



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 327 079**

② Número de solicitud: 200603050

⑤ Int. Cl.:  
**A61K 38/09** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

② Fecha de presentación: **21.11.2006**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **23.10.2009**

Fecha de la concesión: **13.05.2010**

④ Fecha de anuncio de la concesión: **31.05.2010**

④ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**31.05.2010**

⑦ Titular/es:  
**Universidade de Santiago de Compostela  
Edificio CACTUS-Campus Sur  
15782 Santiago de Compostela, A Coruña, ES**

⑦ Inventor/es: **Quintela Arias, Luis Ángel;  
Vega Fernández, María Dolores;  
Becerra González, Juan José;  
Peña Martínez, Ana Isabel y  
García Herradón, Pedro José**

⑦ Agente: **No consta**

⑤ Título: **Uso de la [Des-Gly10,D-Ala6]-LHRH ethyl-amide para inseminación intravaginal en conejas.**

⑤ Resumen:  
Uso de la [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide para inseminación intravaginal en conejas. Uso de la [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide por vía intravaginal, añadido a la dosis seminal, para la inducción de la ovulación en conejas sometidas a inseminación artificial. Además se puede añadir al semen hasta 24 horas antes de su aplicación.

ES 2 327 079 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Uso de la [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide para inseminación intravaginal en conejas.

5 **Sector de la técnica**

La presente invención pertenece al ámbito de la producción animal y más concretamente a la cría intensiva de conejos mediante inseminación artificial.

10 **Estado de la técnica**

El uso de la inseminación artificial en las explotaciones cunícolas es una práctica común en Europa. Como consecuencia, se han introducido numerosos cambios en el manejo de los animales para su adaptación a esta técnica. En general, estos cambios han contribuido a mejorar la calidad de vida del cunicultor y la productividad de las explotaciones. Sin embargo, aún es posible mejorar los sistemas de manejo actuales en aspectos como reducir la administración de sustancias exógenas o simplificar la aplicación de otras, que al menos de momento, no se pueden eliminar, como es el caso de la administración de GnRH para la inducción de la ovulación.

En la coneja, la ovulación no ocurre espontáneamente, se produce por un reflejo neurohormonal que se inicia durante el coito. Cuando se utiliza la inseminación artificial, el macho no está presente y la ovulación debe inducirse mediante métodos artificiales. El método más frecuentemente empleado para la inducción de la ovulación es la administración intramuscular de GnRH o uno de sus análogos sintéticos. Algunos métodos alternativos a la aplicación de esta hormona son:

25 - La administración intravenosa de acetato de cobre (Kishk W, Awad M, Ayoub M. Non-hormonal substances for the induction of ovulation in rabbit does. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress. Valencia. Spain. 2000). Investigaciones realizadas por diferentes autores demuestran que las sales de cobre pueden provocar un pico de LH seguido de la ovulación, de forma similar al inducido por el coito. Este efecto se debe a un sinergismo entre el cobre y las gonadotropinas. Sin embargo, cualquier método que implique la administración intravenosa de una sustancia hace que sea imposible su aplicación por la dificultad y el tiempo requerido.

35 - Uso de machos vasectomizados (Khalifa RM, El-Alamy MA, Beshir MA. Vasectomized buck gave better reproductive results in artificial insemination techniques in rabbit than GnRH or HCG. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress. Valencia. Spain. 2000). Su uso permite la obtención de resultados similares a los obtenidos mediante la administración de GnRH por vía intramuscular. Sin embargo, el tiempo requerido para conseguir el efecto deseado es muy superior y es necesario mantener un grupo de machos vasectomizados en la granja. Estos inconvenientes hacen que no sea aplicable su uso a nivel de campo.

40 En la mayor parte de las explotaciones, la preparación y administración de la GnRH está a cargo del cunicultor, con un cierto riesgo de errores y con un incremento del tiempo necesario para la realización de la inseminación artificial. La GnRH o sus análogos son normalmente administrados por vía intramuscular, sin embargo, al tratarse de moléculas de bajo peso molecular, es posible su absorción a través de las mucosas. En este sentido, existen referencias que indican que es posible la absorción de análogos de la GnRH a través de las mucosas, ya que en medicina humana se utilizan algunos por vía intranasal, aunque la dosis es superior a la aplicada por vía intramuscular (Camier B, Gagneur O, Arlot S, Thépot F, Vitse M. Preliminary study of the use of intranasal buserelin in the long-term protocol of ovarian stimulation with the view toward fertilization *in vitro*. Rev Fr Gynecol Obstet 1989, 84: 659-661).

50 La administración vía intravaginal de la GnRH, añadida al semen, reduciría el tiempo necesario para realizar la inseminación artificial y los posibles errores como consecuencia de una manipulación por personas no cualificadas, ya que se podría añadir en el Centro de inseminación, lugar en el que se elaboran las dosis seminales que serán utilizadas en la inseminación artificial de las conejas.

55 En este sentido, existen pruebas de que la administración de un análogo sintético de la GnRH, concretamente la Buserelina, por vía intravaginal añadiendo la hormona a la dosis seminal, es igual de eficaz induciendo ovulación que la administrada por vía intramuscular (Quintela, L.A; Peña, A.I.; Vega, MaD.; Gullón, J.; Prieto, C.; Barrio, M.; Becerra, J.J.; Maseda, F. y Herradón, P.G. Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial insemination by adding buserelin to the seminal dose. Reprod. Nutr. Dev. 2004, 44: 79-88).

60 La presente invención, describe la eficacia induciendo la ovulación en la coneja de un análogo o sintético de la GnRH, la [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH Ethyl-Amide, CAS Register Number [52435-06-0], administrado por vía intravaginal. Esta eficacia es incluso superior a la demostrada por la GnRH administrada por vía intramuscular, y, además, se puede añadir al semen hasta 24 horas antes de su aplicación. La invención facilita considerablemente el empleo de la inseminación artificial en cunicultura, al reducir el tiempo necesario para su realización y evitar la manipulación de las hormonas por personal no cualificado, con los consiguientes errores de dosificación o incluso problemas sanitarios debidos al uso en varios animales de las mismas agujas. Asimismo, supone una alternativa a la vía de administración habitual de la hormona responsable de la inducción de la ovulación en la coneja.

También, la invención consiste en un método de inducción de la ovulación en conejas que radica en la adición de un análogo de la GnRH a la dosis seminal. Con esto se consigue eliminar la preparación de las dosis de hormona y la administración intramuscular a cada animal. La hormona en este caso es administrada al mismo tiempo que se insemina la coneja, sin un trabajo extra. Por otra parte, se reducen los errores al reducir la manipulación que el cunicultor debe realizar de la hormona.

### Descripción de la invención

La presente invención esta dirigida a obtener una alternativa más eficaz al sistema tradicional de inducción de la ovulación en conejas sometidas a inseminación artificial.

Esta alternativa consiste en la administración por vía intravaginal, añadida a la dosis seminal, del análogo de la GnRH cuya denominación es la: [*Des-Gly10, D-Ala6*]-LHRH ethyl-amide, CAS Register Number [52435-06-0].

La dosis recomendada para obtener los mejores resultados de fertilidad y prolificidad es la de 25 µg. por coneja, añadida a la dosis seminal hasta 24 h. antes de uso, manteniendo ésta a la temperatura de conservación normal del semen de conejo (16°C).

### Ejemplos

En los ejemplos descritos a continuación se demuestra la eficacia de la [*Des-Gly10, D-Ala6*]-LHRH ethyl-amide administrada por vía vaginal añadida a la dosis seminal, en la inducción de la ovulación en la coneja.

#### Animales

En todos los ejemplos se utilizaron conejas híbridas comerciales (Hyplus línea PS19, Grimaud Freres, Francia). Todas las conejas procedían de una explotación industrial de conejos. Los ejemplos fueron realizados en la Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Veterinaria de Lugo durante los meses de noviembre de 2004 a junio de 2005. Las conejas estaban alojadas en una granja experimental sin ventanas, con luz artificial que aportaba una intensidad de 70 lux y con un sistema de ventilación forzada y de climatización de forma que la temperatura interior se mantuviese en un rango entre 18 y 22°C. Las luces estaban conectadas a un programador que mantenía un fotoperiodo artificial de 12 horas de luz y 12 de oscuridad. Seis días antes de la inseminación artificial este fotoperiodo se incrementaba a 16 horas de luz y 8 de oscuridad. Durante los 4 días siguientes a la inseminación artificial se reducía 1 hora de luz al día hasta volver al fotoperiodo inicial de 12 h. de luz/12 h. de oscuridad.

Las conejas estaban alojadas en jaulas individuales (0,3 m<sup>2</sup>), comunicadas con un nido exterior (0,12 m<sup>2</sup>), por un orificio circular que se cierra mediante una puerta deslizante. Las conejas preñadas o lactantes se alimentaron *ad libitum*, mientras que las no gestantes y no lactantes fueron racionadas a 150 g/día de un pienso comercial, excepto en el intervalo que va de los 6 días anteriores a la inseminación artificial (IA) al diagnóstico de gestación, en que fueron alimentadas *ad libitum*. Se emplearon dos tipos diferentes de dietas: de los 21 días posparto al destete (30-35 días), todas las conejas, por razones prácticas, incluidas las no lactantes, fueron alimentadas con un pienso de gazapos (15.3% Proteína Bruta, 16.5 Fibra Bruta, 1800 Kcal Energía Digestible), durante el resto de los días recibieron un pienso de maternidad (17.8% Proteína Bruta, 13.3 Fibra Bruta, 2300 Kcal Energía Digestible).

#### Manejo reproductivo

Todas las hembras fueron inseminadas el mismo día, con un intervalo de 42 días (11 días posparto). Todas las hembras fueron tratadas hormonalmente para sincronizar el estro. El tratamiento hormonal consistente en 20 UI eCG (Follygon®, Laboratorios Intervet, Salamanca, España), inyectado en un volumen de 1 mL, 48 h. antes de la inseminación artificial.

Se les aplicó un programa de amamantamiento controlado a todas las hembras entre los días 0 a 10 posparto, manteniendo la puerta del nido cerrada y abriéndola sólo cada 24 h, a las 12:00 h, para permitir a las crías mamar una vez al día. El día de la inseminación el amamantamiento fue retrasado hasta las 17:00 h, 5-10 minutos antes de llevar a cabo la inseminación artificial, lo que supuso una separación coneja-gazapo de 30 h. Desde el día 12 posparto (1 día pos-inseminación) hasta el destete (30-35 días posparto) se permitió la lactancia libre dejando la puerta del nido abierta. Entre los días 11 y 14 pos-inseminación se realizó el diagnóstico de gestación de todas las conejas mediante palpación transabdominal.

Al destete los conejos fueron trasladados a una nave de cebo para finalizar su crecimiento, y durante este periodo (7-12 días previos al siguiente parto) se llevó a cabo la limpieza y desinfección de los nidales a fin de preparar el próximo parto.

Los partos tuvieron lugar principalmente a los 30 días pos-inseminación y en la mañana del día 31. En aquellas conejas que no hubiesen parido el mediodía del día 31, se les indujo el parto mediante la inyección subcutánea 2 UI Oxytocina (Hormohipra®, Laboratorios Hipra, Girona, España). Después de este tratamiento (aplicado aproximadamente a un 5% de las parturientas), el parto comienza por lo general a los 5-10 minutos y se completa en 15 minutos.

## ES 2 327 079 B1

Una vez paridas todas las conejas se anota el número de nacidos vivos y nacidos muertos. Posteriormente, las camadas son igualadas hasta las 10 crías cada una, con un tamaño de éstas similar dentro de cada grupo. Las crías sobrantes son eutanasiadas mediante la inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (Dolethal<sup>®</sup>, Laboratorios Vetoquinol, Madrid, España).

5

### *Procesado del semen e inseminación artificial*

El semen empleado se obtuvo de un centro de inseminación artificial, en donde rutinariamente el semen de conejo es recogido, diluido y almacenado a 16°C usándolo en un intervalo de 24 horas.

Eyaculados de 8-12 conejos (Hyplus PS39, Grimaud Freres, France), son recogidos usando una vagina artificial, mezclados y diluidos con un diluyente comercial (MA 24<sup>®</sup>, Laboratorios Ovejero, León, España) hasta una concentración estándar de  $60 \times 10^6$  espermatozoides/mL. Sólo fueron empleados aquellos eyaculados cuyo volumen libre de gel era superior a 0.2 mL y la motilidad espermática (evaluación subjetiva con microscopio) mayor al 70%.

15

Las hembras fueron inseminadas vaginalmente usando pipetas de plástico de un único uso, con una dosis de  $30 \times 10^6$  espermatozoides en un volumen de 0.5 mL. En el momento de realizar la inseminación artificial fue observado el color de la vulva y clasificado como blanco, rosa, rojo o púrpura.

20

### *Diseño experimental*

#### Ejemplo 1

25

#### *Prueba experimental de 2 concentraciones diferentes de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide añadido al semen*

18 conejas de aproximadamente 30 semanas de edad (secundíparas) divididas al azar en 3 grupos de 6 fueron inseminadas 5 veces consecutivas. Cada grupo recibió un tratamiento hormonal diferente para la inducción de la ovulación en el momento de la IA:

30

1.- Grupo control: 20 mg/coneja de GnRH natural (Inducel GNRH<sup>®</sup>, Laboratorios Ovejero S.A, León, España) vía intramuscular.

35

2.- Grupo T25: 25 µg/coneja de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide diluido en solución salina fisiológica en relación 1/1 administrado intravaginal añadiendo la hormona a la dosis seminal (25 µL.).

40

3.- Grupo T30: 30 µg/coneja de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide diluido en solución salina fisiológica en relación 1/1 administrado intravaginal añadiendo la hormona a la dosis seminal (30 µL.).

45

#### Ejemplo 2

#### *Respuesta de la hipófisis a la administración de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide añadido al semen*

45

A cuatro conejas elegidas aleatoriamente en cada uno de los tres grupos del experimento anterior en la 5ª IA, se les recogieron muestras de sangre justo antes de la IA y a los 60, 90, 120 y 150 min. de la IA, para la determinación de los niveles de LH en plasma. Las muestras fueron recogidas en la vena marginal de la oreja en tubos de EDTA e inmediatamente centrifugados a 1000 g. durante 10 min. El plasma sanguíneo así obtenido se congeló a -20°C hasta su análisis hormonal.

50

### *Resultados*

#### Ejemplo 1

55

#### *Prueba experimental de 2 concentraciones diferentes de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide añadido al semen*

En este ejemplo se demuestra que mediante la adición al semen de [des-Gly10, D-Ala6] - LHRH ethyl-amide en las dosis probadas se obtienen resultados similares a los que se conseguirían con la administración intramuscular de gonadorelina siguiendo el protocolo tradicional. Por otra parte, aunque en ningún caso las diferencias entre grupos fueron estadísticamente significativas, la dosis de 25 µg parece ser la mejor.

65

# ES 2 327 079 B1

TABLA 1

*Resultados de fertilidad y prolificidad obtenidos mediante la adición al semen de diferentes dosis de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide en una granja experimental*

5

| Tratamientos | n  | FERTILIDAD | n  | NACIDOS VIVOS | NACIDOS MUERTOS | NACIDOS TOTALES |
|--------------|----|------------|----|---------------|-----------------|-----------------|
| CONTROL      | 31 | 80,6       | 24 | 10,17±2,51    | 0,79±1,25       | 10,96±2,60      |
| 25 µg        | 29 | 82,6       | 24 | 9,00±3,64     | 1,29±1,29       | 10,29±2,99      |
| 30 µg        | 30 | 73,3       | 22 | 8,95±3,87     | 1,45±1,45       | 10,41±3,26      |

15

## Ejemplo 2

*Respuesta de la hipófisis a la administración de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide añadido al semen*

20

Los resultados obtenidos en este experimento no vienen más que a confirmar lo observado en el experimento anterior. Comprobamos que tras la administración de 25 o 30 µg de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide se consigue un pico de LH a los 90 min. de la administración, de igual forma que en el protocolo tradicional, e incluso ligeramente superior (Figura 1.- Gráfica en la que se muestra el momento en el que se produce el pico de LH en conejas a las que se les administró GnRH por vía intramuscular o 25/30 µg de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide añadida al semen).

25

## Descripción de la figura

30

Representación de la Figura 1.- Concentraciones de LH en plasma justo antes de la inseminación artificial y a los 60, 90, 120 y 150 minutos postinseminación en función del tratamiento administrado (C: 20 mg/coneja de GnRH natural (Inducel GNRH®, Laboratorios Ovejero S.A, León, España) vía intramuscular; 25: 25 µg/coneja de [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide diluido en solución salina fisiológica en relación 1/1 administrado intravaginal añadiendo la hormona a la dosis seminal (25 µL.); 30: 30 µg/coneja de [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide diluido en solución salina fisiológica en relación 1/1 administrado intravaginal añadiendo la hormona a la dosis seminal (30 µL.)).

40

45

50

55

60

65

**REIVINDICACIONES**

5 1. Uso de la [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide para preparar una composición veterinaria, de administración intravaginal, destinada a la inducción de la ovulación en las conejas sometidas a inseminación artificial.

2. Uso de la [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque la composición veterinaria consiste en adicionar la [Des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethyl-amide a la dosis seminal diluida.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

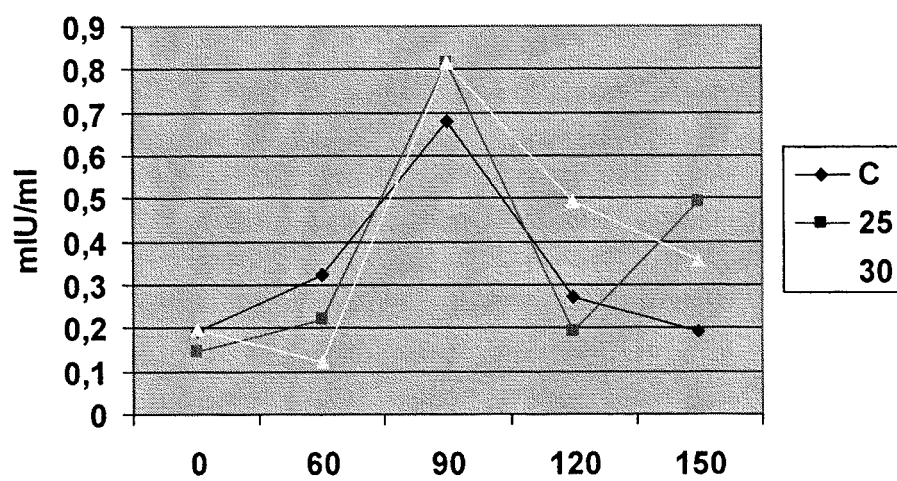


Figura 1



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 327 079

② Nº de solicitud: 200603050

③ Fecha de presentación de la solicitud: 21.11.2006

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A61K 38/09** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑥ Documentos citados  | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|---|----------------------------|
| X         | CONN, P.M. et al., 'Gonadotropin-releasing hormone and its analogues.' THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, 1991, Vol. 324, No. 2, páginas 93-103, todo el documento; Tabla 1; páginas 98-99, 'Pharmacologic features of GnRH and its analogues'.   | 1,2                        |
| X         | CHANG, J.P. et al., "Effects of pimozide and des Gly10,[D-Ala6]luteinising hormone-releasing hormone ethylamide on serum gonadotropin concentrations, germinal vesicle migration, and ovulation in female goldfish, Carassius auratus.", GENERAL AND COMPARATIVE ENDOCRINOLOGY, 1983, Vol. 52, No. 1, páginas 30-37, todo el documento. | 1,2                        |
| X         | QUINTELA, L.A. et al., "Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial insemination by adding buserelin to the seminal dose.", REPRODUCTION NUTRITION DEVELOPMENT, 2004, Vol. 44, No. 1, páginas 79-88, Materiales y Métodos; Resultados; Discusión.  | 1,2                        |
| A         | BECHSTEDT, U. et al., "Orienting studies on the ovulation-inducing effect of the gonadotrophin-releasing analog D-Phe6-LH-RH in rabbits.", ARCH. EXP. VETERINARMED., 1987, Vol. 41, No. 2, páginas 285-292, todo el documento.  | 1,2                        |
| A         | MORRELL, J.M., "Artificial insemination in rabbits.", BRITISH VETERINARY JOURNAL, 1995, Vol. 151, No. 5, páginas 477-488, todo el documento.  | 1,2                        |

**Categoría de los documentos citados**

X: de particular relevancia  
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría  
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita  
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud  
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

|   |  |                       |
|---|--|-----------------------|
| <p><b>Fecha de realización del informe</b><br/>09.10.2009</p> | <p><b>Examinador</b><br/>J.L. Vizán Arroyo</p> | <p>Página<br/>1/6</p> |
|---|--|-----------------------|





OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 327 079

② Nº de solicitud: 200603050

③ Fecha de presentación de la solicitud: 21.11.2006

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A61K 38/09** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑥ Documentos citados   | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--|----------------------------|
| A         | OKADA, H. et al., "Vaginal absorption of a potent luteinizing hormone-releasing hormone analogue (leuprolide) in rats. IV: Evaluation of the vaginal absorption and gonadotropin responses by radioimmunoassay.", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES., 1984, Vol. 73, No. 3, páginas 298-302, todo el documento. | 1,2                        |

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

09.10.2009

Examinador

J.L. Vizán Arroyo

Página

2/6

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 09.10.2009

**Declaración**

|  |                       |           |
|--|-----------------------|-----------|
| <b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>             | Reivindicaciones      | <b>SÍ</b> |
|  | Reivindicaciones 1, 2 | <b>NO</b> |
| <b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)</b> | Reivindicaciones      | <b>SÍ</b> |
|  | Reivindicaciones 1, 2 | <b>NO</b> |

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión:**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

**1. Documentos considerados:**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación                                    | Fecha Publicación |
|-----------|--|-------------------|
| D01       | Conn, P.M. et al., N. Engl. J. Med., (1991), 324(2): 93-103.           | 1991              |
| D02       | Chang, J.P. et al., Gen. Comp. Endocrinol., (1983), 52(1): 30-37.      | 1983              |
| D03       | Quintela, L.A. et al., Reprod. Nutr. Dev., (2004), 44(1): 79-88.       | 2004              |
| D04       | Bechstedt, U. et al., Arch. Exp. Veterinarmed., (1987), 41(2): 285-292 | 1987              |
| D05       | Morrell, J.M., Br. Vet. J., (1995), 151(5): 477-488.                   | 1995              |
| D06       | Okada, H. et al., J. Pharm. Sci., (1984), 73(3): 298-302.              | 1984              |

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente solicitud divulga un nuevo uso del análogo de GnRH [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH para preparar una composición veterinaria de administración intravaginal destinada a la inducción de la ovulación en conejas sometidas a inseminación artificial (Reivindicación 1).

**1. NOVEDAD (Art. 4.1. y Art. 6.1. de la Ley de Patentes).****1.1. Reivindicación independiente 1.**

1.1.1. El producto [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH es uno de los diferentes análogos de GnRH caracterizados en el estado de la técnica (D1). Estos compuestos han sido descritos y utilizados como agentes inductores de la ovulación en diferentes especies, en concreto, en conejas (D3-D5). Específicamente, el análogo [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH concernido en la invención ha sido utilizado en un método de inducción de la ovulación en teleosteos (*Carassius auratus*) (D2). Además, se han estudiado los efectos derivados de la vía elegida para la administración de dichos análogos de GnRH, en concreto, se ha descrito la administración vía intravaginal (cf. D1: Tabla 1; 'Chemical Features of GnRH Analogues' (página 99); 'Pharmacokinetics' (páginas 98-99); D3; D6.). Es decir, tanto el compuesto [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH como su uso en procedimientos de inducción de la ovulación son conocidos. Por consiguiente, el uso de [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH para la preparación de la composición veterinaria objeto de la reivindicación 1 no es nuevo sobre la base de los documentos D1 y D2. Según lo expuesto anteriormente, el objeto de la reivindicación dependiente 2 también se considera que no es nuevo.

1.2. La presente invención no satisface el criterio establecido en el Art. 4.1. de la Ley de Patentes porque el objeto de la misma, definido en las reivindicaciones 1 y 2, no es nuevo de acuerdo con el Art. 6.1. de la Ley de Patentes.

**2. ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 4.1. y Art. 8.1. de la Ley de Patentes).****2.1. Reivindicación independiente 1.**

2.1.1. Los documentos D1-D2 constituyen el estado de la técnica más próximo. En D1 se analizan diferentes análogos de GnRH, incluido el producto de la invención [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH, así como los efectos derivados de la vía elegida para su administración (cf. D1: Tabla 1; 'Chemical Features of GnRH Analogues' (página 99); 'Pharmacokinetics' (páginas 98-99)). En D2 se describe la utilización de [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH en un método de inducción de la ovulación en teleosteos (*Carassius auratus*).

2.1.2. El problema técnico a resolver por el objeto de la reivindicación independiente 1 puede ser considerado, por consiguiente, como la provisión de un nuevo uso del análogo de GnRH, [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH.

Hoja adicional

2.1.3. La solución propuesta es el nuevo uso de [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH para preparar la composición veterinaria de la reivindicación 1 caracterizada por su aplicación en procedimientos de inducción de la ovulación en conejas sometidas a inseminación artificial. En el estado de la técnica ya se ha descrito el uso de análogos de GnRH para tal fin. En concreto, el documento D3, citado en la solicitud de patente, divulga el uso del compuesto Buserelina ([des-Gly10, D-Ser(tBu)6]-LHRH), análogo de GnRH, como inductor de la ovulación en un procedimiento de inseminación artificial aplicado a conejas, caracterizado por la administración intravaginal de dicho compuesto (D3: Materiales y Métodos; Resultados). Por consiguiente, la diferencia entre el uso del análogo de GnRH objeto de la invención y el descrito en D3 consiste en la molécula análoga a GnRH concernida.

en cada caso. La mayoría de los análogos de GnRH descritos en el estado de la técnica se caracterizan estructuralmente por un D-aminoácido en la posición 6 que sustituye a la Gly6 nativa y por una etil-amina (N-EtNH<sub>2</sub>) que reemplaza a la Gly10 del extremo C-terminal de la secuencia nativa. Estas sustituciones confieren a dichos compuestos análogos una mayor resistencia a la proteólisis y afinidad al receptor con respecto a la molécula nativa (cf. D1: Tabla 1; 'Chemical Features of GnRH Analogues' página 99)). En concreto, la única característica estructural que diferencia a los análogos concernidos en D3 y en la invención es el residuo de la posición 6. Sin embargo, en la solicitud no se explicita la supuesta ventaja técnica derivada del uso del análogo objeto de la invención frente al de D3 con relación a la inducción de la ovulación en conejas inseminadas artificialmente. . En realidad, se obtienen casi mejores resultados de prolificidad y de mortalidad con Buserilina que con el análogo [des-Gly10, D-Ala6]-LHRH considerado en la invención, incluso a dosis menores del primero (8µg, 12µg y 16µg) que del segundo (25µg y 30µg) (cf. Tabla 1; D3: Tablas I y II.).

Como consecuencia de todo ello, se considera que la solución propuesta por el objeto de la reivindicación independiente 1 es una alternativa no inventiva con relación a las solución existente previamente que no requeriría de la aplicación de conocimientos técnicos inventivos por parte del experto en la materia. Además, la puesta en práctica de dicha solución no presentó ninguna dificultad técnica imprevisible que, en el caso de haberse planteado, hubiera cuestionado la expectativa por parte del experto en la materia de llevarla cabo con éxito. Por consiguiente, el objeto de la reivindicación independiente 1 no es inventivo. De acuerdo con lo expuesto anteriormente, el objeto de las reivindicación dependiente 2 también se considera que no es inventivo.

2.2. La presente invención no satisface el criterio establecido en el Art. 4.1. de la Ley de Patentes porque el objeto de la invención, definido en las reivindicaciones 1 y 2, no implica actividad inventiva de acuerdo con el Art. 8.1. de la Ley de Patentes.