



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 349 657**

51 Int. Cl.:

A61K 31/48 (2006.01)

A61K 31/498 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

A61P 15/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06744549 .4**

96 Fecha de presentación : **24.04.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1874313**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.01.2008**

54 Título: **Tratamiento o prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) usando un agonista de domamina.**

30 Prioridad: **29.04.2005 US 676165 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
10.01.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
10.01.2011

73 Titular/es:
FERRING INTERNATIONAL CENTER S.A.
Chemin de la Vergognausaz 50
1162 Saint-Prex, CH

72 Inventor/es: **Simon-Valles, Carlos;**
Gómez-Gallego, Raul;
Arce, Joan-Carlos y
Pellicer-Martinez, Antonio

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

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).

**TRATAMIENTO O PREVENCIÓN DEL SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN
OVÁRICA (SHO) USANDO UN AGONISTA DE DOPAMINA**

5 **DESCRIPCIÓN**

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al tratamiento o
prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO)
10 usando un agonista de dopamina, quinagolida (Norprolac®).

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La infertilidad afecta a alrededor de 5 millones de mujeres
americanas en los Estados Unidos (alrededor del 10-15%). Muchos
15 factores pueden responder de la infertilidad incluyendo
anormalidades del útero (tal como miomas); disfunción ovárica;
endometriosis (la presencia de tejido uterino en localizaciones
ectópicas tal como los ovarios); tejido cicatricial de cirugía
previa; problemas de tiroides u otros desequilibrios hormonales;
20 enfermedades de transmisión sexual u otras infecciones o
infertilidad no explicada (infertilidad idiopática). Una causa
principal de la infertilidad es la anovulación crónica debido al
hipogonadismo hipoestrogénico. Este trastorno está asociado con
estrógeno en suero en el intervalo posmenopáusico, hormona
25 folículoestimulante (FSH) de normal a baja, lo que produce
menstruación irregular o amenorrea. Estas pacientes normalmente
tienen niveles normales de prolactina. Una segunda causa de
infertilidad se atribuye al hipogonadismo hipergonadotrópico.
Estas pacientes tienen niveles de FSH elevados y de estrógenos
30 posmenopáusicos. Esta categoría incluye pacientes con
insuficiencia ovárica precoz.

Otras causas de infertilidad incluyen hiperprolactinemia,
que produce bajos niveles de hormona luteinizante (LH) y FSH, lo
que produce un fallo de la respuesta positiva por
35 retroalimentación de la secreción de gonadotropina inducida por
estrógeno; hipotiroidismo, que produce hiperprolactinemia;

disfunción hipotalámica-hipofisaria, causada por baja grasa corporal debido a la pérdida excesiva de peso por ejercicio agotador, trastornos alimenticios o tumores; insuficiencia luteínica (producción insuficiente de progesterona por el ovario
5 o mala respuesta del útero a progesterona); y androgenización, por ejemplo, síndrome de ovario poliquístico (SOP). El SOP se caracteriza por trastornos menstruales (oligomenorrea o hemorragia uterina disfuncional), crecimiento del pelo con patrón masculino aumentado (hirsutismo), acné, alopecia,
10 obesidad e infertilidad (Blankstein et al., Infertility. 1998; 83: 97-102).

Causas aún adicionales de la anovulación incluyen síndrome de ovario resistente, ovaritis autoinmune e insuficiencia ovárica precoz. El síndrome de ovario resistente se caracteriza
15 por amenorrea, hipergonadotropismo endógeno y resistencia a gonadotropinas exógenas. Histológicamente hay una ausencia casi completa de folículos en desarrollo. La causa exacta es desconocida, y hay varias teorías incluyendo una deficiencia en receptores de FSH y LH en el ovario, la presencia de anticuerpos
20 para los receptores de gonadotropinas y un defecto después del receptor. La galactosemia acompaña no pocas veces al síndrome de ovario resistente y puede ser un factor causal. La ovaritis autoinmune se caracteriza por la inflamación de los ovarios lo que produce su destrucción, atrofia y fibrosis con una pérdida
25 de fertilidad y producción hormonal del ovario. Produce insuficiencia ovárica precoz (IOP) en el 10 por ciento de los casos. Las mujeres con IOP tienen menopausia prematura antes de los 40 años de edad.

Por último, los hábitos de la forma de vida tales como el
30 consumo excesivo de alcohol y/o cafeína, fumar, o el consumo de drogas también se asocia con fertilidad disminuida.

La infertilidad típicamente se trata con agentes inductores de la ovulación, normalmente denominados fármacos de fertilidad. Los agentes inductores de la ovulación ejemplares incluyen
35 gonadotropinas menopáusicas humanas (hMG), coriogonadotropina humana (hCG), clomifeno, FSH, hormona luteinizante (LH), hormona

liberadora de gonadotropina (GnRH) y análogos de las mismas y combinaciones de las anteriores (Derman et al., Drug Safety. 1994; 11: 408-21). Estos fármacos funcionan a través de diferentes mecanismos, dependiendo de la causa o causa sospechada de la infertilidad. Por ejemplo, la bromocriptina, un agonista de dopamina, disminuye la secreción de prolactina en mujeres con hiperprolactinemia, mientras que otros agentes tal como clomifeno aumentan la producción de FSH.

Además, la fertilización *in vitro* (FIV) se usa de forma rutinaria para todos los tipos de infertilidad. La FIV implica un proceso donde los huevos maduros se retiran de los ovarios, se fertilizan con espermatozoides en una placa de laboratorio y después los embriones resultantes se implantan en el útero en varios días. Antes de la retirada de los huevos, los ovarios se estimulan usando fármacos de fertilidad tales como Pergonal® (hMG) o Metrodin® (una combinación de FSH y LH). Algunas variaciones de la FIV incluyen la transferencia intrafalopiana de gametos (TIFG), la transferencia intrafalopiana de cigoto (TIFZ), inyección intracitoplásmica de espermatozoides (IICE) e inseminación intrauterina. En la última, se coloca una fracción purificada de espermatozoides muy móviles en el cuello uterino o alto en la cavidad uterina después de la hiperestimulación ovárica (también conocida como "estimulación ovárica controlada" o "inducción de la ovulación") con fármacos de fertilidad. La insuficiencia luteínica es más probable que se produzca con niveles mayores de estrógenos producidos durante la inducción de la ovulación, sola o con técnicas de FIV.

Síndrome de hiperestimulación ovárica

El síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) es una complicación de la terapia de inducción ovárica que implica el uso de hormonas gonadotropinas, tales como hCG, durante tratamientos de fertilidad o antes de la FIV y procedimientos relacionados. Se pueden distinguir tres grados de SHO por criterios clínicos y ecográficos. El SHO leve está asociado con molestias abdominales ligeras, incluyendo diarrea y los ovarios

normalmente tienen menos de 5 cm de diámetro en examen ecográfico. Con SHO moderado, los ovarios miden entre 5 y 10 cm y en la forma grave, los ovarios tienen más de 10 cm de diámetro. El SHO grave se caracteriza por la presencia de líquido intraperitoneal libre (ascitis) debido a la permeabilidad vascular aumentada. También se han descrito derrames pleurales, hipotensión y oliguria. La paciente también puede tener trastornos en líquidos y electrolitos y tiene riesgo aumentado de torsión de los ovarios agrandados. El SHO grave se produce en menos del 2% de las pacientes.

La hipotensión proviene de la extravasación de líquido rico en proteínas y contracción del volumen vascular, la oliguria/anuria de la perfusión renal reducida debida al volumen vascular reducido y/o ascitis tensa y las indicaciones pulmonares de un diafragma y/o hipotórax elevado. El riesgo de tromboembolia aumenta como resultado de la hemoconcentración, flujo de sangre periférica disminuido e inactividad debido a la dilatación abdominal y dolor. Las complicaciones potencialmente mortales del SHO incluyen insuficiencia renal, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), hemorragia de ruptura ovárica y tromboembolia.

Los resultados ecográficos y analíticos ayudan a predecir que pacientes es más probable que desarrollen. Los niveles de estradiol son el indicador más fiable. Un valor de 4000-6000 pg/mL o mayor en el momento de la administración de hCG se correlaciona con un mayor riesgo de desarrollar el síndrome. Además el desarrollo de más de ocho folículos en un ovario también se correlaciona con un riesgo aumentado para SHO. Otros factores de riesgo para SHO incluyen Los siguientes factores aumentan el riesgo independientemente de desarrollar síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO): edad joven, peso corporal bajo, síndrome de ovario poliquístico (SOP), altas dosis de gonadotropinas exógenas; niveles de estradiol en suero absolutos altos o que aumentan rápidamente; y episodios previos de SHO.

Tratamiento y prevención. El tratamiento del SHO leve típicamente es el uso de un analgésico oral y evitar las

relaciones sexuales. Para SHO moderado, el tratamiento consiste en analgésicos más potentes, antieméticos y seguimiento frecuente tal como mediante ecografías regulares, seguimiento diario del peso y determinaciones analíticas frecuentes en serie de hematocrito, electrolitos y creatinina en suero. Además, se debe limitar la ingesta de líquidos y el ejercicio agotador. Normalmente se requiere hospitalización para el seguimiento y tratamiento de pacientes que tienen SHO grave.

Para aquellos que se considera que tienen alto riesgo de SHO, la disminución de las dosis de hCG en alrededor de la mitad es garantía para el tratamiento de la infertilidad. Además, el suplemento posterior con progesterona opuesto a la adición de hCG puede reducir más el riesgo de SHO. La administración de albúmina intravenosa (25%) también se usa cuando los niveles de estradiol son altos o hay antecedentes de SHO anterior, aunque los estudios de su eficacia se han mezclado, y el tratamiento con albúmina tiene riesgo de agravamiento de ascitis, reacciones alérgicas y transmisión de virus/priones.

Aunque producido principalmente por la inducción de la ovulación durante el tratamiento de fertilidad, también se ha descrito SHO en pacientes que tienen mutaciones en el gen de la hormona foliculoestimulante (FSH). Smits et al., New Engl. J. Med. 2003. Volumen 349:760-766)

En resumen, permanece una necesidad en la técnica para terapias eficaces para prevenir y tratar SHO.

Human reproduction, 16, 11, Noviembre 2001, páginas 2263 – 226, divulga la eficacia de cabergolina en reducir la incidencia de SHO.

Fertility and Sterility, 80, Suplemento 3 (Septiembre 2003), páginas S43 – S44 divulga el uso de bromocriptina en SHO.

Journal of reproductive medicine, 40, 10, páginas 711 – 714 divulga el uso de dopamina (no agonista de dopamina) en el tratamiento de SHO.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende quinagolida en un portador farmacéuticamente aceptable para su uso en prevenir el síndrome de hiperestimulación ovárica en un sujeto que está siendo
5 tratado para infertilidad con una hormona gonadotropina.

En un ejemplo, el tratamiento de infertilidad es parte de un procedimiento tal como fertilización *in vitro* (FIV), inyección intracitoplásmica de espermatozoides (IICE), transferencia intrafalopiana de gametos (TIFG), transferencia
10 intrafalopiana de cigotos (TIFZ) e inseminación intrauterina durante la estimulación ovárica controlada o inducción de la ovulación.

La dosis de quinagolida (Norprolac®) usada para prevenir SHO puede estar entre alrededor de 0,025 hasta 0,6 mg/día, preferiblemente entre 0,05 a 0,3 mg/día.
15

La quinagolida se puede administrar antes de administrar coriogonadotropina humana.

El agonista de dopamina se puede administrar durante entre alrededor de 5 hasta alrededor de 48 días, preferiblemente, entre alrededor de 7 hasta alrededor de 28 días.
20

En un ejemplo adicional, la quinagolida se puede administrar durante entre alrededor de 5 hasta alrededor de 48 días después de la administración de gonadotropina para la estimulación ovárica, preferiblemente entre alrededor de 7 hasta
25 alrededor de 28 días después de la administración de gonadotropina para estimulación ovárica.

En un ejemplo adicional, el agonista de dopamina se puede administrar durante una duración de entre alrededor de 5 hasta alrededor de 48 días después de comenzar la administración de gonadotropina para la estimulación ovárica, preferiblemente entre alrededor de 7 hasta alrededor de 28 días después de comenzar la administración de gonadotropina para estimulación ovárica.
30

En un ejemplo adicional el agonista de dopamina se puede administrar empezando el día de administración de la hormona
35

gonadotropina y se administra durante al menos alrededor de 6 a 8 días.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende quinagolida en un portador farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento del síndrome de hiperestimulación ovárica.

En un ejemplo, el síndrome de hiperestimulación ovárica está asociado con la administración de hormona gonadotropina.

En otro ejemplo, el síndrome de hiperestimulación ovárica es idiopático.

En otro ejemplo, el síndrome de hiperestimulación ovárica está asociado con la gestación.

En otro ejemplo, el síndrome de hiperestimulación ovárica es de moderado o grave, y es sujeto se puede hospitalizar.

Según un ejemplo, la dosis de quinagolida (Norprolac®) para el tratamiento del SHO es una dosis de entre alrededor de 0,025 mg/día hasta alrededor de 0,6 mg/día, preferiblemente entre alrededor de 0,05 hasta alrededor de 0,3 mg/día.

En otro ejemplo, el agonista de dopamina se administra antes de administrar coriogonadotropina humana.

En otro ejemplo para el tratamiento de SHO, la quinagolida se administra durante una duración de entre alrededor de 1 día hasta alrededor de 28 días, preferiblemente entre alrededor de 7 hasta alrededor de 14 días o hasta que los síntomas se alivian o erradican. El inicio del tratamiento puede tener lugar cuando empiezan a manifestarse los síntomas o signos de SHO.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 es un gráfico que representa los resultados de un primer ensayo sobre el efecto de quinagolida en la PV en ratas con SHO. La permeabilidad vascular se expresa como µg de colorante azul de Evans extravasados por 100 g de peso corporal en cada animal.

La figura 2 es un gráfico que representa los resultados de un segundo sobre el efecto de quinagolida en la PV en ratas con SHO. La permeabilidad vascular se expresa como µg de colorante

azul de Evans extravasados por 100 g de peso corporal en cada animal.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), una citoquina proangiogénica, está implicado en la patogénesis de SHO, y que la actividad de VEGF se puede regular por el neurotransmisor dopamina.

Factor de crecimiento endotelial vascular y SHO

Se cree que la existencia de una molécula vasoactiva liberada en respuesta a hCG es la principal característica asociada con la permeabilidad vascular aumentada que se produce con el desarrollo de SHO, y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es el principal candidato como mediador de hCG (Gomez et al., *Endocrinology*. 2002; 143, 4339-4348). Experimentos en modelos animales han demostrado que la permeabilidad vascular aumenta de 2 hasta alrededor de 96 horas después de la administración de hCG en ratas previamente tratadas con un agente inductor de la ovulación (gonadotropina sérica de yegua preñada; PSMG) (Gomez et al., *supra*). Además, se observó un aumento en la acumulación de ascitis en la cavidad peritoneal en más del 80% de las ratas del grupo SHO a las 48 y 96 horas después de hCG. El aumento en la permeabilidad vascular se asoció con un aumento concomitante en la expresión del ARNm de VEGF por las células granulosas y endoteliales del ovario. La expresión ovárica de receptor de VEGF tipo 2 (VEGF-R2) también aumenta después de 48 horas, y se correlaciona con la expresión aumentada de la expresión del ARNm de VEGF en el tiempo de permeabilidad vascular máxima. También se mostró que bloquear VEGF-R2 con un anticuerpo (SU5416) producía la reversión de la permeabilidad vascular a niveles normales.

Las solicitudes internacionales PCT WO2004/041164 y WO2003/3092595, propiedad de Merck & Co., describen nuevos inhibidores de tirosina quinasas que se pueden usar para inhibir

la fosforilación de tirosina quinasas receptores, incluyendo receptores de VEGF. Estas solicitudes también divulgan que los nuevos inhibidores de tirosina quinasas se pueden usar solos o en combinación con estimuladores de ovulación tales como bromocriptina y hormonas de gestación, para tratar o prevenir SHO.

Sin embargo, se ha mostrado a partir de estudios en modelos oncolíticos que no se pueden usar compuestos anti-angiogénicos, es decir, anti-VEGF, incluyendo SU5416, debido a efectos tóxicos serios. Además, la expresión de VEGF es importante en el crecimiento y desarrollo del endometrio con fases progresivas del ciclo menstrual. La expresión de VEGF se ha correlacionado especialmente con la implantación del embrión (Welter et al., Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2003; 111(1): 33-40). El endometrio desarrolla nuevos capilares a partir de microvasos existentes antes de la implantación y la vascularización incorrecta del endometrio puede producir fallo de implantación e infertilidad. Según esto, el uso de inhibidores de VEGF o VEGF-R2 para tratar o prevenir SHO durante el tratamiento de fertilidad también tendría la indicación contraria de prevenir el embarazo.

Dopamina y receptores de VEGF

Recientemente se ha mostrado que dosis farmacológicas de dopamina, que actúa a través de los receptores de dopamina D2, pueden inhibir la permeabilidad microvascular, proliferación y migración de células endoteliales *in vitro* mediada por VEGF induciendo la endocitosis de VEGF-R2 (Basu et al., Nat Med. Mayo 2001; 7(5):569-74). Esto también se demostró *in vivo* en modelos de ratón con dopamina eliminada y deficientes para el receptor D2 (Sarkar et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004; 287: H1554-60). En estos modelos de ratón, la fosforilación inducida por VEGF de VEGF-R2, quinasa de adhesión focal y proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) en células endoteliales estaba significativamente aumentada comparada con los controles. Esto sugiere que la dopamina endógena regula las cascadas de

señalización requeridas para la funciones endoteliales *in vivo* de VEGF.

Dopamina e hiperprolactinemia

5 Además de los efectos anteriores sobre VEGF-R2, la dopamina también controla la secreción de prolactina. La prolactina es una hormona secretada por la hipófisis, cuya secreción está bajo control inhibitor tónico por dopamina, que actúa a través de los receptores de tipo D2 localizados en los lactotrofos en la
10 hipófisis. La función principal de la prolactina es estimular la proliferación de células epiteliales de mama e inducir la producción de leche. El exceso de producción de prolactina, denominado hiperprolactinemia, es patológico y está asociado con un descenso de la fertilidad, infertilidad, irregularidades
15 menstruales y pérdida de la función sexual y producción de leche.

La hiperprolactinemia puede ser idiopática, pero también se ha asociado con trastornos tales como síndrome de ovario poliquístico (SOP) y adenomas hipofisarios. En un estudio en
20 mujeres con SOP e hiperprolactinemia, la administración del agonista de dopamina cabergolina, para reducir la prolactina, también se mostró que redujo el riesgo de SHO durante la inducción ovárica con un agonista de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), hormona foliculoestimulante (FSH) y hCG
25 (Papaleo et al., Human Reproduction. 2001; 16: 2263-2266). En otros dos casos, pacientes con adenomas hipofisarios presentaban SHO (Murata et al., J. Clin. Endocrin. And Metabol. 2003; 88: 1988-93; Shimon et al., J. Clin. Endocrin. And Metabol. 2001; 86: 3635-40). En el primer caso, la paciente tenía ovarios
30 agrandados multiquísticos y niveles de estradiol en suero elevados. La administración diaria del agonista de dopamina bromocriptina a 5 mg/día normalizó el tamaño ovárico y redujo los niveles de estradiol al intervalo normal. Poco después la paciente se sometió a cirugía para eliminar el adenoma.

35 En el segundo caso, el adenoma hipofisario estaba asociado con ovarios agrandados, hormona foliculoestimulante y prolactina

elevadas pero no estradiol elevado. El tratamiento con el agonista de dopamina cabergolina, 0,5 mg dos veces a la semana durante tres semanas, normalizó los niveles de prolactina. Poco después esta paciente también se sometió a cirugía para eliminar el adenoma.

Por último, también se ha mostrado que la dopamina causa vasodilatación renal y diuresis. En un estudio, se administró docarpamina, un profármaco oral de dopamina, a 27 pacientes con SHO resistente a tratamiento (Tsunoda et al., Gynecol Endocrinol. 2003; 17: 281-6). La diuresis aumentó en algunas mujeres y la ascitis disminuyó.

Agonistas de dopamina en la prevención y tratamiento de SHO

La presente invención proporciona un método para tratar o prevenir SHO en mujeres que se someten a un tratamiento de fertilidad con hormonas gonadotropinas, mediante la administración de una cantidad eficaz de quinagolida. La quinagolida se puede administrar de forma segura en la fase luteínica y en la gestación temprana sin efectos secundarios. Se espera que la disminución de VEGF-R2, mediante la endocitosis del receptor, reduzca la permeabilidad vascular aumentada patológica que se asocia con SHO.

Los agonistas de dopamina se usan principalmente para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson debido a sus efectos neuroprotectores sobre las neuronas dopaminérgicas.

La quinagolida (1-propilbenzol[g]quinolil-3-il)-Norprolac®; anteriormente CV 205-502) es otro agonista benzoquinolina dopaminérgico diferente de ergot y ergolina que bloquea la liberación de prolactina. Se describe en la solicitud de patente europea EP 0077754 y US 4.565.818 a Nordmann et al. Actualmente está indicada para el tratamiento de hiperprolactinemia, especialmente esas asociadas con tumores hipofisarios. La dosis de mantenimiento varía de paciente a paciente. La quinagolida se toma una vez al día por la tarde, normalmente a una dosis de entre 50-150 microgramos (0,05-0,15 miligramos) y, raramente, hasta 300 microgramos.

Definiciones

Un "agonista de dopamina" se refiere a cualquier compuesto que compite con la dopamina para unirse al receptor de dopamina D2. El agonista de dopamina es quinagolida.

El término "agonista de dopamina" también incluye varias sales e isómeros (incluyendo estereoisómeros y enantiómeros) de los agonistas de dopamina. El término "sales" puede incluir sales de adición ácida o sales de adición de bases libres. Los ejemplos de ácidos que se pueden emplear para formar sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, sulfúrico o fosfórico, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, maleico, succínico o cítrico, etc. Todas estas sales (u otras sales similares) se pueden preparar por medios convencionales. La naturaleza de la sal no es crítica, siempre que no sea tóxica y no interfiera sustancialmente con la actividad farmacológica deseada.

"Infertilidad" se refiere a la incapacidad de una mujer de concebir después de al menos un año de relaciones sexuales sin protección. La infertilidad incluye pero no está limitada a, anovulación crónica causada por cualquiera de los siguientes: hipogonadismo hipoestrogénico, hipogonadismo hipergonadotrópico, poca grasa corporal, estrés o ansiedad aumentados, disfunción hipotalámica, hipotiroidismo, hiperprolactinemia, androgenización (síndrome de ovario poliquístico), insuficiencia luteínica, tumores de la hipófisis o glándula suprarrenal, insuficiencia ovárica primaria, síndrome de ovario resistente, ovaritis autoinmune e infertilidad idiopática. Estos trastornos se han descrito con más detalle anteriormente. Otras causas de infertilidad incluyen consumo excesivo de alcohol o cafeína, fumar o consumo de drogas.

"Tratamiento para infertilidad" incluye, pero no está limitado a, la administración de fármacos de fertilidad para la estimulación ovárica, o la administración de fármacos de fertilidad antes de o durante la fertilización *in vitro* (FIV),

transferencia intrafalopiana de gametos (TIFG), transferencia intrafalopiana de cigoto (TIFZ) e inseminación intrauterina.

“Fármacos de fertilidad” incluyen, pero no están limitados a, clomifeno (Clomid®), que estimula la secreción de FSH y LH, progesterona (Crinone®, Prometrium®), GnRH Factrel®, Lutrepulse®), agonistas de GnRH (Lupron®, Synarel®, Zoladex®), y acetato de leuprolida (Lupron®). Otros fármacos de fertilidad incluyen hMG recombinante o purificada (una combinación de LH y FSH; Pergonal®, Humegon®, Repronex®), hCG (Profasi®, Pregnyl®, Novarel®), FSH (urofolitropina; Fertinex®, Follistim®, Gonal-F®, Metrodin®) y LH. hMG, hCG, LH y FSH se denominan las “hormonas gonadotropinas”.

La frase “farmacéuticamente aceptable”, como se usa en relación con las composiciones de agonistas de dopamina, se refiere a entidades moleculares y otros ingredientes de tales composiciones que son fisiológicamente tolerables y típicamente no producen reacciones adversas (toxicidad o efectos secundarios) cuando se administran a un mamífero (por ejemplo, ser humano). Preferiblemente, como se usa aquí, el término “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o un estado o enumerada en la Farmacopea de los EE. UU. u otras farmacopeas generalmente reconocidas para uso en mamíferos y más en particular en seres humanos.

El término “portador” aplicado a composiciones farmacéuticas de la invención se refiere a un diluyente, excipiente o vehículo con el que se administra un principio activo (por ejemplo, un derivado 1-aminociclohexano). Tales portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua, soluciones salinas, soluciones acuosas de dextrosa, soluciones acuosas de glicerol y aceites, incluyendo los de petróleo, origen animal vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los portadores farmacéuticos adecuados se describen en “Remington’s Pharmaceutical Sciences” por E.W. Martin, 18^a Edición.

El término "paciente" o "sujeto en necesidad del mismo" como se usa aquí se refiere a un mamífero. En particular, el término se refiere a seres humanos con riesgo de desarrollar o diagnosticados con SHO. El diagnóstico de SHO está dentro del alcance del médico experto usando criterios estándar, incluyendo, pero no limitados a, permeabilidad vascular aumentada, tamaño ovárico aumentado, la presencia de ascitis y estradiol aumentado tras la administración de hCG.

El término "tratar" se usa aquí para significar mitigar o aliviar al menos un síntoma de una enfermedad en un sujeto. Por ejemplo, respecto a SHO, el término "tratar" puede significar mejorar o mitigar o revertir o disminuir al menos uno de los siguientes: tamaño ovárico aumentado, ascitis intraperitoneal, derrame pleural, oliguria hipotensión, trastornos de líquidos y electrolitos, flujo sanguíneo periférico disminuido e inactividad debido a dilatación abdominal y dolor.

Dentro del significado de la presente invención, el término "tratar" también significa retrasar la evolución de la enfermedad en los pacientes que presentan los síntomas anteriormente mencionados u otros factores de riesgo asociados con SHO.

Los términos "prevenir o prevención" significan el uso profiláctico de un agonista de dopamina para evitar hechos o síntomas asociados con SHO. En una forma de realización específica, el término significa evitar el aumento en la permeabilidad vascular después de la administración de una hormona gonadotropina.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se usa aquí para significar una cantidad o dosis del agonista de dopamina para mejorar, retrasar o prevenir un síntoma o hecho asociado con SHO en un sujeto. De forma alternativa, una cantidad terapéuticamente eficaz es esa que es suficiente para causar una mejora en una condición o parámetro clínicamente significativo (según el médico que emplea uno o más de los conjuntos de criterios anteriores) asociado con SHO en un individuo en necesidad de la misma.

Un "respondedor" es un sujeto en el que se previene, retrasa, alivia o mejora de otra manera SHO después del tratamiento con un agonista de dopamina según el método de la presente invención. Por ejemplo, un respondedor sería un sujeto con SHO cuya permeabilidad vascular desciende tras la administración de una cantidad eficaz de un agonista de dopamina.

Los términos "alrededor de" y "aproximadamente" en general significan un grado aceptable de error o variación para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las medidas. Típicamente, los grados de error o variación están en el 20 por ciento (%), preferiblemente en el 10% y más preferiblemente en el 5% de un valor o intervalo de valores determinado. Las cantidades numéricas dadas aquí son aproximadas a menos que se especifique de otra manera, lo que significa que el término "alrededor de" o "aproximadamente" se puede inferir cuando no se especifica expresamente.

Formulación, dosis y administración

El agonista de dopamina mencionado a continuación está comercialmente disponible para administración oral como sigue:

Clorhidrato de quinagolida (Norprolac®) - la administración de comprimidos para hiperprolactinemia es a una dosis inicial de 0,025 mg diarios durante 3 días aumentando después de ello a intervalos de 3 días en pasos de 0,025 mg hasta que se alcance la respuesta óptima, que normalmente está en el intervalo de 0,75 a 1,50 mg diarios. Si se requieren dosis mayores de 3,0 mg diarios, se pueden hacer aumentos en pasos de 0,75 a 1,50 mg diarios en intervalos de no menos de 4 semanas. Para el tratamiento y prevención de SHO, la dosis contemplada es alrededor de 0,025-0,6 mg/día, preferiblemente alrededor de 0,05 hasta alrededor de 0,3 mg/día.

Sin embargo, para la dopamina usada en el método de la invención, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente de modelos animales para alcanzar un intervalo de concentración circulante en plasma que incluye la IC₅₀ (por

ejemplo, la concentración del compuesto de prueba que alcanza una secreción semi-máxima de la hormona apropiada). Las curvas dosis-respuesta derivadas de sistemas animales se usan después para determinar dosis de prueba para los estudios clínicos
5 iniciales en seres humanos. En determinaciones de seguridad para cada composición, la dosis y frecuencia de administración deben cumplir o superar las anticipadas para uso en el ensayo clínico.

Otros factores a considerar son el procedimiento de dosis, las condiciones de un paciente o un sujeto animal tales como
10 edad, peso corporal, sensibilidad, periodo de dosificación, fármacos usados en combinación, seriedad de la enfermedad. Se pueden determinar la dosis y tiempos de dosificación adecuados en ciertas condiciones mediante la prueba basada en los índices descritos anteriormente pero se puede refinar y decidir por
15 último según el juicio del médico y las circunstancias de cada paciente (edad, estado general, gravedad de los síntomas, etc.) según técnicas clínicas estándar.

Se pueden determinar la toxicidad y la eficacia terapéutica de las composiciones de la invención por procedimientos
20 farmacéuticos estándar en animales experimentales, por ejemplo, determinando la LD₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED₅₀ (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos terapéuticos y tóxicos es el índice terapéutico y se puede expresar como el
25 cociente ED₅₀/LD₅₀. Las composiciones que muestran índices terapéuticos grandes son preferidas.

Según la invención, la composición farmacéutica de la invención, quinagolida, se puede introducir por vía parenteral, transmucosa, oral, nasal o rectal o transdérmica. Las vías
30 parenterales incluyen administración intravenosa, intraarteriolar, intramuscular, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular e intracraneal.

Según la presente invención, la forma farmacéutica del agonista de dopamina puede ser una formulación sólida,
35 semisólida o líquida para administración oral. La formulación del agonista de dopamina en una forma semisólida o líquida está

dentro de las capacidades de la técnica. Normalmente la sustancia activa, por ejemplo, el agonista de dopamina, constituirá entre el 0,1 y el 99% en peso de la formulación, más específicamente entre el 0,5 y el 20% en peso para formulaciones
5 que se pretenden para inyección y entre el 0,2 y el 50% en peso para formulaciones adecuadas para administración oral.

Las formulaciones de dosificación oral se conocen bien en la técnica e incluyen comprimidos y cápsulas preparadas por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente
10 aceptables tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropil metilcelulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes
15 (por ejemplo, fécula de patata o glicolato sódico de almidón), o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos se pueden recubrir por medios bien conocidos en la técnica.

Las preparaciones líquidas para administración oral del
20 agonista de dopamina pueden tomar la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o se pueden presentar como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas se pueden preparar por medios convencionales con aditivos
25 farmacéuticamente aceptables tales como agentes suspensores (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas hidrogenadas comestibles); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábica); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendra, ésteres grasos, alcohol etílico o aceites
30 vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales tampón, agentes saborizantes, colorantes o edulcorantes según sea apropiado.

Las preparaciones para administración oral se pueden
35 formular adecuadamente para dar liberación controlada del principio activo.

Las formulaciones farmacéuticas del agonista de dopamina adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua), emulsiones en aceite (cuando no son solubles en agua) o dispersiones. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser líquida a un grado que exista fácil jeringabilidad. La forma farmacéutica debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y se debe conservar contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. Se puede mantener la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de agentes tensioactivos. Se pueden producir las prevenciones de la acción de microorganismos por varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede producir mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando el agonista de dopamina en la cantidad requerida en el solvente apropiado con varios de los otros ingredientes, según se requiera, seguido por esterilización por filtro o terminal. En general, las dispersiones se preparan incorporando los diferentes principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio básico de dispersión y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son el secado al vacío y la técnica de liofilización que produce un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional

deseado de una solución de los mismos previamente esterilizada por filtración.

Además de las formulaciones descritas anteriormente, el agonista de dopamina también se puede formular como una
5 preparación en depósito. Tales formulaciones de acción larga se pueden administrar mediante implantación (por ejemplo por vía subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular.

Para la prevención de SHO, la administración del agonista de dopamina puede ser según dos pautas alternativas. En un
10 ejemplo, el agonista de dopamina se administra durante la estimulación ovárica controlada (con gonadotropinas u otros agentes) y antes de desencadenar la maduración/ovulación final con una hormona gonadotropina. En este ejemplo, el agonista de dopamina se administra durante una duración de alrededor de 5
15 hasta alrededor de 48 días, preferiblemente de alrededor de 7 hasta alrededor de 28 días.

En un ejemplo alternativo el agonista de dopamina se administra empezando el día de la administración de la hormona gonadotropina y se administra durante alrededor de 6 a 8 días.
20

EJEMPLOS

La presente invención se describe adicionalmente por medio de los ejemplos, presentados posteriormente. El uso de tales ejemplos es solo ilustrativo y de ninguna manera limita el
25 ámbito y significado de la invención o de cualquier término ejemplificado. Asimismo, la invención no está limitada a ninguna forma de realización particular descrita aquí. En efecto, muchas modificaciones y variaciones de la invención serán aparentes para los expertos en la materia tras leer esta especificación.
30 La invención por tanto está limitada solo por los términos de las reivindicaciones adjuntas junto con el ámbito entero de los equivalentes a los que las reivindicaciones están autorizadas.

**EJEMPLO 1: Prevención o tratamiento de SHO usando quinagolida
35 (Norprolac®)**

Para la prevención de SHO en pacientes sometidas a tratamiento de fertilidad o FIV que implica la administración de hormonas gonadotropinas, se espera que la administración del agonista de dopamina quinagolida prevenga un aumento en la permeabilidad vascular. Sin estar limitado por un mecanismo particular, se espera que esto se produzca como resultado de la unión de quinagolida a los receptores D2 de dopamina, lo que produce internalización de VEGF-R2, previniendo por tanto la unión de VEGF-A a VEGF-R2 y la fosforilación de VEGF-R2.

10 **Dosis y administración.** La quinagolida se puede dar por vía oral durante el curso de alrededor de 8 días, empezando el día de la administración de hCG para el tratamiento de fertilidad o FIV. La dosis debe ser de alrededor de 0,025-0,6 mg/día, preferiblemente alrededor de 0,05 hasta alrededor de 0,3 mg/día
15 (es decir, la dosis similar a la requerida para inhibir la lactancia).

En otro ejemplo, para prevención, se administra quinagolida durante la estimulación ovárica controlada (con gonadotropinas u otros agentes estimulantes ováricos) antes de desencadenar la
20 maduración/ovulación final con, por ejemplo, hCG. Preferiblemente, la administración se inicia durante la última semana de estimulación. La administración se sigue durante alrededor de una a tres semanas después de la estimulación con hCG.

25 **Tratamiento de SHO.** Para el tratamiento de SHO de leve a grave, la administración de quinagolida se inicia una vez se ha diagnosticado una paciente con SHO de leve a grave y se sigue durante una duración de alrededor de 1 hasta 28 días, o hasta que los síntomas disminuyen. De nuevo, se empleará quinagolida
30 para disminuir la permeabilidad vascular aumentada y de esta manera, se administrará hasta que los síntomas reviertan o se alivien.

Dosis y administración. Para el tratamiento de SHO, se administra quinagolida a una dosis de alrededor de 0,025 mg/día
35 hasta alrededor de 0,6 mg/día, preferiblemente desde alrededor de 0,05 mg/día hasta alrededor de 0,3 mg/día. La duración del

tratamiento es alrededor de 1 a 28 días, preferiblemente de 7 a 14 días o hasta que los síntomas disminuyen. El tratamiento típicamente se inicia cuando aparecen por primera vez signos y síntomas de SHO.

5

EJEMPLOS 2 Y 3: Medida dosis/respuesta de los efectos de quinagolida (Norprolac®) sobre la permeabilidad vascular en ratas con SHO

10

Procedimientos generales

Inducción de las manifestaciones de SHO. Se usaron un total de 96 ratas hembras Wistar inmaduras (Harlan Ibérica, Sant Feliu de Codina, Barcelona, España), que pesaban de 42-48 gramos al principio de estos experimentos (día 22) para llevar a cabo los estudios divulgados en los ejemplos 2 y 3. Se les inyectó por vía subcutánea (s.c.) 10 UI de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) (Sigma) durante 4 días consecutivos (días 22-25), seguido por 30 UI de hCG administrada por vía intraperitoneal (i.p.) en el quinto día (día 26) para inducir manifestaciones clínicas de SHO.

20

Medida de la permeabilidad vascular (PV). Se usó la PV como un índice para estimar y comparar el grado de desarrollo de la enfermedad. Se midió la PV en todos los animales 48-56 horas después de la administración de hCG, siguiendo metodología previamente descrita (Gomez et al., *supra*). Brevemente, se inyectaron 0,2 ml de colorante azul de Evans, 0,05 M, a través de la vena femoral. Después de 30 minutos, la cavidad peritoneal se irrigó con 5 ml de solución salina, pH 6, 22°C y se masajeó durante 30 segundos para recuperar el colorante extravasado. El líquido peritoneal se recuperó en tubos de 13 ml que contenían 0,1 ml de NaOH. Los tubos se centrifugaron a 900 x g durante 12 minutos para evitar la interferencia de proteínas. El sobrenadante se filtró a través de filtros de 0,22 um para eliminar la proteína ascítica/moco de fibrina que pudiera interferir en las medidas posteriores. Por último, se midió la absorbancia del colorante extravasado a 595 nm usando un

30

35

espectrofotómetro. Se calcularon la media y desviaciones medias en cada grupo (véase posteriormente). Se expresó la PV como μg de colorante azul de Evans extravasado/100 g de peso corporal en cada animal. Estas unidades se han expresado como los ejes "y" de los gráficos presentados en las figuras 1 y 2.

Ejemplo 2. Experimentos de dosis respuesta que ensayan el efecto de quinagolida sobre la permeabilidad vascular en ratas con SHO

Se usaron un total de 70 ratas para este estudio. Se administró a las 70 ratas PMSG/hCG para inducir síntomas de SHO, como se ha descrito anteriormente. Se administró quinagolida (lote no. 1010003004; suministrado por Ferring Labs) a 56 ratas. Las 56 ratas que recibieron quinagolida se usaron como un grupo de prueba de dosis respuesta. Ocho ratas no recibieron quinagolida y se usaron como un grupo de vehículo control. Se administró cabergolina (Dostinex®) a 6 ratas como un control positivo. Los detalles específicos de la pauta de dosis para cada grupo son como sigue:

Grupo de vehículo control (quinagolida 0 $\mu\text{g/kg}$) (n=8). Se implantaron microgránulos de prolactina placebo en ocho ratas, liberación de 5 días, entre las 10:00 y las 11:00 el día 26, justo después de la inyección con hCG (véase, procedimientos generales, anteriormente). Seis horas después de la implantación de los microgránulos, a las ratas en este grupo se les administró por vía oral solución de vehículo (mezcla de alcohol en agua 1:6) (sin quinagolida). Recibieron otra administración oral de solución de vehículo 24 horas después.

Grupos experimentales (quinagolida a 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 25, 50 $\mu\text{g/kg/día}$ para 7 grupos de prueba de ratas) (n=8 en cada grupo de prueba). Se implantó a las ratas en estos grupos con microgránulos de prolactina, liberación de 5 días, entre las 10:00 y las 11:00 del día 26, justo después de la inyección con hCG (véase, procedimientos generales, anteriormente). Seis horas después de la implantación de los microgránulos (de modo que la prolactina tuviera un intervalo temporal apropiado para ser liberada), las ratas en estos siete grupos de prueba recibieron

una administración oral de quinagolida de 0,008, 0,025, 0,08, 0,25, 0,8, 2 y 4 µg, respectivamente, diluida en 100 µl de solución de vehículo. De esta manera, se alcanzaron las dosis deseadas de 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 25 y 50 µg/kg a ser ensayadas. Veinticuatro horas después, se administró a las ratas en este grupo otra dosis de la misma cantidad de quinagolida.

Grupo de control positivo (cabergolina) (n=6). A estas seis ratas se les implantaron microgránulos de prolactina, liberación de 5 días, entre las 10:00 y las 11:00 del día 26, justo después de la inyección con hCG. Seis horas después de la implantación de los microgránulos (de modo que la prolactina tuviera un intervalo temporal apropiado para ser liberada), a las ratas en este grupo se les administraron 12 µg de cabergolina diluidos en 100 µl de vehículo (alcanzando una dosis de 150 µg/kg). Veinticuatro horas después, a las ratas en este grupo se les administró otra dosis de la misma cantidad de cabergolina. Se eligió esta dosis de cabergolina (250 µg/kg/día) basada en experimentos previos realizados por este grupo (repetidos varias veces), que demuestran una correlación alta ($p < 0,05$) entre esta dosis de cabergolina y un descenso significativo en la permeabilidad vascular en ratas con SHO.

Proceso de reconstitución y dilución para alcanzar dosis apropiadas de quinagolida para la administración oral. Las dosis apropiadas se prepararon recientes justo antes de ser administradas (en el día 26). Se empleó un único vial de quinagolida, que contenía aproximadamente 2,30-2,30 mg de quinagolida para cada conjunto individual de animales. Para cada solución, se diluyeron aproximadamente 2,30-2,30 mg de quinagolida en una solución de vehículo (mezcla de alcohol:agua 1:6) para alcanzar una concentración madre de 100 µg de quinagolida por ml de solución. Se diluyó en serie una alícuota de 2 ml de la solución madre de quinagolida en la misma solución de vehículo, para alcanzar siete soluciones con las siguientes concentraciones: 0,08, 0,25, 0,8, 2,5 8, 20 y 40 µg de quinagolida por ml de solución, respectivamente. Se dio una administración oral de 100 µl de cada solución de quinagolida al

grupo de ratas apropiado el mismo día que se administró hCG (día 26), como se describe posteriormente. La solución madre restante se almacenó a 4°C, para ser usada de la misma manera 24 horas después, como se describe posteriormente. 100 µl de cada solución diluida en serie contenían 0,008, 0,025, 0,08, 0,25, 0,8, 2 y 4 µg de quinagolida, respectivamente. De esta manera, puesto que las ratas pesaban, de media, 75-80 g el día 26 (cuando se administró la quinagolida), se alcanzaron las dosis deseadas de 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 25 y 50 µg/kg. Esta solución de vehículo (mezcla de alcohol:agua 1:6), sin quinagolida, se administró al grupo de ratas de control positivo, como se ha descrito.

Reconstitución y dilución de cabergolina para alcanzar dosis apropiadas para la administración oral. Se pulverizó mecánicamente media píldora (Dostinex®) que contenía 125 µg de cabergolina, después se diluyó en 1000 µl de una solución de vehículo (mezcla de alcohol:agua 1:6), para alcanzar una concentración final de 125 µg de cabergolina por ml de solución. Se realizó una administración oral de 100 µl de esta solución el día de la administración de hCG como se describe posteriormente. La solución madre restante se almacenó a 4°C para ser usada de la misma manera 24 horas después, como se describe. 100 µl de esta solución contienen 12,5 µg de cabergolina. De esta manera, puesto que las ratas pesaban, de media, 75-80 g el día 26 (cuando se administró la cabergolina), se alcanzaron las dosis deseadas de 150 µg/kg.

La permeabilidad vascular (PV) se midió en todas las ratas entre 48 y 56 horas después de la administración de hCG, a las 17:00 y 20:00 h, que coincide con el pico nocturno del tiempo de liberación de prolactina. Se espera que la liberación endógena de prolactina se bloquee totalmente en ratas tratadas con quinagolida. Por tanto, el tiempo en el que se realizan las medidas de prolactina no es crucial en ratas tratadas con quinagolida. Sin embargo, el tiempo en el que se realizan las medidas de prolactina en ratas con SHO sin tratar con quinagolida es crucial. Por tanto, la permeabilidad vascular se

midió en todas las ratas a las 48 y 56 horas después de la administración de hCG, para reducir la variabilidad tanto como fue posible. Además, puesto que es técnicamente difícil medir la PV en más de 4-6 animales cada hora, y se requería que estas medidas se completaran en un intervalo de 3 horas, las pruebas se escalonaron durante cuatro días consecutivos, usando conjuntos (conjuntos designados 1-4 en la tabla 1, posteriormente) de 16-18 ratas cada día.

Resultados

Los datos de la PV para aproximadamente el 25% de las ratas se perdieron debido a un problema asociado con los filtros usados para evitar la interferencia de proteínas. Se cree que un contaminante ha estado presente en un lote de los filtros. Como resultado, el colorante azul de Evans cambió a color verde pálido o amarillo justo después de su paso a través del filtro. Los filtros contaminados se cambiaron una vez que se identificó el problema. Sin embargo, la mayoría de los líquidos peritoneales extravasados obtenidos para el conjunto 3 se perdieron (como se indica en el conjunto de datos brutos en la tabla 1, a continuación).

Tabla 1

Datos brutos: efecto de quinagolida sobre la permeabilidad vascular en ratas con SHO

Número de rata	Quinagolida (µg/kg/día)	Peso corporal de la rata (g)	Absorbancia a 595 nm	µg de azul de Evans (Abs * 4360)	µg de AE por 100 g de peso corporal
Conjunto 1					
1	0	77	0,468	2040,48	26,49974026
2	0,1	72	0,35	1526	21,19444444
3	0,3	72	0,28	1220,8	16,95555556
4	1	62	0,396	1726,56	27,84774194
5	3	66	0,09	392,4	5,945454545
6	10	74	0,418	1822,48	24,62810811
7	25	68	0,299	1303,64	19,17117647
8	50	72	0,179	780,44	10,83944444
9	Cb: 150 ug/kg	72	0,356	1552,16	21,55777778
10	0	75	0,405	1765,8	23,544
11	3	74	Peritoneo roto, sln. salina no retenida		

ES 2 349 657 T3

26

12	0,3	65	0,547	2384,92	36,69107692
13	1	66	0,341	1486,76	22,52666667
14	3	64	0,394	1717,84	26,84125
15	10	74	0,145	632,2	8,543243243
16	25	70,5	0,311	1355,96	19,23347518
17	50	73,5	0,048	209,28	2,847346939
Conjunto 2					
18	Cb: 150 ug/kg	70	0,034	148,24	2,117714286
19	0	72,5	0,363	1582,68	21,83006897
20	0,1	72,5	0,081	353,16	4,871172414
21	0,3	70	0,768	3348,48	47,83542857
22	1	76	0,389	1696,04	22,31631579
23	3	79,5	0,181	789,16	9,926540881
24	10	66	0,188	819,68	12,41939394
25	25	69	0,042	183,12	2,653913043
26	50	72	0,151	658,36	9,143888889
27	Cb: 150 ug/kg	La rata murió			
28	0	72,5	0,303	1321,08	18,2217931
29	0,1	74,5	0,646	2816,56	37,8061745
30	0,3	72,5	0,342	1491,12	20,56717241
31	1	70	0,424	1848,64	26,40914286
32	3	68,5	0,584	2546,24	37,17138686
33	10	72,5	0,328	1430,08	19,72524138
34	25	72	0,669	2916,84	40,51166667
35	50	68	0,358	1560,88	22,95411765
				4360	#DIV/0!
Conjunto 3					
1	25	73	PERDIDO		
2	10	72,5	PERDIDO		
3	3	75	PERDIDO		
4	1	81	PERDIDO		
5	0,3	75	PERDIDO		
6	0,1	80	PERDIDO		
7	0	78	PERDIDO		
8	Cb: 150 ug/kg	67	0,1	436	6,507462687
9	25	80	PERDIDO		
10	10	82	PERDIDO		
11	3	75	PERDIDO		
12	1	81	PERDIDO		
13	0,3	75	PERDIDO		
14	0,1	81	PERDIDO		
15	0	82	PERDIDO		
16	Cb: 150ug/kg	70	0,1	436	6,228571429
Conjunto 4					
17	25	74	PERDIDO		
18	10	81	PERDIDO		
19	3	69	0,369	1608,84	23,31652174
20	1	78	0,256	1116,16	14,30974359
21	0,3	80	PERDIDO		0
22	0,1	76	PERDIDO		
23	Control	73	0,494	2153,84	29,50465753
24	Cb: 150 ug/kg	71	0,293	1277,48	17,99267606
25	25	77,5	0,08	348,8	4,500645161
26	10	73	0,626	2729,36	37,38849315

27	3	81,5	0,581	2533,16	31,08171779
28	1	72,5	0,205	893,8	12,32827586
29	0,3	75	0,444	1935,84	25,8112
30	0,1	70	0,338	1473,68	21,05257143
31	Control	78	0,327	1425,72	18,27846154
32	50	74,5	0,09	392,4	5,267114094
33	50	75	0,215	937,4	12,49866667

Clave:

AE = azul de Evans

Cb = cabergolina (usada como control positivo)

5 La permeabilidad vascular se expresa como μg de colorante azul de Evans extravasado por 100 g de peso corporal en cada animal. Los datos brutos de la tabla 1, anterior, se usaron para generar los resultados representados en forma gráfica en la figura 1. Los resultados presentados en la figura 1 representan la media de los resultados para los controles de vehículo (sin quinagolida), controles positivos (cabergolina) y para cada una de las cantidades administradas de quinagolida (0,1, 0,3, 1, 3, 10, 25 y 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal) en cada rata así probada.

15 **Ejemplo 3. Experimentos de dosis respuesta que ensayan el efecto de quinagolida sobre permeabilidad vascular en ratas con SHO (reevaluación)**

20 Puesto que algunos de los datos del ejemplo 2 se perdieron (véase la tabla 1), se realizó el ejemplo 5 para reevaluar el efecto de quinagolida sobre la permeabilidad vascular en ratas con SHO.

25 Para el ejemplo 3, se probaron tres dosis de quinagolida: 5, 50, 250 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$. La dosis de 250 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ se probó para determinar se había alcanzado el potencial máximo del efecto inhibidor de quinagolida en el ejemplo 2.

Los procedimientos generales se realizaron como se explicado anteriormente.

30 Para este estudio se usaron un total de 26 ratas. Se administró a las 26 ratas PMSG/hCG para inducir síntomas de SHO, como se ha descrito anteriormente. Se administró quinagolida a 18 ratas, divididas en tres grupos de seis ratas por grupo. Las 18 ratas que recibieron quinagolida se usaron como un grupo de

prueba de dosis respuesta. Ocho ratas no recibieron quinagolida y se usaron como un grupo de vehículo control. Para este ejemplo no se empleó un grupo control positivo. Los detalles específicos de la pauta de dosis para cada grupo son como sigue:

5 **Grupo de vehículo control (quinagolida 0 µg/kg) (n=8).** Se implantaron microgránulos de prolactina placebo en ocho ratas, liberación de 5 días, entre las 10:00 y las 11:00 el día 26, justo después de la inyección con hCG (véase, procedimientos generales, anteriormente). Seis horas después de la implantación
10 de los microgránulos de prolactina placebo, a las ratas en este grupo se les administró por vía oral solución de vehículo (mezcla de alcohol:agua 1:6) (sin quinagolida). Recibieron otra administración oral de solución de vehículo 24 horas después.

Grupos experimentales (quinagolida a 5, 62,5 y 250
15 **µg/kg/día para 3 grupos de prueba de ratas) (n=6 en cada grupo** de prueba). Estas ratas se implantaron con microgránulos de prolactina, liberación de 5 días, entre las 10:00 y las 11:00 del día 26, justo después de la inyección con hCG (véase, procedimientos generales, anteriormente). Seis horas después de
20 la implantación de los microgránulos de prolactina (de modo que la prolactina tuviera un intervalo temporal apropiado para ser liberada), las ratas en estos tres grupos de prueba (seis ratas/grupo) recibieron una administración oral de quinagolida de 0,4, 5, 0,08 y 20 µg, respectivamente, diluida en 250 µl de
25 solución de vehículo. De esta manera, se alcanzaron las dosis deseadas de 5, 62,5 y 250 µg/kg a ser ensayadas. Veinticuatro horas después, se administró a las ratas en este grupo otra dosis de la misma cantidad de quinagolida.

Proceso de reconstitución y dilución para alcanzar dosis
30 **apropiadas de quinagolida para la administración oral.** Se usó un fármaco comercial, Norprolac®, como la fuente de quinagolida en este ejemplo. Cuatro píldoras de Norprolac®, que contenían cada una 150 µg de quinagolida (600 µg de quinagolida en total) se diluyeron en 6250 µl de agua destilada. Se añadió un volumen de
35 1250 µl de alcohol para alcanzar una solución de vehículo (mezcla de alcohol:agua 1:6) que contenía 80 µg de quinagolida

por ml de solución. Se diluyó en serie una alícuota de 1,5 ml (1:4, 1:12,5) en la misma solución de vehículo. Se dio una administración oral de 250 µl de cada solución de quinagolida a la rata apropiada en cada grupo el mismo día que se administró hCG (día 26), como se ha descrito. La solución madre restante se almacenó a 4°C, para ser usada de la misma manera 24 horas después, como se ha descrito. 250 µl de cada solución diluida en serie contenían 0,4, 5 y 20 µg de quinagolida, respectivamente. De esta manera, puesto que las ratas pesaban, de media, 75-80 g el día 26 (cuando se administró la quinagolida), se alcanzaron las dosis deseadas de 5, 50 y 250 µg/kg. La solución de vehículo (mezcla de alcohol:agua 1:6), sin quinagolida, se administró al grupo de ratas de control positivo, como se ha descrito.

Resultados

Los datos brutos obtenidos para el ejemplo 3 se presentan en la tabla 2 a continuación.

Tabla 2
Datos brutos: efecto de quinagolida sobre la permeabilidad vascular en ratas con SHO (reevaluación)

Número de rata	Quinagolida (µg/kg/día)	Peso corporal de la rata (g)	Absorbancia a 595 nm	µg de azul de Evans (Abs * 4360)	µg de AE por 100 g de peso corporal
1	66	5	0,335	1460,6	22,13030303
2	71,5	62	0,201	876,36	12,25678322
3	76	250	0,03	130,8	1,721052632
4	76	0	0,493	2149,48	28,28263158
5	70	5	0,622	2711,92	38,74171429
6	69,5	62	0,115	501,4	7,214388489
7	55	250	0,036	156,96	2,853818182
8	72	0	0,394	1717,84	23,85888889
9	72,5	5	0,924	4028,64	55,56744828
10	72,5	62	0,125	545	7,517241379
11	68,5	250	0,1709	745,124	10,87772263
12	74	0	0,294	1281,84	17,32216216
13	74,5	5	0,491	2140,76	28,73503356
14	69,5	62	0,256	1116,16	16,05985612
15	67,5	250	0,021	91,56	1,356444444
16	64	0	0,617	2690,12	42,033125
17	72	5	0,181	789,16	10,96055556
18	68,5	62	0,209	911,24	13,30277372

19	67	250	0,103	449,08	6,702686567
20	69	0	contaminación sanguínea	0	#VALOR!
21	66	0	0,42	1831,2	27,74545455
22	71,5	5	0,242	1055,12	14,75692308
23	71,5	0	0,473	2062,28	28,84307692
24	68,5	62	0,299	1303,64	19,03124088
25	77	0	1,03	4490,8	58,32207792
26	69,5	250	0,056	244,16	3,513093525

Clave:

AE = azul de Evans

La permeabilidad vascular se expresa como µg de colorante azul de Evans extravasado por 100 g de peso corporal en cada animal. Los datos brutos de la tabla 2, anterior, se usaron para generar los resultados representados en forma gráfica en la figura 2. Los resultados presentados en la figura 2 representan la media de los resultados para los controles de vehículo (sin quinagolida), controles positivos (cabergolina) y para cada una de las cantidades administradas de quinagolida (5, 50 y 250 µg/kg de peso corporal) en cada rata así probada.

REIVINDICACIONES

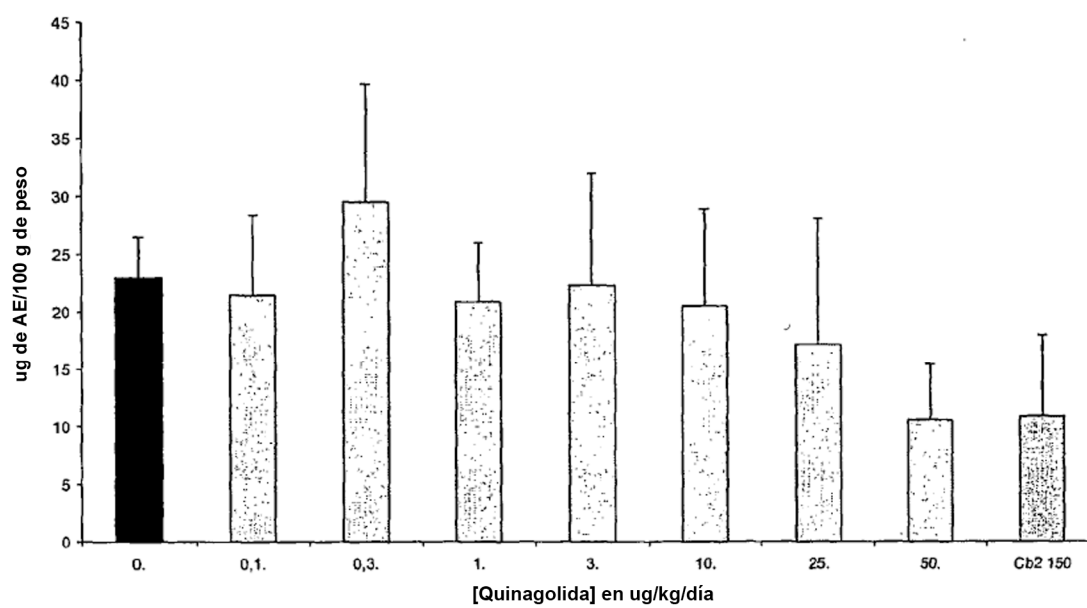
1. Una composición farmacéutica que comprende quinagolida en un portador farmacéuticamente aceptable para su uso en prevenir el síndrome de hiperestimulación ovárica en un sujeto que está siendo tratado para infertilidad con una hormona gonadotropina.
2. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en donde el tratamiento de infertilidad se selecciona del grupo que consiste en fertilización *in vitro* (FIV), inyección intracitoplásmica de espermatozoides (IICE), transferencia intrafalopiana de gametos (TIFG), transferencia intrafalopiana de cigoto (TIFZ) e inseminación intrauterina durante la estimulación ovárica controlada o inducción de la ovulación.
3. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1 o 2, en donde la quinagolida es para administración en un intervalo de dosis de entre alrededor de 0,025 hasta alrededor de 0,6 mg/día.
4. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3 en donde la quinagolida es para administración en un intervalo de dosis de entre alrededor de 0,05 hasta alrededor de 0,3 mg/día.
5. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3 o 4 para administración empezando el día de administración de coriogonadotropina humana (hCG).
6. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 5 para administración durante al menos alrededor de 6 hasta alrededor de 8 días y/o administración durante entre alrededor de 5 hasta alrededor de 48 días después de la administración de coriogonadotropina humana,

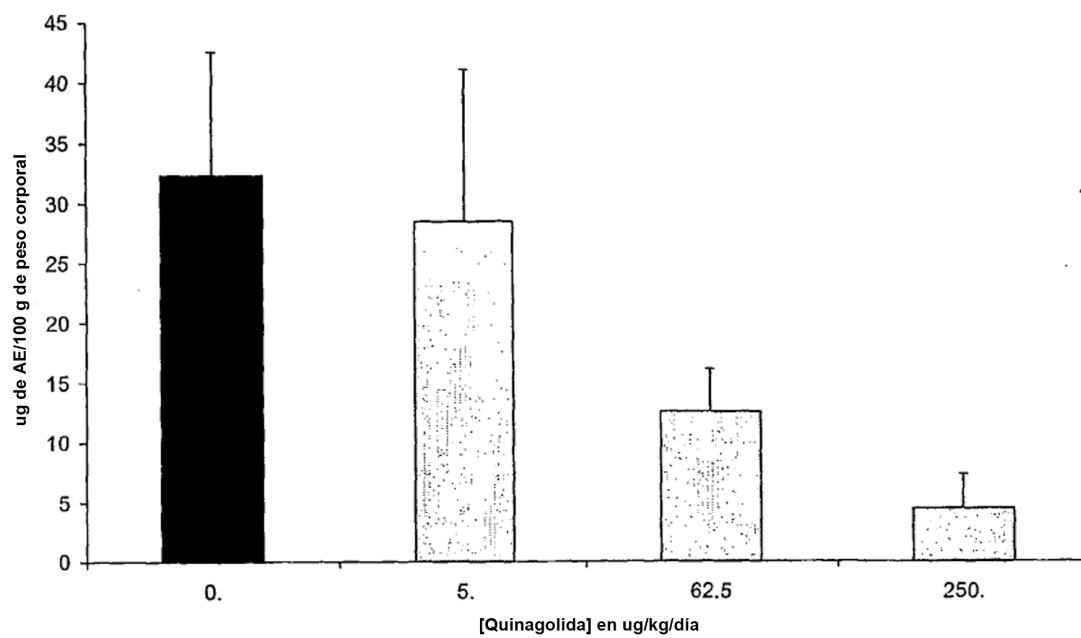
por ejemplo entre alrededor de 7 hasta alrededor de 28 días después de la administración de coriogonadotropina humana.

- 5 7. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3 o 4 para administración antes de desencadenar la ovulación final administrando coriogonadotropina humana.
- 10 8. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 7 para administración durante entre alrededor de 5 hasta alrededor de 48 días después de comenzar la administración de gonadotropina para la estimulación ovárica, por ejemplo entre alrededor de 7 hasta alrededor de 28 días después de comenzar la administración de
15 gonadotropina para la estimulación ovárica.
- 20 9. Una composición farmacéutica que comprende quinagolida en un portador farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento del síndrome de hiperestimulación ovárica.
- 25 10. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 9 en donde el síndrome de hiperestimulación ovárica está asociado con la administración de hormona gonadotropina, es idiopático y/o está asociado con la gestación.
- 30 11. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 9 o 10 en donde el síndrome de hiperestimulación ovárica es de leve a grave.
12. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 11 en donde el síndrome de hiperestimulación ovárica es grave y el sujeto está hospitalizado.
- 35 13. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 en donde la quinagolida es para

administración a una dosis de entre alrededor de 0,025 mg/día hasta alrededor de 0,6 mg/día.

- 5 14. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13 en donde la quinagolida es para administración a una dosis de entre alrededor de 0,05 mg/día hasta alrededor de 0,3 mg/día.
- 10 15. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 13 o 14 para administración durante entre alrededor de 1 día hasta alrededor de 28 días, por ejemplo entre alrededor de 7 días hasta alrededor de 14 días.
- 15 16. Uso de quinagolida en la fabricación de un medicamento para tratar el síndrome de hiperestimulación ovárica, o para la prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica en un sujeto que está siendo tratado para infertilidad con una hormona gonadotropina.

**Figura 1**

**Figura 2**