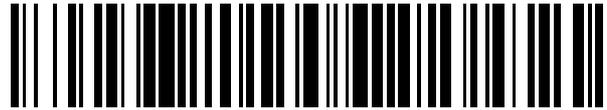


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 875**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/785** (2006.01)

**A61P 15/18** (2006.01)

**A61P 31/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.03.2007** **E 07718599 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015** **EP 1996209**

54 Título: **Composición anticonceptiva**

30 Prioridad:

**22.03.2006 AU 2006901474**

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

**09.02.2016**

73 Titular/es:

**STARPHARMA PTY LIMITED (100.0%)  
4/6 Southampton Crescent  
Abbotsford VIC 3067, AU**

72 Inventor/es:

**MCCARTHY, THOMAS DAVID**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 558 875 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Composición anticonceptiva

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a una composición anticonceptiva y a un método no terapéutico para evitar la gestación y, en particular, al uso de compuestos dendrímeros que incluyen grupos terminales de ácido naftil disulfónico.

10

Antecedentes de la invención

Los espermicidas son uno de una serie de métodos anticonceptivos conocidos en el estado de la técnica. El espermicida más popular contiene Nonoxinol-9 (N9) como principio activo. Sin embargo, el N9 no proporciona al usuario protección frente a las infecciones de transmisión sexual (ITS), tales como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus del herpes simple (VHS) y otros patógenos microbianos y víricos. De hecho, el N9, que es un espermicida basado en detergentes, puede tener en realidad efectos adversos en la prevención de las ITS. Aunque tales detergentes actúan alterando las membranas del VIH y del VHS, también pueden comprometer la barrera vaginal natural y aumentar de forma significativa la susceptibilidad a la infección.

15

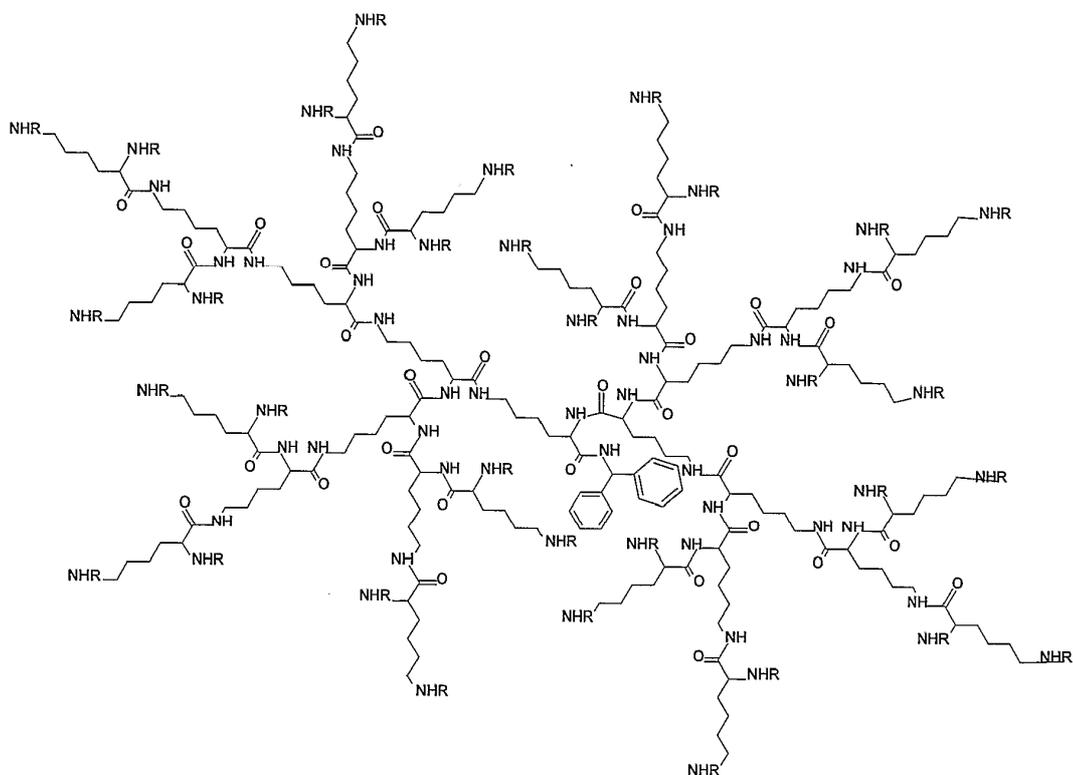
La solicitud de patente internacional n°. PCT/AU02/00407 (WO 02/079299), de los presentes solicitantes, divulga una clase de dendrímeros (macromoléculas altamente ramificadas con una envoltura definida de grupos terminales catiónicos o polianiónicos) que se ha demostrado que exhiben un rango de actividades antimicrobianas y antivíricas con una toxicidad mínima.

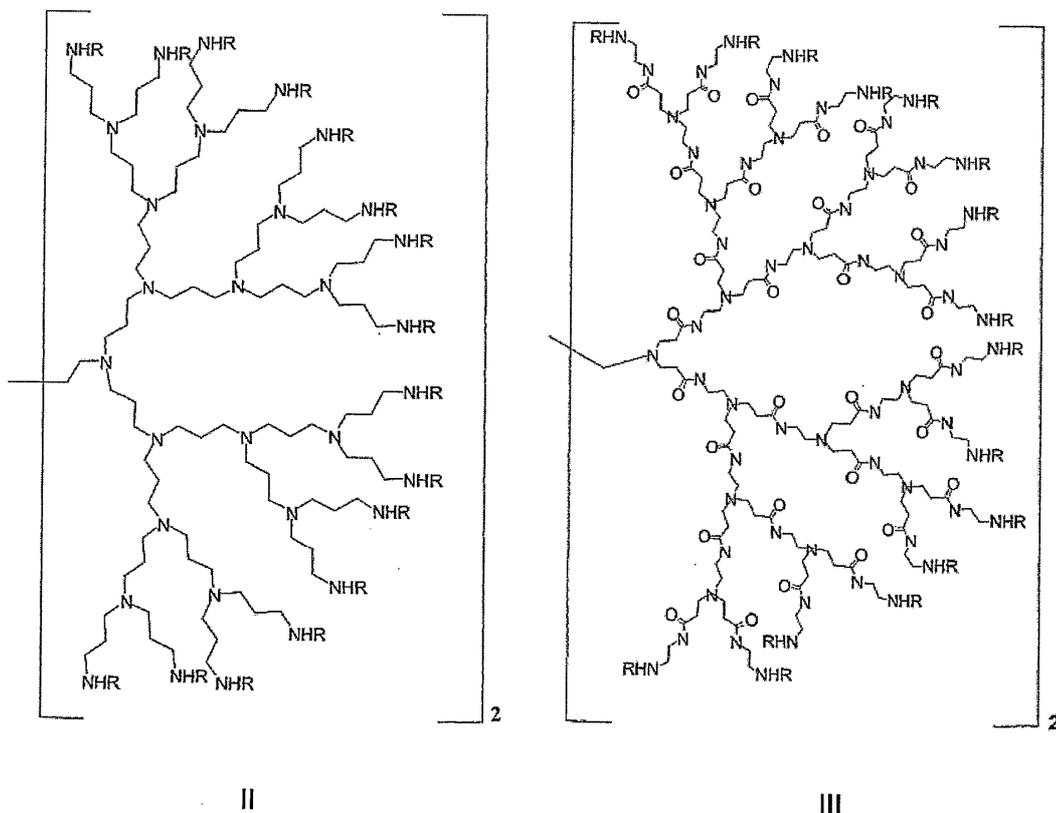
20

Por ejemplo, los dendrímeros de polilisina, poliamidoamina (PAMAM), poli(eterhidroxilamina) (PEHAM) y polipropilenimina, que incluyen los compuestos representados por las siguientes Fórmulas I a III y que tienen grupos terminales de ácido naftil disulfónico, se ha demostrado que exhiben actividad antimicrobiana, particularmente actividad antivírica.

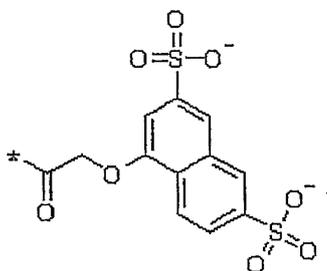
25

30





en las que R representa un grupo de Fórmula IV:



IV

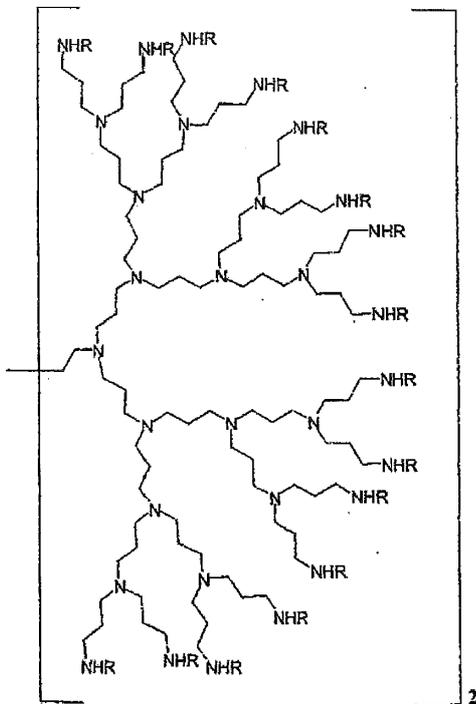
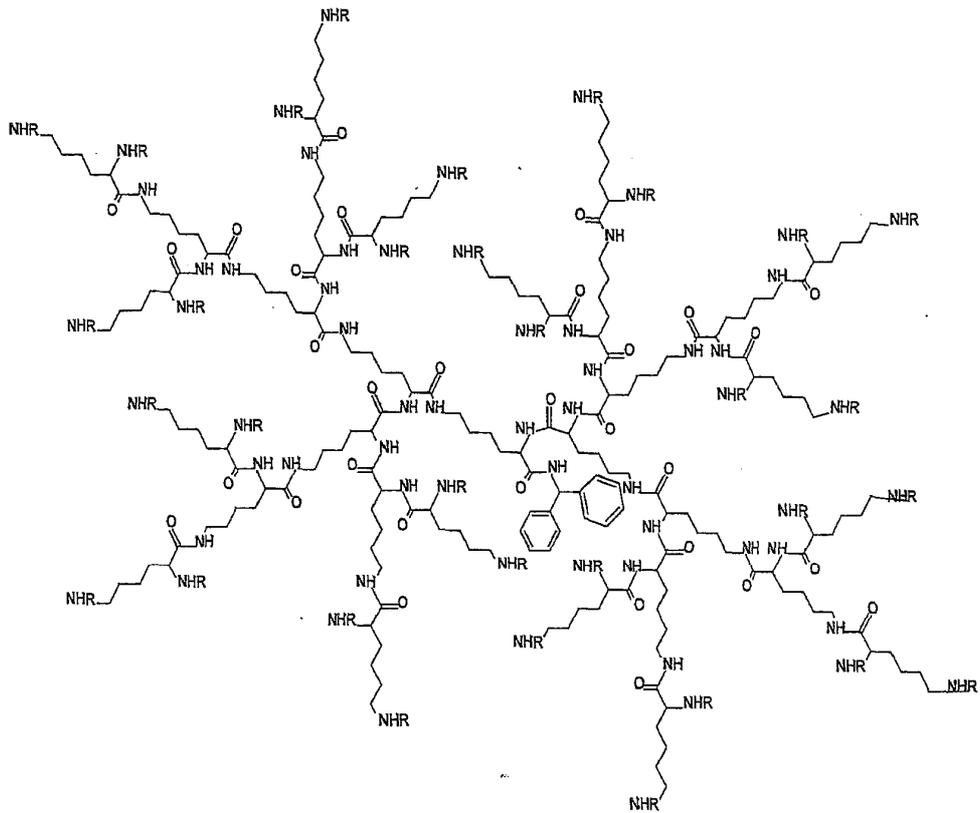
Por tanto, sería un avance significativo en la técnica si se pudiera proporcionar un compuesto anticonceptivo como alternativa a los espermicidas que incluyen el N9 actualmente conocido en la técnica, que no tenga efectos adversos en la prevención o la transmisión de las ITS.

Sumario de la invención

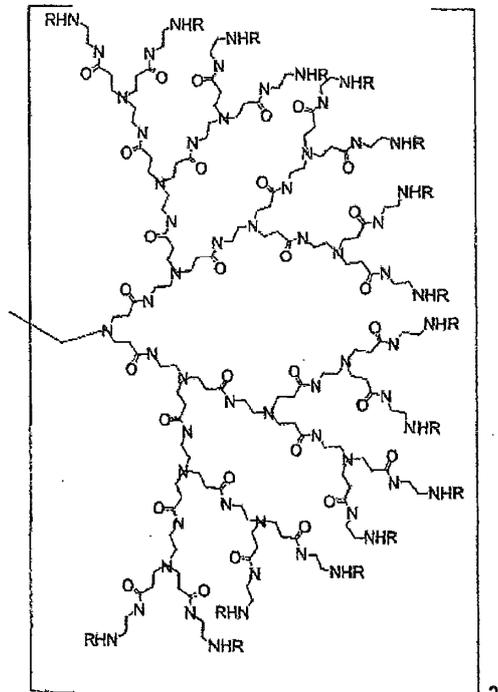
Los solicitantes han descubierto de modo sorprendente que determinados compuestos dendrímeros con grupos terminales de ácido naftil disulfónico, además de exhibir propiedades antimicrobianas, pueden actuar también como anticonceptivos.

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un método no terapéutico para reducir selectivamente o evitar la concepción en un animal hembra, que incluye un humano, incluyendo dicho método la administración al animal de una cantidad eficaz de una composición anticonceptiva que comprende:

una cantidad eficaz de un compuesto dendrímero que incluye uno o más grupos terminales de ácido naftil disulfónico, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del compuesto dendrímero; y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el compuesto dendrímero se selecciona entre un compuesto de Fórmula I, II o III

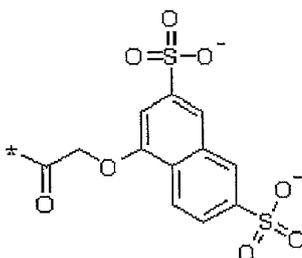


II



III

5 en las que R representa un grupo de Fórmula IV:



IV

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un dispositivo profiláctico que comprende una cantidad eficaz de una composición anticonceptiva que comprende un compuesto dendrímero que comprende uno o más grupos terminales de ácido naftil disulfónico; o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, del compuesto dendrímero; y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable del mismo; y caracterizado por que la composición anticonceptiva es soportada sobre una superficie del dispositivo profiláctico y es compatible con el mismo, en el que el compuesto dendrímero se selecciona entre un compuesto de Fórmula I, II o III, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En otro aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un dispositivo profiláctico que comprende una composición anticonceptiva que comprende una cantidad anticonceptiva y antimicrobiana de un compuesto dendrímero que comprende uno o más grupos terminales de ácido naftil disulfónico; o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, del compuesto dendrímero; y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable del mismo; y caracterizado por que la composición anticonceptiva es soportada sobre una superficie del dispositivo profiláctico y es compatible con el mismo, y en el que el compuesto dendrímero se selecciona entre un compuesto de Fórmula I, II o III, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 Descripción detallada de las realizaciones

20 Tal y como se usa en el presente documento, en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las formas en singular "un" y "una" y "el" y "la" incluyen los referentes en plural, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

25 El término "comprende" (o sus variantes gramaticales), tal y como se usa en el presente documento, en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, es equivalente al término "incluye" y no debe interpretarse como que excluye otros elementos o características.

30 Las composiciones que contienen compuestos dendrímeros con grupos terminales de ácido naftil disulfónico tal y como se describen en el presente documento muestran una actividad anticonceptiva inesperada. Mediante la expresión "actividad anticonceptiva", tal y como se usa en el presente documento, en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, los presentes autores se refieren a una actividad que evita o reduce la posibilidad de que un animal hembra llegue a gestar o a parir.

35 La actividad anticonceptiva de una composición en general puede ser conferida por una serie de mecanismos.

40 El N9, por ejemplo, es espermicida, y destruye los espermatozoides para evitar que fertilicen los óvulos. Las composiciones anticonceptivas no espermicidas pueden actuar modificando el medio de la vagina. Por ejemplo, una composición hipertónica puede dar como resultado el espesamiento del moco cervical, previniendo o impidiendo de este modo la entrada de los espermatozoides en el cuello uterino. Otras composiciones pueden formar una matriz cuando se ponen en contacto con el eyaculado en la vagina, que atrapa los espermatozoides y limita igualmente su capacidad para alcanzar el cuello uterino. Manteniendo el entorno ácido en la vagina puede contribuir también a la inactivación de los espermatozoides, particularmente después de la eyaculación cuando el pH de la vagina aumenta desde aproximadamente 4 hasta un medio de neutro a ligeramente básico más compatible con los espermatozoides.

45 De modo alternativo, una composición anticonceptiva puede inducir la pérdida del acrosoma. Los acrosomas contienen enzimas que permiten la penetración de los espermatozoides en los óvulos. De modo similar, se requiere la enzima hialuronidasa para dispersar las células foliculares que rodean a los óvulos, permitiendo de este modo la penetración de los espermatozoides. Como tales, las composiciones que pueden inhibir esta enzima pueden tener actividad anticonceptiva.

50 Las mismas composiciones anticonceptivas de la invención presentan adicionalmente actividad antimicrobiana. Mediante la expresión "actividad antimicrobiana", tal y como se usa en el presente documento, en esta memoria

descriptiva y en las reivindicaciones, los presentes autores se refieren a una composición, o a componentes de la misma, que destruye o inhibe el crecimiento de microbios tales como bacterias, virus, hongos y parásitos.

5 En el método no terapéutico descrito en el presente documento, preferentemente la composición anticonceptiva es soportada sobre una superficie de un dispositivo profiláctico y es compatible con el mismo.

10 El compuesto dendrímero puede estar presente en la composición anticonceptiva en cualquier cantidad adecuada, suficiente para evitar la gestación. Preferentemente, el compuesto dendrímero está presente en la composición en una cantidad de aproximadamente un 0,5 % a un 70 % en peso, basado en el peso total de la composición. Más preferentemente, el compuesto dendrímero está presente en una cantidad de aproximadamente un 1 % a un 50 % en peso, más preferentemente, de un 1 % a un 30 % en peso, basado en el peso total de la composición.

15 Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos dendrímeros descritos en el presente documento incluyen, si bien no se limitan a las mismas, sales metálicas tales como sales de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc, así como sales orgánicas preparadas a partir de aminas orgánicas tales como la N,N"-dibenciletilendiamina, la cloroprocaína, la dietanolamina, la etilendiamina, la dicitohexilamina, la meglumina, la (N-metilglucamina) y la procaína, y aminas cuaternarias tales como la colina y las sales de sulfonio y fosfonio.

20 Las composiciones anticonceptivas usadas en el método no terapéutico de la presente invención pueden ser una composición tópica, preferentemente proporcionada en forma de una espuma, un gel, una crema, una película o similares. Los vehículos, excipientes y diluyentes farmacéuticamente aceptables adecuados para su uso en las composiciones anticonceptivas descritas en el presente documento pueden incluir todos y uno o más de cualquiera de los disolventes convencionales, medios de dispersión, cargas, vehículos sólidos, soluciones acuosas, recubrimientos, vehículos adecuados para administración tópica, otros agentes antimicrobianos, agentes de retardo o de potenciación de la absorción e isotónicos, agentes de retardo o de potenciación de la actividad, para sustancias farmacéuticamente activas, y son bien conocidos en la técnica. Se describen, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª Edición, Mack Publishing Company, Pennsylvania, EE.UU. A no ser que algún vehículo, excipiente o diluyente sea incompatible con el principio activo, se contempla el uso de los mismos en la composición anticonceptiva de la presente invención.

35 Los vehículos adecuados para administración tópica incluyen emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, vaselina blanca, vaselina hidrófila, emulsiones de lanolina, polietilenglicoles, manteca de cacao, mucoadhesivos, agentes gelificantes, agentes de tamponado, aceites emolientes (por ejemplo, aceites solubles en agua que incluyen, por ejemplo, el polietilenglicol), un gel lubricante (que incluye, por ejemplo, el agua, el propilenglicol, la hidroxietil celulosa, el ácido benzoico y el hidróxido de sodio), un aceite soluble en agua (que incluye, por ejemplo, la glicerina, el propilenglicol, el Polyquaternium # 5, el metil parabeno y el propil parabeno), una crema (que incluye, por ejemplo, el alcohol bencílico, el alcohol cetearílico, ésteres de cetilo, cera, el octildodecanol, el polisorbato 60, el agua purificada, y el monoestearato de sorbitán), y similares.

40 Preferentemente, los vehículos, excipientes y/o diluyentes incluyen uno o más del grupo que consiste en hidróxido de sodio, aceites solubles en agua, mucoadhesivos, agentes gelificantes, agentes de tamponado, agentes lubricantes, propilenglicol, glicerina y agua.

45 Más preferentemente, los vehículos, excipientes y/o diluyentes incluyen uno o más del grupo que consiste en hidróxido de sodio, aceites solubles en agua, Carbopol<sup>®</sup>, propilenglicol, glicerina, hidroxietil celulosa y agua. Más preferentemente, incluyen hidróxido de sodio, EDTA disódico dihidrato, metil parabeno, propil parabeno, Carbopol<sup>®</sup> 971P, propilenglicol, glicerina y agua purificada en combinación.

50 En una realización preferente, la composición anticonceptiva cuando es soportada sobre una superficie de un dispositivo profiláctico puede exhibir también actividad antimicrobiana. Preferentemente, la actividad antimicrobiana es frente a los microbios que causan las infecciones de transmisión sexual (ITS). La composición anticonceptiva de acuerdo con la presente invención se puede administrar en una cantidad suficiente para la prevención de las infecciones de transmisión sexual. Esta cantidad puede depender de la infección de transmisión sexual particular que se desea prevenir, y de los parámetros del paciente individual que incluyen la edad, la condición física, la estatura, el peso y el o los tratamientos concurrentes. Estos factores son bien conocidos por los expertos en la materia y pueden ser abordados con tan solo la experimentación rutinaria.

60 Las causas comunes de las ITS incluyen, si bien no se limitan a los mismos, los virus del papiloma, *Chlamydia trachomatis*, *Candida Albicans*, *Trichomonas vaginalis*, los virus del herpes simple (VHS), el citomegalovirus (CMV), *Neisseria gonorrhoeae*, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), *Treponema pallidum*, los virus de la hepatitis B y C (VHB y VHC), *Calymmato bacterium granulomatis*, *Haemophilus ducreyi*, *Sarcoptes scabeie*, *Phthirus pubis*, *Mycoplasma*, *Gardnerella vaginalis*.

65 Preferentemente, la actividad antimicrobiana es antivírica, exhibiendo actividad contra los virus de transmisión sexual que incluyen el VIH, el VHS, el VHC, el VHB, el virus del papiloma humano (VPH) y el CMV.

La composición anticonceptiva usada en el método no terapéutico de la presente invención se puede administrar en cualquier momento, es decir, antes y/o durante y/o después de la relación sexual, si bien preferentemente antes y/o durante la relación sexual.

5 El dispositivo profiláctico puede ser de cualquier tipo adecuado. Se pueden usar un condón, un capuchón cervical, un diafragma anticonceptivo, una esponja vaginal, un dispositivo intrauterino, un pesario o similares. Se prefiere un condón.

10 El compuesto dendrímero se pone en contacto con una superficie del dispositivo profiláctico de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, una o más de las superficies del dispositivo profiláctico se pueden recubrir o impregnar con el compuesto dendrímero. El compuesto dendrímero se puede unir covalentemente a una o más superficies del dispositivo profiláctico.

15 La cantidad de composición anticonceptiva administrada puede estar en el intervalo de 0,1 a 10 g, preferentemente de 0,5 a 8 g, más preferentemente de 1 a 5 g.

Otras características de la presente invención serán evidentes a partir de los siguientes Ejemplos.

### Ejemplos

20 Ejemplo 1- Preparación de una composición anticonceptiva (3 % p/p de principio activo).

Tabla 1 - Ingredientes para una composición anticonceptiva del 3 % p/p

Ingrediente	Monografía	Cantidad por lote (kg)
Excipientes		
Hidróxido de sodio NF	NF	0,1443
EDTA disódico dihidrato USP	USP	0,010
Metil parabeno NF	NF	0,018
Propil parabeno NF	NF	0,002
Carbopol® 971 P NF	NF	0,500
Propilenglicol USP	USP	0,100
Glicerina USP	USP	0,100
Agua purificada I	USP	1,804
Agua purificada II	USP	8,370
Principios activos farmacéuticos		
SPL7013		0,339

25 Protocolo

i. El equipo se esteriliza y se enjuaga antes de la fabricación.

ii. En una jarra de acero inoxidable se disuelve hidróxido de sodio, NF, en agua purificada.

30 iii. En un recipiente de acero inoxidable, se añade EDTA disódico dihidrato, USP, a agua purificada y se agita con un mezclador de alto cizallamiento hasta que se disuelve.

iv. Se añaden metil parabeno y propil parabeno, NF, de uno en uno y se mezclan hasta que se dispersan totalmente.

v. Se añade lentamente Carbopol® 971 P, NF, y la mezcla se agita hasta que el Carbopol® 971 P, NF, se dispersa totalmente y se forma un gel homogéneo.

35 vi. Se añaden propilenglicol, USP, y glicerina, USP, al recipiente y la solución se mezcla hasta que el contenido está totalmente dispersado.

vii. Se añade solución de hidróxido de sodio de la etapa ii hasta que el pH sea superior a 4,0.

viii. Se añade el SPL7013 en una cantidad apropiada calculada para dar un gel del 3 % p/p.

ix. Se añade solución de hidróxido de sodio de la etapa ii hasta que se alcance el pH deseado, por ejemplo, 4,5 o 5,0.

40 x. Tras la medición del pH, se añade agua purificada hasta el volumen y la solución se mezcla hasta que se dispersen todos los ingredientes y se forme un gel homogéneo.

xi. Se mide el rendimiento bruto.

Ejemplo 2 - Estudio de la actividad espermicida

Para evaluar la actividad espermicida de la composición anticonceptiva de la presente invención se llevó a cabo el ensayo de Sander-Cramer modificado. Este ensayo determina la concentración mínima eficaz (CME) para inmovilizar a los espermatozoides.

Se prepararon diluciones en serie a la mitad a partir de soluciones madre al 2 % (para compuestos solubles en agua) o al 4 % (para compuestos insolubles en agua). Se mezclaron 250 µl de cada dilución con 50 ml de una muestra de semen normal que contenía  $60 \times 10^6$  de espermatozoides móviles/ml. Se evaluó la normalidad de las muestras de semen con la ayuda de un sistema CASA (Hamilton-Thorne, IVOS; Beverly, MA). El semen y las alícuotas de compuesto se examinaron microscópicamente mientras se incubaban a temperatura ambiente durante 30 segundos. Cuando se encontró algún espermatozoide móvil, bien en el examen inicial o bien después de una incubación de una hora, esa dilución se etiquetó como "fallo". Se calculó la CME para un compuesto dado usando la dilución mayor que inducía la inmovilización total de los espermatozoides. Se usaron de 6 a 10 muestras de semen para obtener resultados más fiables. Se ensayaron el N9 (CEM = ~ 0,1-0,2 mg/ml) y los disolventes como control. Los compuestos que muestran una CEM inferior a 1 mg/ml poseen una potente actividad inmovilizadora de los espermatozoides.

Resultado y conclusión

La composición de la presente invención se etiquetó como "fallo" y no se estableció una CEM.

Parece ser que la actividad anticonceptiva de la composición de la presente invención no proviene de una actividad espermicida. La actividad espermicida del agente de control N9 se debe a las propiedades citotóxicas de este agente. Por tanto, la falta de actividad espermicida de la composición anticonceptiva sugiere que es diferente del N9 y que no será citotóxica en humanos.

Ejemplo 3- Eficacia anticonceptiva en conejos

El eyaculado normal del conejo blanco de Nueva Zelanda contiene aproximadamente  $2-3 \times 10^8$  espermatozoides el cual, si se libera mediante una cánula en el área cervicovaginal, proporciona aproximadamente 5000 dosis de fecundación<sub>50</sub> (DF<sub>50</sub>) Una dosis de fecundación<sub>50</sub>, tal y como se usa en el presente documento, se define como la cantidad de espermatozoides que lleva a que un 50 % de una población dada de conejas queden preñadas. Por el contrario, el eyaculado humano proporciona menos de 1 DF<sub>50</sub>. Por consiguiente, para que sea más relevante para la predicción de la eficacia anticonceptiva en humanos, tanto el agente de ensayo como los espermatozoides deben liberarse en el área cervicovaginal, y el número total de espermatozoides liberados debe reducirse.

El protocolo en conejos se usó para ensayar una serie de formulaciones, incluyendo un gel placebo de hidroxilcelulosa (HEC). Los sujetos de ensayo se dividieron según se muestra en la tabla 2.

Tabla 2 - Número de conejos implicados en el estudio

Material de ensayo	Número de conejos
Hidroxietilcelulosa (HEC) - (composición de control inactiva)	11
Principio activo en HEC	8
Principio activo en la formulación de acuerdo con el Ejemplo 1	8

Se prepararon conejas de Nueva Zelanda (~ 7 lb = ~ 3 kg) mediante inyección subcutánea de 100 UI de gonadotropina coriónica humana (0,1 ml; Sigma) usando una aguja de calibre 30 en una jeringa de 1 ml. La formulación de ensayo (2 ml) se depositó en el área cervicovaginal de las conejas usando una cánula flexible de tubo de Tygon unida a una jeringa de 5 ml. Se reunió esperma fresco de conejo obtenido de 2 conejos y se diluyó en serie a 1/5 con plasma seminal de conejo. Cinco minutos después de administrar la formulación de ensayo, se depositaron 0,5 ml de semen diluido (0,1 ml de semen diluido con 0,4 ml de plasma seminal) en la misma región del área cervicovaginal que la formulación de ensayo. La dosis inseminada proporcionó ~ 10 DF<sub>50</sub> que es suficiente para producir una media de 7 embriones por conejo.

La eficacia anticonceptiva se determinó sacrificando los animales 15 días después de la inseminación, extrayendo y diseccionando los cuernos del útero para determinar si el animal estaba o no preñado y, en el caso de los animales preñados, contando el número de embriones implantados.

Resultados

Tabla 3 - Resultados del estudio de la eficacia anticonceptiva

Material de ensayo	Número de conejos preñados	Valor p con respecto al grupo de control con gel placebo de HEC*	Número total de embriones en todos los conejos.	Valor p con respecto al grupo de control con gel placebo de HEC^
HEC	9 de 11	Valor Ref.	79 embriones	Valor Ref.
Principio activo en HEC	2 de 8	0,024	2 embriones	0,005
Principio activo en la formulación de acuerdo con el Ejemplo 1	2 de 8	0,024	13 embriones	0,03
* Prueba exacta de Fisher de dos colas ^Prueba de Mann-Whitney para datos no pareados de dos colas				

5 Por tanto, el principio activo en HEC o la formulación del Ejemplo 1 mostraban efectos anticonceptivos significativos en el modelo de conejo cuando se comparaban con el gel placebo de HEC. Los efectos anticonceptivos comparativos del principio activo en HEC o la formulación del Ejemplo 1 no diferían de modo significativo.

10 Una vez finalizados los ensayos anteriores, se efectuaron observaciones piloto para estimar la duración de la eficacia anticonceptiva y los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 4 - Duración de la eficacia anticonceptiva

Tiempo en el que se liberó la dosis de inseminación tras la aplicación del agente de ensayo	Animales del control de HEC; (5 de 5 preñados; 37 embriones)	Principio activo en HEC	Principio activo en la formulación de acuerdo con el Ejemplo 1
6 horas			0 de 1 preñados 0 embriones
22-24 horas		0 de 1 preñados 0 embriones	0 de 1 preñados 0 embriones
48 horas			1 de 3 preñados 13 embriones
7 días			2 de 2 preñados 16 embriones

15 Combinando estos resultados piloto se demuestra que las formulaciones con principio activo en HEC, o de acuerdo con el Ejemplo 1, eran anticonceptivos altamente eficaces ~ 24 horas tras su aplicación. Un análisis estadístico de los datos de la Tabla 4 basado en el análisis de las gestaciones o del número de embriones mostraba (i) gestaciones:  $p = 0,05$  mediante la prueba exacta de Fisher de dos colas. (ii) embriones:  $p = 0,016$  mediante la prueba de Mann-Whitney no paramétrica para datos no pareados, de dos colas. Asimismo, los resultados a las 48 horas y a los 7 días sugieren rotundamente que este efecto anticonceptivo es irreversible.

20 Conclusión

25 La composición de la presente invención, formulada en HEC o de acuerdo con el Ejemplo 1, muestra efectos anticonceptivos significativos en el modelo de conejo cuando se libera 5 minutos antes de la inseminación artificial (Tabla 3) y también cuando se libera ~ 24 horas antes de la inseminación (Tabla 4).

Ejemplo 4 - Estudio para evaluar el efecto de la composición anticonceptiva de acuerdo con la presente invención sobre la susceptibilidad al VHS-2

30 El estudio se llevó a cabo para detectar los efectos adversos potenciales de la composición anticonceptiva de acuerdo con la presente invención, midiendo la susceptibilidad de los ratones a la infección con el virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2), el virus que causa más comúnmente el herpes genital. Esto era importante ya que las composiciones espermicidas, tales como el N9, se ha sugerido que pueden comprometer la barrera vaginal natural y aumentar significativamente la susceptibilidad a las infecciones ITS en general.

35 El modelo de transmisión vaginal del VHS-2 en ratones fue usado por Richard Cone en la Universidad Johns Hopkins Baltimore, EE.UU., para evaluar las toxicidades asociadas a los espermicidas y a otras composiciones anticonceptivas que podrían llevar a una susceptibilidad a patógenos tales como el VHS-2.

40

## Métodos

*Modelo de ratón:*

5 Antes de evaluar la susceptibilidad, ratones CF-1 hembra (Harlan, Indianápolis, IN, EE.UU.) de 6-8 semanas de vida se trataron con progestina (Depo Provera®, acetato de medroxiprogesterona) para aumentar la susceptibilidad al VHS-2, y para conseguir una mayor uniformidad de los ratones en términos de susceptibilidad que la de los ratones en diferentes etapas del ciclo de celo.

10 *Inóculo vírico:*

Cepa G de VHS-2,  $5 \times 10^8$  DI<sub>50</sub>CC/ml.

15 *Procedimientos:*

Se administraron 20 µl de una composición anticonceptiva de acuerdo con la presente invención a la vagina, seguido de la administración, 12 horas más tarde, de un inóculo de dosis baja de VSH-2 (0,1 DI<sub>50</sub>) en 10 µl de medio Bartels. Los animales de control recibieron 20 µl de PBS en lugar del producto de ensayo.

20 El inóculo se liberó 12 horas después de la aplicación del producto de ensayo ya que experimentos previos (Referencia: Cone RA, Hoen TE, Wang XX & Moench TR. *Microbicidal Detergents Increase HSV Susceptibility in Mice Without Causing Visible Epithelial Defects*. Resumen # 02421, "Microbicidas 2004" Conferencia, Londres, RU; Marzo 2004) mostraron que este era el tiempo en el que se producía la susceptibilidad máxima a la infección por el VHS-2 tras la administración del N9.

25 En este estudio, un total de 40 ratones recibieron una composición anticonceptiva de acuerdo con la presente invención y un total de 40 ratones recibieron PBS.

## 30 Resultados

Solo 1 de los 40 ratones tratados con una composición anticonceptiva de acuerdo con la presente invención llegó a infectarse con el VHS-2. Por el contrario, 7 de los 40 ratones del grupo de control llegaron a infectarse. En otras palabras, no hubo un aumento de la susceptibilidad que sigue a la administración de la composición anticonceptiva de acuerdo con la presente invención.

35 En estudios previos, 29 de los 42 animales tratados con N9, 20 de los 30 animales tratados con el ingrediente espermicida 1, y 25 de los 41 animales tratados con el ingrediente espermicida 2, llegaron a infectarse.

40 Para determinar la susceptibilidad relativa de los ratones en estudios previos, dos grupos de ratones de control se trataron con PBS por cada grupo de ratones tratados con el producto de ensayo. Un grupo de control se inoculó con 0,1 DI<sub>50</sub>, mientras que el otro se inoculó con 10 DI<sub>50</sub>. La fracción de animales infectados en cada grupo de control se usó para construir un gráfico de dosis - respuesta (fracción infectada frente a log DI), trazando una interpolación lineal entre los puntos de dosis alta y baja. La fracción de ratones infectados en el grupo de ensayo se representó a continuación sobre este gráfico para determinar la DI eficaz del inóculo de dosis baja en este grupo de ensayo. La susceptibilidad relativa se definió como la DI eficaz del inóculo de dosis baja suministrada a los ratones de ensayo dividida por la DI suministrada a los animales de control.

45 Los animales tratados con N9 fueron 29,7 veces más susceptibles a la infección por el VHS-2 que los animales de control ( $p < 0,001$ , prueba de Fisher exacta prueba t bilateral), mientras que los animales tratados con los ingredientes espermicidas 1 y 2 fueron 29,1 ( $p < 0,001$ ) y 17,5 ( $p < 0,001$ ) veces más susceptibles, respectivamente.

## 50 Conclusión

La composición anticonceptiva de acuerdo con la presente invención no parece que lleve a un aumento de la susceptibilidad en el modelo de ratón de infección por el VHS-2. Este estudio indica que la composición anticonceptiva no es citotóxica y sugiere que será segura para su uso en humanos. El N9 y otros microbicidas espermicidas pueden llevar a un aumento de la susceptibilidad. (Referencia: Cone RA, Hoen TE, Wang XX & Moench TR. *Microbicidal Detergents Increase HSV Susceptibility in Mice Without Causing Visible Epithelial Defects*. Resumen # 02421, "Microbicidas 2004" Conferencia, Londres, RU; Marzo 2004).

60 Ejemplo 5 - Estudio de compatibilidad con condones de un gel de Carbopol® con un 3 % p/p de principio activo

Determinados ingredientes de las formulaciones vaginales pueden comprometer la integridad del condón. Este método se usó para determinar el efecto de la composición de la presente invención sobre los condones.

65

Los condones masculinos envasados individualmente, fabricados con látex de caucho natural y para un solo uso cumplen unos requisitos mínimos determinados especificados en la designación ASTM: método de ensayo D 3492-97 (Sociedad americana para pruebas y materiales, Especificación estándar para anticonceptivos de caucho, condones masculinos). El método de ensayo se diseña para asegurar que los condones sean de calidad consistente. Se determinaron los siguientes parámetros para los condones tratados y sin tratar: presión de estallido, volumen de estallido, longitud, grosor y anchura. Si la composición compromete los condones, se espera que la presión y el volumen de estallido sean menores. La longitud de los condones también puede verse afectada.

Para todos los ensayos, los condones se extrajeron de sus envases individuales y se desenrollaron. Empleando un pincel suave, se recubrió toda la longitud de cada condón con una formulación en gel de la composición de la presente invención. Los condones individuales se depositaron sobre una bandeja revestida y se incubaron a 37 °C y a una humedad relativa del 90 % durante no menos de una hora. Después de cada periodo de incubación, y antes del ensayo, se eliminó el exceso de gel de los condones empleando un trapo seco no abrasivo. Cada condón tratado se ensayó en orden secuencial para determinar la presión y el volumen de estallido por aire. A efectos comparativos, se obtuvieron los datos de referencia llevando a cabo un ensayo análogo sobre condones sin tratar y sobre condones tratados con gel placebo que no tenía ningún principio activo farmacéutico.

Los datos para estos experimentos se dan en la tabla 5.

Tabla 5 - Presiones y volúmenes de estallido por aire de condones de látex tras su exposición a la composición anticonceptiva durante no menos de una hora

Tipo de condón	Lote de condón	Volumen de estallido medio, l (n = 80)			Cambio observado		
		Basal	Placebo	Tratado con SPL7013	Base - Placebo	Base - Tratado	Placebo - Tratado
Látex, no lubricado	1	42,8 (2,4)	43,7 (2,7)	45,4 (2,6)	0,9 (0,3)	2,6 (0,2)	1,7 (-0,1)
	2	44,0 (2,6)	44,6 (2,2)	45,6 (3,5)	0,6 (-0,4)	1,6 (0,9)	1,0 (1,3)
	3	43,9 (2,1)	44,0 (2,5)	44,7 (5,4)	0,1 (0,4)	0,8 (3,3)	0,7 (2,9)
Látex, lubricado con silicona	1	40,7 (3,1)	42,5 (3,5)	42,6 (4,0)	1,8 (0,4)	1,9 (0,9)	0,1 (0,5)
	2	42,0 (3,2)	42,2 (3,3)	44,1 (2,6)	0,2 (0,1)	2,1 (-0,6)	1,9 (-0,7)
	3	42,1 (3,7)	44,5 (3,1)	43,9 (3,0)	2,4 (-0,6)	1,8 (-0,7)	-0,6 (-0,1)
Látex, lubricante a base de agua	1	43,4 (2,8)	42,3 (4,2)	43,5 (4,2)	-1,1 (1,4)	0,1 (1,4)	1,2 (0,0)
	2	45,3 (2,7)	44,6 (3,7)	45,1 (4,0)	-0,7 (1,0)	-0,2 (1,3)	0,5 (0,3)
	3	44,1 (3,1)	42,5 (2,8)	44,5 (4,2)	-1,6 (-0,3)	0,4 (1,1)	2,0 (1,4)

Tipo de condón	Lote de condón	Presión de estallido media, kPa (n = 80)			Cambio observado		
		Basal	Placebo	Tratado con SPL7013	Base - Placebo	Base - Tratado	Placebo - Tratado
Látex, no lubricado	1	2,0 (0,1)	1,9 (0,1)	1,9 (0,1)	-0,1 (0,0)	-0,1 (0,0)	0,0 (0,0)
	2	2,1 (0,1)	2,0 (0,1)	2,0 (0,1)	-0,1 (0,0)	-0,1 (0,0)	0,0 (0,0)
	3	2,0 (0,1)	1,9 (0,1)	1,9 (0,1)	-0,1 (0,0)	-0,1 (0,0)	0,0 (0,0)
Látex, lubricado con silicona	1	1,6 (0,1)	1,6 (0,1)	1,6 (0,1)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
	2	1,7 (0,1)	1,6 (0,1)	1,7 (0,1)	-0,1 (0,0)	0,0 (0,0)	0,1 (0,0)
	3	1,6 (0,1)	1,5 (0,1)	1,5 (0,1)	-0,1 (0,0)	-0,1 (0,0)	0,0 (0,0)
Látex, lubricante a base de agua	1	2,1 (0,1)	2,1 (0,2)	2,0 (0,2)	0,0 (0,1)	-0,1 (0,1)	-0,1 (0,0)
	2	2,2 (0,1)	2,2 (0,1)	2,2 (0,2)	0,0 (0,0)	0,0 (0,1)	0,0 (0,1)
	3	2,1 (0,1)	2,1 (0,1)	2,1 (0,2)	0,0 (0,0)	0,0 (0,1)	0,0 (0,1)

Además de ensayar la presión y el volumen de estallido por aire, se investigó también la resistencia a la tracción de los condones tras el tratamiento con la formulación en gel de la composición de la presente invención. Para estos ensayos, los condones se extrajeron de sus envases individuales y se desenrollaron. Se recortaron del condón piezas de ensayo del material del condón de acuerdo con la norma ISO 4074:2002 y las piezas se dispusieron sobre una bandeja revestida. Las piezas de ensayo recortadas del condón eran todas piezas de ensayo recubiertas con gel, dispuestas en una bandeja forrada e incubadas a 37 °C y a una humedad relativa del 90 % durante no menos

de una hora. Después del periodo de incubación, y antes del ensayo, se eliminó el exceso de lubricante de las piezas de muestra con alcohol isopropílico y se dejaron secar por completo las piezas de ensayo. Se determinó la resistencia a la tracción de las piezas de ensayo de acuerdo con el procedimiento especificado en la norma ISO 4074:2002.

5

Los datos obtenidos de estos ensayos se proporcionan en la tabla 6.

Tabla 6 - Propiedades de resistencia a la tracción y elongación de piezas textiles de látex de condón tras su exposición a la composición anticonceptiva durante no menos de una hora.

Tipo de condón	Lote de condón	Resistencia a la tracción, N			Cambio observado		
		Basal	Placebo	Tratado con SPL7013	Base - Placebo	Base - Tratado	Placebo - Tratado
Látex, no lubricado	1	83	79	78	-4	-5	-1
	2	84	81	79	-3	-5	-2
	3	85	83	80	-2	-5	-3
Látex, lubricado con silicona	1	49	49	45	0	-4	-4
	2	52	50	47	-2	-5	-3
	3	59	45	49	-14	-10	+4
Látex, lubricante a base de agua	1	92	87	89	-5	-3	+2
	2	97	86	90	-11	-7	+4
	3	83	79	83	-4	0	+4
Tipo de condón	Lote de condón	% Elongación			Cambio observado		
		Basal	Placebo	Tratado con SPL7013	Base - Placebo	Base - Tratado	Placebo - Tratado
Látex, no lubricado	1	898	841	845	-57	-53	+4
	2	891	834	837	-57	-54	+3
	3	896	847	846	-49	-50	-1
Látex, lubricado con silicona	1	814	813	798	-1	-16	-15
	2	801	807	794	+6	-7	-13
	3	831	795	808	-36	-23	+13
Látex, lubricante a base de agua	1	825	828	837	+3	+12	+9
	2	833	821	836	-12	+3	+15
	3	807	803	815	-4	+8	+12

10

Resultados

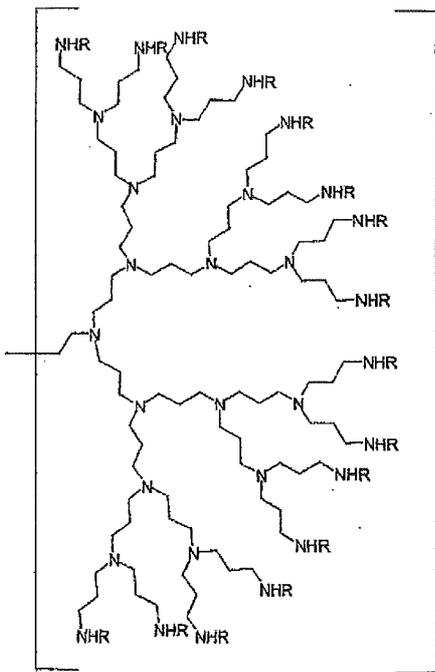
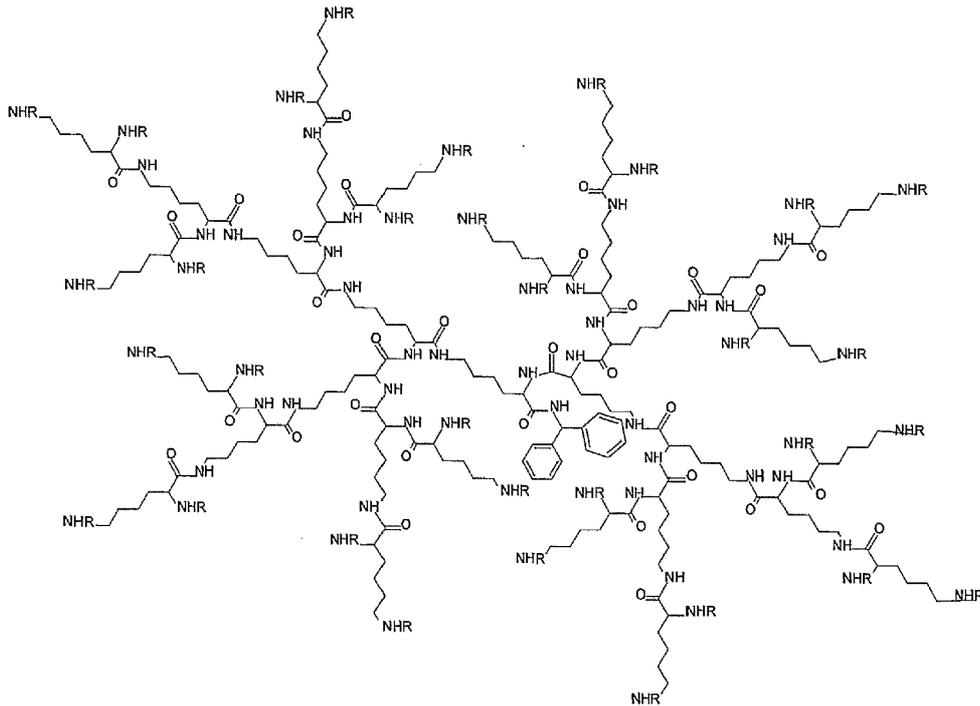
La integridad de los condones sobre los que se extendieron las composiciones anticonceptivas y una composición de placebo, tal y como se midió mediante las propiedades de estallido por aire y la resistencia a la tracción, no se vio comprometida por las composiciones anticonceptivas.

15

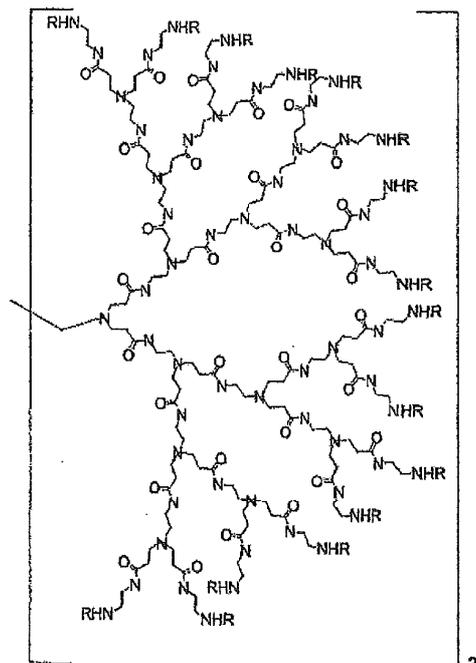
REIVINDICACIONES

1. Un método no terapéutico para reducir selectivamente o evitar la concepción en un animal hembra, que incluye un humano, incluyendo dicho método la administración al animal de una cantidad eficaz de una composición anticonceptiva que comprende:

una cantidad eficaz de un compuesto dendrímico que incluye uno o más grupos terminales de ácido naftil disulfónico, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del compuesto dendrímico; y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el compuesto dendrímico se selecciona entre un compuesto de Fórmula I, II o III

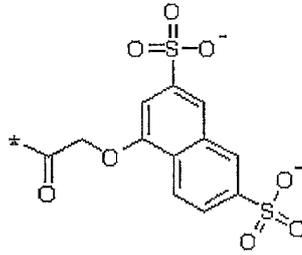


II



III

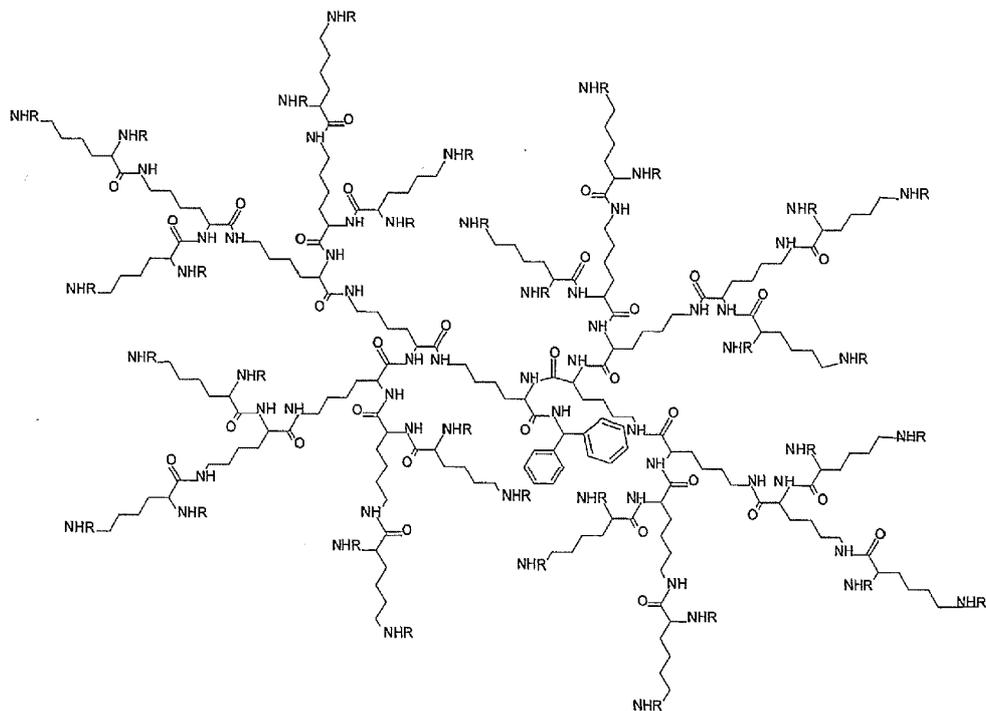
en las que R representa un grupo de Fórmula IV:

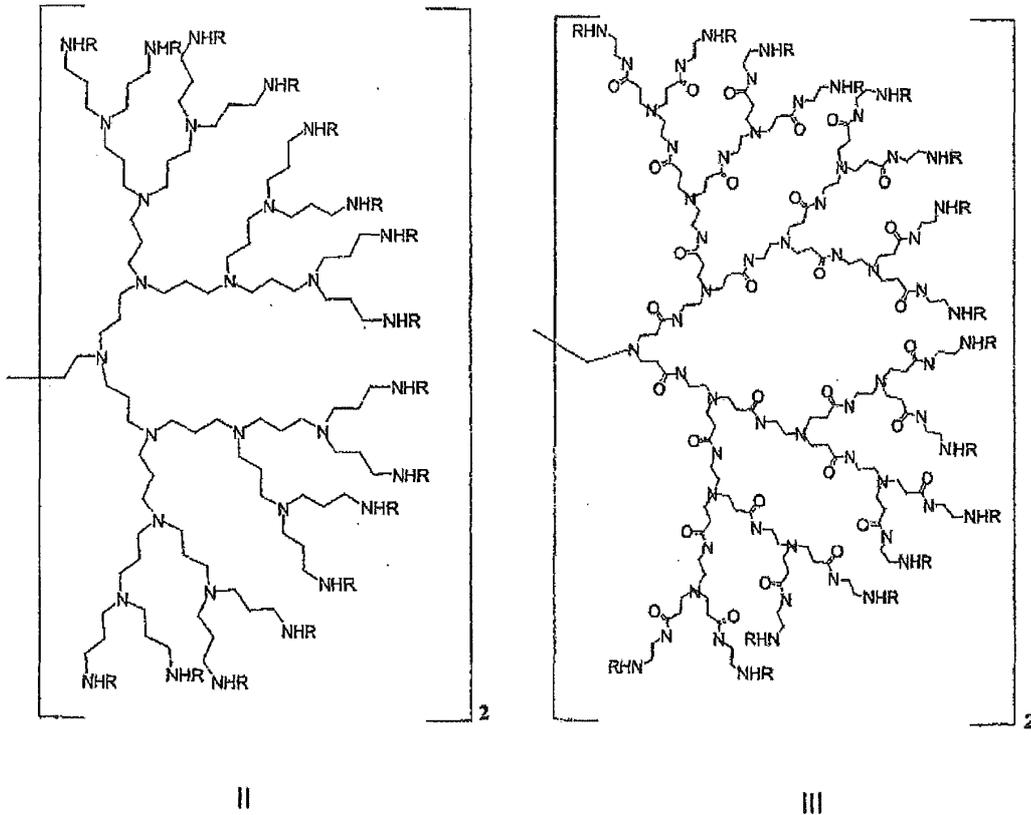


IV

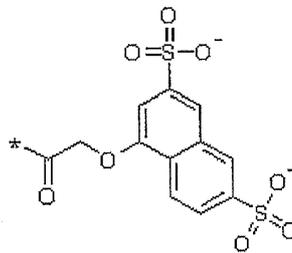
o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5
2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal metálica seleccionada de entre el grupo que consiste en una o más sales de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc; una sal orgánica seleccionada de entre el grupo que consiste en la N,N"-dibenciletilendiamina, la cloroprocaína, la dietanolamina, la etilendiamina, la diciclohexilamina, la meglumina, la (N-metilglucamina) y la procaína; o una sal seleccionada de entre una o más del grupo que consiste en una amina cuaternaria, una sal de sulfonio y una sal de fosfonio.
- 10
3. Un método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que el compuesto dendrímico está presente en la composición en una cantidad de aproximadamente un 0,5 % a aproximadamente un 70 % en peso, basado en el peso total de la composición.
- 15
4. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición anticonceptiva es soportada sobre una superficie de un dispositivo profiláctico y es compatible con el mismo.
- 20
5. Un dispositivo profiláctico que comprende una cantidad eficaz de una composición anticonceptiva que comprende un compuesto dendrímico que comprende uno o más grupos terminales de ácido naftil disulfónico; o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, del compuesto dendrímico; y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable del mismo; y caracterizado por que la composición anticonceptiva es soportada sobre una superficie del dispositivo profiláctico y es compatible con el mismo, en el que el compuesto dendrímico se selecciona entre un compuesto de Fórmula I, II o III
- 25





en las que R representa un grupo de Fórmula IV:



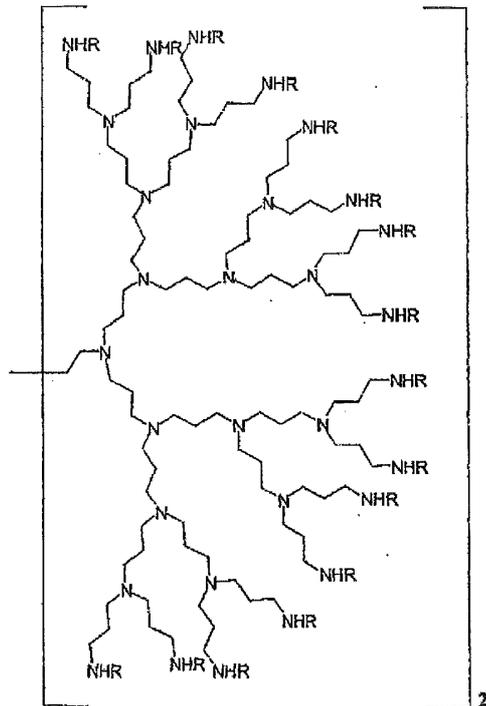
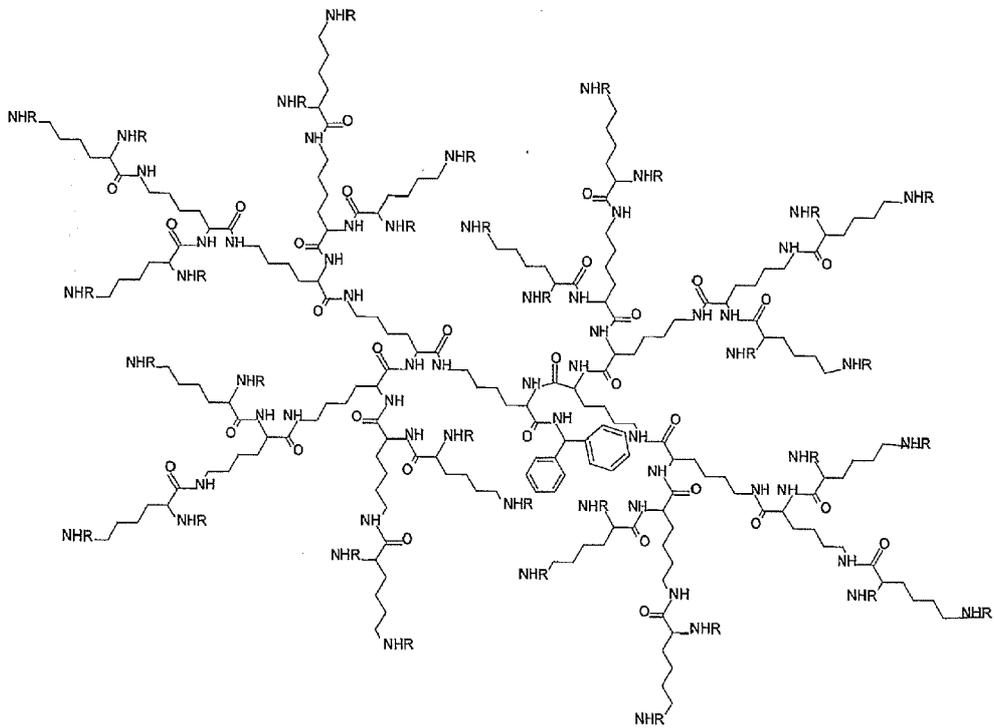
5

IV

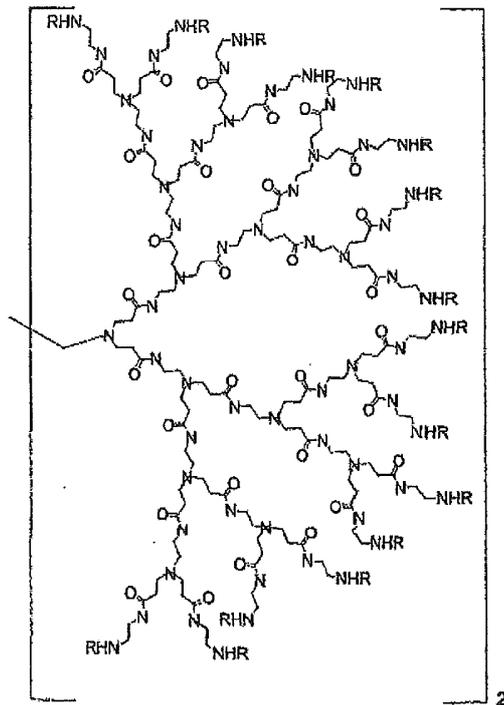
o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

6. Un dispositivo profiláctico que comprende una composición anticonceptiva que comprende una cantidad anticonceptiva y antimicrobiana de un compuesto dendrímico que comprende uno o más grupos terminales de ácido naftil disulfónico; o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, del compuesto dendrímico; y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable del mismo; y caracterizado por que la composición anticonceptiva es soportada sobre una superficie del dispositivo profiláctico y es compatible con el mismo, en el que el compuesto dendrímico se selecciona entre un compuesto de Fórmula I, II o III

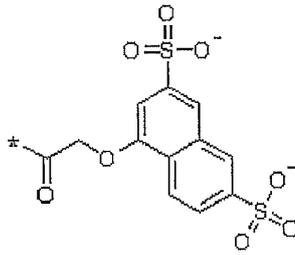


II



III

5 en las que R representa un grupo de Fórmula IV:



IV

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.