced Care Products, Raritan, NJ); Semicid (Whitehall
45 Robbins Healthcare Madison, NJ); y Advantage-S (Columbia Laboratories, Aventura FL). Como se ha analizado anteriormente, los niveles de nonoxinol-9 u otros agentes citotóxicos contenidos en tales productos generalmente alteran la vagina y el cuello uterino y desajustan el entorno vaginal normal. Además, tales formulaciones sólo tienen capacidad limitada, si la tienen, para prevenir infecciones por ETS. De hecho, muchas mujeres que usan tales productos han indicado quemazón y dolor suficientes para terminar el uso de los productos. También se dispone de geles
50 diseñados para controlar el pH vaginal. Por ejemplo, AckJel™ (Ortho-McNeil Pharmaceutical Corp., Raritan, NJ) es un gel tamponado dispersable en agua que tiene un pH de 3,9 a 4,1 que se usa para restaurar y mantener la acidez vaginal normal. Tales geles están diseñados para controlar el pH vaginal y no están diseñados para evitar ETS y/o concepción; estos geles no inmovilizan y/o inactivan patógenos que causan ETS o espermatozoides.

55 La Patente de Estados Unidos N° 5.439.685 (8 de agosto de 1995) proporciona una composición farmacéutica para la prevención de enfermedades de transmisión sexual. Se ha indicado que estas composiciones producen una película o capa de barrera sobre la mucosa de la vagina que evita el contacto de los microbios que causan ETS con las superficies vaginales. Sin embargo, estas formulaciones no forman una matriz semisólida con el eyaculado para inmovilizar de forma eficaz microbios que causan ETS y/o espermatozoides; ni causan endurecimiento del moco cervical para evitar la entrada de espermatozoides. Estos geles también pueden contener agentes citotóxicos tales como
60 nonoxinol-9, cloruro de benzalconio y colato sódico que, a pesar de la película o barrera, aún pueden alterar la vagina y el cuello uterino. Finalmente, estos geles están diseñados para usarse junto con un dispositivo vaginal tal como un

tampón, a diferencia de la presente invención.

Más recientemente, BufferGel™ (ReProtect LLC, Baltimore, MD), desarrollado en la Universidad John Hopkins, se está sometiendo a ensayos clínicos. Se ha notificado que BufferGel™ es un gel polimérico de peso molecular alto, cargado negativamente, no absorbible, diseñado para mantener el pH vaginal por debajo de 5 en presencia de semen. Como se detalla en la Patente de Estados Unidos 5.617.877 (8 de abril de 1997), BufferGel™ se basa en un polímero compuesto de monómeros carboxilados (preferiblemente ácidos poliacrílicos reticulados tales como, por ejemplo, polímeros de Carbopol® (homo- y co-polímeros de alto peso molecular de ácido acrílico reticulado con un poliéter de polialqueno, disponible en BF Goodrich)) para controlar el pH vaginal. BufferGel™ no inmoviliza microbios que causan ETS y/o espermatozoides eyaculados ni endurece el moco cervical, permitiendo de este modo que los microbios que causan ETS y/o los espermatozoides eyaculados migren fácilmente a través del tracto genital inferior. Además, la composición está diseñada para usarse con un dispositivo a insertar en la vagina y que se sitúa cubriendo el cuello uterino. Para ser eficaz, el dispositivo debe permanecer en posición cubriendo el cuello uterino. La retirada del dispositivo o un cambio de su posición en relación con el cuello uterino pueden destruir, o al menos reducir significativamente, su eficacia. Como se detalla en la patente, “el dispositivo proporciona cantidades ventajosas de tampones apropiados en una configuración en forma de cúpula que proporciona un emplazamiento estable del dispositivo alrededor del cuello uterino. La gran área de superficie del dispositivo y su forma circular elástica hacen que se proyecte hacia el fornix vaginal posterior, expandiendo suavemente la mucosa vaginal sobre la superficie del dispositivo, y evitando de este modo la acumulación del eyaculado en un espacio cerrado relativamente inaccesible. El dispositivo es altamente absorbente y secuestra rápidamente y acidifica tanto el semen como el fluido menstrual”. Por supuesto, el uso de tales dispositivos en combinación con BufferGel™ requiere una habilidad y motivación significativa por parte del usuario para obtener y mantener una colocación apropiada del dispositivo. Además, es probable que haya una reducción en el placer y sensibilidad del acto sexual usando tal dispositivo. Tales dispositivos tienen, por lo tanto, menos probabilidades de usarse de una manera habitual debido a la dificultad de su uso, especialmente en casos de actividad sexual “espontánea”.

También se han usado ácidos poliacrílicos reticulados similares (es decir, policarbófilos) para el suministro de fármacos (por ejemplo, nonoxinol-9 o progesterona) dentro de la vagina. Robinson et al., *J, Controlled Release*, 28, 87 (1994).

Sería deseable, por lo tanto, proporcionar composiciones y métodos mejorados que reduzcan el riesgo de transmisión de ETS y/o infecciones durante la actividad sexual. También sería deseable que tales composiciones y métodos mejorados tuvieran además actividad anticonceptiva. También sería deseable que tales composiciones y métodos no interfirieran con los mecanismos vaginales protectores y naturales. También sería deseable que tales composiciones y métodos pudieran usarse para evitar y/o tratar vaginitis y/o vaginosis bacterianas. También sería deseable que tales composiciones y métodos fueran relativamente fáciles de usar y tuvieran significativamente menos efectos secundarios que los métodos actualmente disponibles (es decir, nonoxinol-9 a niveles relativamente altos) de modo que sería más probable que se usaran de una manera habitual. También sería deseable que tales composiciones y métodos no requirieran que un dispositivo físico permaneciera dentro de la vagina durante el uso. La presente invención, como se detalla en la presente memoria descriptiva, proporciona tales métodos.

El documento EP 0 255 902 A (Tofco SA), 17 de febrero de 1988, se refiere, en general, a composiciones profilácticas químicas para reducir la transmisión a través de fluidos biológicos de virus responsables del herpes genital, VIH y SIDA. Tales composiciones, que pueden aplicarse por vía tópica a la mucosa vaginal y rectal, contienen principios activos (por ejemplo, espermicidas, virulicidas, desinfectantes y/o bactericidas) en un vehículo hidratable o hinchable (por ejemplo, dextranos modificados, peptinas, goma guar, carragenatos, alginatos, carboximetilalmidones, derivados de polisacáridos, almidones y sus derivados y polímeros de carboxivinilo). Se ha notificado que el uso de una forma prehidratada de forma adecuada, en comparación con una forma seca, aumenta las tasas de absorción de agua y fluidos biológicos.

El documento EP 0 359 402 A (Ortho Pharm Comp), 21 de marzo de 1990, proporciona composiciones de supositorios anticonceptivos de larga duración que contienen un agente espermicida, goma polimérica, agente de dispersión y una base de supositorio polimérica de polietilenglicol miscible en agua.

El documento EP 0 231 816 A (Dr. Kail Thomae GmbH), 12 de agosto de 1987, proporciona composiciones farmacéuticas estabilizadas que contienen interferón α , especialmente interferón α altamente purificado para aplicación tópica. Las composiciones antivirales contienen, además del principio activo, (1) derivado de celulosa, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona o polímero de ácido poliacrílico, así como mezclas de los mismos, (2) gelatina que se ha sometido a digestión ácida o alcalina y (3) agente anti-adhesión.

El documento WO 96/10989 A (Bologna et al.), 18 de abril de 1996, proporciona composiciones que contienen agentes anti-ETS (es decir, nonoxinol-9) para prevenir la transmisión de, y la infección por, enfermedades de transmisión sexual. Las composiciones contienen polímeros de ácido policarboxílico reticulados bioadhesivos que permiten niveles reducidos de nonoxinol-9 en comparación con las formulaciones de nonoxinol-9 disponibles en el mercado en aquel momento.

El documento WO 96/19195 A (Lab. Innothera), 27 de junio de 1996, proporciona una cápsula de gelatina

blanda que contiene un principio activo que tiene actividad anticonceptiva y/o anti-ETS en un líquido no acuoso o fase semi-líquida. Además del principio activo, la fase interior incluye una proporción mayoritaria de un agente lipófilo compatible con preservativos de goma de látex, una proporción minoritaria de al menos un agente hidrodispersable, al menos un agente de bioadhesión y al menos un agente gelificante para el agente lipófilo. La cápsula es adecuada para inserción en la vagina y puede usarse de forma segura junto con preservativos de goma de látex.

El documento WO 97/47310 A (Stoa SA), 16 de diciembre de 1997, proporciona composiciones farmacéuticas basadas en gel de tipo poli(met)acrilato de glicerilo para aplicación tópica en el tratamiento de diversos síntomas y la prevención de ciertas afecciones patológicas, tales como úlceras varicosas, sequedad e infecciones vaginales, cicatrices, edemas inflamatorios, picaduras de insectos, quemaduras leves, quemaduras posteriores a radioterapia, enfermedades virales (herpes) y enfermedades de transmisión sexual (SIDA). Se indica que las composiciones de gel tienen una alta potencia de hidratación y muy alta capacidad de absorción de agua.

El documento WO 97/42962 A (Bergeron et al.) 20 de noviembre de 1997, proporciona composiciones farmacéuticas para uso en la prevención de enfermedades inducidas por patógenos tales como VIH y VSH. Las composiciones contienen un componente formador de películas (por ejemplo, geles de poloxámero termorreversibles) que es capaz de formar una barrera física ante los patógenos. Las composiciones también pueden contener microbicidas, espermicidas u otros fármacos apropiados, proporcionando de este modo barreras farmacológicas así como barreras físicas ante los patógenos.

El documento WO 92/16182 A (E.B. Michaels Research Associates Inc.), 1 de octubre de 1992, proporciona fluidos que contienen tensioactivos anfóteros (es decir, una mezcla de betaínas y óxidos de amina), gelatina de tipo A que tiene una fuerza Bloom de 100-300 y un peso molecular de 75.000-300.000, alcoholes polihidroxicos, gomas de celulosa no iónicas, y opcionalmente alcoholes alifáticos inferiores, teniendo los fluidos alta viscosidad así como buenas propiedades de enjabonado y formación de espuma, y tienden a licuarse cuando se exponen a condiciones de alto cizallamiento o temperatura. Tales fluidos pueden usarse en formulaciones antivirales, antimicrobianas o espermicidas.

El documento EP 0 351 301 A (Société Anonyme SSPL), 17 de enero de 1990, proporciona composiciones farmacéuticas útiles en la prevención de enfermedades de transmisión sexual. Estas composiciones farmacéuticas, que se aplican por vía tópica a una mucosa (por ejemplo, en la vagina), contienen un principio activo contra organismos responsables de la enfermedad de transmisión sexual y un compuesto de silicona adecuado para inhibir la penetración del principio activo a través de la mucosa, en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

El documento WO 96/00543 A (Moench et al.), 11 de enero de 1996, proporciona un dispositivo anticonceptivo y gel para controlar el pH usando tamponamiento ácido con un material ácido absorbente o un gel polimérico de acidificación. El dispositivo y gel también son eficaces para reducir el riesgo de transmisión de enfermedades de transmisión sexual.

El documento WO 00/56366 A (Parker Hughes Institute), 28 de septiembre de 2000, proporciona una composición farmacéutica adoptada para uso como espermicida, comprendiendo la composición una microemulsión de gel que comprende una microemulsión de aceite en agua y un hidrogel polimérico. La microemulsión de gel puede usarse en un método espermicida y como una base de formulación para su combinación con agentes terapéuticos. Adicionalmente, la microemulsión de gel puede combinarse como una base de formulación con un agente antimicrobiano para proporcionar formulación de función doble anticonceptiva/antimicrobiana.

Compendio de la Invención

Esta invención se refiere, en general, a composiciones que previenen y/o reducen el riesgo de transmisión de enfermedades de transmisión sexual a través de la actividad sexual y que también son anticonceptivas. Esta composición es especialmente adecuada para uso por parejas heterosexuales para evitar el embarazo y reducir significativamente el riesgo de infectarse por, o de transmitir, una ETS a través del contacto sexual. Aunque esta composición puede usarse por sí sola, generalmente se prefiere que se use junto con otras técnicas denominadas de "sexo seguro" para reducir adicionalmente el riesgo de embarazo y/o transmisión de ETS o infección.

La composición de esta invención generalmente debe aplicarse en una cantidad eficaz dentro de la vagina antes de comenzar, o tan pronto como sea posible después de comenzar, la actividad sexual. Las composiciones de esta invención, además de su actividad anti-ETS, actúan como anticonceptivos vaginales y generalmente tienen menos efectos secundarios que los anticonceptivos vaginales convencionales (por ejemplo, nonoxinol-9). Las composiciones de esta invención están diseñadas para formar una matriz semisólida cuando entran en contacto con semen eyaculado en la vagina. La matriz semisólida es eficaz en la inmovilización de microbios que causan ETS, incluyendo VIH, y espermatozoides, y por lo tanto evitan o disminuyen en gran medida su migración a través y hacia el exterior del tracto genital inferior. La actividad anticonceptiva se potencia adicionalmente haciendo a la formulación hipertónica, lo que da como resultado un endurecimiento del moco cervical, previniendo de este modo u obstaculizando la entrada de los espermatozoides en el cuello uterino. Como entenderán los expertos en la materia, una solución hipertónica o gel generalmente tiene unos niveles mayores de sales que una solución de referencia. Para los fines de la presente invención, la solución de referencia son los fluidos del tracto reproductor o mucus vaginal normal. Los fluidos del tracto reproductor generalmente tienen una osmolalidad aproximadamente igual, o mayor que, el plasma sanguíneo y

generalmente están en el intervalo de aproximadamente 300 a aproximadamente 250 mosmoles/kg. La osmolalidad del moco cervical variará en cierta medida durante el ciclo, puesto que se vuelve más diluido durante la mitad del ciclo (periodo ovulatorio cuando se produce el paso del esperma) y más denso durante el periodo anovulatorio. Si se desea, puede medirse la osmolalidad del gel usando un osmómetro.

5 La prevención de la transmisión de ETS y de infecciones se potencia adicionalmente por la inclusión de agentes bioadhesivos que pueden formar una película bioadhesiva sobre la superficie vaginal y cervical (así como sobre las superficies rectales durante el sexo anal), evitando el contacto de microbios que causan ETS con las paredes del tracto genital inferior. Finalmente, las composiciones de la presente invención ayudan a mantener un equilibrio de pH natural dentro de la vagina incluso en presencia de semen (el pH normal del semen es de aproximadamente 7,2 a 7,8; de neutro a ligeramente básico). Se ha indicado que el pH vaginal aumenta de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 a 7 poco después de la eyaculación durante el sexo sin protección y se mantiene a tales niveles altos durante 2 a 8 horas. El restablecimiento o mantenimiento de un pH ácido parece ayudar a destruir, inactivar y/o inmovilizar ciertos microbios que causan ETS (incluyendo VIH) y espermatozoides dentro de la vagina, previniendo o reduciendo de este modo el riesgo de transición de ETS o infección. El restablecimiento o mantenimiento de un pH ácido dentro de la vagina también ayuda a mantener la flora vaginal natural y beneficiosa. Además, el recubrimiento protector de glicoproteínas vaginal no se altera o se deteriora significativamente. La alteración de la flora vaginal natural y/o retirada o alteración del recubrimiento protector de glicoproteínas vaginal usando anticonceptivos vaginales convencionales puede ocasionar irritación de las paredes vaginales y/o lesiones en la pared vaginal que pueden hacer que la transmisión de ETS sea más fácil y/o más probable.

20 Los geles inmovilizadores de la presente invención tienen varios atributos adicionales que los hacen especialmente útiles como agentes anti-ETS y/o anticonceptivos. Por ejemplo, los geles pueden formularse para proporcionar geles que sean densos, viscosos, suaves, agradables al tacto y de sabor agradablemente ácido. Los geles también son dispersables en agua, pero conservan su viscosidad cuando se diluyen. Los geles inmovilizadores de la presente invención también pueden formularse en forma de sólidos dispersables rápidamente (por ejemplo, polvos, comprimidos y similares; véase el Ejemplo 11) que, cuando se insertan en la vagina, forman el gel inmovilizador deseado mediante disgregación o dispersión rápida a través de la acción de fluidos vaginales o de otro tipo presentes dentro de la vagina. Tales formas sólidas son, por supuesto, especialmente convenientes para llevarse, por ejemplo, en un bolso. Por supuesto, si se desea pueden usarse otras formas de dosificación de los geles inmovilizadores. Las formas de dosificación adecuadas incluyen, por ejemplo, geles, cremas, lociones, líquidos viscosos, comprimidos, 30 polvos, películas, supositorios, espumas y similares. Aunque las formas sólidas (por ejemplo, comprimidos y polvos) generalmente contendrán solamente pequeñas cantidades de agua, los fluidos vaginales u otro tipo dentro de la vagina pueden proporcionar el agua deseada para formar la composición de gel inmovilizador. Los principales componentes generalmente se consideran seguros (enumerados en U.S.P. o enumerados en GRAS). Los geles pueden distribuirse fácilmente a través de una jeringa o un aplicador similar o aplicarse manualmente o pueden estar en forma de comprimidos u otras formas sólidas para inserción en la vagina. Los geles están diseñados para proporcionar una liberación controlada de cualquier principio activo (por ejemplo, nonoxinol-9) y, por lo tanto, se espera que proporcionen eficacia a largo plazo. A través de su actividad humectante, los geles también aumentarán el nivel de humedad de la vagina, reduciendo de este modo la aparición de lesiones vaginales y aumentando los aspectos agradables de la actividad sexual. Los geles también pueden contener lubricantes que también aumentarán los aspectos agradables de la actividad sexual. Los geles también deberían reducir filtraciones y evitar la suciedad. Muchos de los aspectos que se acaban de mencionar y beneficios de las presentes composiciones y métodos del gel potenciarán el uso habitual, proporcionando de este modo incluso más protección. Los geles también son útiles como sistemas de suministro para principios activos con propiedades antimicrobianas y/o anticonceptivas.

45 Un objeto de la presente invención es proporcionar una composición antimicrobiana y anticonceptiva que reduce el riesgo de transmisión de, o infección por, una enfermedad de transmisión sexual a través de actividad sexual que implica una vagina de una mujer y un pene de un hombre, comprendiendo dicha composición (1) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente formador de matriz seleccionado del grupo que consiste en ácido algínico y goma gelan, (2) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente bioadhesivo seleccionado del grupo que consiste en goma de xantano, hidroxipropil celulosa, hidropropil metil celulosa, carboximetil celulosa sódica, quitosano, policarbófilo y carbómero, (3) 50 de 1 a 10 por ciento en peso de un agente tamponante seleccionado del grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico, tartrato de ácido potásico, ácido benzoico, ácido algínico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, ácido edético y ácido málico, y (4) agua; donde la composición es adecuada para aplicación dentro de la vagina; donde la composición forma una matriz semisólida tras el contacto con el semen; donde la composición causa un endurecimiento del moco cervical; donde la composición forma una capa bioadhesiva sobre las superficies vaginales; donde la composición mantiene un pH vaginal ácido de menos de 5 en presencia de semen eyaculado del hombre (por ejemplo, antes, durante o después de la actividad sexual); donde la composición no altera de forma significativa el equilibrio microbiológico natural dentro de la vagina; y donde la composición es hipertónica. Si se desea, la composición antimicrobiana y anticonceptiva puede incluir también agentes antimicrobianos y/o anticonceptivos adicionales (por ejemplo, nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, copolímeros de formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido, y ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄, yoduro de povidona, itraconazol, ketoconazol, metronidazol, clotrimazol, fluconazol, teraconazol, miconazol, tinidazol, iconazol, cloranfenicol, nistatina, ciclopiroxolamina y similares). Preferiblemente, la composición antimicrobiana y anticonceptiva también contiene un humectante, un conservante y/o

un lubricante.

La composición de la presente invención es para uso en un método para reducir el riesgo de transmisión e infección por una enfermedad de transmisión sexual a través de la actividad sexual que implica una vagina de una mujer y un pene de un hombre, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz de una composición antimicrobiana y anticonceptiva dentro de la vagina antes de, o poco después, de la actividad sexual; donde la composición comprende (1) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente formador de matriz seleccionado del grupo que consiste en ácido algínico, y goma gelan, (2) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente bioadhesivo seleccionado del grupo que consiste en goma de xantano, hidroxipropil celulosa, hidropropil metil celulosa, carboximetil celulosa sódica, quitosano, policarbófilo y carbómero, (3) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente tamponante seleccionado del grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico, tartrato de ácido potásico, ácido benzoico, ácido algínico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, ácido edético y ácido málico, y (4) agua; donde la composición es adecuada para aplicación dentro de la vagina; donde la composición forma una matriz semisólida tras el contacto con el semen; donde la composición causa el endurecimiento del moco cervical; donde la composición forma una capa bioadhesiva sobre superficies vaginales; donde la composición mantiene un pH vaginal de menos de 5 en presencia del semen eyaculado del hombre; donde la composición no altera significativamente el equilibrio microbiológico natural dentro de la vagina (por ejemplo, antes, durante o después de la actividad sexual); y donde la composición es hipertónica. Si se desea, la composición también puede incluir agentes antimicrobianos y/o anticonceptivos adicionales (por ejemplo, nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, copolímeros de formaldehído y ácido benzenosulfónico sustituido y ácidos mandélicos modificados por H₂SO₄, povidona yodada, itraconazol, ketoconazol, metronidazol, clotrimazol, fluconazol, teraonazol, miconazol, tinidazol, iconazol, cloranfenicol, nistatina, ciclopiroxolamina y similares). Preferiblemente, la composición antimicrobiana y anticonceptiva también contiene un humectante, un conservante y/o un lubricante.

Estas y otras ventajas de la presente invención resultarán evidentes a partir de una consideración de la presente memoria descriptiva.

Descripción Detallada de la Invención

La presente invención se refiere a un gel inmovilizador que, cuando se sitúa en un orificio corporal (por ejemplo, en la vagina), inmoviliza e inactiva los espermatozoides y/o microbios causantes de enfermedades de transmisión sexual (ETS). Aunque sin desear limitarse por teoría alguna, parece ser que las formulaciones de esta invención forman una matriz semi-endurecida o semisólida cuando se exponen a un eyaculado, secuestrando de este modo los espermatozoides y microbios que causan ETS. Adicionalmente, las formulaciones de esta invención forman una capa bioadhesiva esencialmente impenetrable sobre la superficie del orificio (por ejemplo, la vagina y el tejido cervical), evitando el contacto y/o entrada de espermatozoides y/o microbios causantes de ETS. Las formulaciones de esta invención son hipertónicas; de este modo, cuando se sitúan en la vagina, secuestrarán el agua del moco presente en el cuello uterino y de este modo harán que el moco se endurezca y proporcione incluso más protección evitando o reduciendo significativamente la entrada de espermatozoides y/o microbios causantes de ETS en el cuello uterino. Estas propiedades, actuando juntas, permiten una inmovilización eficaz de espermatozoides y/o microbios que causan ETS dentro de la vagina y evitan eficazmente que tales espermatozoides y/o microbios que causan ETS entren en el cuerpo a través del revestimiento vaginal o el cuello uterino. La formulación es tamponante ácida para mantener el ambiente y entorno vaginal normal, lo cual ayuda adicionalmente a inactivar ciertos microbios que causan ETS y espermatozoides; el mantenimiento del entorno vaginal normal también ayuda a mantener las defensas naturales del cuerpo contra ciertos microbios que causan ETS. La formulación puede contener principios inactivadores de esperma y/o microbios de ETS tales como espermicidas y/o microbicidas. El atrapamiento o inmovilización de los espermatozoides y/o microbios que causan ETS dentro de la vagina por las formulaciones de la presente invención permite que tales ingredientes inactivadores de esperma y microbios de ETS tengan suficiente tiempo para inactivar más completamente los espermatozoides y/o microbios que causan ETS que puedan estar presentes. Las formulaciones de esta invención también pueden usarse para prevenir y/o tratar vaginitis y/o vaginosis bacterianas.

Las composiciones se proporcionan para (1) prevención y/o reducción de la tasa o probabilidad de transmisión de enfermedades de transmisión sexual entre compañeros sexuales cuando uno o más de los miembros de la pareja esté infectado y (2) prevención y/o reducción del riesgo de embarazo. Aunque se dirige principalmente a la conducta heterosexual (es decir, relaciones sexuales vaginales entre hombre y mujer), las composiciones de esta invención también pueden usarse por personas implicadas en otros tipos de conducta sexual. Por ejemplo, las composiciones de esta invención pueden usarse por personas implicadas en sexo anal (hombre/mujer o hombre/hombre); las composiciones de esta invención destinadas al uso en sexo anal preferiblemente se modifican para ajustar la capacidad de tamponamiento a los valores de pH hallados normalmente en el recto y por el uso de niveles mayores de lubricantes. Por supuesto, la presente composición no está limitada al uso por compañeros sexuales cuando se sabe que uno de los miembros de la pareja está infectado por una ETS o tiene riesgo de tener una ETS. Más bien, esta composición puede usarse por compañeros sexuales cuando ninguno tiene una ETS conocida, cuando uno de ellos tiene una ETS o está en riesgo de padecer una ETS o cuando los dos compañeros tienen una ETS o están en riesgo de padecer una ETS. Debido a que las ETS pueden transmitirse por un miembro de la pareja infectado incluso antes de que los síntomas aparezcan en ese miembro de la pareja, generalmente se recomienda que esta composición se use habitualmente por

individuos sexualmente activos. Por supuesto, puesto que las composiciones son anticonceptivas, pueden usarse por parejas heterosexuales en las que también se desea evitar la concepción. Además, puesto que ningún método de evitar la transmisión de ETS y/o concepción, excepto quizás la abstención completa de actividad sexual, es completamente eficaz, la presente composición preferiblemente se pone en práctica junto con otros métodos para reducir la probabilidad de transmisión de ETS y/o concepción. Por ejemplo, el presente método puede combinarse con el uso de preservativos (masculinos o femeninos) y otras técnicas de sexo seguro para mejorar significativamente la eficacia global en comparación con el uso de cualquier método por sí solo; tales métodos combinados ayudarían mucho a la eliminación, o al menos la reducción significativa de la transmisión de ETS de un compañero sexual a otro.

La prevención de la infección inicial (o la reducción de los riesgos de infección), a diferencia del tratamiento de la ETS después de la infección, es críticamente importante desde un punto de vista médico, psicológico y económico. Especialmente para ETS, tales como el VIH/SIDA, en las que no existe cura conocida, no puede sobrevalorarse la importancia de la prevención. Además, como reconocerán los expertos en la materia, la prevención de una enfermedad es generalmente muy diferente de, y se prefiere mucho más, en comparación con una cura o tratamiento para la enfermedad (aunque se disponga de dicha cura). Por ejemplo, AZT y otros fármacos de VIH-SIDA pueden ralentizar la progresión de la enfermedad (y, en algunos casos y con el uso de otras estrategias, prevenir la transmisión de una mujer positiva para VIH a su hijo no nacido), pero no son capaces de curar la enfermedad. Excepto en el ejemplo limitado de una madre infectada y su hijo no nacido, el uso de fármacos tales como AZT antes de la infección inicial no sería una práctica coherente desde un punto de vista médico o económico y no reduciría el riesgo de infección sin someter a dichos individuos no infectados a los efectos secundarios no deseados típicamente asociados con el uso de estos fármacos relativamente tóxicos. Del mismo modo, la prevención de un embarazo no deseado en primer lugar, en lugar de recurrir a procedimientos médicos posteriores para terminar con el embarazo, tendrían ventajas médicas, psicológicas y económicas significativas.

La composición de la presente invención se usa aplicando una cantidad eficaz del gel inmovilizador de la presente invención dentro de la vagina. Para los fines de esta invención, una "cantidad eficaz" es una cantidad de la composición suficiente para (1) causar inmovilización de los microbios que causan ETS y espermatozoides del eyaculado, (2) formar una capa bioadhesiva sobre las superficies vaginales y (3) mantener un pH bajo o ácido dentro de la vagina antes o después de una eyaculación típica o normal por el hombre durante la relación sexual. Una dosis individual normalmente estará en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 ml del gel inmovilizador; preferiblemente la dosis individual es de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 ml. Por supuesto, si se desea, pueden usarse dosis mayores o menores que estas cantidades. Para los fines de esta invención, se considera que un "pH bajo o ácido dentro de la vagina" está dentro del nivel de pH normal de una mujer sana. Preferiblemente, dicho pH ácido es menor de 5; más preferiblemente, dicho pH ácido está en el intervalo de 3,5 a 4,5. En otras palabras, además de proporcionar inmovilización eficaz de microbios que causan ETS y espermatozoides y la formación de una capa protectora de superficies vaginales, la cantidad eficaz de la composición de esta invención es una cantidad que proporciona suficiente capacidad de tamponamiento para mantener el pH de la vagina en un estado de pH bajo o ácido en presencia de una cantidad típica (normalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5,0 ml) de semen de una eyaculación única "normal" que tiene un pH alcalino en el intervalo de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 7,6. Las composiciones de esta invención también son hipertónicas (es decir, tienen una actividad de agua o presión osmótica mayor en relación con el moco cervical de mujeres normales sanas). Generalmente se espera que los fluidos del tracto reproductor, incluyendo el moco cervical, tengan una osmolalidad similar a la del plasma sanguíneo (normalmente en el intervalo de aproximadamente 290 a aproximadamente 320 mosmoles/kg). De este modo, la osmolalidad de los geles inmovilizadores de esta invención, medida usando un osmómetro convencional, debería ser mayor que la osmolalidad normal del plasma sanguíneo. Aunque las composiciones de esta invención se pretenden principalmente para uso en situaciones en las que la vagina tiene un pH normal, también pueden usarse en casos en los que el equilibrio vaginal microbiológico ya se ha alterado (por ejemplo, infección por levaduras activas); esta capacidad de tamponamiento puede ayudar a devolver a la vagina a su intervalo de pH deseado y a un estado más sano. En otras palabras, las composiciones de esta invención pueden, si se desea, usarse para prevenir y/o tratar, por ejemplo, infecciones vaginales incluyendo, por ejemplo, vaginitis o vaginosis bacterianas.

Los genes inmovilizadores de la presente invención también pueden usarse con dispositivos de control de la natalidad o de sexo seguro convencionales. Por ejemplo, los geles inmovilizadores podrían usarse junto con preservativos (es decir, mediante lubricantes aplicados a las superficies interiores y/o exteriores), diafragmas, recubrimientos del cuello del útero o productos similares. Los geles inmovilizadores de la presente invención también podrían, por ejemplo, liberarse en la vagina manualmente, por supositorios, o por técnicas de tampón o jeringa convencionales. El método de administración o suministro del gel inmovilizador en la vagina no es crítico siempre que se suministre una cantidad eficaz del gel inmovilizador en la vagina. Los geles inmovilizadores de la presente invención también pueden usarse para protección durante sexo anal y pueden aplicarse usando técnicas similares.

Los geles inmovilizadores de la presente invención contienen (1) un agente formador de matriz (2) un agente bioadhesivo, (3) un agente tamponante y (4) agua, como se especifica en la reivindicación adjunta 1. Más preferiblemente, los geles inmovilizadores de la presente invención contienen (1) un agente formador de matriz, (2) un agente bioadhesivo, (3) un agente tamponante, (4) un humectante, (5) un conservante y (6) agua. Si se desea, la composición también puede incluir un agente antimicrobiano y/o anticonceptivo (por ejemplo, nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, copolímeros de

formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido, y ácidos mandélicos modificados por H₂SO₄, povidona yodada, itraconazol, ketoconazol, metronidazol, clotrimazol, fluconazol, teraonazol, miconazol, tinidazol, iconazol, cloranfenicol, nistatina, ciclopiroxolamina y similares). Los geles inmovilizadores contienen (1) de 1 a 10 por ciento de uno o más agentes formadores de matriz, (2) de 1 a 10 por ciento de uno o más agentes bioadhesivos, (3) de 1 a 10 por ciento de uno o más agentes tamponantes, (4) de 0 a 2 por ciento de uno o más humectantes, (5) de 0 a 2 por ciento de uno o más conservantes, (6) de 0 a 10 por ciento de uno o más agentes antimicrobianos o anticonceptivos y (7) agua. Más preferiblemente, los geles inmovilizadores de la presente invención contienen (1) de 3 a 5 por ciento de uno o más agentes formadores de matriz, (2) de 2,5 a 6 por ciento de uno o más agentes bioadhesivos, (3) de 1 a 7 por ciento de uno o más agentes tamponantes, (4) de 6 a 10 por ciento de uno o más humectantes, (5) de 0,1 a 1 por ciento de uno o más conservantes, (6) de 0,2 a 5 por ciento de uno o más agentes antimicrobianos o anticonceptivos y (7) agua.

Los agentes gelificantes o formadores de matriz adecuados para uso en la presente invención deben ser estables en un intervalo de pH amplio, especialmente en los valores de pH ácido normales encontrados en la vagina. Los agentes formadores de matriz adecuados se seleccionan de ácido algínico y goma gelan. El ácido algínico es el agente endurecedor de gel o formador de matriz preferido y es un polímero de glicouronano generalmente lineal que contiene una mezcla de ácido -(1,4)-D-gulosiurónico y restos de ácido -(1,4)-D-gulosiurónico. Generalmente, el peso molecular del ácido algínico está en el intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 300.000 g/mol, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 20.000 a 250.000 g/mol, y más preferiblemente es de aproximadamente 240.000 g/mol. Se espera que el ácido algínico forme alginatos insolubles interactuando con cationes monovalentes y divalentes (especialmente Na⁺, K⁺ y Ca⁺⁺) en plasma el seminal. Puesto que los fluidos vaginales generalmente contienen muy poco Ca⁺⁺, la matriz semisólida se forma solamente cuando está presente el eyaculado. En tales casos, la matriz semisólida inmovilizará los microbios que causan ETS y espermatozoides de modo que no puedan migrar a través del tracto genital inferior femenino. Los alginatos también se hinchan en contacto con agua, ayudando de este modo a mantener el gel o estructura de matriz deseados dentro de la vagina. Por supuesto, el ácido algínico o sales de ácido algínico también pueden contribuir a la actividad de tamponamiento ácido de los geles inmovilizadores de la presente invención puesto que tiene un pH de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 3,5 en una solución acuosa. El ácido algínico también puede contribuir a la naturaleza bioadhesiva de las presentes formulaciones y, por lo tanto, ayudar a proporcionar actividad bioadhesiva. Debido a su alto peso molecular, el ácido algínico no se absorberá por el cuerpo. De este modo, sus propiedades formadoras de matriz, bioadhesivas y de tamponamiento ácido se mantendrán siempre que el gel permanezca en la vagina. Además, debido a las propiedades bioadhesivas innatas del gel inmovilizador, normalmente permanecerá dentro de la vagina durante un periodo aproximado de 12 a 24 horas (o incluso más) si no se retira por la mujer.

Los agentes bioadhesivos adecuados para uso en la presente invención se seleccionan de goma de xantano, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, carboximetil celulosa sódica, quitosano, policarbófilo y carbómero. La goma bioadhesiva preferida es goma de xantano, una goma de polisacárido de alto peso molecular que contiene restos de D-glucosilo, D-manosilo y ácido D-glucosilurónico y proporciones diversas de O-acetilo y acetal de ácido pirúvico. La estructura primaria es una cadena principal de celulosa con cadenas laterales de trisacáridos; la unidad de repetición es un tetrasacárido. Generalmente, el peso molecular es mayor de aproximadamente 10⁶ g/mol. La hidroxietil celulosa se usa preferiblemente en geles inmovilizadores que no contienen nonoxinol-9.

En el presente gel inmovilizador se usan agentes tamponantes para mantener el pH de la vagina dentro de su intervalo ácido normal (es decir, un pH de menos de 5 y más preferiblemente en el intervalo de 3,5 a 4,5) incluso en presencia de cantidades normales de eyaculado. Los agentes tamponantes adecuados se seleccionan de ácido láctico, ácido cítrico, tartrato de ácido potásico, ácido benzoico, ácido algínico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, ácido edético, ácido etilendiaminotetraacético y ácido málico. Los ácidos pueden añadirse como ácidos libres, hidratos o sales farmacéuticamente aceptables. Generalmente se prefieren los ácidos libres. Por supuesto, los ácidos libres pueden convertirse en las sales correspondientes *in situ* (es decir, dentro de la vagina). Generalmente, se prefiere que se incluyan varios agentes tamponantes en el gel inmovilizador de esta invención para proporcionar mayor capacidad de tamponamiento. El ácido algínico, por supuesto, puede funcionar como un agente formador de matriz y un agente tamponante en los presentes geles inmovilizadores. Puesto que el ácido algínico no se absorberá por el cuerpo, su efecto de tamponamiento ácido durará más en comparación con los otros agentes tamponantes que pueden absorberse por el cuerpo.

Los geles inmovilizadores de esta invención también pueden incluir, y preferentemente lo hacen, humectantes. Los humectantes adecuados incluyen, por ejemplo, glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol, triacetina y similares. El glicerol, que es el humectante preferido, evita la formación de una película seca en el gel cuando se coloca dentro de la vagina. El glicerol también puede actuar como un lubricante.

Los geles inmovilizadores de esta invención también pueden incluir, y preferiblemente incluyen, un conservante. Los conservantes adecuados incluyen, por ejemplo, ácido benzoico, benzoato sódico, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio, nitrado fenilmercúrico, clorhexidina y similares. El conservante preferido es ácido benzoico. Como se ha analizado anteriormente, el ácido benzoico también puede contribuir a la capacidad de tamponamiento del gel.

Los geles inmovilizadores de esta invención preferiblemente contienen ácido algínico como el agente formador de matriz; goma de xantano y/o hidroxixelulosa como agente bioadhesivo; un agente tamponante seleccionado del

grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico, ácido benzoico, tartrato de ácido potásico; glicerol como humectante; ácido benzoico como conservante; y agua. Más preferiblemente, los geles inmovilizadores de esta invención contienen goma de xantano, ácido alginico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido benzoico, bitartrato potásico, glicerol y agua. Si se van a incluir antimicrobianos y anticonceptivos adicionales, los geles inmovilizadores de la invención más preferiblemente contienen goma de xantano, ácido alginico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido benzoico, bitartrato potásico, glicerol, agua y un agente antimicrobiano y/o anticonceptivo seleccionado del grupo que consiste en nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, copolímeros de formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido y ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄, povidona yodada, itraconazol, ketoconazol, metronidazol, clotrimazol, fluconazol, teraconazol, miconazol, tinidazol, iconazol, cloranfenicol, nistatina, y ciclopiroxolaminas.

Los agentes anticonceptivos y antimicrobianos adecuados incluyen, por ejemplo, nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, copolímeros de formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido, ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄, povidona yodada, itraconazol, ketoconazol, metronidazol, clotrimazol, fluconazol, teraconazol, miconazol, tinidazol, iconazol, cloranfenicol, nistatina, ciclopiroxolamina, y similares. Generalmente, estos agentes antimicrobianos y anticonceptivos, si se usan, se incluyen en una cantidad de menos de aproximadamente 12 por ciento, y preferiblemente a un nivel de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 por ciento. El nonoxinol-9, un agente anticonceptivo disponible en el mercado y bien conocido, puede causar irritación vaginal en algunas mujeres; en esos casos puede ser preferible disminuir la concentración o incluso eliminar el nonoxinol-9. Se describen hesperidinas fosforiladas y hesperidinas sulfonato adecuadas en la Patente de Estados Unidos 5.925.621 (20 de julio de 1999). Se describen ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄ adecuados en la Patente de Estados Unidos 5.932.619 (3 de agosto de 1999). Se describen copolímeros de formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido adecuados en la Patente de Estados Unidos 6.028.115 (22 de febrero de 2000); los copolímeros especialmente preferidos incluyen los sulfonatos de poli(metil éter) hidroquinona ramificados y derivados de los mismos. Se describen sulfonatos de poliestireno adecuados en la Solicitud de Patente de Estados Unidos con el Número de Serie 09/252.417 (presentada el 18 de febrero de 1999). Generalmente, se prefieren agentes no citotóxicos estables en condiciones ácidas tales como ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄ y sulfonatos de poli(metil éter) hidroquinona ramificados y derivados de los mismos.

Los geles inmovilizadores de la presente invención se preparan usando técnicas de preparación de geles convencionales. Es importante, sin embargo, asegurar que los agentes de tamponamiento están completamente solubilizados en el producto final y que se evita o al menos se mantiene en un mínimo la inmovilización de aire en el gel. Para reducir la inmovilización de aire en el gel, generalmente se prefiere que los agentes menos hidrófilos (por ejemplo, ácido alginico) se añadan en pequeños incrementos. Como alternativa, los geles inmovilizadores de esta invención también pueden prepararse en formas sólidas fácilmente dispersables (por ejemplo, polvos, comprimidos y similares) que pueden convertirse en la consistencia de gel deseada por acción de fluidos basados en agua externos o dentro de la vagina cuando se desee. Como entenderán los expertos en la materia, los métodos para preparar los geles inmovilizadores de la presente invención pueden modificarse para funcionamiento en lote, semi-continuo o continuo siempre que los geles inmovilizadores resultantes tengan las propiedades deseadas y beneficiosas descritas en la presente memoria.

Para relaciones heterosexuales vaginales, el gel inmovilizador puede insertarse en la vagina antes del acto sexual. Para sexo anal (heterosexual u homosexual), el gel inmovilizador puede insertarse en el recto antes del acto sexual. Para sexo vaginal o anal, el gel inmovilizador también podría actuar como lubricante. Para aumentar la protección, generalmente se prefiere que el gel inmovilizador se aplique antes del acto sexual u otra actividad sexual y que, si es apropiado, se use un preservativo. Para conseguir una protección aún mayor, el gel inmovilizador puede volver a aplicarse tan pronto como sea posible después de la finalización de la actividad sexual.

Si se desea, pueden incorporarse saporíferos, aromas, fragancias y colorantes en el gel inmovilizador en tanto que no interfieran con la protección proporcionada por el gel inmovilizador. De hecho, la incorporación de tales saporíferos, aromas, fragancias y colorantes en las composiciones de la presente invención puede proporcionar protección adicional aumentando la probabilidad de que se use el gel inmovilizador durante la actividad sexual.

Una ventaja del presente método es que puede usarse para protección durante una amplia diversidad de actividades sexuales (vaginales o anales) por heterosexuales, bisexuales y homosexuales. Otra ventaja del presente método para reducir la transmisión de ETS es que este método puede ponerse en práctica y/o usarse más fácilmente por el miembro de la pareja penetrado. De este modo, una mujer puede usar el presente método para protegerse (así como a su pareja) con o sin el conocimiento de su pareja del método que se usa. Además, no sería necesario que la pareja confiara en la afirmación de su compañero o compañera de no tener ETS o en el acuerdo para usar preservativos u otros dispositivos de barrera para protección. Uno o los dos miembros de la pareja sexual (especialmente la participante femenina) podrían iniciar y poner en práctica el uso del presente método antes o después del encuentro sexual. Preferiblemente, el método se usa antes de la actividad sexual y más preferiblemente tanto antes como después de la actividad sexual. Aunque su uso solamente después de la actividad sexual proporcionaría menos protección, aún sería deseable poner en práctica este método con posterioridad si el método no se usó antes de la actividad sexual por cualquier razón (por ejemplo, en casos de violación). Por supuesto, cuanto antes se inicie este método después de la actividad sexual mejor. Preferiblemente, el método se inicia en un periodo de una hora, más preferiblemente en un

periodo de 15 minutos y aún más preferiblemente casi inmediatamente después de la actividad sexual. Incluso después de periodos mayores que estos, sin embargo, el uso de este método tan pronto como sea posible después de la actividad sexual puede proporcionar al menos algo de protección (en comparación con no usar tratamiento).

5 Otra ventaja más de la presente invención es que, a diferencia de otros métodos protectores que se basan solamente en un compuesto citotóxico (por ejemplo, nonoxinol-9), el gel inmovilizador que se usa en esta invención no afecta o inhibe significativamente las características de crecimiento de la flora vaginal normal o irrita de forma significativa de otro modo el tejido vaginal cuando se usa a concentraciones inhibitorias, no citotóxicas o clínicas. Este beneficio se debe al menos parcialmente a la ausencia de agentes citotóxicos en las presentes composiciones. Adicionalmente, incluso cuando se incluye nonoxinol-9 en las presentes composiciones, las características negativas de nonoxinol-9 son menos perceptibles puesto que (1) el nivel requerido de nonoxinol-9 puede reducirse ya que el gel inmovilizador tiene su propia actividad anticonceptiva y (2) la naturaleza bioadhesiva de la composición proporciona protección del revestimiento vaginal mediante la reducción del contacto del nonoxinol-9 con el revestimiento vaginal. De este modo, los componentes beneficiosos de la flora vaginal normal generalmente no se alteran por el uso de la presente invención. Una inhibición o modificaciones significativas de la flora vaginal u otras irritaciones (tales como cuando se usan cantidades relativamente altas de nonoxinol-9 en anticonceptivos convencionales) puede conducir a un mayor riesgo de infecciones (tanto de tipo ETS como no ETS), flujos vaginales no habituales, molestias generales y similares, que a su vez, pueden llevar a una renuencia a usar o aprovechar completamente el método protector. Además, las composiciones ofrecen el beneficio añadido de que también pueden usarse para prevenir y/o tratar vaginitis y/o vaginosis bacterianas.

20 Al prevenir o reducir la intensidad de estos efectos sobre la flora y el tejido vaginal, el presente método tiene más probabilidad de usarse de forma habitual. Al reducir el número de actos sexuales sin protección (preferiblemente a cero) y promover el uso de las composiciones de esta invención tanto antes como después de cada acto sexual, el grado global de protección aumentaría significativamente. Al evitar o reducir las irritaciones vaginales y especialmente lesiones en las paredes vaginales (o revestimiento del recto en el caso de coito anal), la transmisión de ETS debería reducirse adicionalmente puesto que la transmisión de organismos que causan ETS generalmente es más fácil cuando se ha producido daño en las paredes celulares. De este modo, las mejoras en la facilidad de uso, reducción de efectos secundarios, capacidad de iniciarse por el miembro de la pareja a penetrar, la capacidad de usarse para diferentes y diversas actividades sexuales y la capacidad para mantener la flora vaginal normal durante el uso proporciona a las composiciones y métodos de la presente invención ventajas significativas como un método anticonceptivo y/o anti-ETS.

30 Las realizaciones y ejemplos descritos y analizados pretenden ilustrar la presente invención. A no ser que se especifique de otro modo, todos los porcentajes están en peso.

Ejemplo 1. Se prepararon geles usando varios métodos con la siguiente formulación general:

<u>Componente</u>	<u>Cantidad (%)</u>
Ácido algínico	4,25
Goma de xantano	3,0
Glicerol	8,0
Ácido láctico	2,0
Ácido cítrico	1,0
Bitartrato potásico	0,4
Ácido benzoico	0,2
Nonoxinol-9	0 a 10,0
Agua destilada	equilibrio

35 Se prepararon geles que contenía diversos niveles de nonoxinol-9 (es decir, de 0 a aproximadamente 10 por ciento). El pH de las formulaciones se ajustó a un pH de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 3,6 con hidróxido sódico. Se obtuvieron geles inmovilizadores de buena calidad con esta formulación. Además, y a diferencia de las formulaciones del ejemplo 2, estas formulaciones demostraron buena estabilidad durante periodos prolongados de tiempo incluso con niveles de nonoxinol-9 de hasta aproximadamente 5 por ciento.

40 Como se ha indicado anteriormente, los geles inmovilizadores de esta invención generalmente se preparan usando técnicas de preparación de geles convencionales. Es importante, sin embargo, asegurar que los agentes tamponantes están completamente solubilizados en el producto final y que se evita o al menos se mantiene en un mínimo la inmovilización de aire en el gel. Este ejemplo proporciona varios métodos mediante los cuales los geles inmovilizadores de esta invención pueden prepararse usando un equipo a escala de laboratorio. Por supuesto, pueden

usarse otros métodos (es decir, diferentes órdenes de adición de componentes así como una variación de otras variables) siempre que el gel inmovilizador producido tenga propiedades similares a las descritas en la presente memoria descriptiva. Los métodos descritos a continuación generalmente proporcionan geles inmovilizadores equivalentes.

5 Método 1. Usando la formulación presentada anteriormente, se añade ácido benzoico (4,0 g) a agua agitada (950 ml) seguido de la adición de hidróxido sódico (150 ml de una solución 1 M o cualquier otra combinación de volumen y normalidad para proporcionar cantidades equivalentes de hidróxido sódico). Se añaden tartrato de ácido potásico (8,0 g), ácido cítrico monohidrato (20,0 g) y ácido láctico (40,0 ml) a la mezcla; el pH se ajusta a aproximadamente 3,3 a aproximadamente 3,6 con hidróxido sódico 1 M (etapa de ajuste de pH 1). Se añade ácido algínico (85 g) a la solución agitada en pequeños incrementos para asegurar una dispersión uniforme y evitar la inmovilización de aire. Se añade después hidróxido sódico (230 ml de una solución 1 M o cualquier otra combinación de volumen y normalidad para proporcionar cantidades equivalentes de hidróxido sódico) a la solución y se agita durante 10 minutos. El pH se mide y se ajusta el pH a aproximadamente 3,3 a aproximadamente 3,6 (usando hidróxido sódico 1 M si es necesario; etapa de ajuste de pH 2). La agitación continúa hasta que se obtiene una mezcla uniforme.

15 En un recipiente separado, se mezcla goma de xantano (60 g) con glicerina (160 ml) y se agita hasta que sea uniforme y después se mezcla lentamente con la mezcla uniforme que se acaba de describir. Se añade después a la mezcla una cantidad de agua igual a 220 ml menos el volumen de agua usado en las etapas de ajuste de pH 1 y 2. El volumen de agua añadida variará, por supuesto, dependiendo de la concentración de hidróxido sódico usado en las etapas de ajuste de pH 1 y 2. La mezcla se agita durante un periodo corto (aproximadamente 15 minutos) y después se deja en reposo durante un corto periodo de tiempo (aproximadamente 10 minutos). La mezcla continúa después hasta que se obtiene una consistencia de gel uniforme. El pH se comprueba y debería estar en el intervalo de aproximadamente 3,25 a aproximadamente 2,80 y más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 3,37 a 3,52. Si fuera necesario, el pH puede ajustarse para llevarlo al intervalo deseado mediante la adición de solución de hidróxido sódico.

25 Método 2. Usando la misma formulación, se disuelve ácido benzoico (4,0 g) en agua (950 ml) con agitación (es decir, agitador magnético, mecánico, rotatorio, vibratorio o ultrasónico y similares). Sin esperar a la disolución completa del ácido benzoico, se añade hidróxido sódico (150 ml de una solución 1 M o cualquier otra combinación de volumen y normalidad para proporcionar cantidades equivalentes de hidróxido sódico) y se continúa la agitación. Se añade después tartrato de ácido potásico (8,0 g) a la mezcla. La velocidad o eficacia de agitación puede aumentarse para asegurar la disolución de los componentes. Se añade después ácido cítrico monohidrato (20,0 g) con agitación. Se transfiere después ácido láctico (40,0 ml) a la mezcla (se usa un pequeño volumen de agua destilada para aclarar el recipiente de transferencia) y el pH se ajusta a un valor de aproximadamente 3,3 a aproximadamente 3,6 con hidróxido sódico 1 M (etapa de ajuste de pH 1). Las sales y ácidos del tampón pueden disolverse o añadirse en cualquier orden. Se añade ácido algínico (85 g) a la solución agitada en pequeños incrementos (aproximadamente de media a una cuchara por adición en equipo de escala de laboratorio en lote) para asegurar que el ácido algínico se dispersa de forma uniforme en la mezcla sin inmovilización significativa de aire. Se añade después hidróxido sódico (230 ml de una solución de 1 M o cualquier otra combinación de volumen y normalidad para proporcionar cantidades equivalentes de hidróxido sódico) a la solución y se agita durante 10 minutos. Se mide el pH y se ajusta el pH a un valor de aproximadamente 3,3 a aproximadamente 3,6 (usando hidróxido sódico 1 M si fuera necesario; etapa de ajuste de pH 2). La agitación continúa durante aproximadamente 30 minutos o durante un periodo de tiempo suficiente para asegurar una mezcla uniforme.

45 En un recipiente separado, se mezcla goma de xantano (60 g) con glicerina (160 ml) y se agita hasta que sea uniforme. La solución uniforme recién preparada se transfiere lentamente después al recipiente con goma de xantano y glicerina con agitación continua. Se añaden los volúmenes de hidróxido sódico 1 M usados en las etapas de ajuste de pH 1 y 2 y se restan de 220 ml. Después se añade a la mezcla una cantidad de agua igual a 220 ml menos el volumen de agua usado en las etapas de ajuste de pH 1 y 2. El volumen de agua añadida variará, por supuesto, dependiendo de la concentración de hidróxido sódico usada en las etapas de ajuste de pH 1 y 2. La mezcla se agita para obtener una mezcla razonablemente uniforme sin una cantidad excesiva de inmovilización de aire en la preparación espesada. La mezcla se deja en reposo durante aproximadamente 10 minutos y después se agita durante un tiempo suficiente para obtener una consistencia de gel uniforme (normalmente aproximadamente 15 minutos). Se comprueba el pH y debería estar en el intervalo de aproximadamente 3,25 a aproximadamente 3,80 y más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 3,37 a 3,52. Si fuera necesario, el pH puede ajustarse para llevarlo al intervalo deseado por la adición de solución de hidróxido sódico.

55 Los geles inmovilizadores preparados usando los Métodos 1 y 2 tienen esencialmente las mismas propiedades. Para uso clínico, los genes inmovilizadores deben, por supuesto, analizarse para determinar si se consiguen las especificaciones del producto para diversos parámetros fisicoquímicos (por ejemplo, color, consistencia, separación de gel, olor, pH final (3,37-3,52), capacidad de tamponamiento y concentración de cualquier principio activo añadido). La capacidad de tamponamiento debe ser suficiente para que el pH de una mezcla de 400 μ l de NaOH 1 M en 40 ml de una solución acuosa al 5 por ciento del gel inmovilizador no sea mayor de 4,55. Por supuesto, como entenderán los expertos en la materia, algunas especificaciones o parámetros de productos (por ejemplo, color u olor) no afectarán significativamente a la eficacia clínica por sí mismos, pero pueden tener un impacto significativo en la aceptación por el

consumidor y, por lo tanto, en el grado en el que el producto se usa y se proporciona la protección.

5 El principio activo (es decir, agentes antimicrobianos y/o anticonceptivos) puede añadirse en una etapa apropiada, dependiendo de las propiedades fisicoquímicas del material. Por ejemplo, un tensioactivo tal como nonoxinol-9, que tiene tendencia a inducir la formación de espuma, preferiblemente se incorpora en la mezcla de goma de xantano y glicerol. Otros agentes antimicrobianos y/o anticonceptivos pueden incorporarse en cualquier momento durante la preparación del gel y más preferiblemente antes de que se obtenga la consistencia final para evitar la inmovilización de aire en el gel.

Ejemplo 2. Se prepararon geles adicionales con hidroxietil celulosa como segundo agente bioadhesivo. Se preparó la siguiente formulación general:

<u>Componente</u>	<u>Cantidad (%)</u>
Ácido algínico	3,5
Goma de xantano	2,0
Hidroxietil celulosa	1,75
Glicerol	10,0
Ácido láctico	2,0
Ácido cítrico	1,0
Bitartrato potásico	0,4
Ácido benzoico	0,2
Nonoxinol-9	0 a 10,0
Agua destilada	equilibrio

10

El gel se preparó usando los mismos métodos generales que en el Ejemplo 1, con la excepción de que se mezcló hidroxietil celulosa con la mezcla de glicerol y goma de xantano.

15 Se prepararon geles inmovilizadores que contenían diversos niveles de nonoxinol-9 (es decir, de 0 a aproximadamente 10 por ciento). El pH de las formulaciones se ajustó a un pH de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 3,6 con hidróxido sódico. Las formulaciones preparadas con niveles habituales de nonoxinol-9 (es decir, mayores de aproximadamente 5 por ciento), sin embargo, no eran tan estables como se deseaba. Los estudios de estabilidad indicaron que estas formulaciones de nonoxinol-9 tendían a separarse en una fase líquida y semisólida en un periodo de aproximadamente 60 días a aproximadamente 37°C. Evaluaciones adicionales indicaron que la falta de estabilidad se debía, en gran parte, a la incompatibilidad de la hidroxietil celulosa y el nonoxinol-9. De este modo, se prefiere que los geles inmovilizadores que usan hidroxietil celulosa como uno de los agentes bioadhesivos deben contener menos de aproximadamente el 5 por ciento (y más preferiblemente incluso menos) de nonoxinol-9.

20 Ejemplo 3. Este ejemplo ilustra las capacidades de tamponamiento ácido de los geles de la presente invención. (Se incluyen estudios adicionales y generalmente más detallados con respecto a las capacidades de tamponamiento de los geles de esta invención en el Ejemplo 10 mostrado más adelante). Usando el gel como se prepara en el Ejemplo 1, se determinó el pH del gel antes y después de la mezcla con diversas cantidades de semen. Se recogieron muestras de semen de voluntarios humanos sanos y se exploraron con respecto al recuento de espermatozoides, motilidad, pH y volumen; el pH inicial del semen fue de aproximadamente 7,9. El gel se diluyó con solución salina y se mezcló con semen a la relación deseada de gel y semen. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Dilución de gel	pH después de la mezcla
	<u>con solución salina</u> <u>con semen</u>
1:5	3,97
1:10	4,49
1:20	5,66

30 La relación de dilución de 1:5 representa aproximadamente 1 parte de gel con aproximadamente 1 parte de

semen; la relación de dilución 1:10 representa aproximadamente 1 parte de gel con aproximadamente 2 partes de semen.

Puesto que un eyaculado medio tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml y asumiendo una tasa de aplicación típica de aproximadamente 5 ml del gel, una relación 1:1 de gel:semen representaría la dilución media que se esperaría en la mayoría de los casos. De este modo, el presente gel tiene suficiente capacidad de tamponamiento ácido para mantener el pH por debajo de 5 incluso en presencia de cantidades mayores de lo normal de eyaculado.

El gel también se diluyó con agua hasta aproximadamente 15 por ciento y se valoró con NaOH 1 M. El gel requirió aproximadamente 0,5 y 1,5 miliequivalentes de NaOH para aumentar el pH a 4 y 5, respectivamente. El valor de pK_a de la preparación fue de 4,16 según se determinó a partir de la primera representación derivada.

Junto con su acción anticonceptiva y anti-ETS, los geles de la presente invención actuarían para restaurar y mantener la acidez vaginal normal a través de su acción de tamponamiento. Como se ha demostrado anteriormente, el gel puede neutralizar hasta dos veces su propio volumen de semen y mantener el pH por debajo de aproximadamente 4,5. Además, puesto que el ácido algínico no se absorbe significativamente (principalmente debido a su alto peso molecular) por el cuerpo, es de esperar que la capacidad de tamponamiento de la formulación se mantenga incluso después de que se hayan absorbido otros agentes tamponantes.

Ejemplo 4. Este ejemplo ilustra la actividad espermicida de los geles de esta invención sin nada de nonoxinol-9 añadido. (Se incluyen estudios adicionales y generalmente más detallados en relación con la actividad espermicida de los geles de esta invención en el Ejemplo 10 presentado más adelante). Se usó un gel como se ha preparado en el Ejemplo 1. La actividad espermicida se ensayó mediante la dilución del gel con solución salina fisiológica y su mezcla con semen en una relación de 5:1 (gel diluido y semen) y determinando por microscopía el porcentaje de espermatozoides móviles después de 30 segundos (Ensayo de Sander Cramer). La muestra de semen tenía un volumen original de aproximadamente 4,5 ml, una concentración de espermatozoides de aproximadamente 56×10^6 espermatozoides/ml y una movilidad global de espermatozoides de aproximadamente 55 por ciento. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Dilución de gel con solución salina	Motilidad de espermatozoides	Inhibición de la motilidad de <u>espermatozoides (%)</u>
1:5	0	100
1:10	0	100
1:20	20	63
1:40	54	2

En estas condiciones, una dilución de 1:5 del gel, cuando se mezcla con semen en una relación de 5:1, representa aproximadamente una relación de 1:1 de gel no diluido con semen; una dilución de 1:10 representa aproximadamente una relación de 1:2 de gel no diluido con semen; y una relación de 1:20 representa aproximadamente una relación de 1:4 de gel no diluido con semen. Puesto que un eyaculado medio tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml y asumiendo una tasa de aplicación típica de aproximadamente 5 ml del gel, una relación de 1:1 de gel:semen representaría la dilución media que se esperaría en la mayoría de los casos de relación sexual. De este modo, el presente gel tiene suficiente capacidad espermicida para inactivar esencialmente todos los espermatozoides incluso en presencia de cantidades mayores de lo normal de eyaculado.

Como se muestra anteriormente, los geles de la presente invención, sin un agente anticonceptivo son espermicidas eficaces. Todos los espermatozoides se inmovilizaron inmediatamente cuando el semen se mezcló con un gel diluido 10 veces (sin nonoxinol-9).

La adición de diversas cantidades de nonoxinol-9 al gel potencia sus propiedades espermicidas como se ilustra en la siguiente Tabla I. Los experimentos se realizaron exactamente como se ha descrito anteriormente para el gel sin nonoxinol-9. La muestra de semen usada con los geles que contenían 0,5 por ciento o 1,0 por ciento de nonoxinol-9 tenía un volumen de 5,0 ml, una concentración de espermatozoides de 70×10^6 espermatozoides/ml y una motilidad de espermatozoides global de 69 por ciento. La muestra de semen usada para el gel con 2,5 por ciento de nonoxinol-9 tenía un volumen de 4,5 ml, una concentración de espermatozoides de 56×10^6 espermatozoides/ml y una motilidad de espermatozoides global de 55 por ciento.

Tabla I

Dilución de gel	Motilidad espermática/ Porcentaje de inhibición		
	Gel con 0,5% de N-9	Gel con 1,0% de N-9	Gel con 2,5% de N-9
1:40	0 / 100%	-	-
1:50	2 / 97%	0 / 100%	0 / 100%
1:100	64 / 10%	9 / 86%	0 / 100%
1:200	-	55 / 20%	12 / 78%
1:400	-	-	55 / 0%

Por lo tanto, parece que, en los geles de esta invención, pueden usarse niveles reducidos de nonoxinol-9 conservando al mismo tiempo la eficacia espermicida *in vivo*. Concentraciones más bajas de nonoxinol-9 disminuirían la posibilidad de irritación vaginal debido a este detergente.

Ejemplo 5.

Se realizó un ensayo de irrigación vaginal en conejos usando un protocolo de ensayo convencional en el gel inmovilizador del Ejemplo 1 que contenía 0, 2,5, y 5 por ciento de nonoxinol-9. A los conejos se les administró la dosificación por vía vaginal con una sustancia/formulación de ensayo (dosis de 1 ml) durante diez días consecutivos seguido de escisión del tejido vaginal, fijación en formalina tamponada y examen histológico de tres regiones de la vagina abdominal. Los tejidos fijados se cortaron, se bloquearon, se montaron en bloques de parafina, se seccionaron y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Se obtuvieron secciones de la vagina abdominal anterior, abdominal media y abdominal posterior. La puntuación histológica se basó en modificaciones en el epitelio, congestión vascular, infiltración de leucocitos y edema. La puntuación total se basó en una puntuación máxima de cuatro para cada criterio con un máximo de 16. Se consideró una puntuación de 4 o menos como irritación mínima, de 5 a 8 irritación leve, de 9 a 11 irritación moderada y de 12-16 irritación marcada. De manera tradicional, las conclusiones se clasificaron para el uso clínico como aceptable con una puntuación de 0-8, intermedia para una puntuación de 9-11 e inaceptable para una puntuación total de 12 y superior.

Todos los animales toleraron bien la dosificación y no se observaron síntomas farmacotóxicos en ninguno de los grupos. El producto de ensayo se observó en la bóveda vaginal durante necropsia a simple vista en diversos animales tratados con las preparaciones del gel inmovilizador. A simple vista, no se observaron cambios en la vagina de ninguno de los animales tratados. Las puntuaciones histopatológicas fueron las siguientes:

Tabla II

Muestra	Puntuación Media
No Tratados (n=6)	0,8
Solución Salina Simulada (n=6)	3,7
Gel Inmovilizador (0% de N-9) (n=10)	5,3
Gel Inmovilizador (2,5% de N-9) (n=10)	6,8
Gel Inmovilizador (5% de N-9) (n=10)	8,6

Los geles inmovilizadores sin nonoxinol-9 o con nonoxinol-9 al 2,5% añadido mostraron irritación leve mientras que el gel inmovilizador con nonoxinol-9 al 5 por ciento mostró irritación moderada. Las tres formulaciones de los geles inmovilizadores se consideraron aceptables para evaluación clínica.

Ejemplo 6.

Este ejemplo ilustra la actividad antiherpética de los geles (con y sin nonoxinol-9 (N-9)) de esta invención. Se usaron los geles como se prepararon en el Ejemplo 1. Se realizaron estudios *in vitro* e *in vivo*. Para determinar la actividad antiherpética, se evaluaron las siguientes formulaciones:

- (1) Gel de la invención sin nonoxinol-9

- (2) Gel de la invención con nonoxinol-9 al 5 por ciento
- (3) Gel de la invención con nonoxinol-9 al 2,5 por ciento
- (4) Gelatina K-Y (Advanced Care Products) (control 1)
- (5) Gelatina K-Y con nonoxinol-9 al 2,2 por ciento (Advanced Care Products; K-Y Plus™) (control 2).
- 5 (6) Solución salina tamponada con fosfato (PBS) (control 3).

Estudios *In Vitro*. El Dr. B. Herold, Mount Sinai School of Medicine, Nueva York, NY, evaluó el gel de la invención con y sin nonoxinol-9 añadido para determinar la actividad *in vitro* contra el virus del herpes. Se preparó la cepa 186 del VHS-2 mediante cultivo en células de riñón de conejo (RK) primarias mediante pases reducidos.

10 Se realizaron ensayos de reducción de placa como describen Herold et al., *Antimicrobial Agents Chemothor.*, 43, 745-751 (1999). En la Tabla III se muestran los resultados.

Tabla III

Gel de la Invención			Gel de la Invención con 2,5% de nonoxinol-9		
mg/ml	ufp/pocillo	Inhibición (%)	mg/ml	ufpu/pocillo	Inhibición (%)
40	muerte de la célula hospedadora	-	40	muerte de la célula hospedadora	-
4	12	72	4	muerte de la célula hospedadora	-
0,4	24	44	0,4	17	60
0,04	42	2	0,04	32	26

Un control (solamente medio) obtuvo un promedio de 43 ufp/pocillo y un intervalo de 32 a 53 ufp/pocillo.

15 El gel de la invención es un inhibidor eficaz del herpes *in vitro*. La adición de nonoxinol-9 al gel de la invención parece aumentar el efecto antiherpético, sin embargo, el efecto debido al nonoxinol-9 añadido parece ser relativamente pequeño. Como se esperaba, la adición de nonoxinol-9 aumentaba la toxicidad de la célula hospedadora.

20 Estudios *In Vivo*. Se evaluó el gel de la invención con y sin nonoxinol-9 añadido para determinar la actividad *in vivo* contra al virus del herpes usando ratones. V. Pilipenko, N. Bourne, L. J. D. Zaneveld, S. Garg, D. P. Walter y L. R. Stanberry presentaron los resultados en el Thirteenth Meeting of the Internacional Society for Sexually Transmitted Diseases Research, Denver, CO, los días 11-14 de Julio de 1999. Se usó la cepa 186 del VHS-2 como se ha preparado anteriormente.

25 A ratones hembra Swiss Webster con un peso de 18-21 g (Harlan, Indianapolis, IN) se les administraron 0,1 ml de una suspensión que contenía 3 mg de acetato de medroxiprogesterona (Upjohn Pharmacia, Kalamazoo, MI) por inyección subcutánea en la región del hombro 7 días antes de la exposición al virus y después el día antes de la exposición al virus, para aumentar la susceptibilidad frente a la infección vaginal por el VHS. El día de la exposición viral, los animales se anestesiaron por inyección intraperitoneal de 0,25 ml de una solución que contenía 6,5 mg/ml de pentobarbitol sódico. Se realizaron dos frotis de la bóveda vaginal, el primero con un hisopo de tipo 1 con la punta humedecida con alginato de calcio (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) y después con un hisopo seco. Después de veinte segundos, los animales se expusieron por vía intravaginal por instilación de 15 µl de una suspensión que contenía 4,0 log₁₀ ufp de la cepa 186 del VHS-2.

30 Se recogieron muestras de frotis vaginal de todos los animales dos días después de la inoculación y se almacenaron congeladas (-80°C) hasta ensayar la presencia del virus por cultivo en monocapas de células RK susceptibles. Los ratones se evaluaron diariamente, hasta el día 21 después de la inoculación, para probar la infección sintomática que incluía alopecia y eritema alrededor del perineo, incontinencia urinaria crónica, parálisis de las extremidades posteriores y mortalidad. Para los propósitos de estos estudios, los animales que no desarrollaron síntomas se definieron como infectados si el virus se aisló de las muestras de frotis vaginal recogidas el día 2 después de la inoculación. Los datos de frecuencias se compararon por ensayo exacto de Fisher. Todas las comparaciones fueron de dos colas.

5 Se determinó la eficacia protectora de nonoxinol-9 no formulado (es decir, solamente solución salina normal) a diferentes concentraciones contra la infección del herpes genital en el modelo de ratón. Como se muestra en la Tabla IV, los animales tratados 20 segundos antes de la exposición al virus con una concentración de al menos 50 por ciento de nonoxinol-9, obtuvieron una protección significativa contra la enfermedad y la infección en comparación con los animales de control tratados con PBS ($p < 0,001$, cada uno); por supuesto, dichos niveles de nonoxinol-9 elevados no serían prácticos debido al elevado factor de irrigación. Sin embargo, los animales tratados con una solución de 5 por ciento de nonoxinol-9 (es decir una concentración similar a la de muchas formulaciones anticonceptivas comerciales) se infectaron, aunque hubo alguna reducción en el número de animales que desarrollaron enfermedad sintomática ($p < 0,05$).

10 **Tabla IV:** Efecto de Controles N-9 en PBS Contra el Virus del Herpes Simple Genital de Tipo 2 en Ratones

	Tiempo Administrado (s) ^a	Número de Inoculados	Protegido Contra la Enfermedad		Protegido Contra la Infección ^b	
			Número	%	Número	%
PBS	20	15	0	0	0	0
N-9 (100%)	20	15	15	100 ^c	14	93 ^c
N-9 (50%)	20	15	15	100 ^c	14	93 ^c
N-9 (5%)	20	15	6	40 ^d	2	13

^{a/} Tiempo con respecto a la inoculación del virus

^{b/} Los animales que no desarrollaron síntomas se definieron como infectados si el virus se aisló de los frotis vaginales recogidos el día 2 después de la inoculación

^{c/} $p < 0,001$ frente PBS, ensayo exacto de Fisher

15 ^{d/} $p < 0,05$ frente PBS, ensayo exacto de Fisher

20 Se realizaron estudios similares usando preparaciones espermicidas disponibles en el mercado que contenían nonoxinol-9 a concentraciones que variaban entre aproximadamente 2,2 a aproximadamente 3,5 por ciento. Las preparaciones espermicidas disponibles en el mercado incluían: K-Y PlusTM (nonoxinol-9 al 2,2 por ciento; Ortho-McNeil Pharmaceutical Corp., Raritan, NJ); EnceraTM (nonoxinol-9 al 3 por ciento; Thompson Medical Co, West Palm Beach, FL); ConceptrolTM (nonoxinol-9 al 5 por ciento; Ortho-McNeil Pharmaceutical Corp); Gynol IITM (nonoxinol-9 al 2 por ciento; Ortho-McNeil Pharmaceutical Corp); y AdvantageTM (nonoxinol-9 al 3,5 por ciento; Columbia Laboratories; disponible actualmente con el nombre comercial Advantage-STM). Como se muestra en la Tabla V, la protección contra la enfermedad y la infección fue solamente pequeña y se comparó con la observada en el estudio previo con nonoxinol-9 al 5 por ciento no formulado.

25 **Tabla V:** Efecto de Formulaciones de Nonoxinol-9 Convencionales Contra el Virus del Herpes Simple Genital de Tipo 2 en Ratones

	Tiempo Administrado (s) ^a	Número de Inoculados	Protegido Contra la Enfermedad		Protegido Contra la Infección ^b	
			Número	%	Número	%
PBS	20	47	1	2	0	0
K-Y Plus TM (2,2% N-9)	20	15	2	13	1	7
Encare TM (3% N-9)	20	15	6	40	4	27
Gynol II TM (2% N-9)	20	16	3	19	0	0
Conceptrol TM (4% N-9)	20	15	6	40	4	25

Advantage™ (3,5% N-9)	20	16	8	50	8	50
--------------------------	----	----	---	----	---	----

^{a/} Tiempo con respecto a la inoculación del virus

^{b/} Los animales que no desarrollaron síntomas se definieron como infectados si el virus se aisló de los frotis vaginales recogidos el día 2 después de la inoculación

5 También se realizó una serie de experimentos similares usando los geles de esta invención. Los resultados se muestran en las Tablas VI y VII.

Tabla VI: Efecto de los Geles de la Invención (con o sin Nonoxinol-9) y Formulaciones de Nonoxinol-9 Convencionales Contra el Virus del Herpes Simple Genital de Tipo 2 en Ratones

	Tiempo Administrado (s) ^a	Número de Inoculados	Protegido Contra la Enfermedad		Protegido Contra la Infección ^b	
			Número	%	Número	%
PBS	20	15	0	0	0	0
K-Y Jelly™	20	15	0	0	0	0
K-Y Plus™ (2,2% N-9)	20	15	3	20	0	0
Gel de la Invención (sin N-9 añadido)	20	15	4	27	1	7
Gel de la Invención + 2,5% N-9	20	15	11	73	5 ^{c,e}	33 ^d

^{a/} Tiempo con respecto a la inoculación del virus

10 ^{b/} Los animales que no desarrollaron síntomas se definieron como infectados si el virus se aisló de los frotis vaginales recogidos el día 2 después de la inoculación

^{c/} $p < 0,001$ frente PBS, ensayo exacto de Fisher

^{d/} $p < 0,05$ frente PBS, ensayo exacto de Fisher

^{e/} $p < 0,01$ frente KY+N9, ensayo exacto de Fisher

15 **Tabla VII:** Efecto de los Geles de la Invención (con o sin Nonoxinol-9) y Formulaciones de Nonoxinol-9 Convencionales Contra el Virus del Herpes Simple Genital de Tipo 2 en Ratones

	Tiempo Administrado ^a	Número de Inoculados	Protegido Contra la Enfermedad		Protegido Contra la Infección ^b	
			Número	%	Número	%
PBS	20 s	15	2	13	0	0
Gel de la Invención (sin N-9 añadido)	20 s	16	8	50	6	38
Gel de la Invención + 5% N-9	20 s	16	15	94 ^c	15	94 ^c
Gel de la Invención + 5% N-9	30 min	16	12	75 ^c	6	38

^{a/} Tiempo con respecto a la inoculación del virus

^{b/} Los animales que no desarrollaron síntomas se definieron como infectados si el virus se aisló de los frotis vaginales recogidos el día 2 después de la inoculación

^{c/} $p < 0,001$ frente PBS, ensayo exacto de Fisher

5 Las Tablas VI y VII ilustran algunas de las características del gel de la invención que lo hace especialmente atractivo como una formulación anti-ETS para el uso vaginal. Por ejemplo, la protección contra la enfermedad y la infección usando el gel de la invención en solitario (es decir, sin nonoxinol-9) era mejor a la obtenida con anticonceptivos convencionales (es decir, K-Y PlusTM o Gynol IITM). Adicionalmente, el gel inmovilizador de la invención en solitario era tan activo o más activo que el producto ConceptorolTM o AdvantageTM. Por lo tanto, el gel inmovilizador en solitario es tan activo como las preparaciones actualmente comercializadas incluso si son bioadhesivas y contienen de un 2,2 a un 10 3,5 por ciento de nonoxinol-9.

15 Como se muestra en la Tabla VII, el nivel de nonoxinol-9 del gel de la invención se elevó hasta aproximadamente un 5 por ciento. Estas formulaciones proporcionaron buena protección contra la enfermedad y la infección cuando los animales recibieron la exposición al virus poco después del tratamiento. Las formulaciones de esta invención proporcionaron protección significativa contra la enfermedad incluso cuando la exposición al virus se retrasó treinta minutos. Como los expertos en la materia comprenderán, un anticonceptivo o una formulación anti-ETS eficaz debe proporcionar dicha protección prolongada.

20 Ejemplo 7. Este ejemplo ilustra la actividad anti-*Chlamydia trachomatis* de los geles (con y sin nonoxinol-9 (N-9)) de esta invención. En todos los estudios se usó la biovar MoPn de la cepa Nigg II de *C. trachomatis* (VR-123; Colección Americana de Cultivos Tipo, Manassas, VA). Se propagaron cultivos de reserva en células McCoy mediante una modificación del procedimiento de Cooper et al. (Gen. Microbio. 1990; 136: 1109-1115). En resumen, se separaron células McCoy tratadas con cicloheximida en matraces de 175 cm² 72 horas después de la infección raspando y sometiendo a ultrasonidos para lisar las células hospedadoras. Los cuerpos elementales de Chlamydia se sedimentaron y se resuspendieron en tampón de sacarosa 0,2 M/fosfato 0,02 M (Bird et al., Public Health Service, Center for Disease Control, 1981) y se congelaron (-80°C). Las titulaciones de los cultivos de reserva de *C. trachomatis* se determinaron 25 inoculando células McCoy en placas de cultivo tisular de 46 pocillos con 0,1 ml de diluciones de 10 veces preparadas de la muestra congelada. Después de la incubación durante 48 horas, los cultivos se fijaron, se tiñeron y se realizó un recuento de unidades formadoras de inclusiones de Chlamydia con anticuerpos conjugados con fluoresceína contra el antígeno de Chlamydia (Bartels, Issaquah, WA).

30 Se evaluó la actividad anti-*C. trachomatis* de los geles de la invención y de diversos productos vaginales comerciales. A ratones hembra Swiss Webster que pesaban 18-21 g (Harlan, Indianapolis, IN) se les administró 0,1 ml de una suspensión que contenía 3 mg de acetato de medroxiprogesterona (Upjohn Pharmacia, Kalamazoo, MI) por inyección subcutánea en la región del hombro 7 días antes de la exposición al virus y después el día después de la exposición al virus, para aumentar la susceptibilidad frente a la infección vaginal del VHS. El día de la exposición viral, los animales se anestesiaron por inyección intraperitoneal de 0,25 ml de una solución que contenía 6,5 mg/ml de pentobarbital sódico. Se realizaron dos frotis de la bóveda vaginal, el primero con un hisopo de tipo 1 con la punta humedecida con alginato de calcio (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) y después con un hisopo seco. A los animales 35 anestesiados se les administraron después 15 µl de la formulación del ensayo antes de la exposición al patógeno.

40 Los animales se inocularon por instilación de 15 µl de una suspensión que contenía 4,0 log₁₀ UFI de MoPn de *C. trachomatis*. Se recogieron muestras de frotis vaginal de todos los animales los días 3 y 6 después de la inoculación y se almacenaron congeladas (-70°C) hasta ensayar la presencia de *C. trachomatis* en monocapas de células McCoy. Los animales se definieron como que tenían infección en el tracto genital inferior si *C. trachomatis* se aisló de cualquier muestra. Para detener la frecuencia de la infección en el tracto genital superior, los animales se sacrificaron el día 10 *P*1 y se extrajeron los oviductos y los ovarios. Los tejidos se cortaron en secciones de 2-3 mm² y se almacenaron congelados (-70°C). Las muestras se descongelaron, se sometieron a ultrasonido y se aclararon por centrifugación 45 antes de cultivar sobre monocapas de células McCoy. En algunos casos, los animales se sacrificaron el día 35 después de la inoculación y se examinó el tracto genital superior para determinar pruebas patológicas de infección en el tracto genital superior (es decir, hidrosálpinx). En las Tablas VIII y IX, respectivamente, se muestran los resultados de los productos vaginales comerciales y los geles de la invención.

Tabla VIII

	Tracto Genital Inferior	Tracto Genital Superior
	Protegidos contra infección/inoculados ^a	Protegidos contra infección/inoculados ^b
PBS	2/29 (7%)	4/29 (14%)
Gynol II TM (2% N-9)	6/16 (38%) ^c	6/16 (38%)
K-Y Plus TM (2,2% N-9)	0/16 (0%)	1/16 (6%)

Advantage-S™ (3,5% N-9)	3/16 (19%)	3/16 (19%)
Conceptrol™ (4% N-9)	0/16 (0%)	0/16 (0%)

^a Los animales se definieron como afectados si *C. trachomatis* se aisló por cultivo de muestras de frotis recogidas los días 3 o 6 después de la inoculación

^b Las muestras se recogieron el día 10 después de la inoculación

^c $p < 0,05$ frente PBS

5 Tabla IX

	Tracto Genital Inferior		Tracto Genital Superior	
	Protegidos contra infección/inoculados ^a	Protegidos contra infección/inoculados ^b	Protegidos contra hidrosálpinx/ inoculados ^c	
PBS	1/16 (6%)	0/18 (0%)	2/8 (25%)	
Gel de la Invención (sin N-9 añadido)	13/13 (81%) ^d	8/8 (100%) ^e	7/8 (88%) ^f	
Gel de la Invención con N-9 al 5%	10/16 62%) ^e	4/8 (%) ^f	8/8 (100%) ^e	

^a Los animales se definieron como afectados si *C. trachomatis* se aisló por cultivo de muestras de frotis recogidas los días 3 o 6 después de la exposición

^b Las muestras se recogieron el día 10 después de la exposición

^c Se consideró que los ratones habían desarrollado hidrosálpinx si se observó alguna hidrovesícula el día 35

10 ^d $p < 0,001$ frente PBS

^e $p < 0,01$ frente PBS

^f $p < 0,05$ frente PBS

15 El gel de la invención, con o sin nonoxinol-9, es altamente eficaz en la prevención de infección por *Chlamydia* en ratones. Además, el gel de la invención es más eficaz que cualquiera de los productos comerciales evaluados en la protección contra la infección por *Chlamydia* en ratones.

20 **Ejemplo 8.** Los Drs. Eliana Amarla y Aníbal Faundes, Universidad de Campinas, Campinas, Brasil, en colaboración con los autores de la invención, también realizaron ensayos clínicos de las formulaciones de la invención. Estos ensayos se diseñaron para determinar la tolerancia vaginal al gel de la invención con y sin nonoxinol-9. El gel de la invención usado era similar al preparado en el Ejemplo 1. Se usaron tres formulaciones del gel de la invención: (1) gel de la invención sin nonoxinol-9 añadido; (2) gel de la invención con nonoxinol-9 al 2,5 por ciento y (3) gel de la invención con nonoxinol-9 al 5,0 por ciento.

25 Se realizó un ensayo clínico en fase I doble enmascarado al azar usando 18 voluntarias (seis voluntarias tratadas con cada una de las tres formulaciones). Las mujeres incluidas en el estudio tenían 20-49 años, eran sexualmente activas, con ciclos menstruales regulares, sin riesgo de embarazo (es decir, con ligamiento de trompas, DIU, pareja con vasectomía realizada) y con una buena salud genital, según se evaluó mediante historial clínico, examen físico y ensayos de exploración de ETS. Se solicitó a las voluntarias de abstenerse de tener relaciones sexuales 48 horas antes de la admisión en el estudio y durante el estudio. Éstas también consintieron en realizar visitas clínicas para el seguimiento de evaluaciones el segundo y séptimo día después de la visita inicial y del comienzo del protocolo. Se excluyó a mujeres con un historial de una ETS en los últimos 12 meses, a las que habían usado cualquier producto vaginal 7 días antes de la admisión, o con alergia conocida a nonoxinol-9.

30 También se solicitó a las voluntarias que se abstuviesen de usar otros productos intravaginales, incluyendo espermicidas, tampones e irrigaciones, durante el estudio (salvo prescripción facultativa). También se las solicitó abstenerse de tener relaciones sexuales durante al menos dos días antes de la admisión en el estudio y durante el uso de los productos del ensayo con el propósito de impedir la influencia del semen y posible traumatismo durante el coito vaginal.

35 Se realizaron cuatro visitas diferentes para observar a las voluntarias: visita de exploración, primera visita (día 1), segunda visita (día 2) y tercera visita (día 7). Se las realizó una entrevista de exploración y admisión durante la fase folicular de su ciclo menstrual (días 6-9). En la visita de exploración, se las proporcionó una descripción de los objetivos

del estudio; historiales clínicos, exámenes físicos, prueba del embarazo y una lista de control con los criterios de inclusión y exclusión. Se leyó y se firmó el formulario de consentimiento informado. En esta visita de exploración se realizaron recuentos de leucocitos en muestras endocervicales. Se prescribió un tratamiento para la endocervicitis si se observaban 30 o más leucocitos por campo de alta resolución, si había edema/fiabilidad del cuello uterino o se observaba un cultivo positivo de *N. gonorrhoea*. Se realizó un ensayo de Whiff, pH vaginal, tinción Gram y montaje recién preparado para explorar infecciones vaginales. El hallazgo de ectropio o la presencia de *T. vaginalis*, hifas, ensayo de Whiff positivo, pH > 4,7 o células indicio pospuso la admisión hasta obtener un examen negativo.

En las tres visitas restantes, se evaluó la irritación (es decir, vulvar, vaginal y cervical) mediante un examen colposcópico seguido de un protocolo WHO para la evaluación de nuevos productos vaginales (World Health Organization, Global Programme on AIDS (WHO), "Manual for the Standardization of Colposcopy for the Evaluation Of Vaginally Administered Products", VMO/GPA/CRD/95, 10 Ginebra 1995, 15 p.). La ulceración, desepitelización, abrasión y eritema se consideraron síntomas de irritación. Los hallazgos se registraron y se obtuvo documentación fotográfica de la vulva, cuello uterino y bóveda lateral derecha. Para limpiar la bóveda vaginal y el cuello uterino, se aplicó suavemente un hisopo humedecido con solución salina antes de realizar la colposcopia WHO convencional.

La primera visita (día 1) se estableció en la siguiente fase folicular (días 6-9 del ciclo). Después de la colposcopia inicial, el investigador aplicó cinco ml del gel de la invención asignados al azar (0 por ciento, 2,5 por ciento ó 5 por ciento de nonoxinol-9). Se indicó a las voluntarias volver la siguiente mañana para evaluar los posibles efectos del producto a corto plazo en el tracto genital inferior. Durante la segunda visita (día 2), después de procedimientos colposcópicos, se indicó a las voluntarias auto-insertarse cinco ml del gel cada noche inmediatamente antes de acostarse durante cinco noches adicionales, en posición decúbito. También se las proporcionó un formulario para tomar notas de síntomas y tiempo de auto-aplicación del gel y se las indicó contactar con los investigadores si tenían que hacer preguntas o sentían alguna molestia significativa. Se programó regresar por la mañana después de terminar el periodo de tratamiento de cinco días. Durante la tercera y última visita (día 7), se realizó evaluación colposcópica final. En esta visita, se administró un cuestionario sobre los síntomas de observaciones (por ejemplo, sensación de "lubricación" o filtración y otros efectos relacionados) durante el uso del gel. En esta visita se recogieron los formularios de las pacientes que en sus anotaciones contenían cualquier sensación adversa durante el período de seis días.

En dos casos (nº 2 y nº 3) el protocolo se interrumpió con respecto al primer día de aplicación de gel por parte de la voluntaria debido a dificultades en la programación de una visita. Por lo tanto, estas pacientes, no usaron el gel de la invención durante un día entre la aplicación inicial por parte del investigador en la primera visita y el comienzo de las cinco aplicaciones auto-administradas. Adicionalmente, se inició el tratamiento de otras dos voluntarias (casos nº 5 y nº 6) el 10º día del ciclo (en lugar del 6º al 9º día). Las voluntarias eran libres de abandonar el estudio si experimentaban cualquier hemorragia, dolor inaceptable, irritación o ardor, o cualquier otra razón. Ninguna voluntaria abandonó el estudio y todas lo completaron.

Ninguna voluntaria se quejó en la segunda visita. Durante los primeros días de la auto-aplicación, cuatro personas indicaron quejas (3 indicaron quemazón y escozor y una "sensibilidad vaginal"). Todas estas personas usaron las formulaciones en gel de la invención que contenían nonoxinol-9. Tan solo una de las cuatro personas consideró que los síntomas eran "graves"; sin embargo, esta persona finalizó el ensayo e indicó que los síntomas habían desaparecido durante la última visita. Estas mismas cuatro personas mostraron eritema bulbar y cervical en el examen colposcópico final. La voluntaria con los síntomas más graves presentó un eritema moderado del cuello uterino y eritema leve de la vulva, pero su contenido vaginal era amarillento (pH de 7,0). Once voluntarias indicaron alguna filtración de gel; solamente cuatro lo consideraron como "molesto o repugnante". Dos de las seis usuarias del gel de la invención (nonoxinol-9 al 0 por ciento) notaron alguna filtración "en el momento de ir al servicio".

En la colposcopia, se observaron Petequias aisladas en el cuello uterino o en la vagina de nueve de las 18 voluntarias durante la primera visita (es decir, antes de la aplicación de cualquier gel). Estas Petequias se atribuyeron al traumatismo causado por la inserción del espéculo o a una limpieza suave con el frotis humedecido. Durante la segunda visita (es decir, después de un día de usar el gel), siete personas mostraron eritema: vulva (2), cuello uterino (3) y vagina (4). Seis de estas personas usaron los geles que contenían nonoxinol-9 (2,5 ó 5,0 por ciento); solamente una usó el gel de la invención sin N-9. Dos de estas personas presentó eritema en más de un sitio.

En la tercera visita (es decir, después de la auto-aplicación del gel durante cinco noches consecutivas), no se observó eritema o abrasión entre las usuarias del gel de la invención sin nonoxinol-9. Sin embargo, se observó eritema en el cuello uterino en todas las personas que usaban el gel de la invención que contenía nonoxinol-9. De la doce personas que usaron el gel de la invención con nonoxinol-9, diez presentaron eritema que era más intenso y generalizado. En las otras dos usuarias de nonoxinol-9, pudo observarse gel adherido al cuello uterino y eritema localizado en la base del área cuando se retiró la película. En nueve de las diez personas con eritema generalizado se produjo abrasión causada por la limpieza suave del cuello uterino o la vagina con el frotis humedecido. De estas diez voluntarias, también cuatro presentaron eritema intenso de la vagina y siete presentaron eritema vulvar. No se observaron úlceras, exulceraciones o desepitelización (es decir, más síntomas de irritación graves) en ninguna persona independientemente si el gel de la invención contenía o no nonoxinol-9.

En tres personas se observó, con el colposcopio, una capa adhesiva del gel de la invención sobre el cuello uterino durante la segunda y tercera visitas. Se observó una capa adhesiva de gel de la invención en el cuello uterino en

el 83 por ciento de las personas en la tercera visita (aproximadamente 12 horas después de la última aplicación del gel). En diez de las voluntarias que tenían una capa adhesiva sobre el cuello uterino, también se observó una capa del gel de la invención sobre la vagina. Para eliminar la película no bastó un lavado vaginal con solución salina. Los tres casos restantes, usando todas el gel sin nonoxinol-9, no mostraron adherencia del gel en el cuello uterino o la vagina.

5 En la Tabla X se proporciona el compendio de los resultados clínicos.

Tabla X

	Día 1			Día 2			Día 3		
	0% N-9	2,5% N-9	5% N-9	0% N-9	2,5% N-9	5% N-9	0% N-9	2,5% N-9	5% N-9
Eritema, vulva	0	0	0	0	2	0	0	3	4
Eritema, cuello uterino	0	0	0	0	0	3	0	6	6
Eritema, vagina	0	0	0	1	2	1	0	2	3
Abrasión, vulva*	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Abrasión cuello uterino *	0	0	0	0	0	0	0	5	4
Abrasión vagina*	0	0	0	0	0	0	0	2	3

* Abrasión debido a la realización del frotis vaginal.

10 Este estudio clínico indica la ausencia de cualquier irritación vaginal y cervical cuando se usa el gel de la invención en solitario (es decir, sin nonoxinol-9) y se aplica durante seis días consecutivos. Sin embargo, el gel de la invención que contenía un 2,5 ó 5,0 por ciento de nonoxinol-9, produjo eritema pero no irritación vaginal grave. Este eritema no fue suficiente para causar que cualquiera de las voluntarias interrumpiera el protocolo. Este eritema fue transitorio y desapareció a los 1 ó 2 días después del cese del tratamiento. Dado que el gel inmovilizador tiene propiedades antimicrobianas y anticonceptivas en sí mismo, se esperaba que los niveles de nonoxinol-9 pudieran reducirse adicionalmente, disminuyendo o eliminando por lo tanto de manera significativa el eritema causado por gel que contenía nonoxinol-9 manteniendo al mismo tiempo actividades anti-ETS y anticonceptivas elevadas. Además, las mujeres que son menos sensibles a nonoxinol-9 pueden beneficiarse del gel de la invención, incluso si en los ensayos clínicos se usan niveles más elevados de nonoxinol-9

20 Ejemplo 9. Se evaluó la capacidad de diversos anaerobios vaginales y otros organismos vaginales para sobrevivir en una mezcla de la composición de esta invención y en un caldo de *Brucella* a un pH de menos de aproximadamente 4. Una parte de la composición de la invención del Ejemplo 1 (sin nonoxinol-9 añadido; pH aproximadamente 3,55) se mezcló con una parte del caldo de *Brucella*; la mezcla tenía un pH de aproximadamente 3,48. Las muestras del ensayo se dejaron reposar en condiciones anaerobias durante al menos dos horas antes del ensayo. Se evaluaron inóculos de aproximadamente 5×10^7 organismos/ml de diversos organismos en las muestras del ensayo. Las muestras se subcultivaron cada hora durante un periodo de 24 horas usando agar sanguíneo en una atmósfera de CO₂ al 5 por ciento para determinar el tiempo de supervivencia de cada microorganismo. Los microbios indicados en la Tabla XI sobrevivieron una hora o menos.

Tabla XI

Muestra Número	Microorganismo
11423	<i>F. gonidiaformans</i>
11653	<i>F. gonidiaformans</i>
10481	<i>F. nucleatum</i>
11518	<i>F. nucleatum</i>
9052	<i>Prev. Melaninogen.</i>

11142	<i>Prev. intermedia</i>
11168	<i>Prev. intermedia</i>
11697	<i>Prev. bivia</i>
11683	<i>Prev. bivia</i>
11579	<i>Prev. disiens</i>
11698	<i>Prev. disiens</i>
11690	<i>Porph. asacch.</i>
11656	<i>Porph. asacch.</i>
11425	<i>Porph. levii</i>
11601	<i>Porph. levii</i>
11598	<i>Ps. magnus</i>
11658	<i>Ps. magnus</i>
11253	<i>Ps. tetradius</i>
11287	<i>Ps. tetradius</i>
11587	<i>Ps. asacch.</i>
11607	<i>Ps. asacch.</i>
9420	<i>Eubact. lentum</i>
11700	<i>Eubact. lentum</i>
P-53b	<i>Pseudo. aeruginosa</i>
P-68a	<i>Pseudo. aeruginosa</i>
P-41b	<i>Strep. agalactiae</i>
P-109a	<i>Strep. agalactiae</i>
11262	<i>Gardnerella vaginalis</i>
P-51a	<i>Gardnerella vaginalis</i>

Por lo tanto, parece que el gel de la invención tiene un amplio espectro de efecto inhibitor sobre organismos que producen vaginitis y/o vaginosis bacteriana.

5 Ejemplo 10. Este ejemplo proporciona datos adicionales con respecto a la eficacia protectora y otras propiedades de los geles inmovilizadores de esta invención. También se proporcionan comparaciones de diversas composiciones vaginales comerciales. El gel inmovilizador del Ejemplo 1 se envasó en tubos de plástico de 20 gramos con tapones a rosca. La actividad ácido tamponante del gel inmovilizador de la invención se comparó con la del gel ácido tamponante vaginal comercializado, Aci-Jel™ (Ortho-McNeil Pharmaceutical, Raritan, NJ). Las propiedades de conservación bioadhesivas y de viscosidad del gel inmovilizador de la invención se compararon con las de los geles comerciales incluyendo Conceptrol™ (Advanced Care Products, Raritan, NJ; un anticonceptivo vaginal comercializado usado habitualmente), Advantage S™ (Columbia Laboratories, Aventura, FL, un gel anticonceptivo vaginal que se destaca por tener propiedades bioadhesivas), gel Replens (Parke-Davis, Morris Plains, NJ, un hidratante vaginal bioadhesivo eficaz durante varios días), K-Y Jelly™ (Advanced Care Products, Raritan, NJ, un lubricante vaginal usado frecuentemente), y Aci-Jel™. Los productos comercializados se adquirieron en una farmacia local de venta al público.

15 Se recogió semen por auto-masturbación de cinco voluntarios sanos después de obtener la aprobación del Investigational Review Board (IRB) y el consentimiento de los voluntarios. El volumen promedio de las muestras de semen era de $2,3 \pm 0,45$ ml; la concentración esperma promedio era de 74×10^6 células/ml (límites de confianza del 90 por ciento: de 46 a 120×10^6 células/ml) y el porcentaje inicial promedio de la movilidad de los espermatozoides era de 62 por ciento (intervalo de 58 a 67 por ciento).

5 **Capacidad Ácido Tamponante.** La capacidad ácido tamponante se determinó por titulación con NaOH. Se diluyó un gramo de cada gel en 10 ml con NaCl al 0,9 por ciento (solución salina "normal") (1:10 p/v). Se añadió hidróxido de sodio (1,0 N) en incrementos de 20 ml con agitación constante. El pH se midió 30 segundos después de cada adición con un electrodo de combinación convencional. La agitación se detuvo durante las mediciones del pH. Este procedimiento se repitió hasta que el pH fuese superior a 7,0. Las titulaciones se realizaron por triplicado para cada gel. Las curvas de titulación se ajustaron mejor a los datos con el programa informático bidimensional TableCurve (SPSS Software, Chicago, IL). Estas curvas se usaron para calcular la cantidad de NaOH necesaria para llevar el pH de cada solución de gel a 5,0 (una medición de la capacidad tamponante del gel y generalmente considerado el pH vaginal máximo deseable). Para cada curva, se calcularon los primeros valores derivados para las curvas de X = 0 (sin NaOH añadido; el pH inicial) a X = m equivalentes de NaOH necesarios para titular la solución de gel a pH 7,0. También se calcularon los primeros valores derivados directamente a partir de los datos con interpolación mediante splines (StatMost statistical software, DataMost Corporation, Sandy, UT). Para calcular los valores pK_a claros a o por debajo de un pH 7, se usaron mínimos que estaban en común en los dos cálculos de los primeros derivados de las titulaciones.

15 La capacidad tamponante relevante de los geles se consideró como la cantidad de NaOH necesaria para llevar el pH del gel desde su valor inicial a 5,0. El gel inmovilizador de la invención tenía una capacidad ácido tamponante mucho más elevada que Aci-Jel™. Se necesitaron aproximadamente 0,320 meq de NaOH para aumentar el pH de 1 gramo del gel inmovilizador de la invención desde su pH inicial de 3,52 a 5,0, sin embargo, se necesitaron aproximadamente 0,076 meq para que Aci-Jel™ elevase el pH desde su valor inicial de 4,07 a 5,0. Esto coincide con los valores de pK_a claros más reducidos obtenidos para el gel inmovilizador de la invención (es decir, 3,7, 4,0 y 4,7) en comparación con Aci-Jel™ (es decir, 4,4 y 5,0).

25 La actividad tamponante fisiológicamente pertinente de los geles se calculó determinando el pH después de añadir directamente semen de humano completo (pH de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 8,0) a los geles no diluidos en proporciones variables (proporciones generalmente de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:09). El pH se midió con un electrodo de pH de combinación de punta de lanza de tipo Ross. Se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla XII.

Proporción de Gel con Respecto a Semen	pH Promedio	
	Gel de la Invención	Aci-Jel™
Solamente gel	3,45	4,05
1:1	3,97	5,14
1:2	4,45	5,79
1:4	5,18	6,57
1:9	6,48	no determinado
Solamente semen	7,64	

30 Confirmando las mediciones de titulación, el gel de la invención acidificó el eyaculado más eficazmente que Aci-Jel™. Por ejemplo, cuando se mezcló 1 parte de gel con 2 partes de semen, el pH se permaneció por debajo de 4,5 con el gel de la invención pero era casi 6,0 con Aci-Jel™. Las curvas se ajustaron a los datos con el programa informático TableCurve (SPSS Statistical Software, Chicago, IL). La proporción gel:semen calculada para producir un pH de 5,0 es 1:3,4 (22,9 por ciento de gel en la mezcla gel/semen) para el gel de la invención y 1:0,9 (52,5 por ciento de gel en la mezcla gel/semen) para Aci-Jel™. Los valores de pH calculados a partir de estas curvas del gel de la invención y de Aci-Jel al 100 por ciento son 3,53 y 4,08 respectivamente. Estos valores coinciden bien con las mediciones de pH directas indicadas anteriormente.

35 **Bioadhesión.** La fuerza bioadhesiva del gel de la invención y otras formulaciones en gel vaginal se midieron usando ensamblajes de ensayo de bioadhesión horizontal y vertical (Garg et al. "Rationalization of Selection of Polymers in the Development of Vaginal Formulations in Terms of Their Bioadhesion and Retention Properties" in Conference Abstracts of Microbicides 2000, marzo 13-16, Washington, DC, p.41) basándose en el principio de medición de resistencia a tracción (medido usando el ensamblaje de ensayo horizontal) y resistencia a cizalla (medido usando el ensamblaje de ensayo vertical) necesaria para romper el enlace adhesivo entre una membrana modelo y una formulación del ensayo. Como membranas se usaron celofán tratado con fluido vaginal simulado (FVS; Owen et al., "A Vaginal Fluid Simulant", *Contraception*, 1999; 59: 91-5) y mucosa vaginal aislada de oveja (obtenida de un matadero). Para medir la fuerza bioadhesiva, se mezclaron 0,5 g de gel con 0,25 ml de FVS y se aplicó entre las membranas sobre un área de aproximadamente 12 cm². Las membranas se mantuvieron en contacto con el gel durante 5 minutos. En el ensamblaje horizontal, el contacto del gel con las membranas se estableció manteniendo un peso (10

g) en el soporte superior. Antes de la medición, este peso se eliminó. En el ensamblaje vertical, se usó un tornillo para mantener el contacto con el gel y se retiró antes de realizar la medición. La fuerza bioadhesiva se tomó como la fuerza necesaria para separar las dos membranas.

5 Generalmente, la fuerza bioadhesiva del gel de la invención fue superior a la de cualquiera de los productos comerciales. Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Tabla XIII. Fuerzas bioadhesivas de formulaciones vaginales usando membrana de celofán

Formulación	Fuerza Bioadhesiva (dinas/cm ² , n=6)	
	Ensamblaje Horizontal	Ensamblaje Vertical
Gel de la invención	1223	774
Aci-Jel™	904	471
Advantage S™	441	412
Conceptrol™	944	410
Jalea K-Y™	913	375
Replens™	717	328

Tabla XIV. Fuerzas bioadhesivas de formulaciones vaginales usando membrana de mucosa vaginal de oveja

Formulación	Fuerza Bioadhesiva (dinas/cm ² , n=6)	
	Ensamblaje Horizontal	Ensamblaje Vertical
Gel de la invención	1191	833
Aci-Jel™	1143	511
Advantage S™	363	360
Conceptrol™	641	423
Jalea K-Y™	907	390
Replens™	1228	676

10 En el ensamblaje horizontal, usando la membrana celofán, la fuerza bioadhesiva del gel de la invención fue aproximadamente 1,3, 2,8, 1,3, 1,3 y 1,7 veces superior, respectivamente que Aci-Jel™, Advantage S™, Conceptrol™, K-Y Jelly™ y Replens™. Usando membrana de la mucosa vaginal de oveja en el mismo ensamblaje, la fuerza bioadhesiva del gel de la invención fue aproximadamente 3,3, 1,9, y 1,3 veces superior que, respectivamente, Advantage S™, Conceptrol™ y K-Y Jelly™ pero básicamente idéntica a la de Aci-Jel™ y Replens™. En el ensamblaje vertical usando membrana de celofán, el gel de la invención fue aproximadamente 1,6, 1,9, 1,9, 2,1 y 2,4 veces más bioadhesivo que Aci-Jel™, Advantage S™, Conceptrol™, K-Y Jelly™ y Replens™ respectivamente y, con la membrana de mucosa de vagina de oveja aproximadamente 1,6, 2,3, 2,0, 2,1 y 1,2 superior, respectivamente. En general, los dos tipos de membranas produjeron resultados similares con todas las formulaciones excepto Aci-Jel™ y Replens™, que tendían a ser más adhesivas hacia la mucosa de vagina de oveja con la membrana de celofán.

20 Viscosidad. Durante el uso, se esperó que se produjera una dilución en la vagina debido al volumen del semen depositado, la presencia de fluido vaginal y la filtración parcial del gel desde la vagina con el tiempo. Para calcular el efecto de dicha dilución, se determinaron las viscosidades del gel de la invención diluido así como geles vaginales disponibles en el mercado diluidos. Se pesaron muestras de formulaciones vaginales en matraces de 25 ml. Se añadió agua desionizada (resistencia mínima 16 MW) a las muestras de gel para conseguir una solución/suspensión al 20 por ciento o (p/v; 1 parte de gel con respecto a 4 partes de agua). Usando una barra de agitación magnética, las muestras se agitaron durante 30 minutos. La viscosidad se determinó a una temperatura de 30,0 ± 0,5°C con un viscosímetro Brookfield DV-I + (ejes LVT) con un pequeño adaptador para muestras (eje número 18). La velocidad del eje se ajustó para proporcionar el mayor porcentaje del par de torsión en el intervalo del 10 al 100 por ciento según recomendación del fabricante.

Se obtuvieron los siguientes resultados para el gel de la invención y los diversos geles vaginales comerciales.

Tabla XV.

Formulación	Viscosidad (cps)
Gel de la invención	4332
Aci-Jel™	206
Advantage S™	16
Conceptrol™	42
K-Y Jalea™	41
Replens™	24

5 El gel de la invención conservó su viscosidad después de dilución mucho mejor que los otros geles. La viscosidad del gel de la invención diluido fue de 21, 271, 103, 103 y 180 veces superior a la de Aci-Jel™, Advantage S™, Conceptrol™, K-Y Jelly™ y Replens™, respectivamente. Tanto las formulaciones de Replens™ como las de Advantage S™ no se disolvieron fácilmente en agua, de hecho algunos componentes se separaron de la superficie del envase.

10 Actividad espermicida. Para evaluar la actividad espermicida, se diluyó el gel de la invención con solución salina (NaCl al 0,9 por ciento) para obtener muestras que tenían una solución salina de 200, 100, 50, 33 y 25 mg gel/ml. Se añadieron cinco volúmenes de cada suspensión de gel diluido a un volumen de semen. Se determinó el porcentaje de movilidad de los espermatozoides 30 segundos después de la adición del semen, con microscopía de campo brillante mediante una modificación del método de Sander y Cramer (Anderson et al., "Evaluation of Poli (Styrene-4-Sulfonate) as a Preventive Agent for Conception and Sexually Transmitted Diseases", J. Androl, 2000 (in press); Sander et al., "A Practical Method for Testing the Spermicidal Action of Chemical Contraceptives" *Hum Fertil*, 1941; 6: 134-7). Se examinaron aproximadamente 200 espermias por muestra. Se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla XVI.

Proporción de Gel No Diluido con Respecto a Semen	pH	Espermatozoides móviles (%)
Solo semen	8,09	70
1:8	6,46	62
1:6	6,04	54
1:4	5,54	33
1:2	4,56	0
1:1	3,97	0

20 La actividad espermicida del gel de la invención aumentaba de una manera dependiente de la dosis a medida que la cantidad del gel en la mezcla aumentaba y el pH de la mezcla de semen disminuía. Estudios comparativos (no mostrados) demostraron que el gel de la invención tenía una actividad espermicida mucho mayor en comparación con Aci-Jel™. Por ejemplo, una proporción de 1:2 del gel de la invención no diluido/semen tenía un pH de 4,56 y básicamente una inmovilización de esperma completa; la misma dilución de Aci-Jel™ tenía un pH de 6,22 y básicamente sin efecto en cuanto a la movilidad del esperma en idénticas condiciones.

25 Los espermatozoides se inactivaron generalmente a un pH de 5,0 (Garg y Zaneveld, resultados no publicados, véase también Mann, *The Biochemistry of Seme*, Nueva York, Wiley, 1964). Basándose en estos resultados, una mezcla de gel de la invención no diluido y semen a una proporción de 1 a 3,4 debe producir un pH de 5,0 y por lo tanto, debe ser completamente espermicida. Sin embargo, una actividad espermicida parcial puede observarse a concentraciones de gel con respecto a semen inferiores; por ejemplo, una proporción de gel de la invención con respecto a semen de 1:4 produjo aproximadamente una inhibición del 33 por ciento de la movilidad del esperma. Se calculó que el valor CI₅₀ en las condiciones del ensayo era equivalente a una proporción de gel no diluido con respecto a semen de 1 a 4,1.

5 Estabilidad. Se almacenaron tubos de plástico que contenían el gel de la invención a 4°C, 27°C y 40°C. Los tubos se retiraron a intervalos de 1, 2, 3 y 6 meses y las propiedades del material almacenado a 27°C y 40°C se compararon con las de las conservadas a 4°C. También se realizaron comparaciones entre muestras almacenadas a 27°C y 4°C después del almacenaje durante 24 meses. Se obtuvieron las muestras para el análisis preparando un corte longitudinal en el tubo en un patrón de mariposa (a través de la parte superior, a través de la parte inferior, después por debajo del medio conectando las secciones de la parte superior e inferior opuestas al cierre) después de lo cual las paredes de los tubos se abrieron cuidadosamente. Los contenidos se observaron para determinar su aspecto y color y las paredes del tubo para determinar su estado y cambios de color. Las muestras del ensayo para análisis se obtuvieron en la región superior media e inferior del tubo. El pH de las tres regiones superior media e inferior se determinó con un peachímetro (Orion Model 230A with Orion Ross Sure-Flow Electrode). La capacidad tamponante de las muestras se midió mezclando cuatro alícuotas de 100 ml (400 ml total) de NaOH 1N con respecto a 40 ml de una solución acuosa al 5 por ciento de la muestra y determinando el pH. Se realizó un Ensayo de Límite Microbiano (para determinar la contaminación microbiana) y un Ensayo de Exposición Microbiana (para determinar la eficacia de conservación; usando *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) en puntos de tiempo seleccionados para muestras almacenadas a temperatura ambiente y en condiciones de estrés

10 No se observaron cambios en el aspecto general, color, olor, consistencia, homogeneidad, pH y capacidad tamponante para las muestras almacenadas en condiciones de estrés aceleradas a 40°C durante hasta 6 meses o a temperatura ambiente durante hasta 24 meses (los períodos de tiempo más largos medidos) cuando se comparó con muestras de control almacenadas a 4°C. Además, los geles almacenados pasaron los ensayos microbianos en todos los puntos de tiempo de evaluación.

20 Ejemplo 11. Este ejemplo ilustra los geles inmovilizadores de la presente invención formulados en forma de comprimidos que se diseñan para insertarse en la vagina. Los comprimidos se prepararon con la siguiente formulación:

Ingrediente	Cantidad(%)
Goma de xantano	2,0
Ácido algínico	2,65
Alginato de sodio	2,65
Ácido cítrico	2,0
Ácido láctico	2,0
Ácido tartárico	0,5
Lactosa	63,0
L-hidroxipropil celulosa	10,0
D-sorbitol	5,0
Glicolato de Almidón de sodio ^a	5,0
Ácido benzoico	0,2
Croscarmelosa sódica ^b	3,0
Estearato de magnesio	1,0
Talco	1,0

^a AC-Di-Sol™ de Mendell, Reino Unido

^b Explotab™ de FMC, Bélgica

25 Todos los ingredientes sólidos se pesaron de manera precisa en cantidades necesarias y se pasaron a través de un filtro de un número 85. Se preparó una mezcla de excipiente mezclando minuciosamente goma de xantano (aproximadamente la mitad de la cantidad total), ácido algínico, alginato de sodio, lactosa, D-sorbitol, glicolato de almidón de sodio y L-hidroxipropil celulosa en un papel de mantequilla usando una espátula; la mezcla del excipiente se transfirió después a una bolsa de polietileno llena con aire y se volteó durante 10 minutos para mezclar minuciosamente.

30 Se preparó una solución aglutinante de goma de xantano (la cantidad restante), ácido cítrico, ácido láctico, ácido benzoico y ácido tartárico disuelto en una pequeña cantidad de agua destilada. La cantidad de agua en la solución aglutinante era generalmente de aproximadamente 7 a 8 ml para un lote de formulación de 30 g.

La solución aglutinante se añadió la mezcla con el excipiente mezclando. La mezcla continuó hasta incorporar

5 todas las sales en la formulación y la masa húmeda resultante pudo pasarse fácilmente a través de un filtro de número 16. Después de pasar la masa húmeda a través de un filtro número 16 se secó a 45°C durante 24 horas. Los gránulos secos después se pasaron a través de un filtro de número 22. Los gránulos secados resultantes se mezclaron con la croscarmelosa sódica, estearato de magnesio y talco en una bolsa de polietileno. La mezcla resultante después se transformó en comprimidos (aproximadamente 1,2 g/comprimido) usando una máquina compresora de comprimidos de un stroke (Cadmach, Ahmedabad, Gujarat, India) usando punzones cóncavos en forma de almendra convencionales.

10 Como se conoce bien en la técnica, pueden incluirse otros ingredientes en los comprimidos según se desee y/o sea necesario. Dichos ingredientes opcionales incluyen, por ejemplo, excipientes, tales como goma de xantano, ácido alginico, alginato de sodio, ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido benzoico, y similares; diluyentes tales como lactosa, dihidrato fosfato cálcico dibásico, fosfato cálcico tribásico, almidón, sorbitol, celulosa microcristalina, carbonato cálcico, dextrosa, manitol, caolín y similares; disgregantes tales como la 1- hidroxipropil celulosa, celulosa microcristalina, alginato de sodio, glicolato de almidón de sodio, dióxido de silicio coloidal; carboximetil celulosa sódica, carboximetil celulosa de calcio, crospovidona, goma guaro, metilcelulosa, croscarmelosa de sodio y similares; humectantes tales como D-sorbitol, triacetina, alcoholes polihidroxílicos tales como glicerol y propilenglicol y lubricantes/emolientes tales como estearato de magnesio, talco, estearato de calcio, ácido esteárico, aceite de ricino, lauril sulfato sódico, estearato de zinc, monoestearato de glicerilo, ácido bórico, y similares.

20 Cuando el comprimido se añade a la solución salina (un comprimido en aproximadamente 10 ml), se hincha y se disgrega en aproximadamente 3 a aproximadamente 5 minutos. Después de aproximadamente los 2 primeros minutos, aproximadamente la mitad del comprimido se ha disgregado, continuando la disgregación, la viscosidad de la dispersión aumenta. El pH inicial de la dispersión era aproximadamente de 3,1. La capacidad tamponante se determinó por titulación con NaOH 0,97 M; el valor de pK_a era de aproximadamente 2,96. La capacidad tamponante era suficiente para tamponar y neutralizar de aproximadamente 3 a aproximadamente 7 ml de semen normal.

25 La fuerza bioadhesiva de los comprimidos (se añadió un comprimido a aproximadamente 10 ml de solución salina) se midió usando el ensamblaje del ensayo bioadhesivo horizontal descrito en el Ejemplo 10 usando membranas de celofán hidratadas con fluidos vaginales estimulados. También se realizó una comparación con los siguientes comprimidos vaginales disponibles en el mercado: (1) Candid-V6® (clotrimazol IP (100 mg); Glenmark Pharmaceuticals Ltd., Goa, India); (2) Betadine® (povidona yodada IP 200 mg (yoduro disponible 20 mg); Win-Medicare Ltd, New Delhi, India); (3) Infa-V® (Metronidazol IP (500 mg), Clotrimazol (100 mg), y Bacillus de ácido láctico (150 millones de esporas); Lark Laboratories (India) Ltd, New Delhi, India); (4) Candizole-T® (Tinidazol IP (500 mg), nitrato de Miconazol IP (200 mg) y Neomicin Sulfato IP equivalente a 20 mg de Neomicina; Foreva Women's Healthcare, Unichem Laboratories Ltd, Mumbai, India). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla XVII. Fuerzas bioadhesivas de las formulaciones en comprimidos vaginales usando membrana de celofán

Formulación del Comprimido	Fuerza Bioadhesiva (dinas/cm ² , n=5)
Comprimido de la invención	944 ± 69
Candid-V6®	713 ± 70
Betadine®	611 ± 74
Infa-V®	643 ± 70
Candizole-T®	529 ± 65

35 La fuerza bioadhesiva del comprimido de la invención era de aproximadamente 1,3, 1,5, 1,5, y 1,8 veces superior, respectivamente a la de Candid-V6®, Betadine®, Infa-V®, y Candizole-T®.

Los comprimidos de esta invención pueden insertarse en la vagina para proporcionar en combinación con fluidos vaginales u otros fluidos presentes en la vagina, los geles inmovilizadores de esta invención. Si se desea, pueden usarse otros ingredientes tales como, por ejemplo, colorantes y aromatizantes en los comprimidos vaginales para aumentar o mejorar el agrado estético.

REIVINDICACIONES

1. Una composición antimicrobiana y anticonceptiva que reduce el riesgo de transmisión de, o infección por, una enfermedad de transmisión sexual a través de actividad sexual que implica una vagina de una mujer y un pene de un hombre, comprendiendo dicha composición
- 5 (1) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente formador de matriz seleccionado del grupo que consiste en ácido algínico y goma gelan,
- (2) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente bioadhesivo seleccionado del grupo que consiste en goma de xantano, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, carboximetil celulosa sódica, quitosano, policarbófilo y carbómero,
- 10 (3) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente tamponante seleccionado del grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico, tartrato de ácido potásico, ácido benzoico, ácido algínico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, ácido edético, ácido málico y
- (4) agua;
- 15 donde la composición es adecuada para la aplicación dentro de la vagina; donde la composición forma una matriz semisólida en contacto con el semen; donde la composición produce endurecimiento del moco cervical; donde la composición forma una capa bioadhesiva en las superficies vaginales; donde la composición mantiene un pH vaginal ácido de menos de 5 en presencia de semen eyaculado de un varón, y donde la composición es hipertónica.
2. La composición como se define en la reivindicación 1, donde la composición comprende adicionalmente un humectante y un conservante.
- 20 3. La composición como se define en la reivindicación 1, donde la composición comprende adicionalmente un agente antimicrobiano o anticonceptivo.
4. La composición como se define la reivindicación 2, donde la composición comprende adicionalmente un agente antimicrobiano o anticonceptivo.
- 25 5. La composición como se define en la reivindicación 1, donde la composición conserva el pH vaginal ácido en un intervalo de 3,5 a 4,5; y donde la composición no altera significativamente el equilibrio microbiológico natural dentro de la vagina.
- 30 6. La composición como se define en la reivindicación 2, donde la composición contiene de 3 a 5 por ciento en peso del agente formador de matriz, de 2,5 a 6 por ciento en peso del agente bioadhesivo y de 1 a 7 por ciento en peso del agente tamponante, de 6 a 10 por ciento en peso del humectante y de 0,1 a 1 por ciento en peso del conservante; donde la composición mantiene el pH vaginal ácido en el intervalo de 3,5 a 4,5; y donde la composición no altera significativamente el equilibrio microbiológico natural dentro de la vagina.
- 35 7. La composición como se define en la reivindicación 4, donde la composición contiene de 3 a 5 por ciento en peso del agente formador de matriz, de 2,5 a 6 por ciento en peso del agente bioadhesivo, de 1 a 7 por ciento en peso del agente tamponante, de 6 a 10 por ciento en peso del humectante, de 0,1 a 1 por ciento en peso del conservante y de 0,2 a 5 por ciento en peso del agente antimicrobiano o anticonceptivo; donde la composición mantiene el pH vaginal ácido en el intervalo de 3,5 a 4,5; y donde la composición no altera significativamente el equilibrio microbiológico natural dentro de la vagina.
- 40 8. La composición como se define en la reivindicación 2, en la que el humectante se selecciona del grupo que consiste en glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol y triacetina; y en la que el conservante se selecciona del grupo que consiste en ácido benzoico, benzoato sódico, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio, nitrato fenilmercúrico y clorhexidina.
- 45 9. La composición como se define en la reivindicación 4, en la que el humectante se selecciona del grupo que consiste en glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol y triacetina; en la que el conservante se selecciona del grupo que consiste en ácido benzoico, benzoato sódico, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, cloruro benzalconio, nitrato fenilmercúrico y clorhexidina; y en la que el agente antimicrobiano o anticonceptivo se selecciona del grupo que consiste en nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, co-polímeros de formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido, ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄, povidona yodada, itraconazol, ketoconazol, metronidazol, clotrimazol, fluconazol, teraconazol, miconazol, tinidazol, iconazol, cloranfenicol, nistatina y ciclopiroxolamina.
- 50 10. La composición como se define en la reivindicación 4, en la que el agente formador de matriz es ácido algínico; en la que el agente bioadhesivo es goma de xantano o hidroxipropil celulosa; en la que el agente tamponante se selecciona del grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico y tartrato de ácido potásico; en la que el humectante se selecciona del grupo que consiste en glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol y triacetina; en la que el

conservante se selecciona del grupo que consiste en ácido benzoico y benzoato sódico; y en la que el agente antimicrobiano o anticonceptivo se selecciona del grupo que consiste en nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, copolímeros de formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido y ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄.

- 5 11. Uso de una composición antimicrobiana y anticonceptiva para la preparación de un producto farmacéutico para reducir el riesgo de transmisión e infección por una enfermedad de transmisión sexual mediante una actividad sexual que implica la vagina de una mujer y el pene de un hombre, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz de una composición antimicrobiana y anticonceptiva dentro de la vagina antes de, o poco después, de la actividad sexual; en el que la composición comprende
- 10 (1) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente formador de matriz seleccionado del grupo que consiste en ácido algínico y goma gelan,
- (2) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente bioadhesivo seleccionado del grupo que consiste en goma de xantano, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, carboximetil celulosa sódica, quitosano, policarbófilo y carbómero,
- 15 (3) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente tamponante seleccionado del grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico, tartrato de ácido potásico, ácido benzoico, ácido algínico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, ácido edético y ácido málico y
- (4) agua;
- 20 donde la composición es adecuada para la aplicación dentro de la vagina; donde la composición forma una matriz semisólida tras el contacto con el semen; donde la composición produce el endurecimiento del moco cervical; donde la composición forma una capa bioadhesiva sobre las superficies de la vagina; donde la composición mantiene un pH vaginal ácido de menos de 5 en presencia del semen eyaculado del hombre; y donde la composición es hipertónica.
12. El uso como se define en la reivindicación 11, en el que la composición comprende adicionalmente un humectante y un conservante.
- 25 13. El uso como se define en la reivindicación 11, en el que la composición comprende adicionalmente un agente antimicrobiano o anticonceptivo.
14. El uso como se define en la reivindicación 12, en el que la composición comprende adicionalmente un agente antimicrobiano o anticonceptivo.
- 30 15. El uso como se define en la reivindicación 11, en el que la composición conserva el pH vaginal ácido en el intervalo de 3,5 a 4,5; y en el que la composición no altera significativamente el equilibrio microbiológico natural dentro de la vagina.
- 35 16. El uso como se define en la reivindicación 12, en el que la composición contiene de 3 a 5 por ciento en peso del agente formador de matriz, de 2,5 a 6 por ciento en peso del agente bioadhesivo, de 1 a 7 por ciento en peso del agente tamponante, de 6 a 10 por ciento en peso del humectante, y de 0,1 a 1 por ciento en peso del conservante; en el que la composición conserva el pH vaginal ácido en el intervalo de 3,5 a 4,5; y en el que la composición no altera significativamente el equilibrio microbiológico natural dentro de la vagina.
- 40 17. El uso como se define en la reivindicación 14, en el que la composición contiene de 3 a 5 por ciento en peso del agente formador de matriz, de 2,5 a 6 por ciento en peso del agente bioadhesivo, de 1 a 7 por ciento en peso del agente tamponante, de 6 a 10 por ciento en peso del humectante, de 0,1 a 1 por ciento en peso del conservante y de 0,2 a 5 por ciento en peso del agente antimicrobiano o anticonceptivo; en el que la composición conserva el pH vaginal ácido en el intervalo de 3,5 a 4,5; y en el que la composición no altera significativamente el equilibrio microbiológico natural dentro de la vagina.
- 45 18. El uso como se define en la reivindicación 12, en el que el humectante se selecciona del grupo que consiste en glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol y triacetina; y en el que el conservante se selecciona del grupo que consiste en ácido benzoico, benzoato sódico, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio, nitrato fenilmercuríco y clorhexidina.
- 50 19. El uso como se define en la reivindicación 14, en el que el humectante se selecciona del grupo que consiste en glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol y triacetina; en el que el conservante se selecciona del grupo que consiste en ácido benzoico, benzoato sódico, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio, nitrato fenilmercuríco y clorhexidina; y en el que el agente antimicrobiano o anticonceptivo se selecciona del grupo que consiste en nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, copolímeros de formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido, ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄, itraconazol, ketoconazol y metronidazol.

- 5 20. El uso como se define en la reivindicación 12, en el que el agente formador de matriz es ácido algínico; en el que el agente bioadhesivo es goma de xantano o hidroxipropil celulosa; en el que el agente tamponante se selecciona del grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico y tartrato de ácido potásico; en el que el agente humectante se selecciona del grupo que consiste en glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol y triacetina; en el que el conservante se selecciona del grupo que consiste en ácido benzoico y benzoato sódico; y en el que el agente antimicrobiano o anticonceptivo se selecciona del grupo que consiste en nonoxinol-9, octoxinol-9, cloruro de benzalconio, hesperidinas fosforiladas, hesperidinas sulfonato, sulfonatos de poliestireno, copolímeros de formaldehído y ácido bencenosulfónico sustituido y ácidos mandélicos modificados con H₂SO₄.
- 10 21. Una composición sólida que reduce el riesgo de transmisión de, o infección por, una enfermedad de transmisión sexual mediante la actividad sexual que implica una vagina de una mujer y un pene de un hombre, donde dicha composición sólida comprende suficiente agente formador de matriz, agente bioadhesivo y agente tamponante para proporcionar la composición dispersa que contiene
- 15 (1) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente formador de matriz seleccionado del grupo que consiste en ácido algínico y goma gelan,
- (2) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente bioadhesivo seleccionado del grupo que consiste en goma de xantano, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, carboximetil celulosa sódica, quitosano, policarbófilo y carbómero,
- 20 (3) de 1 a 10 por ciento en peso de un agente tamponante seleccionado del grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico, tartrato de ácido potásico, ácido benzoico, ácido algínico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, ácido edético y ácido málico;
- 25 donde la composición sólida es adecuada para la aplicación dentro de la vagina; donde la composición sólida se dispersa fácilmente en medio basado en agua fuera o dentro de la vagina para formar una composición dispersada; donde la composición dispersada forma una matriz semisólida tras el contacto con el semen; donde la composición dispersada produce endurecimiento del moco cervical; donde la composición dispersada forma una capa bioadhesiva sobre las superficies de la vagina; donde la composición dispersada mantiene un pH vaginal ácido de menos de 5 en presencia de semen eyaculado del hombre; y donde la composición dispersada es hipertónica.
22. La composición sólida como se define en la reivindicación 21, donde la composición sólida está en forma de un comprimido que puede insertarse dentro de la vagina.
- 30 23. La composición como se define en la reivindicación 1, 2, 3 ó 4, donde la composición comprende adicionalmente (1) de 0 a 2 por ciento en peso de un humectante, (2) de 0 a 2 por ciento en peso de un conservante y (3) de 0 a 10 por ciento en peso de un agente antimicrobiano o anticonceptivo.
24. La composición como se define en la reivindicación 8, 9 ó 10, donde la composición comprende adicionalmente (1) de 0 a 2 por ciento en peso de un humectante, (2) de 0 a 2 por ciento en peso de un conservante y (3) de 0 a 10 por ciento en peso de un agente antimicrobiano o anticonceptivo.