

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 790 703**

51 Int. Cl.:

A61K 31/19 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61K 31/734 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)
A61P 15/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.12.2014 PCT/US2014/071664**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015 WO15095793**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2014 E 14871611 (1)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020 EP 3082826**

54 Título: **Composiciones y métodos para inhibir la inflamación y enfermedades utilizando un compuesto antimicrobiano a base de ácido algínico**

30 Prioridad:

19.12.2013 US 201361918445 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.10.2020

73 Titular/es:

EVOFEM, INC. (100.0%)
8910 University Center Lane Suite 120
San Diego, California 92122, US

72 Inventor/es:

GUTHRIE, WENDELL y
HAHN, GARY

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 790 703 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

Composiciones y métodos para inhibir la inflamación y enfermedades utilizando un compuesto antimicrobiano a base de ácido láctico

Campo técnico

5 La presente descripción se refiere a anticonceptivos de tamponamiento ácido y dichos anticonceptivos de tamponamiento ácido para su uso en métodos para reducir el riesgo de propagación de enfermedades de transmisión sexual. Tales anticonceptivos de tamponamiento ácido proporcionan protección doble al (1) atacar e inactivar virus y otros microbios y (2) bloquear la respuesta del huésped que los virus desencadenan para invadir las células del huésped.

10 **Antecedentes de la invención**

Las enfermedades de transmisión sexual (ETS) son dolencias que se transmiten entre seres humanos a través del comportamiento sexual. Las ETS pueden ser provocadas por bacterias, virus, protozoos y parásitos. Si bien muchas ETS, especialmente las provocadas por bacterias, protozoos y parásitos pueden curarse con antibióticos u otra medicación, la mayoría de las ETS provocadas por virus no pueden curarse. Más bien, se usan fármacos para mantener los niveles virales por debajo de los niveles que provocan síntomas. De las ETS virales conocidas, las tres más problemáticas son el virus de la inmunodeficiencia humana, el virus de la hepatitis y el virus del herpes simple.

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es la causa de muerte de más rápido crecimiento en mujeres en edad reproductiva. En todo el mundo, la transmisión heterosexual del SIDA es el modo de transmisión prevalente del SIDA, y representa aproximadamente el 90% de todas las infecciones por VIH en mujeres. Por lo tanto, se ha dirigido una atención significativa a investigar medidas que bloqueen la propagación sexual de la infección por VIH. Ya que no existe un tratamiento o una vacuna eficaces contra el SIDA, las medidas preventivas son las herramientas principales que actualmente pueden reducir la transmisión del VIH. Por ejemplo, el uso consistente y correcto de condones representa una barrera eficaz para prevenir la transmisión del VIH. Sin embargo, el riesgo de contraer infección solo puede reducirse significativamente si se usan condones para casi todas las relaciones sexuales en las comunidades prevalentes de VIH; un resultado que no puede lograrse a pesar de los programas intensivos de prevención para aumentar el uso del condón.

Los virus de la hepatitis provocan la inflamación del hígado. Los virus de hepatitis más comunes son los cinco virus hepatotrópicos no relacionados, hepatitis A (VHA), hepatitis B (VHB), hepatitis C (VHC), hepatitis D (VHD) y hepatitis E (VHE). Los cinco virus de la hepatitis se transmiten o bien por vía fecal-oral (hepatitis A y E) o bien por contacto sanguíneo (hepatitis B, C y D). Los VHA, VHB y VHE generalmente pueden eliminarse por el sistema inmune del cuerpo. Sin embargo, el VHC y el VHB pueden provocar hepatitis crónica. El VHD es único en el sentido de que solo puede propagarse en presencia del VHB. Sin embargo, la presencia de VHD exacerba los síntomas del VHB. El uso adecuado del condón puede ayudar a prevenir la transmisión del VHB, VHC y VHD.

El virus del herpes simple (VHS) pertenece a una familia de virus, nueve de los cuales se sabe que provocan enfermedades en seres humanos. Los nueve virus del herpes humano provocan una variedad de enfermedades que incluyen varicela, zóster, mononucleosis, exantema súbito y sarcoma de Kaposi. La familia de VHS incluye dos virus, denominados VHS-1 y VHS-2, que provocan ampollas en la piel o las membranas mucosas de la boca, labios y/o genitales. Si bien ambos virus pueden infectar la boca o los genitales, el VHS-1 infecta predominantemente el tejido orofacial, mientras que el VHS-2 infecta predominantemente el tejido genital. Tanto VHS-1 como VHS-2 se transmiten a través del contacto físico cercano. El *Center for Disease Control* (CDC) estima que una de cada seis personas de entre 14-49 años está infectada con VHS-2. Si bien el uso del condón puede reducir el riesgo de propagación del VHS, sin embargo, el VHS todavía puede transmitirse a través del contacto con piel genital que no esté cubierta por el condón.

Se ha puesto un énfasis significativo en el desarrollo de agentes microbicidas intravaginales capaces de prevenir y/o reducir la propagación de una variedad de ETS. El desarrollo de microbicidas para uso tópico representa una alternativa importante al uso del condón. Un microbicida es cualquier agente que destruye o desactiva microbios causantes de enfermedades, incluyendo virus. Según la *International Association of Physicians in AIDS CARE* (IAPAC), la definición de microbicidas también incluye intervenciones que pueden bloquear o prevenir la infección, así como la amplificación de las defensas naturales del cuerpo para prevenir la infección a través de actos sexuales.

50 Idealmente, los microbicidas deben tener pocos o ningún efecto secundario a una concentración microbicida eficaz. En consecuencia, el fármaco utilizado como microbicida debe tener poca o ninguna actividad inmunosupresora a una concentración microbicida eficaz. Además, el microbicida ideal debe resistir suficientemente temperaturas variables y funcionar aceptablemente dentro de intervalos de pH variados (intervalos de niveles alcalinos y ácidos en la vagina). Además, no debe eliminar los lactobacilos beneficiosos naturales que residen en la vagina y contribuyen a la salud vaginal.

Los microbicidas tópicos serían aún más beneficiosos si también tuvieran capacidades anticonceptivas. La anticoncepción también es importante para las mujeres con ETS para evitar transmitir enfermedades a la futura

generación, especialmente porque muchas mujeres con ETS están en edad de procrear. En la actualidad, la mayoría de microbicidas espermicidas de doble propósito disponibles comercialmente tienen componentes detergentes que alteran las membranas celulares. Se ha demostrado que el espermicida vaginal más ampliamente utilizado, nonoxinol-9 (N-9), debido a sus propiedades de alteración de la membrana, daña el epitelio cervicovaginal, provoca una respuesta inflamatoria aguda del tejido, altera la microflora vaginal, y potencia el riesgo de fomentar infecciones oportunistas en el tracto genitourinario. El N-9 también es tóxico para las células vaginales y cervicales, lo que aumenta la permeabilidad del tejido vaginal. También puede destruir los *Lactobacillus sp.* que pueblan el tracto vaginal y que generalmente se consideran beneficiosos. Los *Lactobacillus* producen ácido láctico y peróxido de hidrógeno, que ayuda a mantener el pH ácido de la vagina (~pH 3,5 a 5,0) y una flora vaginal saludable. A este pH, varios organismos que causan ETS tal como el VIH están inactivados.

Actualmente hay disponibles otros microbicidas en forma de cremas y pomadas vaginales sin receta o con receta médica. Todavía otros están en diversas fases de desarrollo. Los ejemplos incluyen octoxinol-9 y cloruro de benzalconio. También están disponibles geles diseñados para controlar el pH vaginal, tales como AciJel™ (Ortho-McNeil Pharmaceutical Corp., Raritan, N.J.), que es un gel tamponado dispersable en agua que tiene un pH de 3,9 a 4,1. Se utiliza para restaurar y mantener la acidez vaginal normal. Tales geles están diseñados para controlar el pH vaginal y no están diseñados específicamente para prevenir las ETS y/o la anticoncepción, y por lo tanto no siempre poseen una actividad microbicida eficaz.

Tal como se comentó, las composiciones anticonceptivas vaginales actualmente comercializadas, que a menudo contienen N-9 como principio activo, generalmente se conocen en la técnica. Si bien las formulaciones anticonceptivas vaginales comercializadas actualmente ayudan a prevenir el embarazo, su capacidad para prevenir eficazmente las ETS, particularmente el VIH/SIDA, es muy limitada. Además, los análisis recientes muestran que el N-9, cuando se usa con frecuencia por mujeres con alto riesgo, en realidad puede aumentar el riesgo de infección por VIH (OMS 2002, consulta técnica de la OMS/CONRAD sobre nonoxinol-9, Ginebra).

Además, varios microbicidas en desarrollo contienen agentes antirretrovirales que originalmente se habían desarrollado para el tratamiento de pacientes con infección por VIH. Sin embargo, solo se observan beneficios temporales y limitados en pacientes infectados con VIH tratados con cualquiera de los antirretrovirales propiamente o combinaciones de los mismos. La capacidad limitada de estos agentes para disminuir la carga viral, el rápido desarrollo de resistencia y los efectos secundarios tóxicos de la mayoría de los fármacos ha limitado su eficacia a largo plazo. Un problema importante asociado con la administración de agentes antivirales a los pacientes es su poca capacidad para penetrar y seleccionar como diana células infectadas. La rápida eliminación del fármaco y la toxicidad de los compuestos o metabolitos originales también constituyen algunos de los principales inconvenientes que pueden ralentizar el desarrollo y el uso de muchos agentes antivirales. Dada la grave toxicidad de los agentes antivirales propiamente disponibles para tratar el SIDA y otras enfermedades virales y su capacidad limitada para seleccionar como diana células infectadas, se necesitan estrategias dirigidas a alcanzar niveles terapéuticos de fármacos en las células infectadas y reducir la toxicidad.

Estudios recientes han demostrado que una contribución significativa a las propiedades antimicrobianas naturalmente presentes en la vagina se debe principalmente a la actividad microbicida de la molécula de ácido láctico, y no se debe necesariamente al pH bajo solo o a la presencia de peróxido de hidrógeno. (O'Hanlon *et al.*, BMC Infect Dis., 11: 200, 2011) En particular, se ha demostrado que en el fluido vaginal, las bacterias asociadas con la vaginosis bacteriana pueden suprimirse con ácido láctico, pero en menor medida con otros ácidos al mismo pH.

Por consiguiente, existe la necesidad de un inhibidor de ETS fácil de usar alternativo que reduzca eficazmente el riesgo de transmisión de ETS a base de virus. Tales composiciones deben ser útiles para su administración vaginal en dosis eficaces que no inactiven *Lactobacillus sp.* o provoquen irritación vaginal manifiesta u otra toxicidad. Las composiciones serían aún más beneficiosas si también tuvieran capacidades anticonceptivas.

45 **Compendio de la invención**

Las realizaciones descritas a continuación satisfacen esta necesidad.

La presente invención se refiere a un anticonceptivo de tamponamiento ácido (también denominado en el presente documento "composición") que incluye ácido algínico, un compuesto bioadhesivo y ácido L-láctico en un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el ácido algínico tiene un peso molecular promedio de entre 100.000 y 200.000; y en donde el ácido algínico tiene una razón de residuos de manuronato:guluronato de entre 0,3 y 0,8. El ácido láctico es la forma "L" del ácido láctico. En una realización, la composición también incluye ácido pámico o una sal o éster del mismo. En aun otra realización, la composición también incluye carragenano. En aun otra realización, el carragenano es carragenano iota. En aun otra realización, la composición también puede incluir un agente de tamponamiento (tal como ácido cítrico, tartrato ácido de potasio, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, bitartrato de potasio, ácido edético, ácido etilendiamintetracético, ácido acético, ácido málico, y similares), espesante (tal como goma xantana, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, quitosano, policarbófilo, carboxipol, goma gellan, poloxámero, carragenano, carragenano iota, y similares), humectante (tal como glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol, triacetina, y similares) o conservante (tal como ácido benzoico, benzoato de sodio, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno,

cloruro de benzalconio, nitrato de fenilmercurio, clorhexidina, y similares). En aun otra realización, el vehículo de la composición es agua.

El anticonceptivo de tamponamiento ácido tal como se define en las reivindicaciones incluye ácido algínico, un compuesto bioadhesivo y ácido L-láctico en un vehículo farmacéuticamente aceptable. El ácido algínico tiene un peso molecular promedio de entre 100.000 y 200.000 y una razón de residuos de manuronato:guluronato de entre 0,3 y 0,8. En realizaciones, la razón de residuos de manuronato:guluronato en el polímero de ácido algínico es de aproximadamente 0,35, 0,4, 0,45, 0,5, 0,55, 0,6, 0,65, 0,7 o 0,75. En realizaciones, el peso molecular promedio del ácido algínico es de al menos 125.000 y de hasta 200.000. En otra realización, el peso molecular promedio del ácido algínico es de al menos 150.000 y de hasta 200.000. El uso de los ácidos algínicos descritos anteriormente puede potenciar además la capacidad del anticonceptivo de tamponamiento ácido para inhibir la transmisión de enfermedades. Por lo tanto, la invención también se refiere a dicho anticonceptivo de tamponamiento ácido para su uso en la reducción del riesgo de propagación de una enfermedad de transmisión sexual.

En una realización, el compuesto bioadhesivo del anticonceptivo de tamponamiento ácido puede ser goma xantana, carragenano, carragenano iota, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, quitosano, policarbófilo, carbopol, y similares. En otra realización, el compuesto de tamponamiento ácido también puede incluir agentes de tamponamiento (tales como ácido cítrico, tartrato ácido de potasio, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, bitartrato de potasio, ácido edético, ácido etilendiamintetracético, ácido acético, ácido málico, y similares), espesantes (tales como goma xantana, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, quitosano, policarbófilo, carbopol, goma gellan, poloxámero, carragenano, carragenano iota, y similares), humectantes (tales como glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol, triacetina, y similares), conservantes (tales como ácido benzoico, benzoato de sodio, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio, nitrato de fenilmercurio, clorhexidina, y similares) o agentes que potencian la solubilidad, permeabilidad y absorción del fármaco (tales como el ácido pamoico y sales y ésteres del mismo).

En una realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido incluye ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones, goma xantana y ácido L-láctico. En otra realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido incluye ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones, carragenano y ácido L-láctico. En otra realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido incluye ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones, carragenano iota y ácido L-láctico. En aun otra realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido incluye ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones, goma xantana, ácido pamoico y ácido L-láctico. En otra realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido incluye ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones, carragenano, ácido pamoico y ácido L-láctico. En otra realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido incluye ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones, carragenano iota, ácido pamoico y ácido L-láctico.

En otra realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido también puede incluir un agente de tamponamiento (tal como ácido cítrico, tartrato ácido de potasio, ácido benzoico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, bitartrato de potasio, ácido edético, ácido etilendiamintetracético, ácido acético, ácido málico, y similares), espesante (tal como goma xantana, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, quitosano, policarbófilo, carbopol, goma gellan, poloxámero, carragenano, carragenano iota, y similares), humectante (tal como glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol, triacetina, y similares), o conservante (tal como ácido benzoico, benzoato de sodio, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio, nitrato de fenilmercurio, clorhexidina, y similares). En aun otra realización, el vehículo de la composición es agua.

Otra realización es un anticonceptivo de tamponamiento ácido tal como se describe en el presente documento, que incluye además ácido 1-(6-aminopurin-9-il)propan-2-iloximetilfosfónico (tenofovir) o un derivado fisiológicamente funcional del mismo.

El anticonceptivo de tamponamiento ácido tal como se define en las reivindicaciones puede usarse en un método para reducir el riesgo de propagación de una enfermedad de transmisión sexual mediante la administración por vía tópica de una cantidad eficaz de cualquiera de las composiciones descritas anteriormente y en el presente documento. En una realización, las composiciones pueden aplicarse por vía tópica en la vagina, el cuello uterino, la boca, el ano y/o el recto. Las composiciones pueden aplicarse antes de la actividad sexual. En una realización, las composiciones pueden aplicarse al menos 15 minutos o al menos 30 minutos o al menos 1 hora o al menos 1,5 horas o al menos 2 horas o al menos 2,5 horas o al menos 3 horas o al menos 3,5 horas o al menos 4 horas o al menos 4,5 horas o al menos 5 horas o al menos 6 horas o al menos 7 horas o al menos 8 horas o al menos 9 horas o al menos 10 horas o al menos o al menos 12 horas antes de la actividad sexual. Las composiciones también pueden aplicarse después de la actividad sexual. En una realización, las composiciones pueden aplicarse inmediatamente después o en el plazo de 5 minutos después o en el plazo de 10 minutos después o en el plazo de 15 minutos después o en el plazo de 20 minutos después o en el plazo de 30 minutos después o en el plazo de 45 minutos después o en el plazo de 1 hora después, o en el plazo de 2 horas después o en el plazo de 3 horas después o en el plazo de 4 horas después o en el plazo de 5 horas después o en el plazo de 6 horas después o en el plazo de 7 horas después o en el plazo de 8 horas después o en el plazo de 9 horas después o en el plazo de 10 horas después de la actividad sexual.

En otra realización, las composiciones pueden aplicarse a la superficie de un dispositivo de barrera física tal como un condón, esponja o diafragma antes de usar el dispositivo de barrera.

También se describen métodos para fabricar las composiciones descritas en el presente documento. En una realización, se disuelve el ácido 1-(6-aminopurin-9-il)propan-2-iloximetilfosfónico (tenofovir) o un derivado fisiológicamente funcional del mismo en una disolución básica. Una vez que se disuelve el tenofovir, se lleva la disolución hasta un nivel por debajo de neutro y se añade ácido algínico. En una realización, se reduce el pH de la disolución con la adición de ácido láctico. En otra realización, se añaden aditivos adicionales basándose en el pH del aditivo. Por ejemplo, pueden usarse agentes de tamponamiento para reducir el pH de la disolución, es decir, hacerla más ácida. En otra realización, pueden añadirse espesantes. En algunos métodos, pueden añadirse espesantes al final ya que la adición de espesantes puede inhibir la incorporación de algunos componentes.

También se describen kits que contienen las composiciones descritas anteriormente en un recipiente fácil de dispensar. Los ejemplos no limitativos de envases dispensadores incluyen una botella, tubo, una jeringa, un supositorio o una bomba. El kit también puede contener un dispositivo para aplicar las composiciones a la superficie deseada y/o instrucciones de uso o aplicación. Los dispositivos aplicadores no limitantes incluyen una jeringa, una esponja, un cepillo, una torunda o una espátula. En una realización, las composiciones pueden dividirse en dosis de uso único. Los ejemplos no limitativos incluyen jeringas precargadas, tubos de compresión precargados o supositorios. La composición puede recubrir dispositivos de barrera. Los ejemplos no limitativos de dispositivos de barrera incluyen esponjas, condones o diafragmas.

Otros aspectos de la divulgación se encuentran en toda la memoria descriptiva.

Descripción detallada de la invención

La invención se refiere a anticonceptivos de tamponamiento ácido tal como se define en las reivindicaciones, así como a dichos anticonceptivos de tamponamiento ácido para su uso en métodos para reducir el riesgo de propagación de enfermedades de transmisión sexual (ETS). Tales composiciones proporcionan una doble protección al (1) atacar e inactivar virus y otros microbios y (2) bloquear la respuesta del huésped que los virus activan para facilitar la invasión de células huésped.

Para facilitar la comprensión de la divulgación que sigue, a continuación se definen varios términos.

Cuando los términos "uno", "un" o "una" se usan en esta divulgación, significan "al menos uno" o "uno o más", a menos que se indique de otro modo.

Tal como se usa en el presente documento, los términos "antimicrobiano", "microbicida" y "microbicidas" se refieren a un compuesto capaz de prevenir o inhibir el crecimiento y/o prevenir o reducir la capacidad infecciosa de microbios, incluyendo virus, bacterias, hongos, protozoos, parásitos y algas.

Tal como se usa en el presente documento, el término "enfermedad de transmisión sexual" se usa indistintamente con "ETS", "infección de transmisión sexual", "ITS" y/o el plural de los mismos. Una ETS es una dolencia o afección fisiopatológica que tiene una probabilidad significativa de transmisión entre seres humanos por medio de cualquier forma de contacto sexual, incluidos los besos. El término ETS también puede abarcar a una persona que está infectada, y que puede potencialmente infectar a otros, sin mostrar signos de enfermedad o infección.

Los términos "sinergia" y "sinérgico" significan que el efecto logrado con los compuestos usados juntos es mayor que la suma de los efectos que resultan del uso de los compuestos por separado, es decir, mayor de lo que se predeciría basándose en los dos principios activos administrados por separado. Puede lograrse un efecto sinérgico cuando los compuestos: (1) se formulan conjuntamente y se administran o se suministran simultáneamente en una formulación combinada; (2) se suministran por alternancia o en paralelo como formulaciones por separado; o (3) mediante algún otro régimen. Un efecto antiviral sinérgico denota un efecto antiviral que es mayor que los efectos puramente aditivos predichos de los compuestos individuales de la combinación.

Tal como se usa en el presente documento, el término "derivado fisiológicamente funcional" se refiere a un compuesto farmacéuticamente activo con funcionalidad fisiológica equivalente o casi equivalente al tenofovir cuando se administra en combinación con otro compuesto farmacéuticamente activo en una combinación de la divulgación. Tal como se usa en el presente documento, el término "derivado fisiológicamente funcional" incluye cualquiera de: sal, éter, éster, profármaco, solvato, estereoisómero, que incluye enantiómero, diastereómero o mezcla racémica o enriquecida estereoisoméricamente fisiológicamente aceptables, y cualquier otro compuesto que, tras la administración al receptor, sea capaz de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto de este tipo o un metabolito activo antiviral o un residuo del mismo.

Tal como se usa en el presente documento, el término "que se pone en contacto" se refiere a cualquier método adecuado para poner en contacto uno o más de los compuestos a base de ácido algínico descritos en el presente documento con un microbio o célula microbiana de transmisión sexual o adquirida sexualmente, tal como se describe en el presente documento. *In vitro* o *ex vivo*, esto se logra exponiendo el microbio o la célula microbiana al microbicida

en un medio adecuado. Para aplicaciones *in vivo* a modo de ejemplo, son adecuados métodos tópicos de administración tal como se describe en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, el término "matriz" quiere referirse a una pluralidad de moléculas diferentes que forman una estructura tridimensional a través de interacciones iónicas entre ellas.

- 5 El término "capacidades de tamponamiento" significa la capacidad de mantener un pH deseado cuando se pone en contacto con un compuesto que tiene un pH diferente. En particular, capacidades de tamponamiento significa la capacidad de mantener un pH vaginal saludable.

El término "puesto en contacto con eyaculación" significa la presencia de semen en el volumen que normalmente se produce durante la eyaculación, por ejemplo, entre 0,1 y 11 mililitros (Rehan *et al.*, Fertil Steril. 1975, 26: 492-502).

- 10 El término "disolución básica" significa una disolución que tiene un pH por encima de 7, tal como 8, 9, 10, 11, 12 o 13. Las bases a modo de ejemplo para elaborar una "disolución básica" incluyen, pero no se limitan a hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de litio.

El término "que inhibe una enfermedad" tal como se usa en el presente documento generalmente se refiere a la inhibición de enfermedades de transmisión sexual, que incluye inhibir la propagación de las mismas.

- 15 Los términos "ácido algínico" o "polímero de ácido algínico" o "alginato" se usan indistintamente y se refieren a un polímero de polisacáridos de beta-D-manuronato y alfa-L-guluronato.

- Las composiciones de tamponamiento ácido a base de ácido algínico descritas en el presente documento previenen o reducen el riesgo de transmisión de ETS y/o infecciones vaginales comunes. Las ETS incluyen, pero no se limitan a, VIH/SIDA, herpes (provocado por el virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1) o el virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2), hepatitis, gonorrea, clamidia, sífilis y tricomoniasis. Los ejemplos no limitantes de infecciones vaginales comunes se incluyen la vaginosis bacteriana (VB) y la candidiasis vaginal. Pueden usarse composiciones y métodos similares de aplicación de tales composiciones, tal como se describe en el presente documento, para prevenir o tratar ETS y/o infecciones vaginales comunes.
- 20

- Las composiciones de la presente divulgación pueden comprender una combinación de un polímero de ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones y un agente antiviral particular, tenofovir. El ácido algínico es un polímero ácido que (1) tiene adhesivo de mucosa y propiedades bioadhesivas que proporcionan una barrera física, (2) tiene capacidades de tamponamiento para ayudar a mantener un entorno ácido en la vagina y (3) tiene propiedades antiinflamatorias que reducen la infección viral en células huésped. El tenofovir es un medicamento antirretroviral diseñado para inhibir la transcriptasa inversa. La forma de profármaco de tenofovir, fumarato de tenofovir disoproxil, ha sido aprobada por la *U.S Food and Drug Administration* para tratar el VIH y la hepatitis B crónica y puede ser eficaz frente otros virus tal como el herpes. (Andrei *et al.*, Cell Host Microbe., 10: 379-89, 2011). En realizaciones a modo de ejemplo, se logra un efecto sinérgico entre el polímero de ácido algínico y el agente antiviral. Más particularmente, el resto de monofosfato cargado negativamente de tenofovir forma interacciones iónicas con el polímero de ácido algínico, facilitando la liberación prolongada de tenofovir, potenciando así la eficacia. En otras realizaciones, el polímero de ácido algínico y el tenofovir pueden combinarse con ácido láctico, y un bioadhesivo tal como goma xantana o carragenano para formar un anticonceptivo de tamponamiento ácido. El anticonceptivo de tamponamiento ácido forma una matriz al contacto con eyaculación que atrapa el esperma y otros microbios presentes en la eyaculación.
- 25
- 30
- 35

- Aunque no desea estar sujeto a ninguna teoría de funcionamiento particular, se cree además que las composiciones de la presente divulgación muestran una eficacia mejorada porque la concentración de tenofovir se mantiene entre niveles eficaces y tóxicos, por medio de las propiedades mucoadhesivas y bioadhesivas del ácido algínico que inhiben la dilución del fármaco antirretroviral lejos del punto de liberación, mejorando así la selección de diana y localización del fármaco. En este contexto, la mucoadhesión y la bioadhesión aumentan la intimidad y la duración del contacto entre el tenofovir y la superficie de la mucosa. Los efectos combinados de esta absorción directa y potenciada del fármaco, y la disminución en la velocidad de excreción que resulta de una difusión reducida y una localización mejorada, potencia significativamente la biodisponibilidad del fármaco y permite una dosificación menor y una administración menos frecuente.
- 40
- 45

Infección microbiana e inflamación

- Los receptores tipo Toll (TLR) son la señal de alerta temprana del sistema inmunitario frente a la exposición a sustancias potencialmente dañinas, especialmente a los productos químicos derivados de microbios. Específicamente, los TLR se unen a estructuras moleculares llamadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) que están presentes en bacterias, protozoos, hongos y virus. Tras la activación, los TLR desencadenan múltiples cascadas bioquímicas que activan la inflamación y las defensas inmunitarias celulares, incluyendo el factor nuclear potenciador de cadenas ligeras kappa de células B activadas (NFkB). NFkB es el regulador genético principal de la inflamación, cuya activación da como resultado una síntesis aumentada de muchas citocinas mediadoras inflamatorias y proinflamatorias, incluyendo TNF-alfa, IL-1, y otras interleucinas. Para muchos virus, la activación de las vías inflamatorias que normalmente ayudan en la defensa inmunitaria frente a la infección microbiana, en cambio, potencian la infectividad. Ahora se sabe que determinados virus, incluyendo el VIH, hepatitis y el VHS, requieren la activación
- 50
- 55

de NFkB para infectar la célula huésped. Por ejemplo, tras la activación, NFkB se une a un sitio en la repetición terminal larga del VIH para comenzar la transcripción del genoma del VIH integrado. (Véase Pande y Ramos, Curr. Med. Chem., Vol. 10, n.º 16, págs. 1603-15 (2003). En efecto, la propia respuesta natural del cuerpo está contribuyendo a la infectividad del virus.

5 Trauma físico e inflamación

Muchas actividades sexuales dan como resultado trauma físico en los tejidos a nivel microscópico. Tras la alteración de una barrera anatómica, por ejemplo membranas mucosas, los neutrófilos son atraídos por una variedad de citocinas liberadas por células inflamatorias tales como mastocitos. Los neutrófilos envuelven las células dañadas mediante fagocitosis y, en el proceso, generan y liberan grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno (ROS) que son tóxicas para las células sanas circundantes. Las ROS reaccionan con antioxidantes celulares, en particular, glutatión. Tras la exposición a ROS, el glutatión reducido (GSH) cambia a su estado oxidado (GSSG). El aumento de los niveles celulares de glutatión oxidado desencadena la activación de NFkB. Tal como se mencionó anteriormente, la activación de NFkB facilita la infección de las ETS virales.

Ácido alginico

15 Los alginatos son polímeros naturales que pueden extraerse de algas pardas. El polímero está compuesto de dos azúcares, β-D-manuronato (M) y α-L-guluronato (G) unido en 1,4. Los polímeros pueden estar compuestos por bloques de residuos de M consecutivos, bloques de residuos de D consecutivos o residuos de D y M alternativos. La razón de M:G varía dependiendo de la fuente. Según la invención, se usa ácido alginico que tiene una razón de residuos de manuronato:guluronato de entre 0,3 y 0,8. La mayoría de los alginatos disponibles comercialmente tienen un contenido de G de entre el 14-31%, sin embargo, los alginatos de *Laminaria hyperborean* tienen un contenido de G del 60%. Pueden obtenerse alginatos con una estructura química y propiedades físicas más definidas mediante biosíntesis bacteriana. Sin embargo, los alginatos bacterianos tienen un grupo O-acetilo en C2 y/o C3. Los grupos acetilo están asociados exclusivamente con los residuos de ácido manurónico con grados de acetilación que varían de desde el 4-57%. (Véase Donati y Paoletti, "Material Properties of Alginates", en Alginates: Biology and Applications: Biology and Applications, Rehm, ed., Springer Dordrecht Heidelberg, Londres, Reino Unido, 2009, página 10 y "The History of Alginate Chemistry-Bacterial", Cyber Colloids, LTD, <http://www.cybercolloids.net/information/technical-articles/history-alginate-chemistry-bacterial>). Los grupos acetilo disminuyen la capacidad y la selectividad de la unión de cationes, aumentan la viscosidad de la disolución, potencian la capacidad de retención de agua, y protegen frente a la degradación de las alginato liasas. (Véase Flemming y Wingender, "The Crucial Role of Extracellular Polymeric Substances in Biofilms," en Biofilms in Wastewater Treatment: An Interdisciplinary Approach, Wuertz, Bishop, Wilderer, eds., IWA Publishing, Londres, Reino Unido 2003, página 184). Los alginatos se extraen típicamente de algas pardas usando disoluciones alcalinas y sal para formar sales de alginato. Las sales de alginato pueden tratarse adicionalmente con ácido para formar ácido alginico.

35 Los alginatos, como los polisacáridos en general, son polidispersos con respecto al peso molecular. Debido a esta polidispersidad, el "peso molecular" de un alginato es un promedio sobre la distribución total de los pesos moleculares. (Véase Draget, *et al.*, "Alginates From Algae", Biopolymers Online, DOI: 10.1002/3527600035.bpol6008 (2005)). La distribución del peso molecular puede tener implicaciones para el uso de alginatos, ya que los fragmentos de bajo peso molecular que contienen solo bloques de G cortos pueden no participar en la formación de la red de gel y, en consecuencia, no contribuyen a la resistencia del gel. El peso molecular de la mayoría de las sales de alginato está en el intervalo de aproximadamente 10.000 a 600.000 gramos por mol (g/mol). Según la invención, se usa ácido alginico que tiene un peso molecular promedio de entre 100.000 y 200.000.

45 Los polímeros de alginato pueden reticularse para formar un hidrogel usando cationes monovalentes y divalentes tales como calcio, sodio y potasio. Sin embargo, se cree que solo los residuos de G participan cuando se usan cationes divalentes. Por lo tanto, la razón M:G del alginato afecta a las propiedades físicas de los hidrogeles de alginato. Además, el tiempo y la temperatura de gelificación también afectan a la uniformidad y resistencia del gel cuando se usan cationes. Las velocidades de gelificación lentas (por ejemplo, más de 15 minutos) a temperaturas más bajas (por ejemplo, por debajo de la temperatura corporal) dan como resultado geles con estructuras más uniformes y una mayor integridad mecánica. (Véase Asada, *et al.*, Biosci. Biotech. Biochem., Vol. 61, n.º 6, págs. 1030-1032 (1997)).

50 Los residuos de azúcar tanto de M como de G contienen grupos carboxilo con pKa alrededor de 3,5. A pH fisiológico, los grupos carboxilo se ionizan, formando largas cadenas de grupos carboxilo con carga negativa de repetición que pueden unirse por hidrógeno al agua para formar un gel adherente a tejidos espeso, por ejemplo, bioadhesivo. Los alginatos también se adhieren a superficies mucosas utilizando enlaces de hidrógeno. Se cree que los alginatos pueden actuar como una "mucosa artificial" que protege frente al trauma tanto químico como físico. Debido a las propiedades innatas mucoadhesivas y bioadhesivas del ácido alginico, debe permanecer dentro de la vagina durante aproximadamente de 12 a 24 horas (o incluso más) si la mujer no lo retira.

55 Los alginatos tienen capacidades antiinflamatorias. Específicamente, estudios han demostrado que el ácido alginico inhibe la activación de NFkB. El NFkB es un complejo proteico que controla la transcripción del ADN. (Véase Jeong, *et al.*, Clinical and Experimental Allergy, vol. 36, págs. 785-794 (2006)). El NFkB está involucrado en las respuestas celulares a estímulos tales como estrés, citocinas, radicales libres, irradiación ultravioleta, LDL oxidado, y antígenos

bacterianos o virales. El NFkB desempeña un papel clave en la regulación de la respuesta inmunitaria a la infección. Ahora se sabe que muchos virus, incluido el VIH, la hepatitis y el herpes, activan el NFkB para facilitar la infección de células huésped. Al prevenir la activación del NFkB y, por extensión, al prevenir la activación de múltiples vías inflamatorias, el ácido algínico reduce el riesgo de infección viral por ETS.

- 5 Los alginatos también inhiben la desgranulación de mastocitos mediada por inmunoglobulina E. (Véase Asada, *et al.*, Biosci. Biotech. Biochem., Vol. 61, n.º 6, págs. 1030-1032 (1997)). Los mastocitos desempeñan un papel importante en la defensa frente a patógenos. Los patógenos pueden activar los mastocitos a través de la estimulación del receptor de inmunoglobulina E (IgE) o a través del receptor de reconocimiento de patrones, que incluye receptores de tipo Toll (TLR), receptores de tipo Nod, lectinas de tipo C, y la proteína anclada con glucosilfosfatidilinositol CD48. Tras la
10 activación, los mastocitos liberan diversos mediadores que afectan a la permeabilidad vascular y desencadenan respuestas inmunitarias adicionales. Los mediadores incluyen mediadores asociados a gránulos, incluyendo histamina, serotonina, heparina, triptasa, quimasa y factor de necrosis tumoral alfa, citocinas y quimiocinas. En el tejido mucoso, que puede ser el sitio primario para la infección por VIH, la activación de mastocitos, que conduce a una permeabilidad vascular aumentada y la interacción de mastocitos con células T puede contribuir a la infectividad del
15 VIH. Además, en la infección por VIH, los mastocitos pueden servir como reservorio viral durante la infección latente y pueden reactivarse a través de señales mediadas por TLR. (Véase Urb M y Sheppard, DC (2012) "The Role of Mast Cells in the Defence against Pathogens". PLoS Pathog 8 (4): e1002619. doi: 10.1371/journal.ppat. 1002619).

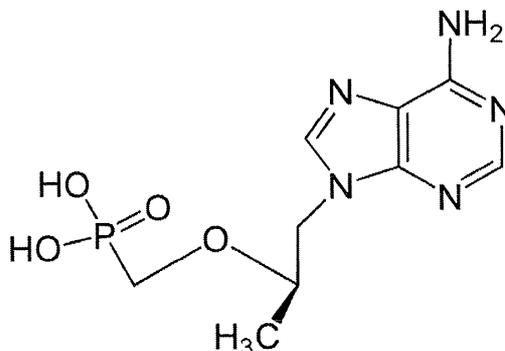
Se ha descubierto inesperadamente que no todos los pesos moleculares del ácido algínico afectan en el bloqueo de la inflamación. Específicamente, los alginatos con pesos moleculares de entre 20.000 y 400.000 g/mol muestran
20 mayores capacidades para inhibir la desgranulación de mastocitos. Según la invención, el peso molecular del alginato está entre 100.000 y 200.000 g/mol. (Véase Asada, *et al.*, Biosci. Biotech. Biochem., Vol. 61, n.º 6, págs. 1030-1032 (1997)).

También se ha descubierto inesperadamente que la razón M:G también afecta las propiedades antiinflamatorias del ácido algínico. Según la invención, la razón M:G está entre 0,3 y 0,8. (Véase Asada *et al.*, Biosci. Biotech. Biochem.,
25 Vol. 61, n.º 6, págs. 1030-1032 (1997). Asada describe que el alginato de sodio de tipo 0,6 tiene una razón M:G de 3:7, véase el segundo párrafo del artículo, sin embargo, una razón M:G de 3:7 es matemáticamente 0,43).

Tal como se señaló anteriormente, los alginatos se reticularan en presencia de cationes monovalentes y divalentes tales como sodio, potasio y calcio. Los fluidos vaginales generalmente contienen cantidades muy pequeñas de estos
30 cationes. El semen, por otro lado, es abundante en estos cationes. Por lo tanto, en presencia de semen, el ácido algínico se reticulará para formar una matriz que puede atrapar esperma y microbios. Atrapar esperma y otros microbios presentes en el semen reducirá el riesgo de transmisión de ETS. Además, el ácido algínico tiene un pH de aproximadamente 1,5 a 3,5 en disolución acuosa. Aunque no desea estar sujeto a ninguna teoría particular de funcionamiento, el pH naturalmente bajo del ácido algínico puede ayudar a mantener un pH vaginal saludable (es decir, entre 3,5 y 5,0). Tal como se señaló anteriormente, un pH bajo inactiva muchos microbios que causan ETS.
35 Además, el ácido algínico tiene propiedades bioadhesivas y mucoadhesivas que mantendrán las composiciones a base de ácido algínico en su lugar durante la actividad sexual. Por último, el cuerpo generalmente no absorbe ácido algínico debido a su alto peso molecular.

Tenofovir

El tenofovir, que incluye derivados, análogos, profármacos y sales del mismo, pertenece a una clase de fármacos
40 antirretrovirales conocidos como inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleótidos (NtRTI), que bloquean la transcriptasa inversa. Tiene el nombre químico de ácido 1-(6-aminopurin-9-il)propan-2-iloximetilfosfónico [Número de registro CAS: 147127-20-6]. El tenofovir está disponible comercialmente, de Gilead Sciences, Inc., (Foster City, CA). La estructura de tenofovir se muestra a continuación:



45 El tenofovir es un inhibidor competitivo de otros nucleótidos naturales, y su actividad biológica final es la terminación de cadena de ADN viral. El tenofovir es un análogo de nucleótidos novedoso con actividad antiviral frente al VIH y la hepatitis B. El mecanismo de tenofovir es similar al de los análogos de nucleósidos, que interfieren con la transcriptasa inversa y evita la traducción de material genético viral en ADN viral. A diferencia de los análogos de nucleósidos, los

NtRTI se activan previamente de manera química con la presencia de un grupo fosfato. Ya que la etapa de fosforilación no es necesaria, los análogos de nucleótidos pueden incorporarse a la cadena de ADN viral más rápidamente que los análogos de nucleósidos. Más importante aún, esto evitará un mecanismo viral de resistencia a nucleósidos.

5 Un ejemplo de un anticonceptivo de tamponamiento ácido es Acidform (también conocido como gel Amphora® (patente estadounidense n.º 6.706.276, documento WO 01/66084)), que es un gel que, cuando se coloca en un orificio corporal (por ejemplo, la vagina), forma una matriz al entrar en contacto con eyaculación y, por lo tanto, atrapa e inactiva los espermatozoides y/o microbios causantes de ETS y/o ITS. En general, un anticonceptivo de tamponamiento ácido puede contener (1) un compuesto formador de matriz, (2) un compuesto bioadhesivo, y (3) ácido láctico. Algunos compuestos, tal como ácido algínico, carragenano o quitosano, pueden actuar tanto como el
10 compuesto formador de matriz como el compuesto bioadhesivo.

En realizaciones a modo de ejemplo, el anticonceptivo de tamponamiento ácido contiene (1) aproximadamente el 1-10% de ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones, (2) aproximadamente el 1-10% de uno o más compuestos bioadhesivos, y (3) aproximadamente el 1-10% de ácido L-láctico. En otras realizaciones, la composición anticonceptiva de tamponamiento ácido contiene (1) aproximadamente el 3-5% de ácido algínico tal como se define
15 en las reivindicaciones, (2) aproximadamente el 2,5-6% de uno o más compuestos bioadhesivos, y (3) aproximadamente el 1-7 % de ácido L-láctico. En otras realizaciones, la composición anticonceptiva de tamponamiento ácido contiene (1) aproximadamente el 3,5-4,5% de ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones, (2) aproximadamente el 2,5-3,5% de uno o más compuestos bioadhesivos, y (3) aproximadamente el 1-4 % de ácido L-láctico.

20 Los compuestos formadores de matriz adecuados para su uso en la presente divulgación deben ser estables a lo largo de un amplio intervalo de pH, especialmente a lo largo los valores de pH ácido normales encontrados en la vagina. Según la invención, se usa ácido algínico tal como se define en las reivindicaciones. Los compuestos formadores de matriz adicionales adecuados incluyen, por ejemplo, quitosano, goma gellan, poloxámero, carragenano, carragenano iota, y similares. El compuesto formador de matriz permanece preferiblemente en un estado de no matriz hasta que
25 entra en contacto con eyaculación. Al entrar en contacto con eyaculación, el compuesto formador de matriz forma una matriz semisólida que atrapa espermatozoides y microbios que causan ETS para que no puedan migrar a través del tracto genital femenino inferior. Algunos compuestos formadores de matriz, tal como el ácido algínico (que tiene un pH de aproximadamente 1,5-3,5 en disolución acuosa), pueden contribuir a las capacidades de tamponamiento ácido del anticonceptivo de tamponamiento ácido. Además, algunos compuestos formadores de matriz también pueden
30 contribuir a la naturaleza bioadhesiva del anticonceptivo de tamponamiento ácido.

Los compuestos bioadhesivos adecuados para su uso en la presente divulgación incluyen, por ejemplo, goma xantana, carragenano, carragenano iota, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, quitosano, policarbófilo, carboxipol, y similares. En al menos una realización, el compuesto bioadhesivo es goma xantana, una goma de polisacárido de alto peso molecular que contiene residuos de D-glucosilo, D-manosilo y ácido
35 D-glucosilurónico y proporciones variables de O-acetil y acetal de ácido pirúvico. La estructura primaria es una estructura principal de celulosa con cadenas laterales de trisacáridos; la unidad de repetición es un pentasacárido. Generalmente, el peso molecular es mayor de aproximadamente 106 g/mol.

El anticonceptivo de tamponamiento ácido comprende además ácido L-láctico y puede comprender otros agentes de tamponamiento que actúan para mantener el pH de la vagina dentro de su intervalo ácido normal (es decir, un pH de
40 menos de aproximadamente 5 y más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,5) incluso en presencia de cantidades normales de eyaculación. Además del ácido L-láctico, los agentes de tamponamiento adecuados incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, ácido cítrico, tartrato ácido de potasio, ácido benzoico, ácido algínico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, bitartrato de potasio, ácido benzoico, ácido edético, ácido etilendiamintetracético, ácido acético, ácido málico, y
45 similares. Los ácidos pueden añadirse como ácidos libres, hidratos, o sales farmacéuticamente aceptables. Por supuesto, los ácidos libres pueden convertirse en las sales correspondientes *in situ* (es decir, dentro de la vagina). En diversas realizaciones a modo de ejemplo, se incluyen varios agentes de tamponamiento en la composición anticonceptiva de tamponamiento ácido para proporcionar una mayor capacidad de tamponamiento. El ácido algínico, por supuesto, puede funcionar tanto como un agente formador de matriz como un agente de tamponamiento. Dado
50 que el ácido algínico no será absorbido por el cuerpo, su efecto de tamponamiento ácido será más duradero en comparación con los otros agentes de tamponamiento que pueden ser absorbidos por el cuerpo.

En consecuencia, tal como se comentó anteriormente, el ácido L-láctico y opcionalmente otros agentes de tamponamiento adecuados adicionales pueden usarse para mantener el pH de la vagina dentro de su intervalo ácido normal tras la aplicación (es decir, un pH de menos de aproximadamente 5 y más preferiblemente en el intervalo de
55 aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,5). En particular, se ha descubierto que el ácido láctico aumenta significativamente la potencia microbicida en relación con otros mecanismos naturales de defensa vaginal, tal como el peróxido de hidrógeno. Esta característica era previamente desconocida para los expertos en la técnica, y los inventores de la presente divulgación han descubierto sorprendentemente que el anticonceptivo de tamponamiento ácido, cuando se formula usando ácido L-láctico como agente de tamponamiento, posee una actividad microbicida significativamente mayor que las formulaciones que no usan ácido L-láctico como agente de tamponamiento.
60

Específicamente, la presencia de ácido L-láctico da como resultado una mayor inactivación de los microbios, incluyendo virus, en comparación con compuestos tales como peróxido de hidrógeno o ácido acético a un pH equivalente. Se cree que el mecanismo de acción por el cual el ácido láctico aumenta la potencia microbicida es la alteración de las membranas celulares de las bacterias gran-negativas, y también actúa para inactivar el VIH y elVHS-2.

Más específicamente, el ácido láctico tiene dos isómeros, uno se conoce como ácido L-(+)-láctico o ácido (S)-láctico y el otro es ácido D-(-)-láctico o ácido (R)-láctico. Descubrimientos recientes han demostrado que la forma L del ácido láctico es más potente para inactivar el VIH que el ácido láctico D o el racémico. Si bien se desconoce el mecanismo preciso de cómo el ácido L-láctico inactiva el VIH, la actividad dependiente de estereoquímica sugiere que actúa sobre las proteínas. (Purcell *et al.*, AIDS Res Hum Retroviruses. noviembre de 2012; 28 (11): 1389-96).

El ácido láctico es producido por bacterias del ácido láctico tales como especies de *Lactobacillus*. Sin embargo, las bacterias del ácido láctico generalmente producen ácido láctico tanto D como L. Además, las bacterias del ácido láctico pueden ser difíciles de hacer crecer. Pueden usarse métodos recombinantes para fabricar específicamente ácido L-láctico utilizando hospedadores que sean más fáciles de hacer crecer, tales como levadura o *Escherichia coli*. (Ishida *et al.*, Appl Environ Microbiol. Abril de 2005; 71 (4): 1964-1970 y Dien *et al.*, J Ind Microbiol Biotechnol. Octubre de 2001; 27 (4): 259-64). Alternativamente, puede comprarse ácido L-láctico purificado de proveedores químicos establecidos tales como Sigma-Aldrich® (St. Louis, Missouri).

En una realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido se describe adicionalmente como sigue: el compuesto formador de matriz es ácido alginico tal como se define en las reivindicaciones; el compuesto bioadhesivo es goma xantana, y/o hidroxixelulosa, y/o carragenano; se usa ácido L-láctico; se incluye glicerol como humectante; se usa ácido benzoico como conservante; y el agua es el vehículo farmacéuticamente aceptable. En otra realización, la composición contiene goma xantana, anticonceptivo de tamponamiento ácido de ácido alginico, ácido L-láctico, ácido cítrico, ácido benzoico, bitartrato de potasio, glicerol y agua. En otra realización, el ácido láctico es ácido L-láctico.

En otra realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido incluye ácido alginico, carragenano y ácido láctico. En otra realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido incluye ácido alginico, carragenano, ácido láctico, ácido cítrico, ácido benzoico, bitartrato de potasio, glicerol y agua. En otra realización, el carragenano es carragenano iota. En otra realización, el ácido láctico es ácido L-láctico.

Vehículo farmacéuticamente aceptable

En una realización, el vehículo farmacéutico es agua. Otros vehículos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para el suministro vaginal se conocen bien y pueden usarse en lugar de agua. Un ejemplo de un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado es vaselina, tal como vaselina blanca.

Componentes opcionales

Pueden usarse excipientes opcionales adicionales en las composiciones de la presente divulgación, tales como agentes de tamponamiento, espesantes, humectantes y conservantes. Los agentes de tamponamiento adecuados incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, ácido cítrico, tartrato ácido de potasio, bitartrato de potasio, ácido benzoico, ácido sórbico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido tartárico, ácido edético, ácido etilendiamintetracético, ácido acético, ácido málico, y similares. Los espesantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, goma xantana, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, quitosano, policarbófilo, carbopol, goma gellan, poloxámero, carragenano, carragenano iota, y similares. Los humectantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, glicerol, polietilenglicoles, propilenglicoles, sorbitol, triacetina, y similares. En una realización a modo de ejemplo, se usa glicerol para evitar la formación de una película seca en el gel cuando se coloca dentro de la vagina. El glicerol también puede actuar como lubricante. Además, las composiciones también pueden incluir un conservante. Los conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, ácido benzoico, benzoato de sodio, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio, nitrato de fenilmercurio, clorhexidina, y similares. En una realización a modo de ejemplo, se usa ácido benzoico y también puede contribuir a la capacidad de tamponamiento del gel Acidform.

Los componentes opcionales también incluyen agentes que potencian la solubilidad, permeabilidad y absorción del fármaco. Los ejemplos no limitativos incluyen ácido pámico (también llamado "ácido embónico") y sales y ésteres del mismo.

Formulación

El anticonceptivo de tamponamiento ácido puede tener la forma de un gel, un semisólido, una crema y/o una loción. En general, el anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido alginico puede administrarse como una pomada tópica aplicada al revestimiento de la vagina y/o el cuello uterino y/o el recto, que puede lograrse como gel, crema, loción, disolución no acuosa o acuosa utilizada para enjuagar la cavidad vaginal o rectal, y/o un supositorio vaginal o rectal. En otras realizaciones, el anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido alginico puede administrarse en una formulación de pulverización. Además, el anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido alginico puede suministrarse usando diafragmas impregnados con microbicidas y condones femeninos y masculinos.

Asimismo, además del anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido algínico descrito en el presente documento, el equilibrio de las composiciones, es decir, normalmente de desde aproximadamente el 0-10% en peso, o desde aproximadamente el 0,1-5% en peso, o desde aproximadamente el 0,1-3% en peso, puede comprender opcionalmente uno o más ingredientes cosméticos. Tales ingredientes cosméticos son conocidos por los expertos en la técnica y a menudo se los conoce en la técnica como diluyentes, disolventes y adyuvantes. Normalmente, los ingredientes cosméticos incluyen, por ejemplo; agua, alcohol etílico, alcohol isopropílico, glicerina, glicerol, propilenglicol, sorbitol y otros alcoholes de alto peso molecular. Además, las composiciones pueden contener cantidades menores de otros aditivos, tales como, por ejemplo; estabilizantes, tensioactivos, mentol, aceite de eucalipto, otros aceites esenciales, fragancias, y similares. La selección y las cantidades de ingredientes cosméticos, otros aditivos y procedimientos de mezcla pueden llevarse a cabo según técnicas bien conocidas en la técnica.

Método de fabricación

El tenofovir es un polvo blanquecino con un peso molecular de 287,2 (anhidro) o 305 (como monohidrato). No es soluble en agua a pH ácido y, por lo tanto, no puede combinarse fácilmente con ácido algínico. La presente divulgación proporciona diversos métodos de fabricación para combinar tenofovir con ácido algínico.

La formulación final debe ser lo suficientemente viscosa para que permanezca en su lugar sin el uso de dispositivos físicos. Las composiciones que son demasiado delgadas se filtrarán y las composiciones que sean demasiado gruesas serán difíciles de usar adecuadamente (por ejemplo, frotis para cubrir la vagina y el cuello uterino). Además, durante el uso, se espera que se produzca una dilución debido, por ejemplo, a la presencia de fluido vaginal y la exposición al semen. La viscosidad de las formulaciones descritas en el presente documento puede estar entre 20.000-200.000 centipoise (cP) cuando el porcentaje del par es aproximadamente del 20%. Alternativamente, la viscosidad puede estar entre 30.000-150.000 cP.

Se describen métodos para preparar microbicidas, que generalmente implican tres etapas. En la primera etapa, se disuelve tenofovir en una disolución básica. En la segunda etapa, el pH se lleva hasta por debajo de neutralidad. En la tercera etapa, se añade ácido algínico. Pueden añadirse componentes opcionales, tales como espesantes, humectantes o conservantes durante cualquiera de las etapas, siempre que los componentes opcionales no afecten al pH global de las disoluciones en las diversas etapas.

En una realización, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico. En otra realización, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. En aun otra realización, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido L-láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota.

El método descrito anteriormente también puede usarse para incorporar el microbicida a base de ácido algínico en un anticonceptivo de tamponamiento ácido tal como se define en las reivindicaciones. En una realización, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. Alternativamente, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. En otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido benzoico, ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. En aun otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido benzoico, ácido cítrico, bitartrato de potasio y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. En aun otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido benzoico, ácido cítrico, bitartrato de potasio y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico, glicerina y goma xantana.

En otra realización, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio y ácido benzoico. La segunda etapa añade ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. Alternativamente, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio y ácido benzoico. La segunda etapa añade ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. En otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio y ácido benzoico. La segunda etapa añade bitartrato de potasio, ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. En aun otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio y ácido benzoico. La segunda etapa añade bitartrato de potasio, ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico, glicerina y goma xantana.

En aun otra realización, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio, ácido benzoico y bitartrato de potasio. La segunda etapa añade ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. Alternativamente, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio, ácido benzoico y bitartrato de potasio. La segunda etapa añade ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y goma xantana. En otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio, ácido benzoico y bitartrato de potasio. La segunda etapa añade ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico, glicerina y goma xantana.

En aun otra realización, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. Alternativamente, la primera etapa combina agua,

tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. En otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido benzoico, ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. En aun otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido benzoico, ácido cítrico, bitartrato de potasio y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. En aun otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir e hidróxido de sodio. La segunda etapa añade ácido benzoico, ácido cítrico, bitartrato de potasio y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico, glicerina y carragenano iota.

En aun otra realización, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio y ácido benzoico. La segunda etapa añade ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. Alternativamente, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio y ácido benzoico. La segunda etapa añade ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. En otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio y ácido benzoico. La segunda etapa añade bitartrato de potasio, ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. En aun otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio y ácido benzoico. La segunda etapa añade bitartrato de potasio, ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico, glicerina y carragenano iota.

En aun otra realización, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio, ácido benzoico y bitartrato de potasio. La segunda etapa añade ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. Alternativamente, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio, ácido benzoico y bitartrato de potasio. La segunda etapa añade ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico y carragenano iota. En otro método alternativo, la primera etapa combina agua, tenofovir, hidróxido de sodio, ácido benzoico y bitartrato de potasio. La segunda etapa añade ácido cítrico y ácido láctico. La tercera etapa añade ácido algínico, glicerina y carragenano iota.

Métodos de uso

En realizaciones a modo de ejemplo, la presente divulgación implica la aplicación tópica de un anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido algínico tal como se describe en el presente documento. En el contexto de la presente divulgación, debe entenderse que el término "aplicación tópica" incluye la aplicación a las cavidades corporales así como a la piel. Así, por ejemplo, las composiciones mencionadas anteriormente se aplican a una cavidad corporal tal como la vagina, el ano, el recto o la boca. Además, la aplicación tópica puede llevarse a cabo antes, durante o después de la relación sexual, o alternativamente, llevarse a cabo independientemente de la relación sexual.

Debe entenderse que el anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido algínico de la presente divulgación puede suministrarse en la vagina de un mamífero por cualquier medio conocido por los expertos en la técnica. Las formas típicas para el suministro de las composiciones incluyen, por ejemplo; cremas, lociones, geles, espumas, dispositivos intervaginales tales como esponjas y supositorios, y películas. Además, las composiciones antimicrobianas a base de ácido algínico pueden usarse como productos de cuidado personal, tales como, por ejemplo, lubricantes para condones, y similares. Tales lubricantes pueden comprender componentes comúnmente conocidos tales como, por ejemplo: humectantes, por ejemplo, glicerina, sorbitol, manitol, glicoles y éteres de glicol; tampones, por ejemplo, glucono-d-lactona; germicidas o bactericidas, por ejemplo, gluconato de clorhexidina; conservantes, por ejemplo, metilparabeno; viscosificadores, por ejemplo, hidroxietilcelulosa, etc.; otros adyuvantes, por ejemplo, colores y fragancias; además de las composiciones de la presente divulgación. Los expertos en la técnica reconocerán que las propiedades físicas, por ejemplo, la viscosidad, de tales formas de suministro pueden variar ampliamente. Por ejemplo, la viscosidad de una forma de gel de la composición de la presente divulgación, por ejemplo 150.000 centipoise, puede ser sustancialmente mayor que la viscosidad de la forma de loción de la composición de la presente divulgación, por ejemplo, 100 centipoise. Pueden seleccionarse detalles adicionales sobre los materiales, componentes, proporciones y procedimientos de tales formas de suministro según técnicas bien conocidas en la técnica.

En diversas realizaciones, el anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido algínico de la presente divulgación se administra preferiblemente a la vagina del mamífero en una dosificación que es eficaz para reducir el riesgo de transmisión de ETS. Las dosificaciones típicas oscilan entre aproximadamente 1-10 gramos, o entre 3-7 gramos, o entre 4-6 gramos de la composición. En diversas realizaciones, el anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido algínico descrito puede aplicarse usando un dispositivo o aplicador tal como un supositorio, una esponja, una torunda, un cepillo o una jeringa. En otras realizaciones, el anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido algínico descrito puede aplicarse a un dispositivo de barrera tal como una esponja, un condón o un diafragma. En una realización, el anticonceptivo de tamponamiento ácido a base de ácido algínico descrito puede estar en dispositivos precargados de un solo uso, tales como un tubo prensado precargado una jeringa precargada.

Será evidente para los expertos en la técnica que pueden utilizarse otros compuestos que funcionan como precursores, análogos y derivados tales como sales y ésteres de los presentes compuestos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Formulaciones para microbicida a base de ácido algínico (no reivindicado)

5 En su forma más simple, el microbicida a base de ácido algínico contiene ácido algínico, tenofovir y agua. En otra forma, se combinan ácido algínico, carragenano iota, tenofovir y agua. Para cualquiera de las formulaciones mencionadas en el presente documento, el ácido pamoico se añade opcionalmente para potenciar la solubilidad, la permeabilidad o la absorción del tenofovir.

Las formulaciones se elaboran disolviendo tenofovir en una disolución básica de agua e hidróxido de sodio. El pH se lleva hasta por debajo de neutralidad y se añade el ácido algínico. El carragenano iota, si se usa, se añade antes, al mismo tiempo o después del ácido algínico.

10 Ejemplo 2: formulaciones para microbicida (no reivindicado) y anticonceptivo a base de ácido algínico

15 En su forma más simple, el microbicida y anticonceptivo a base de ácido algínico contiene ácido algínico, tenofovir, ácido láctico y agua. En otra forma, se combinan ácido algínico, goma xantana, tenofovir, ácido láctico y agua. En otra forma, se combinan ácido algínico, carragenano iota, tenofovir, ácido láctico y agua. En otra forma, se combinan ácido algínico, goma xantana, tenofovir, ácido láctico, ácido cítrico, ácido benzoico, bitartrato de potasio, glicerina y agua. En otra forma, se combinan ácido algínico, carragenano iota, tenofovir, ácido láctico, ácido cítrico, ácido benzoico, bitartrato de potasio, glicerina y agua. Para cualquiera de las formulaciones mencionadas en el presente documento, el ácido pamoico se añade opcionalmente para mejorar la solubilidad, la permeabilidad o la absorción del tenofovir.

20 Las formulaciones se elaboran disolviendo tenofovir en una disolución básica de agua e hidróxido de sodio. Los componentes que disminuyen el pH, tales como el ácido cítrico, el ácido láctico y el ácido algínico se añaden a continuación. Los agentes espesantes, tales como la goma xantana y el carragenano iota, se añaden en último lugar. Se pueden añadir otros componentes que no afecten el pH, tales como glicerina, ácido benzoico y bitartrato de potasio, en cualquier fase. El pH final debe ser similar al intervalo de pH vaginal normal, tal como entre aproximadamente 2 y aproximadamente 5 o entre aproximadamente 2 y aproximadamente 4, o entre aproximadamente 3 y aproximadamente 4.

25 Ejemplo 3: Ensayos clínicos para un anticonceptivo de tamponamiento ácido, gel Amphora

30 En este ejemplo, se realizaron ensayos clínicos para evaluar las capacidades anticonceptivas de un anticonceptivo de tamponamiento ácido, gel Amphora. El gel Amphora se comparó con el gel vaginal Conceptrol® (Revive Personal Products Company, Madison, Nueva Jersey) en un estudio de no inferioridad. El gel vaginal Conceptrol es un gel tópico que contiene el 4% de nonoxinol-9 en un volumen de gel de 2,5 ml. En el ensayo clínico se reclutaron mujeres sanas de edades de entre 18-35, la mitad recibió gel Amphora (dosis de 5 ml por uso) y la otra mitad recibió gel Conceptrol (dosis de 2,5 ml por uso). Las mujeres recibieron instrucciones de insertar el gel por vía vaginal hasta 2 horas antes de tener relaciones sexuales heterosexuales. Ambos geles se administraron durante un período de 7 ciclos menstruales y un subconjunto de usuarias continuó usando el gel Amphora durante 6 ciclos adicionales. Al final del período de evaluación, un subconjunto de mujeres se sometió a una colposcopia para detectar lesiones en la vagina y el cuello uterino y pruebas para medir cualquier cambio en la flora vaginal.

40 Los resultados indicaron que el gel Amphora no era inferior al gel vaginal Conceptrol para fines anticonceptivos mediante el análisis estadístico de Kaplan-Meier. El gel Amphora se toleró bien y no tuvo efectos adversos significativos. La incidencia de vaginosis bacteriana, infección del tracto urinario e infecciones por levaduras fueron similares entre los dos geles. Además, no hubo informes de fugas del gel Amphora y las mujeres parecían preferir el gel Amphora.

REIVINDICACIONES

1. Anticonceptivo de tamponamiento ácido que incluye ácido algínico, un compuesto bioadhesivo y ácido L-láctico en un vehículo farmacéuticamente aceptable,
en donde el ácido algínico tiene un peso molecular promedio de entre 100.000 y 200.000 g/mol; y
- 5 en donde el ácido algínico tiene una razón de residuos de manuronato:guluronato de entre 0,3 y 0,8.
2. El anticonceptivo de tamponamiento ácido según la reivindicación 1, en donde la razón de residuos de manuronato:guluronato está entre 0,3 y 0,6.
3. El anticonceptivo de tamponamiento ácido según cualquier reivindicación anterior, que comprende además un agente de tamponamiento, un espesante, un humectante o un conservante.
- 10 4. El anticonceptivo de tamponamiento ácido según cualquier reivindicación anterior, que comprende además ácido pamoico o una sal del mismo.
5. El anticonceptivo de tamponamiento ácido según cualquier reivindicación anterior, en donde el vehículo es agua.
6. El anticonceptivo de tamponamiento ácido de cualquier reivindicación anterior, para su uso en la reducción del riesgo de propagación de una enfermedad de transmisión sexual.