

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 815 659**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 9/06** (2006.01)

**A61K 31/19** (2006.01)

**A61P 15/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.08.2015 PCT/EP2015/068917**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.02.2016 WO16026843**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.08.2015 E 15759412 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2020 EP 3182959**

54 Título: **El ácido glicólico mejora la motilidad del esperma**

30 Prioridad:

**18.08.2014 EP 14181284**

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

**30.03.2021**

73 Titular/es:

**PAN-MONTOJO, FRANCISCO (100.0%)**

**Falkenstr. 8**

**81541 München, DE**

72 Inventor/es:

**PAN-MONTOJO, FRANCISCO;**

**KURZCHALIA, TEYMURAS y**

**HYMAN, ANTHONY A.**

74 Agente/Representante:

**INGENIAS CREACIONES, SIGNOS E**

**INVENCIONES, SLP**

ES 2 815 659 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

El ácido glicólico mejora la motilidad del esperma

- 5 La presente invención se refiere al uso del ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables en el tratamiento o la prevención de la infertilidad masculina a través del aumento de la motilidad y la progresividad del esperma/los espermatozoides. La presente invención también se refiere a un método *ex vivo* para aumentar la motilidad de los
- 10 espermatozoides basado en el contacto entre ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables con los espermatozoides. La presente invención también se refiere a una composición que contenga ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables y al menos un componente extra que aumentan la fertilidad
- 15 masculina pensado para ser utilizado en el tratamiento o prevención de un deterioro de la motilidad de los espermatozoides y/o la infertilidad masculina. Asimismo, la presente invención también se refiere a la composición de un lubricante sexual que contenga ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables utilizado para aumentar la motilidad de
- 20 los espermatozoides y/o la fertilidad masculina.

La infertilidad es fundamentalmente la incapacidad de concebir descendencia. Hay muchas causas biológicas para la infertilidad, incluyendo algunas que pueden ser tratadas a través de la intervención médica (Makar RS, Toth TL

25 (2002). "The evaluation of infertility". Am J Clin Pathol. 117 (Suppl): S95-103). La infertilidad ha aumentado un 4% desde los años 80, mayormente por problemas relacionados con la fecundidad debido a un aumento de la edad (Maheshwari, A. (2008). Human Reproduction. pp. 538-542). Alrededor de un 40 por ciento de los problemas relacionados con la infertilidad son debidos al

30 hombre, otro 40 por ciento debido a la mujer y un 20 por ciento de las complicaciones son debidas a los dos miembros de la pareja (Hudson, B. (1987). The infertile couple. Churchill-Livingstone, Edinburgh)

En humanos, factores medioambientales tales como los químicos y las adicciones a ciertas sustancias tales como el tabaco y el alcohol tiene un impacto negativo en la calidad del esperma disminuyendo los parámetros mencionados más arriba y la tasa de fecundación. Asimismo, la calidad del esperma es importante durante la inseminación, tanto en humanos como en animales. Hay un número de industrias que dependen de la calidad del esperma para incrementar la producción. En estas industrias la inseminación es un método ampliamente extendido porque permite seleccionar aquella dotación genética que es más conveniente para la actividad de la empresa (p. ej. las vacas con más músculo en la industria cárnica o las que producen más leche en la industria láctea, caballos más rápidos para las carreras, etc...). Hasta ahora, a pesar de todos los métodos desarrollados para conservar el esperma en el tiempo que pasa entre la eyaculación y la inseminación, se da un empeoramiento en aquellos parámetros que están relacionadas con la calidad del esperma y la tasa de éxito de la inseminación en este tiempo.

Dos de los parámetros principales que influyen en la fertilidad masculina in mamíferos es la motilidad de los espermatozoides y la progresividad. La motilidad y progresividad de los espermatozoides puede verse afectada, por ejemplo, por ciertos tipos de medicación (tales como los medicamentos usados en la quimioterapia), en fases de entrenamiento intensivo (p.ej. en deportistas profesionales como ciclistas) y/o por factores medioambientales. Se ha comprobado que las reducciones de la motilidad o progresividad de los espermatozoides pueden ser una causa directa de infertilidad masculina en diferentes especies de mamíferos. La calidad del esperma en diferentes mamíferos, incluyendo a los humanos, se valora de forma rutinaria en la práctica clínica usando tres parámetros principales: (i) motilidad y progresividad (porcentaje de los espermatozoides móviles que no solo se mueven si no que adicionalmente se mueven en la dirección correcta) de los espermatozoides, (ii) concentración de los espermatozoides en el eyaculado y (iii) la morfología de los espermatozoides. Otros parámetros tales como la integridad de la membrana o la vitalidad del esperma pueden ser adicionalmente utilizados (Broekhuijse, M.L., H. Feitsma, and B.M. Gadella, Artificial insemination in pigs: predicting male fertility. Vet Q, 2012. 32(3-4):p.

151-7 and Franken, D.R. and S. Oehninger, Semen analysis and sperm function testing. Asian J Androl, 2012. 14(1): p. 6-13). Según Broekhuijse et al. and Franken and Oehninger, loc. lit. las alteraciones en los valores relacionados con la motilidad y progresividad de los espermatozoides tienen la mayor correlación directa con la infertilidad (más de un 10% dependiendo de los métodos de medida utilizados).

Por lo tanto el objeto de la presente invención es identificar un compuesto que es útil en el tratamiento de la infertilidad masculina o para incrementar la fertilidad masculina, particularmente mediante el incremento de la motilidad y progresividad de los espermatozoides. Como se ha argumentado más arriba, la identificación de estos compuestos es importante porque pueden ser usados para incrementar la tasa de fecundación en mamíferos, incluyendo la de los humanos y la productividad de aquellas industrias de producción animal que dependen de la calidad del esperma.

Por lo tanto la presente invención se relaciona en primer lugar con el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o la prevención de la infertilidad masculina mediante el incremento de la motilidad o progresividad de los espermatozoides.

Asimismo aquí se describe un método de tratamiento o prevención de la infertilidad masculina, el cual comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables a un sujeto que esté necesitado del mismo.

El ácido glicólico (GA) tiene el nombre IUPAC ácido 2-hidroxietanoico con la fórmula molecular  $C_2H_4O_3$ . El ácido glicólico se ha utilizado en la técnica anteriormente, por ejemplo en la industria textil como agente colorante o bronceado, en el procesamiento de la comida como saborizador y preservante, y en la industria farmacéutica como un agente para el cuidado de la piel, particularmente como un agente para peeling. El ácido glicólico puede encontrarse en la remolacha azucarera, en la caña de azúcar y en varias frutas.

Trazas de ácido glicólico también pueden encontrarse en uvas verdes e inmaduras. El ácido glicólico también puede encontrarse en la piña y en el cantalupo.

5 Esta invención utiliza el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables. Por lo tanto, esta invención puede utilizar cualquiera de las variantes: ácido glicólico, una sal farmacéuticamente aceptable del ácido glicólico y un éster farmacéuticamente aceptable del ácido glicólico.

10

Una sal farmacéuticamente aceptable del ácido glicólico incluye, pero no está limitada, a glicolato potásico, a glicolato sódico, glicolato cálcico, glicolato magnésico, glicolato bórico, glicolato aluminico, oxalato, nitrato, sulfato, fosfato, fumarato, succinato, maleato, besilato, tosilato, tartrato y palmitato.

15 Un éster farmacéuticamente aceptable del ácido glicólico incluye, pero no está limitado a metil glicolato y al etil glicolato.

El término “tratamiento” usado aquí se refiere a un tratamiento curativo (parcial o total) e incluye en particular la detención o retraso de la progresión de la enfermedad a tratar.

20

El término “prevención” usado aquí se refiere a la detención o al retraso del inicio de la enfermedad a tratar. La utilización del ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables de acuerdo con el primer aspecto de esta invención también previene el declive natural de la motilidad del esperma después de la eyaculación. En otras palabras, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables son capaces de mantener la motilidad de los espermatozoides después de la eyaculación por un tiempo más largo.

25

30

El término “infertilidad” designa la incapacidad de un animal de concebir descendencia a través del sexo. El término “infertilidad masculina” se refiere a la incapacidad masculina de embarazar a una hembra fértil. Como se ha discutido más arriba en detalle, la infertilidad masculina se debe comúnmente

a deficiencias en el semen (espermatozoides), y la valoración de la calidad del semen se usa comúnmente como una forma de medir la fertilidad masculina. Infertilidad masculina se refiere en esta invención a la infertilidad masculina de un mamífero.

5

El término “espermatozoide” (o célula espermática), como es utilizado en la presente solicitud se refiere a una célula germinal madura masculina que fertiliza a un oocito durante la reproducción sexual y contiene la información genética proveniente del macho para el cigoto. Los espermatozoides se forman en los mamíferos machos dentro de los túbulos seminíferos. Derivan de las espermatogonias, que primero se diferencian en espermatidas mediante la meiosis, las cuales a su vez se diferencian en espermatozoides. Un espermatozoide tiene un tamaño microscópico. Tiene la apariencia de un renacuajo transparente con una cabeza plana y elíptica que contiene una sección esférica central y una larga cola con la cual se impulsa mediante el batido vigoroso de la misma. Dado que la infertilidad masculina está de acuerdo con la invención, tanto la infertilidad masculina de un mamífero como los espermatozoides de un mamífero están de acuerdo con la invención.

10

15

20

25

Los deficiencias del semen que causan infertilidad masculina pueden ser etiquetadas como sigue: (i) oligospermia o oligozoospermia – número reducido de espermatozoides en el semen; (ii) aspermia – falta completa de espermatozoides; (iii) hipospermia – volumen seminal reducido; (iv) azoospermia – ausencia de espermatozoides en el semen; (v) teratospermia – aumento de espermatozoides con una morfología anormal, y (vi) astenozoospermia – motilidad reducida de los espermatozoides.

30

Existen asimismo diferentes combinaciones de estas deficiencias, p.ej. teratoastenozoospermia, que es una combinación de una motilidad reducida de los espermatozoides y una reducción de la proporción de espermatozoides con una morfología normal. Más allá todavía, reducciones en el número de espermatozoides están frecuentemente asociadas a una motilidad espermática reducida y a un incremento del porcentaje de espermatozoides con una morfología anormal. Por lo tanto los términos

“oligoastenoteratozoospermia” o “oligospermia” pueden utilizarse para describir todas estas deficiencias.

De acuerdo con la presente invención, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables pueden pertenecer a una formulación. Una formulación preparada según esta invención contiene al menos dos componentes con una relación apropiada entre los mismos en el que al menos uno de ellos es ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables. El segundo, de los al menos dos componentes de una formulación puede ser un simple vehículo, p. ej. agua. Una formulación puede ser una mezcla o una estructura como un líquido, una capsula, un polvo, un aerosol, una pastilla o una emulsión preparadas según un procedimiento específico (denominado fórmula). Las formulaciones son un aspecto importante de la creación de fármacos. Las fórmulas pueden asegurar, por ejemplo, que un ingrediente activo de un medicamento – en el caso de la presente invención el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables – se distribuyan por la parte correcta del cuerpo, en la concentración correcta y/o con el ritmo de distribución correcto (ni muy rápido ni muy lento).

Por lo tanto la formulación de la presente invención consiste preferentemente en una formulación farmacéutica. De acuerdo con la presente invención, el término “formulación farmacéutica” se refiere a una formulación para ser administrada en mamíferos, preferiblemente en humanos. La formulación farmacéutica de esta invención puede, opcionalmente, contener moléculas adicionales, p. ej. compuestos capaces de alterar las características de los compuestos de la invención para así, p. ej., estabilizar, modular o activar su función. La formulación farmacéutica de la presente invención puede, opcionalmente o adicionalmente, contener un vehículo farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de vehículos farmacéuticamente adecuados son bien conocidos en el ámbito e incluyen soluciones salinas tamponada con fosfato, agua, emulsiones, como p. ej. emulsiones de aceite/agua, varios tipos de agentes humectantes, soluciones estériles, disolventes orgánicos incluyendo el DMSO etc... Las formulaciones que incluyen estos vehículos pueden ser

formuladas por métodos convencionales bien conocidos. Estas formulaciones farmacéuticas pueden ser administradas a un individuo en la dosis adecuada. El régimen de las dosis será determinado por el médico y factores clínicos. Como es bien conocido en este ámbito, las dosis a administrar para un mamífero depende de muchos factores, incluyendo el tamaño del mamífero, el área de la superficie del cuerpo, la edad, el compuesto particular que debe de ser administrado, el género, el tiempo y la ruta de administración, el estado general de la salud y que se estén administrando otras drogas al mismo tiempo. La cantidad terapéuticamente efectiva para una situación determinada se determinará mediante experimentación rutinaria. Se considera que la decisión sobre la dosis a utilizar se enmarca dentro de las capacidades habituales y de juicio de un clínico o médico ordinario.

El ácido glicólico (GA) se encuentra presente de forma natural en una variedad de frutas, vegetales, carnes y bebidas, sin embargo en una cantidad inferior a 50 mg/kg (mirar Harris and Richardson (1980), Investigative Urology, 18:106-109). 50 mg/kg corresponden a 0,005% (peso/peso). Por lo tanto, la formulación de esta invención contiene preferentemente una concentración/cantidad de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables mas alta que la cantidad de ácido glicólico que se pueden encontrar en los alimentos naturales.

Una persona experta en este ámbito puede determinar la dosis diaria adecuada de dichas formulaciones así como la dosis diaria adecuada en caso de que ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables sean administradas directamente al sujeto. Las cantidades de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables tienen que ser, por un lado, las suficientes para el tratamiento o prevención de la infertilidad masculina y, por otro lado, no tan altas como para generar una acidosis en el sujeto a tratar. Acidosis es un incremento en la acidez en la sangre o en otro tejido del cuerpo. Se ha descrito que la acidosis ocurre cuando el pH de la sangre, del suero o de un tejido de cuerpo cae por debajo de 7,35. Los medios y métodos para determinar el pH de la sangre, del suero y de un

tejido del cuerpo son bien conocidas. Las dosis adecuadas se discuten más abajo.

5 El efecto tóxico de administrar demasiado ácido glicólico es conocido, por ejemplo, del escándalo del vino que contenía etilenglicol en 1985. En este escándalo se vieron en vuelas un número limitado de bodagas austriacas que habían adulterado ilegalmente sus vinos utilizando la sustancia tóxica etilenglicol (un ingrediente primario en algunas marcas de anticongelante) para que el vino pareciera más dulce y con más cuerpo. La mayor causa de toxicidad  
10 no era el etilenglicol en si mismo, pero su mayor metabolito, el ácido glicólico. La dosis tóxica mínima del etilenglicol está estimada en 0,14 mg de ácido glicólico por kg de peso corporal y la dosis letal está estimada entre 1 y 1,63 gramos/kg. Por lo tanto, la dosis preferida de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables debería seleccionarse de  
15 tal modo que los niveles totales de glicolato no excedan los 0,20 mg de glicolato por kg de peso corporal, y más preferentemente que no excedan los 0,10 mg. Las cantidades más bajas preferidas para complementar la cantidad máxima son, con una gradual mayor preferencia, 0,01, 0,03, 0,05, 0,075 y 0,1 mg de glicolato por kg de peso corporal.

20 La vía de administración terapéutica en el tratamiento o prevención de la infertilidad masculina no está limitada particularmente. Por lo tanto, la administración puede ser tópica (local), enteral (con un amplio efecto sistémico pero administrada a través del tracto gastrointestinal). Como vías de  
25 administración con un amplio efecto sistémico preferidas tendríamos la vía de administración oral y la intravenosa. Sin embargo sería preferible que el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables se aplique donde se desea que actúen y, por lo tanto, sea administrado tópicamente, más preferentemente de tal forma que contacte directamente con  
30 los espermatozoides. Debe entenderse que las cantidades por kg de peso corporal de glicolato mencionadas más arriba deben tenerse en cuenta particularmente cuando el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables se administren de forma entérica o parenteral. Las concentraciones y cantidades preferidas de ácido glicólico o cualquiera de

5 sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables que deben de estar presentes de forma local en la muestra de esperma se discutirán en detalle más abajo. Asimismo, las formas para que el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables contacten directamente con los espermatozoides se especifican más abajo.

10 En los ejemplos descritos más abajo se comprobaron los efectos del ácido glicólico sobre la motilidad y la progresividad del esperma de ratón y toro en diferentes momentos tras su administración. Los resultados experimentales muestran que el ácido glicólico incrementa significativamente la motilidad y la progresividad de los espermatozoides poco tiempo después de su administración en comparación con la motilidad de los espermatozoides del grupo control no tratado. Hasta donde el conocimiento de los inventores alcanza, ningún estudio previo ha intentado comprobar el efecto del ácido glicólico sobre la motilidad y la progresividad de los espermatozoides y no podía haber sido previsto que el ácido glicólico incrementa la motilidad y la progresividad de los espermatozoides.

20 De acuerdo con una realización preferida de la invención, la infertilidad masculina está asociada a la astenozoospermia.

25 Las astenozoospermia (o astenospermia) es un término médico para la motilidad reducida de los espermatozoides. La motilidad de los espermatozoides, a su vez, se refiere a la forma en que los espermatozoides se mueven. La habilidad específica de un espermatozoide para moverse hacia adelante para alcanzar el huevo se llama progresión hacia adelante o progresividad. En general, la motilidad de los espermatozoides se evalúa en función de su motilidad progresiva (dirigida) y su motilidad en general (no dirigida).

30 Los dos aspectos analizados en general para diagnosticar una falta de motilidad de los espermatozoides son: el porcentaje de los espermatozoides móviles en la muestra de esperma y contar el número total de espermatozoides móviles. La progresividad de los espermatozoides se determina por la habilidad

de los espermatozoides para nadar hacia delante, lo que permite a los espermatozoides seguir un gradiente de concentración de moléculas de señalización en la vagina y el útero que guía a los espermatozoides para alcanzar el huevo y para que la fertilización pueda ocurrir. La motilidad progresiva significa que los espermatozoides son activos a la vez que se mueven linealmente. En la motilidad no-progresiva, los espermatozoides están activos y se mueven a pesar de que no haya una progresión de los mismos hacia delante debido a un batido ineficaz del flagelo. Cuando los espermatozoides no se mueven, a estos se les denomina como inmóviles o no móviles.

Cuando los espermatozoides tienen una baja motilidad o son inmóviles, esto afecta de una forma negativa a la fertilidad masculina. La astenozoospermia completa, lo que significa que un 100% de los espermatozoides en el eyaculado no tiene motilidad, ha sido descrita con una frecuencia de 1 entre 5000 hombres (Ortega, C.; Verheyen, G.; Raick, D.; Camus, M.; Devroey, P.; Tournaye, H. (2011). "Absolute asthenozoospermia and ICSI: What are the options?". Human Reproduction Update 17 (5): 684-692).

Según otra realización preferida de la invención, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables deberán ser administrados dentro de la vagina y/o el cuello del útero antes o durante la relación sexual.

Para tratar o prevenir la infertilidad masculina, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables preferentemente se pone en contacto con los espermatozoides durante la relación sexual. Eso puede hacerse mediante la aplicación del ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables a una hembra según la realización preferida de la invención descrita más arriba. Según la realización preferida descrita más arriba, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables están incluidos preferentemente en la composición de un lubricante sexual o de un anillo vaginal, los cuales serán descritos con más detalle más abajo.

Según otra realización preferida de la invención, la infertilidad masculina es la infertilidad masculina humana.

5 La infertilidad en humanos puede ser definida clínicamente en aquellos hombres que no pueden conseguir embarazar a una mujer después de 1 año teniendo relaciones sexuales sin protección (mirar <http://www.nichd.nih.gov/health/topics/infertility/Pages/default.aspx>). Como se ha discutido más arriba, muchas condiciones médicas diferentes y otros  
10 factores pueden contribuir a tener problemas de fertilidad. Actualmente muchos científicos están investigando para identificar tanto todas las causas de infertilidad como nuevos tratamientos que puedan permitir a más hombres y mujeres alcanzar el embarazo. Por lo tanto, se preferirá particularmente emplear los medios y los métodos de la invención en el esperma humano.

15

Según otra realización preferida adicional de la invención, la infertilidad masculina es la infertilidad masculina de un animal mamífero utilizado en la producción (nota del traductor: entendiéndose producción a toda actividad económica que implique la utilización de animales, p. ej. industria cárnica o ganadera, pero también carreras de caballos, etc...) un animal mamífero  
20 doméstico, un mamífero del zoo o un mamífero en peligro de extinción.

Adicionalmente a la infertilidad masculina en humanos, el tratamiento de la infertilidad masculina en animales mamíferos utilizados en la producción o  
25 animales mamíferos domésticos tiene un gran interés comercial. Ejemplos no limitantes de animales mamíferos de producción o animales mamíferos domésticos son: gatos, perros, ganado, caballos, burros, ratones, ratas, conejos, cerdos, ovejas, cabras y los conejillos de indias. Ejemplos no limitantes de mamíferos de zoológicos o mamíferos en peligro de extinción son:  
30 elefantes, tigres, leopardos, leones, simios (p. ej. gorilas o chimpancés), mono (p. ej. el tití león), jirafas, rinocerontes, osos polares, búfalos, delfines y ballenas.

La presente invención se refiere en un segundo aspecto relacionado con el primero a un método *ex vivo* para incrementar la movilidad de los espermatozoides que comprende el contacto del ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables con espermatozoides.

5

En un ambiente no-dañino fuera del cuerpo, tal como el que existe en un contenedor de cristal estéril, el número de espermatozoides móviles en humanos disminuye a un ritmo de aproximadamente 5-10% por hora (Gerris J (1999). "Methods of semen collection not based don masturbation or surgical sperm retrieval". Human Reproduction Update 5 (3):211-5). El método de la invención es por lo tanto particularmente útil para el tratamiento de los espermatozoides antes de su utilización en procesos de inseminación artificial, tales como los procesos de fertilización *in vitro* en humanos u otros mamíferos.

10

15

La inseminación artificial consiste en la introducción deliberada del semen (con los espermatozoides) dentro de la vagina de la hembra o el oviducto con el propósito de conseguir el embarazo mediante la fertilización utilizando medios diferentes a las relaciones sexuales. La fertilización *in vitro* es un proceso mediante el cual el huevo es fertilizado por el esperma fuera del cuerpo. La inseminación artificial es una alternativa médica a las relaciones sexuales. La inseminación artificial es un tratamiento de fertilidad común para humanos así como una práctica común en la cría de animales, como por ejemplo el ganado lácteo. Por lo tanto, también de acuerdo con este método, los espermatozoides proceden preferentemente de los humanos, de un animal mamífero de producción, de un animal mamífero doméstico, de un animal del zoológico o de un mamífero en peligro de extinción.

20

25

Según otra realización preferida de la invención, los espermatozoides son espermatozoides descongelados.

30

Existen bancos de esperma, en particular para la cría de animales o para esperma humano. Un banco de esperma (o banco de semen o banco criogénico) es una instalación que recoge y almacena esperma humano o esperma animal en su forma congelada para usarlo más adelante para

conseguir embarazos en las hembras. Los bancos de esperma pueden lavar las muestras de esperma para separar los espermatozoides del resto de materiales que constituyen el esperma. Normalmente se añade una solución diluyente crioprotectora al semen antes de congelarlo para el almacenamiento.

5 El esperma criopreservado se descongela antes de que se utilice para la inseminación artificial. Este tipo de espermatozoides descongelados se utilizan para el método de la invención de acuerdo con la realización preferida de la invención mencionada más arriba.

10 De acuerdo con otra realización preferida de la invención, los espermatozoides son espermatozoides humanos.

El primer nacimiento exitoso de un “bebé de tubo de ensayo” después de una fertilización *in vitro* (IVF), Louise Brown, ocurrió en 1978. Louise Brown nació  
15 como resultado de un ciclo natural de IVF donde no tuvo lugar ninguna estimulación. Desde entonces la fertilización *in vitro* se convirtió en el método estándar para ayudar a las parejas de humanos con problemas de infertilidad y a Robert G. Edwards, el fisiólogo que desarrolló el tratamiento, se le concedió el premio Nobel de Fisiología o Medicina en el año 2010.

20

La presente invención se refiere en un tercer y relacionado aspecto a una composición que contiene ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables y al menos un compuesto adicional que incrementa la fertilidad masculina, en el que este/estos  
25 compuesto/compuestos adicional/adicionales es/son:

- (i) un antioxidante, preferiblemente la coenzima Q10,
- (ii) al menos una vitamina, preferiblemente seleccionados de las Vitaminas D, E, C, B2, B9, y/o
- 30 (iii) al menos uno de los siguientes compuestos: L-arginina, L-carnitina y L-creatinina.

El compuesto adicional puede ser útil para tratar o prevenir una o más deficiencias del semen responsables de la infertilidad masculina, a saber (i)

oligospermia o oligozoospermia; (ii) aspermia; (iii) hypospermia; (iv) azoospermia; (v) teratospermia y (vi) astenozoospermia. La composición es particularmente útil si la combinación de estas deficiencias del semen ocurren en un sujeto, p. ej. teratoastenozoospermia o oligoastenoteratozoospermia.

5

Por ejemplo, hay varios fármacos disponibles para tratar alteraciones pituitarias y hormonales que pueden causar infertilidad masculina. Si los niveles de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona estimuladora del folículo (FSH) son bajos y el hipotálamo y la glándula pituitaria son funcionales, el principio activo citrato de clomifeno (Serophene, Clomid) es capaz de estimular el hipotálamo para secretar la hormona secretora de gonadotropina (GnRH) en intervalos regulares y restaurar la fertilidad. Si la glándula pituitaria es disfuncional y no produce la cantidad necesaria de hormonas sexuales, entonces una terapia que reemplaza las hormonas será capaz de restaurar la fertilidad. Las inyecciones de hCG (gonadotropina coriónica humana) incrementan el suministro de LH y puede estimular los testículos para producir testosterona y espermatozoides. Si no se responde a hCG, el fármaco Pergonal (una combinación de LH y FSH) puede estimular la producción de espermatozoides. El fármaco Parlodel (bromocriptina) puede corregir la hiperprolactinemia. Las terapias de sustitución con cortisona pueden disminuir niveles anormalmente altos de los andrógenos y permitir la función normal de la glándula pituitaria para restaurar la fertilidad. Las terapias de sustitución hormonal normalmente funcionan en unos cuatro meses.

La solicitud de patente estadounidense 20070060620 describe los componentes/sustancias que se unen selectivamente a los receptores retinoicos RAR como una herramienta para facilitar la motilidad de los espermatozoides. US 20040171144 describe los inhibidores del factor tumoral alfa (TNFalpha), la interleuquina 1 beta (IL1 beta) y la interleuquina 6 (IL6) como herramientas para facilitar la motilidad del espermatozoides y CN 103352025 describe un medio que contiene ácido fructosa-6-fosfórico como una herramienta para facilitar la motilidad del espermatozoides in vitro. Todos estos son ejemplos de sustancias que pueden ser utilizadas como componentes adicionales para aumentar la fertilidad masculina.

Asimismo, ashwagandha, astaxantina, Eurycoma longifolia, maca, progesterona, azafrán o el sauce gatillo (*Vitex agnus-castus*) pueden ser utilizados como un compuesto adicional para incrementar la fertilidad masculina. Todos estos compuestos son conocidos en este ámbito para el tratamiento o la prevención de la infertilidad masculina, más particularmente la astenozoospermia. Aswagandha es una planta. Las raíces y los frutos son utilizados para producir medicinas. Astaxanthin es un pigmento rojizo que pertenece el grupo de los químicos llamados carotenoides. Se da de forma natural en ciertas algas y causa el color rosa o rojo in el salmón, la trucha, la langosta, la gamba y otros alimentos del mar. Eurycoma longifolia es un esbelto arbusto de hoja perenne permanentemente verde común en al sudeste asiático. Los hombres malasios aseguran que el té hecho de esta planta incrementa las habilidades sexuales y la virilidad. Maca es una planta que crece en el Peru central las altas mesetas de los Andes. Su raíz se utiliza para producir medicinas. La progesterona es una hormona esteroide endógena envuelta en el ciclo menstrual, en el embarazo y en la embriogénesis en humanos y otras especies. El azafrán es una especia derivada de la flor del *Crocus sativus*, también conocido como azafrán crocus. Los estigmas del *Crocus sativus* se utilizan para producir medicines. La *Vitex agnus-castus* es una fruta del sauce gatillo. La fruta y las semillas se utilizan para producir medicinas.

De acuerdo con la invención, el/los compuesto/-os adicional/-es es/son (i) un antioxidante, preferentemente la coenzima Q10, (ii) al menos una vitamina, preferentemente seleccionadas de las vitaminas D, E, C, B2, B9, y/o (iii) al menos uno de los siguientes compuestos: L-arginina, L-carnitina y L-creatina.

Lafuente R et al., *Reprod Genet.* 2013 Sep; 30(9):1147-56 informa que entre pacientes masculinos recibiendo tratamientos con CoQ10 hay un incremento estadísticamente significativo de la concentración de espermatozoides en el esperma y de la motilidad de los espermatozoides. Observaciones similares fueron hechas por Mancini A, Balercia, G. *Biofactors.* 2011 Sep-Oct; 37 (5):374-80.

En hombres, el estado vitamínico ha sido asociado con la calidad del semen y la cantidad, motilidad y morfología de los espermatozoides (Walczak-Jedrzejowska R, Wolski JK, Slowikowska-Hilczer J. Cent European J Urol. 2013;66(1):60-7, y Anagnostis P, Karras S, Goulis DG, Int J Clin Pract. 2013 Mar;67(3):225-35).

El efecto de la L-arginina para incrementar la motilidad y el metabolismo de los espermatozoides esta descrito en Srivastava S, Agarwal A, Andrologia. 2010 Apr; 42(2):76-82. Asimismo, es conocido que la L-carnitina mejora la movilidad de los espermatozoides (mirar Manee-In S, Parmornsupornvichit S, Kraiprayoon S, Tharasanit T, Chanapiwat P, Kaeoket K. Asian-Australas J Anim Sci. 2014 Jun;27(6):791-6). Finalmente la L-creatina puede aumentar la movilidad de los espermatozoides.

15

La presente invención se refiere en un cuarto aspecto asociado con el uso del ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables para preparar una composición de un lubricante sexual que promueva la fertilidad masculina.

20

La composición del lubricante sexual puede ser aplicada a la vagina (incluyendo el cuello de útero), al pene o a los dos. Como se ha discutido más arriba, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables deberían ser preferentemente aplicadas dentro de la vagina y/o el cuello del útero antes o durante las relaciones sexuales. Para esta aplicación en particular, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables pueden incluirse en la composición de un lubricante sexual. Los ingredientes que forman un lubricante sexual son bien conocidos en este ámbito. Por ejemplo, la composición de un lubricante sexual puede acuosa, oleosa o basada en silicona. Los lubricantes acuosos son los lubricantes personales más usados. Los primeros lubricantes acuosos consistían en soluciones de celulosa éter o glicerina. Los lubricantes oleosos pueden contener aceite de bebé, aceite de oliva, aceite de canola o aceite mineral. Los lubricantes basados en silicona normalmente están formulados

30

con menos de cuatro ingredientes y no contienen nada de agua. Se ha comprobado que algunos lubricantes comerciales usados de forma habitual alteran la función de los espermatozoides. Debe entenderse que este tipo de lubricantes no se utilizan de acuerdo con la invención. Las propiedades químicas del lubricante, tales como la osmolaridad o el pH deben de ser seleccionadas de tal forma que no altere la función de los espermatozoides.

De acuerdo con otra realización preferida de la invención, la composición del lubricante sexual es una crema o aceite lubricante sexual.

10

Se recomienda la utilización de lubricantes tales como el aceite mineral, el aceite de canola o lubricantes basados en hidroxietilcelulosa para su utilización por parejas que están intentando concebir y por lo tanto son particularmente idóneos de acuerdo con esta invención. Los aceites también pueden utilizarse para obtener una crema.

15

La presente invención se refiere en un quinto y relacionado aspecto a un anillo vaginal que libera ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables cuando se coloca en la vagina.

20

Como se ha discutido más arriba, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables debe ser preferiblemente aplicado dentro de la vagina y/o el cuello del útero antes o durante las relaciones sexuales. Particularmente para esta aplicación, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables pueden estar contenidos en un anillo vaginal que va a ser introducido en la vagina.

25

Los anillos vaginales (también conocidos como anillos intravaginales o anillos-V) son conocidos en este ámbito y normalmente son dispositivos poliméricos para suministrar fármacos diseñados para proporcionar un suministro controlado de fármacos administrados intravaginalmente durante largos periodos de tiempo. El anillo vaginal de la invención suministra ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables y puede suministrar además uno o más de los compuestos adicionales mencionados

30

más arriba que incrementan la fertilidad masculina. Los anillos vaginales pueden ser fácilmente insertados y extraídos. Las paredes vaginales lo mantienen en su sitio. Aunque la localización exacta dentro de la vagina no es crítica para la eficacia clínica, los anillos normalmente se encuentran cerca del  
5 cuello uterino. Los anillos normalmente se mantienen en su sitio durante las relaciones sexuales.

De acuerdo con la realización preferida de los cinco aspectos de la invención, el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente  
10 aceptables se utiliza con una concentración de al menos 5 mM, preferiblemente 10 mM, mejor 20 mM y todavía mejor 30 mM.

De acuerdo con esta realización preferida y los ejemplos preferidos de la misma, la concentración indicada del ácido glicólico o cualquiera de sus sales  
15 o ésteres farmacéuticamente aceptables designa la concentración final del ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables en la muestra de esperma a utilizar/tratar.

Como es evidente de los ejemplos y las figuras descritos más abajo, la  
20 concentración usada en los experimentos con esperma de ratón y de toro fue de 10 a 30 mM. Asimismo, al aumentar una concentración de ácido glicólico de 10 mM la motilidad de los espermatozoides, particularmente la progresividad de los espermatozoides, en ratones y toros, puede asumirse que tanto esta concentración como concentraciones mayores también incrementan  
25 la motilidad y la progresividad de los espermatozoides en otras especies de mamíferos, en particular los humanos. Se cree que concentraciones más bajas de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables de al menos 5 mM o al menos 7,5 mM también incrementan la motilidad de los espermatozoides y la progresividad de los mismos en  
30 particular.

El solicitante también ha administrado hasta 60 mM de ácido glicólico al esperma de toro (datos no mostrados). Utilizando estas concentraciones más altas también se observó un aumento de la motilidad de los espermatozoides

y de la progresividad de los espermatozoides en particular. La concentración más eficiente en ratones se encuentra entre 10 mM y 20 mM y en toros entre 30 mM y 60 mM. Se considera que la diferencia entre las concentraciones óptimas para ratones y toros se debe a diferencias en el número y la  
5 concentración de los espermatozoides que se encuentran normalmente en el eyaculado de estas dos especies. Por ejemplo, 15 millones de espermatozoides por mililitro se considera normal en humanos, mientras que concentraciones entre 300 y 2.500 millones de espermatozoides/ml (1200 millones/ml como valor promedio) es considerado normal en toros. En ratones  
10 se han descrito valores normales en el número de espermatozoides de aproximadamente 75 millones de espermatozoides por ml (Schürmann et al. (2002), Mol Cell Biol. Apr 2002; 22(8):2761-2768.). Por lo tanto, se entiende que a partir de una concentración de al menos 10 mM, que se cree que funciona en todas las especies de mamíferos, la concentración ideal a utilizar  
15 puede variar ligeramente entre las diferentes especies e incluso dentro razas diferentes dentro de una misma especie (p. ej. entre razas de perros).

Respecto a la realización preferida de los cinco aspectos de la invención mencionados más arriba, se prefiere que el ácido glicólico o cualquiera de sus  
20 sales o ésteres farmacéuticamente aceptables se use/contenga como mucho una concentración de 250 mM, preferiblemente 125 mM, mejor 100 mM y todavía mejor 70 mM. Con respecto a los rangos preferidos, los valores individuales de las concentraciones mínimas y máximas pueden ser combinadas libremente. Por lo tanto están contempladas por la presente  
25 invención, inter alia y con un progresivo aumento en la preferencia rangos de concentración, de 5 mM a 250 mM, de 7,5 mM a 125 mM y de 10 mM a 100 mM y de 10 mM a 70 mM.

De acuerdo con otra realización preferida de los cinco aspectos de la invención,  
30 el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables son usados/ están contenidos en cantidades de por lo menos 380,25 µg/1200 millones de espermatozoides, preferiblemente alrededor de 760,5 µg/1200 millones de espermatozoides, mejor alrededor de 1521 µg/1200

millones de espermatozoides y todavía mejor alrededor de 2281,5  $\mu\text{g}/1200$  millones de espermatozoides.

- 5 De acuerdo con esta realización preferida, la concentración indicada de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables designa la cantidad de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables en una muestra de esperma a ser utilizada/tratada basada en un valor promedio de 1200 millones de espermatozoides por ml de esperma de toro. Las cantidades indicadas de
- 10 ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables son particularmente útiles en el caso de una muestra de esperma que contenga un número normal de espermatozoides para un toro (silvestre (wild-type en inglés)). Un tipo así de muestra de esperma puede ser de eyaculado fresco o una muestra de esperma de toro descongelada en la que
- 15 la cantidad de espermatozoides no se haya modificado sustancialmente. Basándose en las cantidades ejemplificadas de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, una persona versada en este ámbito puede calcular las cantidades de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables para otros mamíferos basándose en el valor promedio del número de espermatozoides/ml en el
- 20 mamífero correspondiente. Asimismo, en caso de que un animal tenga oligospermia o oligozoospermia una persona competente puede adaptar las cantidades de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables al menor número de espermatozoides. La
- 25 persona competente puede de igual manera adaptar las cantidades de ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables a un número mayor de espermatozoides, por ejemplo en caso de que se trate de una muestra concentrada de esperma a utilizar/tratar.
- 30 Respecto a la realización preferida de los cinco aspectos de la invención, es preferible que el ácido glicólico o cualquiera de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables se utilicen/contengan como máximo cantidades de 19012,5  $\mu\text{g}/1200$  millones de espermatozoides, preferiblemente alrededor de 9506,25  $\mu\text{g}/1200$  millones de espermatozoides, mejor alrededor de 7605

µg/1200 millones de espermatozoides y todavía mejor alrededor de 5323,5 µg/1200 millones de espermatozoides. Con respecto a la cantidad preferida, las cantidades individuales mínimas y máximas indicadas pueden ser combinadas libremente. Por lo tanto, la presente invención contempla, inter alia

5 y con un progresivo aumento en la preferencia rangos de cantidades desde aproximadamente 380,25 hasta aproximadamente 19125 µg/1200 millones de espermatozoides, de aproximadamente 570,375 hasta aproximadamente 9562,5 µg/1200 millones de espermatozoides, de aproximadamente 760,5 hasta aproximadamente 7605 µg/1200 millones de espermatozoides y de

10 aproximadamente 760,5 hasta aproximadamente 5323,5 µg/1200 millones de espermatozoides. En este contexto, el término “aproximadamente” significa preferentemente  $\pm 25$  µg.

Las figuras muestran

15

**Figura 1:** Motilidad de los espermatozoides de ratón después de 30 minutos. 10 mM de ácido glicólico

20

**Figura 2:** Motilidad de los espermatozoides de ratón después de 60 minutos. 10 mM de ácido glicólico

25

**Figura 3:** Motilidad de los espermatozoides de ratón después de 90 minutos. 10 mM de ácido glicólico

**Figura 4:** Progresividad de los espermatozoides de ratón después de 30 minutos. 10 mM de ácido glicólico.

30

**Figura 5:** Motilidad de los espermatozoides en toros. 10 mM de ácido glicólico.

**Figura 6:** Progresividad de los espermatozoides en toros. 10 mM de ácido glicólico.

**Figura 7:** Comparación de la motilidad progresiva de los espermatozoides en toros después de 90 min. entre los tratamientos con 10, 20 y 30 mM de ácido glicólico.

**Figura 8:** El ácido glicólico aumenta la motilidad de los espermatozoides en esperma humano y de toro.

## 5 Ejemplos ilustrativos de la invención.

### Ejemplo 1 – Materiales y métodos

Ratón:

10

Extraer los epidídimos y abrirlos en medio CPA (18% de rafinosa y 3% de polvo de leche con bajo contenido en grasa). Dejar que los espermatozoides nadan fuera del epidídimo durante cinco minutos a temperatura ambiente.

15

Para cada condición, tomar 4 µl de esperma de ratón en CPA y ponerlo en 196 µl de medio HTF de la incubadora (37°C). Dejar incubando durante 5 min. a 37°C en la incubadora, añadir las sustancias al medio HTF (ver la formulación más abajo) e incubar por diferentes periodos de tiempo.

20

Cuando el tiempo de incubación para cada periodo de tiempo se ha cumplido, llenar un portaobjetos Leja con 25 µl de medio tampón HTF conteniendo el esperma diluido y ponerlo en la máquina contabilizadora de espermatozoides (Hamilton-Thorne, EEUU). La máquina toma 10 fotos por muestra y analiza diferentes parámetros (motilidad, progresividad, etc..). El análisis del esperma

25

fue hecho ciegamente. El ácido glicólico y el D-lactato se le dieron al técnico de las instalaciones como sustancia 1 y sustancia 2, solo más tarde supo cuál pertenecía a cada compuesto.

Toro:

30

El esperma congelado de toro se descongeló en un baño templado y centrifugado. El sobrenadante se retiró y los espermatozoides fueron resuspendidos en medio parecido al HTF o medio parecido al HTF con ácido glicólico. Los espermatozoides se incubaron en 10, 20 y 30 mM de ácido

glicólico durante 10 min. antes de empezar a realizar las mediciones. Las mediciones fueron llevadas a cabo por un técnico experimentado del departamento de urología.

5 Humano:

El esperma humano se obtuvo de donantes después de la eyaculación y usado en el mismo día. El esperma humano congelado se descongeló en un baño templado antes de empezar los experimentos. El comité ético regional aprobó la obtención y uso de las muestras de esperma humano. Tanto el esperma humano fresco como el congelado fueron centrifugados, el sobrenadante removido y los espermatozoides resuspendidos en medio parecido al HTF solo o conteniendo ácido glicólico. Los espermatozoides se incubaron en 30 y 60 mM de ácido glicólico durante 10 minutos antes de empezar las mediciones. Las mediciones fueron realizadas por un técnico experimentado del departamento de urología.

**Ejemplo 2 – Diseño experimental**

Los ejemplos probaron el efecto de 10 a 30 mM de ácido glicólico y D-lactato en la motilidad de los ratones o de los toros. Para esto se obtuvo esperma de ratón del epidídimo proveniente de dos cepas de ratón (silvestre o DJ-1) o esperma de toro eyaculado congelado. El esperma de cada individuo fue dividido y tratado bien con ácido glicólico o con el vehículo (placebo) en diferentes tiempos hasta los 90 minutos. La movilidad y progresividad de los espermatozoides de ratón se midió con la ayuda de una maquina automatizada (CASA system, Hamilton-Thorne Research, <http://www.hamiltonthorne.com/index.php/products/casa-products/sperm-analysis-systems-research>) que utiliza imágenes de fotografías hechas con una frecuencia alta y análisis de imágenes para analizar estos parámetros. La motilidad y progresividad de los espermatozoides de esperma eyaculado de toro congelado fue determinada por un técnico experto. Los espermatozoides de ratón fueron divididos por el software en móviles y no móviles según parámetros estandarizados y los resultados presentados como porcentajes de la población total identificados

como espermatozoides móviles (Figuras 1-4). La progresividad de los espermatozoides fue analizada de forma aislada solo en los espermatozoides de ratón, ya que solo el software del sistema CASA es lo suficientemente sensitivo para realizar este análisis y esta máquina solo puede analizar espermatozoides de ratón. Los espermatozoides de toro se clasificaron en móviles progresivos, móviles (la suma de los que tenían una movilidad progresiva y una movilidad en el sitio) y el resto (Figura 5, 6 y 7).

### **Ejemplo 3 – Resultados experimentales**

10

Los resultados mostrados en las Figuras 1 a 5 muestran que la movilidad y la progresividad de los espermatozoides de ratón y de toro se ven incrementadas de forma significativa después de la añadir ácido glicólico.

15

Añadir 10 mM de ácido glicólico al esperma eyaculado incrementa la movilidad (porcentaje de espermatozoides móviles) y la progresividad (porcentaje de espermatozoides móviles que se mueven hacia delante o progresan) una media de 19% (movilidad) y 28% (progresividad) respectivamente 30 minutos después de haberlo añadido al esperma de ratón y de toro (Figuras 1-6).

20

Resultados similares se obtienen después de 60 y 90 minutos (Figuras 1-6). Se obtuvo un incremento aun mayor en los valores de movilidad y progresividad en los espermatozoides de toro comparados con los obtenidos con 10 mM de ácido glicólico cuando se usaron concentraciones mas altas (20 y 30 mM) de ácido glicólico. La movilidad y progresividad de los espermatozoides son indicadores clave de la calidad del esperma y están fuertemente asociados con la tasa de fecundación y la fertilidad masculina. Por lo tanto, se espera que el mejorar la movilidad y la progresividad de los espermatozoides tenga un efecto directo sobre la tasa de fecundación. Esto puede observarse tanto en los ratones silvestres como en los DJ-1.

30

Este incremento se ha observado de forma consistente en todos los experimentos y puede variar en función de la dosis, el tiempo y la especie en un rango del 10 al 40% cuando se compara con el tratamiento control. Es de importancia notar, que este incremento en la movilidad de los espermatozoides

es casi completamente debido a un incremento en la proporción de los espermatozoides con movilidad progresiva. Sugiriendo que, en estas concentraciones, el ácido glicólico tiene un efecto muy fuerte en la calidad del movimiento. Asimismo es interesante observar que, mientras que con el ácido glicólico se obtuvo una diferencia significativa comparada con los controles, este no fue el caso del D-lactato. El incremento en movilidad se mantuvo hasta un tiempo de 90 minutos en las dos especies.

**Ejemplo 4 – Resultados en la movilidad de los espermatozoides y la actividad mitocondrial tras la administración de ácido glicólico.**

La figura 9 muestra que el ácido glicólico incrementa la movilidad de los espermatozoides humanos y de toros. Este incremento puede observarse en esperma humano, tanto fresco como descongelado, y en esperma de toro descongelado. El análisis se llevó a cabo con un ANOVA bidireccional (mucho más restrictivo que un test t de Student). \* significa  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$  y \*\*\*\* $p < 0,0001$ . Además de las diferencias para cada tiempo entre los diferentes grupos de tratamiento, si se consideraran todos los tiempos juntos y se analizaran como un todo, los resultados muestran que el ácido glicólico induce un incremento significativo de la motilidad de los espermatozoides ( $p < 0.05$ ) durante todo el experimento si se compara con los controles (quiere decir que los espermatozoides tratados con GA dan valores más altos en cada tiempo considerado cuando se comparan con los controles). Interesantemente, el ácido glicólico no aumento la potencial de membrana mitocondrial, si no que incluso puede disminuirlo (mirar Figura 8). Esto se midió utilizando JC-1 y separación por FACS para determinar el porcentaje de espermatozoides que estaba activo y el porcentaje de espermatozoides que estaba inactivo. Tanto la motilidad de los espermatozoides como las mediciones mitocondriales esta normalizadas al valor del tiempo 0 en el control.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o la prevención de la infertilidad masculina mediante el aumento de la movilidad y progresividad de los espermatozoides.
2. Ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de la reivindicación 1, en la que la infertilidad masculina está asociada a astenozoospermia.
- 10 3. Ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de las reivindicaciones 1 y 2, donde el ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo se aplican dentro de la vagina y/o el cuello del útero antes de las relaciones sexuales.
- 15 4. Ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la infertilidad masculina es infertilidad masculina humana.
- 20 5. Ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la infertilidad masculina es infertilidad masculina de un animal de producción, de un animal mamífero doméstico, de un animal mamífero de zoológico o un animal mamífero en peligro de extinción.
- 25 6. Un método *ex vivo* para incrementar la motilidad de los espermatozoides que comprende poner en contacto al ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo con los espermatozoides.
7. El método de la reivindicación 6, donde los espermatozoides son espermatozoides descongelados.
8. El método de las reivindicaciones 6 y 7, donde los espermatozoides son espermatozoides humanos.
- 30 9. Una composición que comprende ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo y un componente adicional que aumenta la fertilidad masculina para su uso en el tratamiento o la prevención de una motilidad espermática alterada y/o de la infertilidad masculina en el que el componente adicionales es/son

- (i) un antioxidante, preferentemente la coenzima Q10
- (ii) al menos una vitamina, preferentemente seleccionada de entre una o más de las vitaminas D, E, C, B2, B9 y/o
- (iii) al menos uno de los siguientes compuestos: L-arginina, L-carnitina y L-creatina

5

10. Composición de un lubricante sexual que comprende ácido glicólico o una sale o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la promoción de la motilidad espermática y/o la fertilidad masculina.

10

11. Composición de un lubricante sexual para el uso según la reivindicación 10, en la que la composición es una crema o un aceite.

15

12. Una composición que comprende ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o la prevención de una motilidad espermática alterada y/o la infertilidad masculina en el que la composición está comprendida en o tiene la forma de un anillo vaginal que libera ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo cuando se coloca en la vagina.

20

13. El ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el método de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, la composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 o el anillo vaginal para el uso de la reivindicación 12, donde el ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo se utiliza/está comprendido en una concentración de al menos 5 mM, preferiblemente 10 mM, más preferiblemente 20 mM y todavía más preferiblemente 30 mM.

25

30

14. El ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el método de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, la composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 o el anillo vaginal para el uso de la reivindicación 12, en el que el ácido glicólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo se utiliza/está comprendido en cantidades de al menos alrededor de 380,25 µg/1200 millones de espermatozoides, preferiblemente alrededor de 760,5 µg/1200 millones de espermatozoides, más preferiblemente alrededor de 1521 µg/1200

millones de espermatozoides y todavía más preferiblemente alrededor de 2281,5  $\mu\text{g}$ /1200 millones de espermatozoides.

Figura 1

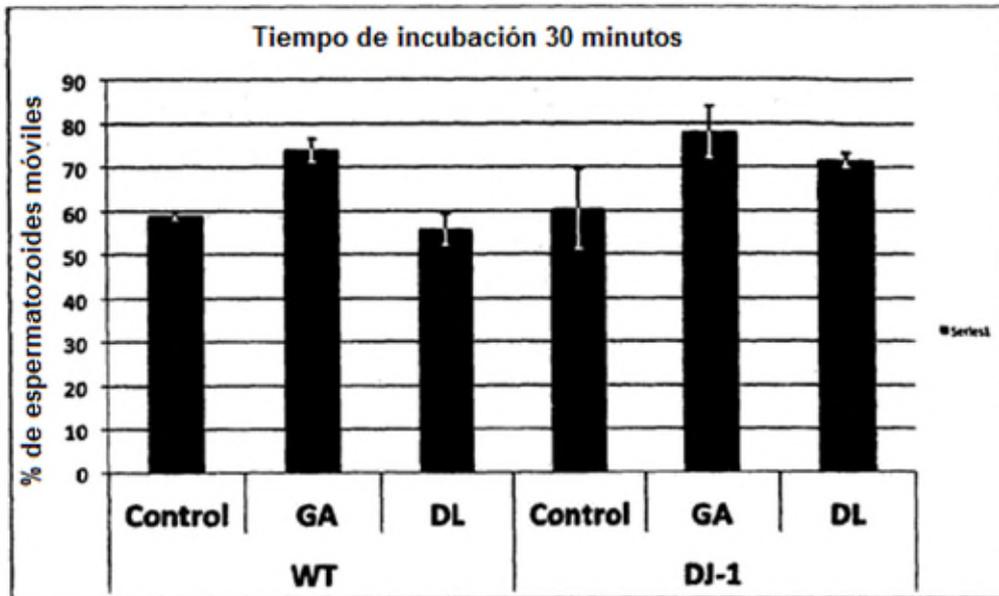


Figura 2

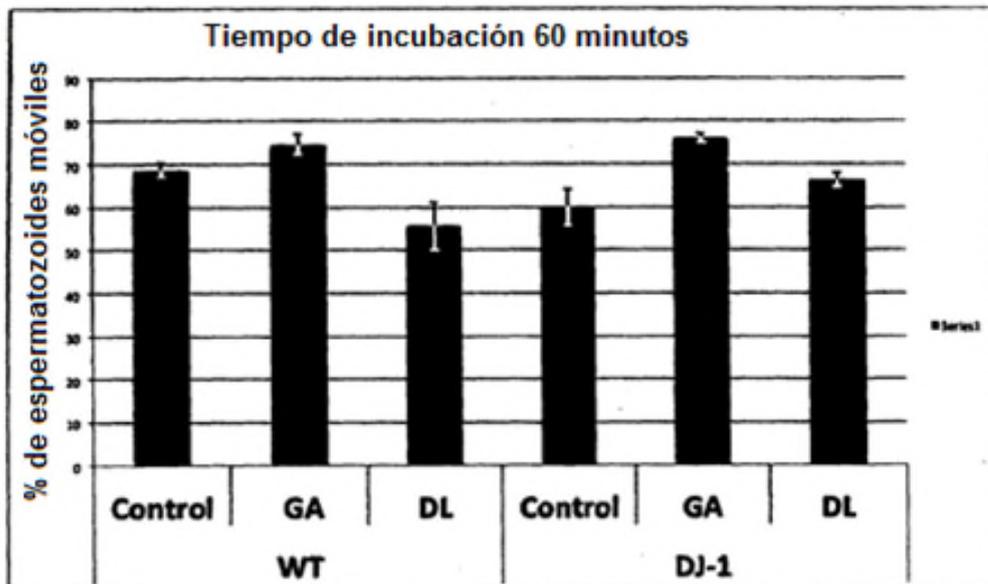


Figura 3

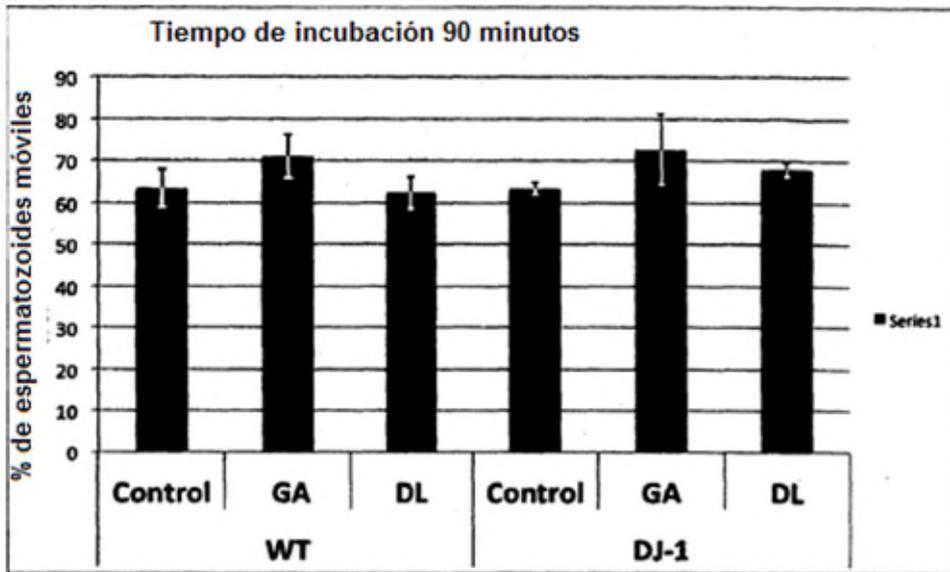


Figura 4:

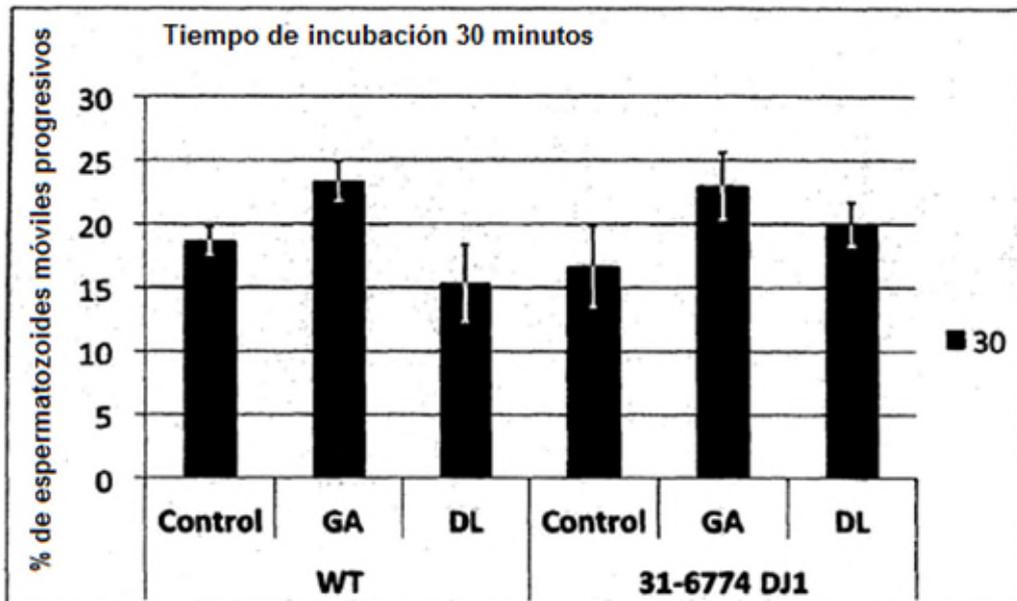


Figura 5:

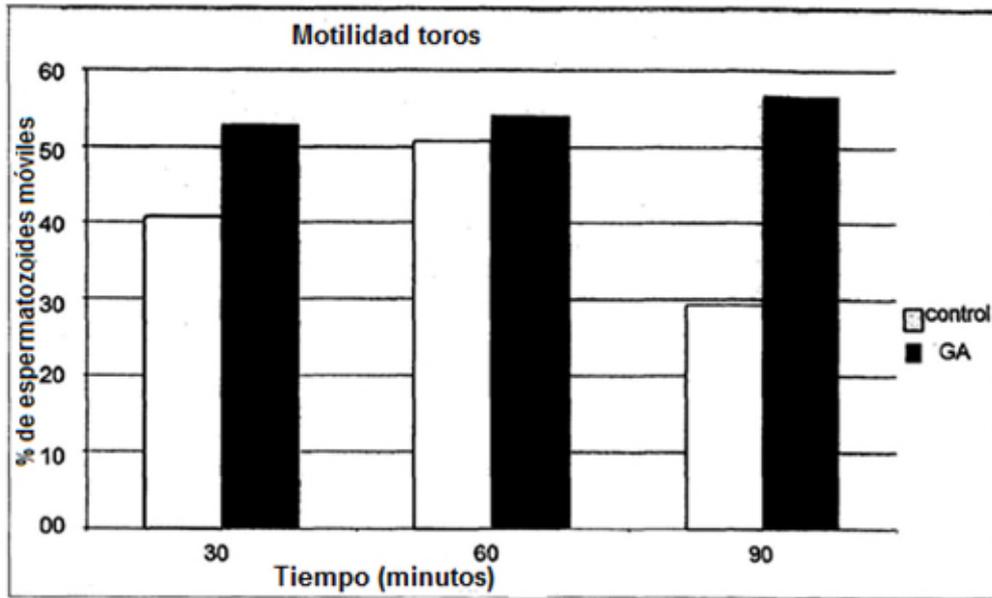


Figura 6:

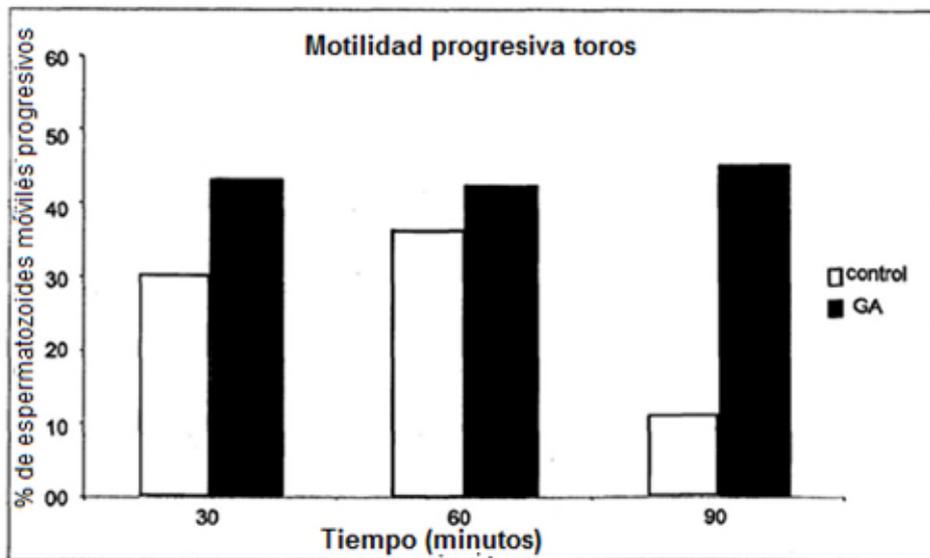


Figura 7:

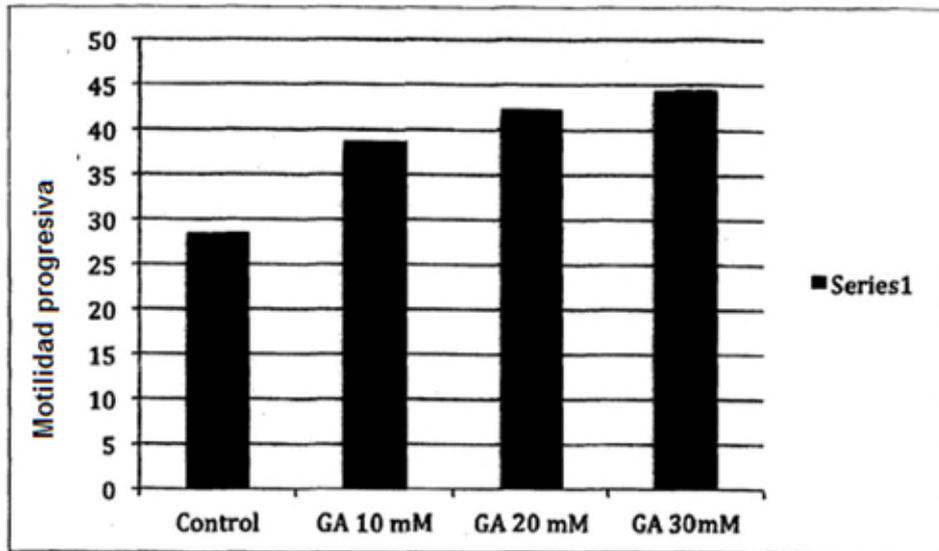


Figura 8:

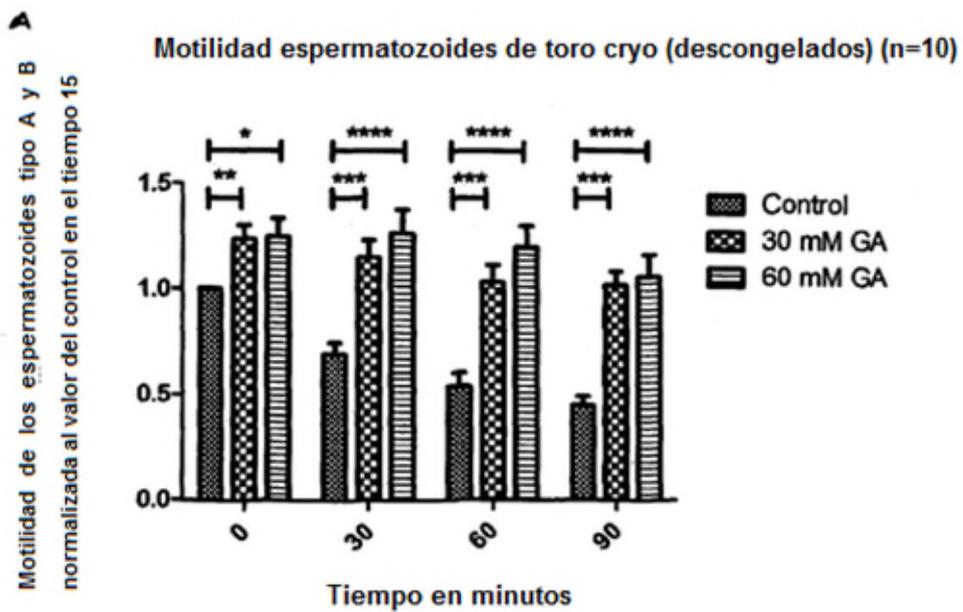


Figura 8 – continuación

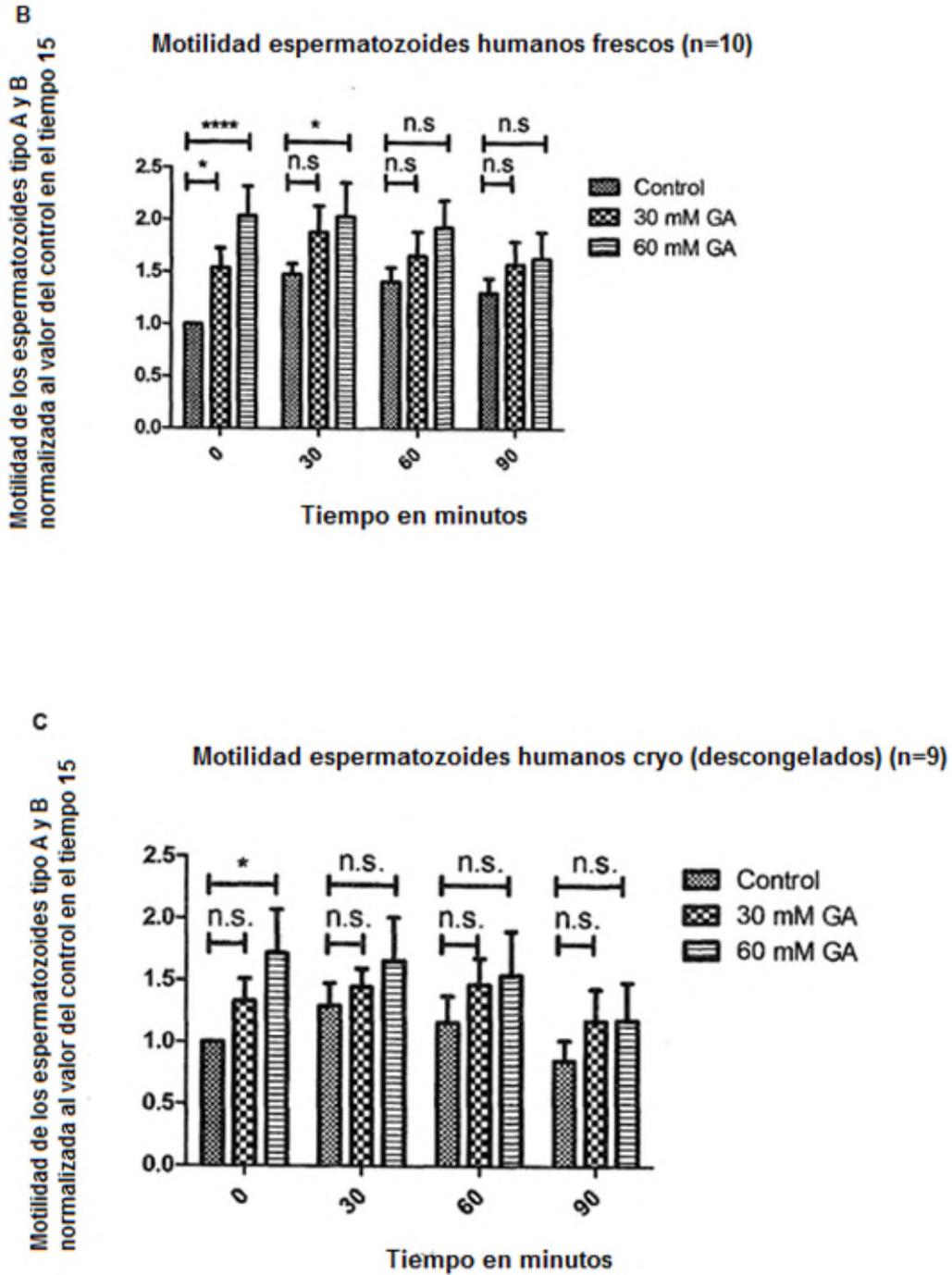


Figura 8 – continuación

