

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 478 790**

21 Número de solicitud: 201330071

51 Int. Cl.:

A61K 33/24 (2006.01)

A61P 15/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

22.01.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

22.07.2014

71 Solicitantes:

OXOLIFE, S. L. (100.0%)

C/ Nou, 53

08192 Sant Quirze del Vallès (Barcelona) ES

72 Inventor/es:

CANALS ALMAZÁN, Ignacio y

ARBAT BUGIÉ, Agnès

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

54 Título: **Uso de sales de tungsteno (VI) para el tratamiento de la infertilidad femenina en mamíferos no diabéticos**

57 Resumen:

Uso de una sal de tungsteno (VI) para el tratamiento de la infertilidad femenina en mamíferos no diabéticos.

La presente invención comprende el uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable, o un solvato de dicha sal para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina en mamíferos no diabéticos.

ES 2 478 790 A1

DESCRIPCIÓN

5 Uso de sales de tungsteno (VI) para el tratamiento de la infertilidad femenina en mamíferos no diabéticos

La invención se refiere al campo de la fertilidad. En particular, se refiere al uso de sales de tungsteno (VI) para el tratamiento de la infertilidad femenina.

ESTADO DE LA TÉCNICA

10 La infertilidad puede ser definida como el fallo para conseguir un embarazo en un periodo de 1 año de relaciones sexuales no protegidas y regulares. En particular, la infertilidad femenina puede referirse a la incapacidad de concebir y/o de llevar a término un embarazo. A pesar de las dificultades para estimar la prevalencia de la infertilidad, se acepta de forma general, que una de cada cuatro mujeres son infértiles en alguna etapa de la edad reproductiva.

15 Las principales causas de infertilidad entre las mujeres incluyen disfunciones ovulatorias, patologías del tracto reproductivo, reducciones en la calidad de los oocitos y la depleción folicular inherentes al envejecimiento, Sin embargo, también existe un porcentaje considerable de mujeres con infertilidad inexplicada, también denominada infertilidad idiopática, de la que una de las posibles causas podría estar relacionada con deficiencias en el proceso de implantación.

20 En particular, entre las múltiples causas biológicas de la infertilidad en la mujer se pueden destacar las causas ligadas a desórdenes de los estímulos hormonales que regulan el desarrollo folicular, la ovulación, la migración del óvulo inmaduro (oocito), así como la posterior concepción e implantación del cigoto en la pared uterina. Todo este proceso se encuentra regulado por secreciones hormonales de ciertos órganos endocrinos como por ejemplo la hipófisis, el hipotálamo y la glándula tiroides.

25 Así, podemos destacar entre las principales causas de infertilidad las alteraciones en la ovulación tales como la falta de ovulación, así como las patologías asociadas a alteraciones anatómicas o funcionales del tracto reproductor y del útero que pueden alterar la implantación del cigoto.

30 Se conocen diferentes tratamientos para la infertilidad femenina entre los que se encuentran la administración de medicamentos para tratar la infertilidad relacionados con los problemas hormonales como alteraciones de la ovulación; y las técnicas de inseminación intrauterina y fecundación in vitro.

35 Sin embargo, el porcentaje de embarazos conseguidos mediante los tratamientos mencionados anteriormente presentan algunas limitaciones. Así, por ejemplo, se ha observado que el tratamiento de mujeres cuya ovulación es irregular o ausente mediante la administración de citrato de clomifeno, un fármaco de la familia de los estilbenos, permite la restauración de la ovulación en un porcentaje elevado, pero la tasa de embarazo continua siendo baja, aproximadamente igual o inferior al 50%.

40 Por otro lado, los tratamientos de fecundación in vitro son muy efectivos en la etapa de fecundación del oocito. Sin embargo, la tasa de transferencia (implantación de los embriones en la pared uterina) es baja. Esto promueve las transferencias múltiples de embriones por cada ciclo de fecundación in vitro, con la consecuencia de un porcentaje mayor de embarazos múltiples considerados de riesgo.

45 Por último, es conocido que las alteraciones metabólicas como la diabetes o la obesidad conllevan una limitación de la fertilidad. Se conoce que la recuperación parcial o total de la glucemia, la

insulinemia y/o el peso corporal de ratones hembra diabéticos u obesos con la función reproductora dañada, comporta una mejora de la fertilidad.

5 Diferentes tratamientos farmacológicos, como la metformina o sales de tungsteno (VI), o incluso cambios en el estilo de vida, han demostrado mejorar la diabetes o alteraciones en la insulina, como por ejemplo la deficiencia o la resistencia a la insulina, consiguiendo recuperar la función reproductora total o parcialmente. En el caso concreto del tungstato sódico, se conoce que ratas con diabetes e insulinopenia inducida por la inyección de estreptozotocina, recuperan parcialmente los niveles de insulina circulantes tras un tratamiento prolongado (10 semanas) con tungstato sódico como consecuencia de revertir parcialmente la diabetes. Posteriormente, cuando las ratas hembras parcialmente recuperadas de la diabetes mencionadas anteriormente se aparean con machos sanos, se observa que, de forma paralela a la recuperación parcial de la diabetes, han recuperado parcialmente su capacidad reproductora. En particular, se observa que el porcentaje de partos con respecto al número de raspados positivos en los ratones hembras que habían sido parcialmente recuperadas de la diabetes tras un tratamiento con tungstato sódico aumenta hasta el 66%, porcentaje inferior a las hembras que no padecían diabetes donde el porcentaje es del 100%. (cf. J. Ballester y colaboradores, "Tungstate administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes", Human Reproduction, 2007, vol. 22, pp. 2128-2135).

20 En resumen, a pesar de los avances en los tratamientos de la infertilidad femenina, todavía algunos pacientes no se pueden beneficiar de las terapias disponibles en la actualidad por serles ineficaces. Por lo tanto, todavía hay una necesidad de encontrar nuevas terapias de tratamiento de infertilidad femenina que den una mayor eficacia.

25 EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

Los inventores han descubierto que el uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable, o un solvato de dicha sal es útil para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad en mamíferos hembra no diabéticas.

35 A pesar de que es conocido que el tungstato sódico puede revertir parcialmente las alteraciones en la función reproductora en ratones hembras diabéticas debido a que produce una normalización de los niveles de glucosa en sangre, el estado de la técnica no describe ni sugiere que el tungstato sódico puede tener actividad por sí mismo sobre la función del sistema reproductor femenino, para el tratamiento de la infertilidad femenina.

40 Cabe mencionar que es bien conocido en el estado de la técnica que el tungstato sódico ha demostrado ser efectivo en la normalización de los niveles de glucosa. En particular, el documento EP1400246 describe una composición farmacéutica de un compuesto de tungsteno (VI) para la disminución de la glicemia en humanos afectados de diabetes tipo 1 (IDDM) o diabetes tipo 2 (NIDDM).

45 Los inventores de la presente invención han demostrado que las sales de tungsteno (VI) constituyen un tratamiento eficaz para la recuperación de la ovulación y/o el aumento de la implantación del oocito de manera independiente a los cambios en el metabolismo de la glucosa o a los cambios en el peso corporal, y como consecuencia la administración de una sal de tungsteno (VI) es eficaz para el tratamiento de la infertilidad en mamíferos hembra no diabéticos.

50 Este aspecto también puede formularse como una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable, o un solvato de dicha sal para su uso en el tratamiento de la infertilidad en mamíferos hembra no

5 diabéticas. También se refiere a un método para el tratamiento de una enfermedad o condición que cursa con infertilidad en mamíferos hembra no diabéticas que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable, o un solvato de dicha sal de la presente invención a los mamíferos que necesiten dicho tratamiento.

10 Realizaciones particulares y preferidas descritas a continuación que se refieren al uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable, o un solvato de dicha sal para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad en mamíferos hembra no diabéticas son también realizaciones particulares y preferidas de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable, o un solvato de dicha sal para su uso en el
15 tratamiento de la infertilidad en mamíferos hembra no diabéticas, así como de un método para el tratamiento de una enfermedad o condición que cursa con infertilidad en mamíferos hembra no diabéticas. Además, la presente invención abarca todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas descritas en el presente documento.

20 La expresión "grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable" como se usa aquí, se refiere a cualquier catión no tóxico orgánico o inorgánico aceptable que sea capaz de formar una sal terapéuticamente efectiva de tungsteno (VI) y sea apropiado para su uso en terapia farmacéutica o veterinaria.

25 El anión tungstato está siempre acompañado por un grupo catiónico formando una sal neutra de tungstato. En una realización de la presente invención, las sales de tungsteno (VI) son aquellas que comprenden grupos catiónicos seleccionados entre el grupo que consiste en cationes alcalino o alcalinotérreo. Son preferidas las sales cuyo grupo catiónico se selecciona entre el grupo que consiste en sodio, potasio, magnesio y calcio. Preferiblemente, la sal de tungsteno (VI) es la sal sódica de tungsteno (VI).

30 Los solvatos de las sales de tungsteno (VI) y su uso para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina en mamíferos no diabéticos también forman parte de la invención. En una realización de la invención el solvato es el solvato dihidrato de una sal de tungsteno (VI) tal y como se ha definido anteriormente. Preferiblemente, el solvato de la sal de tungsteno (VI) es el dihidrato de tungstato sódico que se encuentra disponible comercialmente.

35 En una realización de la invención el mamífero es un humano. En una realización preferida, la sal de tungsteno (VI) de la presente invención es útil para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina que cursa con una alteración del eje hipotalámico-hipofisario. Entre las enfermedades o condiciones que cursan con una alteración del eje
40 hipotalámico-hipofisario se incluyen entre otras, síndrome ovario poliquístico, síndrome metabólico, hiperprolactinemia, endometriosis, desórdenes alimentarios, obesidad, hipotiroidismo, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus eritematoso, cirrosis, artritis reumatoide, celiacía, fallo renal crónico y causas idiopáticas.

45 En una realización preferida, la sal de tungsteno (VI) de la presente invención es útil para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina idiopática. El concepto "infertilidad idiopática" o "infertilidad sin causa aparente" o "infertilidad inexplicada" tiene el mismo significado y se utilizan indistintamente. Estos conceptos se refieren a aquellos casos de infertilidad en los que en las pruebas estándar de esterilidad no se ha encontrado una causa para
50 el fracaso de conseguir un embarazo.

En otra realización preferida, la sal de tungsteno (VI) de la presente invención es útil para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina por desórdenes

alimentarios. Entre los desórdenes alimentarios que cursan con una alteración del eje hipotalámico-hipofisario se incluyen entre otras, la anorexia nerviosa y bulimia.

5 Por el término "ovulación" se entiende aquel proceso por el cual la mujer libera los oocitos al útero, y por el término "restauración de la ovulación" se entiende el proceso por el cual se reestablece el ciclo menstrual, es decir se reestablece el proceso de liberación del oocito al útero de manera regular en mujeres que no ovulaban (anovulación) o lo hacían de manera irregular (oligoovulación).

10 Tal y como se pone de manifiesto en los resultados de la Tabla 1 en los ejemplos, la administración de una sal de tungsteno (VI) permite la restauración del ciclo estral de manera rápida (transcurridos únicamente 7 días desde el inicio del tratamiento) en un 100% de los ratones hembras no diabéticas tratados. La restauración de la ovulación se produce en un intervalo de tiempo en el que la administración de la sal de tungsteno (VI) de la presente invención no modifica
15 ni el peso corporal ni la glucemia de los ratones hembra tratados (cf. Tablas 3 y 4). Así, una realización de la invención se refiere al uso de la sal de tungsteno (VI) definida anteriormente, o un solvato del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina que comprende la restauración de la ovulación.

20 Por otro lado, tal y como se pone de manifiesto en los resultados de la Tabla 2 en los ejemplos, la administración de una sal de tungsteno (VI) permite la implantación de una media de 5 embriones implantados o crías nacidas en un 80% de los ratones hembras no diabéticas tratados que restauraron el ciclo estral normal. Así, una realización de la invención se refiere al uso de una sal de tungsteno (VI) definida anteriormente, o un solvato del mismo para la preparación de un
25 medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina que comprende aumentar la implantación del cigoto en la pared uterina.

Una realización de la invención se refiere al uso de la sal de tungsteno (VI) definida anteriormente, o un solvato del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la
30 infertilidad femenina que comprende la restauración de la ovulación y aumentar la implantación del cigoto en la pared uterina.

35 Así, el uso de una sal de tungsteno (VI) es útil para el tratamiento de la infertilidad femenina al aumentar la tasa de embarazo. El tratamiento de la presente invención puede ser útil como tratamiento farmacológico alternativo a los ya existentes para la normalización de la ovulación y/o el aumento de la implantación del oocito en la pared uterina; o como tratamiento asociado a las técnicas de inseminación intrauterina y/o fecundación in vitro para aumentar la tasa de implantación de los embriones en la fase de transferencia.

40 Una realización de la invención se refiere al uso de la sal de tungstato (VI), o un solvato del mismo cuando dicha sal de tungstato forma parte de una composición farmacéutica o veterinaria que además comprende excipientes o portadores farmacéuticamente o veterinariamente aceptables. En una realización de la invención, la composición farmacéutica o veterinaria es una
45 composición de administración vía oral. Son de especial interés composiciones orales sólidas tales como comprimidos y cápsulas; y composiciones orales líquidas tales como soluciones o suspensiones orales.

50 La expresión "excipiente o portador farmacéuticamente o veterinariamente aceptable" se refiere a los excipientes o portadores apropiados para su uso en la tecnología farmacéutica o veterinaria para la preparación de las composiciones con uso médico. Estos componentes, excipientes y portadores, deben ser compatibles con los otros ingredientes de la composición. También debe ser adecuado para su uso en contacto con el tejido u órgano de seres humanos y animales sin

excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otros problemas de inmunogenicidad o complicaciones a una razonable relación beneficio / riesgo.

- 5 Sales de tungsteno (VI) se han utilizado en terapia para el tratamiento de la obesidad o la diabetes. La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" como se usa aquí, se refiere a la cantidad de la sal de tungsteno (VI) que, cuando se administra, es suficiente para el tratamiento de la infertilidad femenina que se define en la presente invención. La dosis específicas de la sal de tungsteno (VI) de acuerdo con esta invención se determina por las circunstancias particulares que rodean al caso, incluyendo por ejemplo la sal administrada, la vía de administración, la composición farmacéutica o veterinaria administrada, así como las características del paciente que incluyen, entre otras, la talla, peso y edad; y la naturaleza y estadio de la enfermedad. Por ejemplo, puede utilizarse una cantidad de una sal de tungsteno (VI) definida anteriormente comprendida desde 50 hasta 500 mg/Kg/día.
- 10
- 15 Generalmente en roedores la cantidad terapéuticamente efectiva de la sal de tungsteno (VI) para el tratamiento de la infertilidad femenina tal y como se ha definido anteriormente puede estar comprendida desde 100 hasta 350 mg/Kg/día. Preferiblemente la cantidad farmacéuticamente efectiva está comprendida desde 150 hasta 280 mg/Kg/día.
- 20 En los ejemplos de la presente invención se ha demostrado el efecto de la sal de tungsteno (VI) para el tratamiento de la infertilidad femenina en mamíferos no diabéticos en un modelo animal denominado IRS^{-/-}. Estos ratones hembras son un buen modelo de ratón infértil no diabético. Además, este modelo animal también es un buen modelo para mujeres infértiles no diabéticas.
- 25 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Además, la palabra "comprende" incluye el caso "consiste en". Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.
- 30

EJEMPLOS

1. DESCRIPCIÓN DEL MODELO ANIMAL (RATONES HEMBRAS IRS² ^{-/-})

- 35 El modelo de ratón IRS²^{-/-} es un knock-out del gen *Irs2* (Burks y colaboradores, "IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis", *Nature*, 2000, vol. 407, pp. 377-382). La delección del gen *Irs2* se traduce en un claro dimorfismo sexual en relación a la fertilidad y al metabolismo de los carbohidratos.
- 40 Los machos de este modelo presentan resistencia a la insulina y una severa hiperglicemia iniciada desde edades tempranas. Por contra, las hembras se mantienen relativamente euglicémicas hasta edades avanzadas (4-5 meses).
- 45 Las hembras IRS²^{-/-} muestran un bajo desarrollo folicular y una anovulación persistente, acompañada de la ausencia del ciclo estral en la mayoría de los ratones. La tasa de embarazos de los ratones hembra IRS²^{-/-} es del 9% frente a una tasa del 100% en ratones hembra IRS^{wt} (IRS-2^{+/+} wild type).

2. ESTUDIO DE OVULACIÓN, IMPLANTACIÓN Y EMBARAZO

A. Animales

5 10 ratones hembra IRS2^{-/-} de edades comprendidas entre 6 y 8 semanas.

6 ratones macho "wild-type" (IRS2^{wt}) de edades comprendidas entre 6 y 8 semanas.

10 Los ratones hembras y machos se estabularon por separado en condiciones normales, es decir ciclo luz/oscuridad 12h y temperatura y humedad controladas. Los animales se alimentaron a voluntad (también denominado *ad libitum*) con dieta de pienso estándar.

B. Método

15 Fase de pre-tratamiento

Tras un periodo de aclimatación, los ratones hembra IRS2^{-/-} se estabularon en grupos de 4-6 ratones/jaula. Durante la fase de pre-tratamiento (2 semanas), a los animales se les administro el agua de bebida sin tungstato.

20

Fase de tratamiento

El tungstato sódico fue administrado en el agua de bebida (*ad libitum*) mediante una solución de 2 mg/ml de tungstato sódico dihidrato (comercializado por Carlo Erba) en agua destilada tras la fase de pre-tratamiento (día 0 de tratamiento) y hasta 4 semanas antes del sacrificio de los animales. La dosis diaria de tungstato sódico ingerida por los ratones es aproximadamente de 180 mg/kg de peso corporal.

25

Cruce

30

Tras las tres primeras semanas de tratamiento, los ratones hembra IRS2^{-/-} se estabularon en jaulas por parejas junto a un ratón macho IRS2^{wt} de forma continua.

Los ratones se observaron diariamente en busca de signos de embarazo o parto.

35

Tras 4 semanas se intercambiaron los machos entre las jaulas y se mantuvieron durante 4 semanas más.

La administración de tungstato se mantuvo durante las 8 semanas en las que machos y hembras se estabularon conjuntamente. Tras estas 8 semanas se retiró el tratamiento y se mantuvo la estabulación conjunta de machos y hembras durante 4 semanas adicionales.

40

Sacrificio

45 Transcurrido este periodo, las hembras fueron sacrificadas y biopsiadas en busca de indicios de embarazo.

C. Resultados

50 Resultados del Estudio de ovulación

Durante el periodo de pre-tratamiento y durante las 3 primeras semanas de tratamiento se realizaron frotis vaginales a 6 ratones hembras elegidos al azar en los días -8; -5; -2; -1; 7; 8; 14; 15 y 22, para determinar la fase del ciclo estral en que se encontraban.

5 Se introdujo en la vagina de los ratones entre 1 y 2 ml de solución salina con una pipeta pasteur. Con la misma pipeta se recogió el exudado vaginal y se extendió en un portaobjetos. Una vez secado al aire, se fijó y se tiñó con la técnica de Papanicolau.

10 La técnica de Papanicolau comprende realizar la tinción de los frotis vaginales fijados en el portaobjetos de la siguiente manera:

- 10 inmersiones en alcohol 50 % v/v;
- Sumergir en solución de hematoxilina de Harris durante 3 minutos;
- Enjuagar con agua corriente;
- 15 - 10 inmersiones en Alcohol Acido (1% Ac. Clorhídrico);
- Enjuagar con agua corriente;
- 10 inmersiones en Alcohol 95 % v/v;
- Sumergir en solución OG-6 durante 30 segundos;
- 10 inmersiones en alcohol 96 % v/v;
- 20 - Sumergir en solución de eosina durante 1 minuto;
- 10 inmersiones en alcohol 96 % v/v;
- 10 inmersiones en alcohol 86 % v/v; y
- 10 inmersiones en xilol

25 Las preparaciones se analizaron por personal entrenado y utilizando una codificación y a ciego simple para eliminar el sesgo del observador.

30 Las muestras se identificaron en las siguientes fases: diestro, proestro, estro, metaestro, anestro o no evaluable. La ciclicidad de las cuatro fases en periodos de 4 a 6 días, son indicadores de un ciclo estral normal, mientras que la ausencia de esta ciclicidad y la persistencia en fases anestro, diestro o proestro son indicadores de la ausencia del ciclo estral.

35 De los 10 ratones hembra sometidos a estudio, en la Tabla 1 se resumen las fases del ciclo estral de los frotis vaginales realizadas a 6 de estos ratones hembras IRS2^{-/-}.

Tabla 1

Nº Ratón	Tiempo (días)								
	-8	-5	-2	-1	7	8	14	15	22
<u>72</u>	<u>A</u>	<u>A</u>	<u>P</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>E-M</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>A</u>
<u>898</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E-M</u>	<u>M</u>	<u>M</u>
<u>926</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>E-M</u>	<u>E-M</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>P</u>
<u>928</u>	<u>D-P</u>	<u>D</u>	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E-M</u>	<u>M</u>	<u>A</u>
<u>942</u>	<u>A</u>	<u>D</u>	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>E</u>	<u>E-M</u>	<u>E-M</u>	<u>A</u>	<u>D</u>
<u>972</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>-</u>	<u>P</u>	<u>M</u>	<u>M</u>	<u>-</u>	<u>D</u>	<u>D</u>

40 Las fases del ciclo estral son las siguientes: A: Anestro; D: diestro; P: Proestro; E: Estro; y M: metaestro.

Las fases del ciclo estral encontrados en los frotis vaginales de los ratones hembras IRS2^{-/-} de la Tabla 1 muestran que durante el periodo de pre-tratamiento todos los ratones se encontraban en fase proestro (P) o diestro (D), es decir en ausencia de ciclo estral.

Mientras que tras el inicio de la administración de tungstato, se observa que los ratones hembras IRS2^{-/-} se encuentran en fases tardías del ciclo estral, estro (E) y metaestro(M), lo que es indicador de la recuperación del ciclo estral normal.

5 Estos resultados indican que la administración de una sal de tungsteno (VI) permite la recuperación rápida (al séptimo día de tratamiento) del ciclo estral en ratones hembra infértiles IRS2^{-/-} no diabéticas en el 100% de ratones analizados.

Resultados del Estudio de implantación y embarazo

10

Transcurrido el periodo de cruce del método del apartado B, las hembras fueron sacrificadas y se llevaron a cabo biopsias en busca de indicios de embarazo.

15

En la tabla 2 se resume la edad en el momento del tratamiento, si hubo embarazo y el número de embriones por hembra.

Tabla 2

Nº Ratón	Edad (meses) al inicio del		Embarazo	Número de embriones Implantados o crías nacidas
	tratamiento	cruce		
72	10	12	SI	1 cría
942	10	12	SI	8 crías
928	10	12	SI	7 embriones
931	10	12	SI	3 crías
898	10	12	SI	7 embriones
900	10	12	NO	-
921	10	12	SI	6 embriones
926	10	12	SI	8 crías
972	8	10	NO	-
973	8	10	SI	7 embriones

20

Los resultados de la Tabla 2 muestran que mientras que la tasa de embarazo de los ratones hembra IRS2^{-/-} sin tratar es del 9%, la tasa de embarazo de los ratones hembra IRS2^{-/-} tratados con tungstato se incrementa hasta el 80%.

25

Además, estos resultados también muestran que la media de crías/embriones implantados por ratón hembra embarazo es de aproximadamente 5, número que se puede considerar comparable al número de crías de un ratón hembra.

30

Así, los resultados de las Tablas 1 y 2 demuestran que una sal de tungsteno (VI) es un tratamiento eficaz para la recuperación de la ovulación y/o el aumento de la implantación del oocito. Así, la administración de una sal de tungsteno (VI) tal y como se define en la presente invención es eficaz para el tratamiento de la infertilidad en mamíferos hembras no diabéticos.

3. ESTUDIO DE GLUCEMIA Y PESO CORPORAL

A. Animales

5 6 ratones hembra IRS2^{-/-} de edades comprendidas entre 6 y 8 semanas.

Los ratones hembras se estabularon en condiciones normales, es decir ciclo luz/oscuridad 12h y temperatura y humedad controladas. Los animales se alimentaron a voluntad (también denominado *ad libitum*) con dieta de pienso estándar.

10

B. Método

Fase de tratamiento

15 Tras un periodo de aclimatación, el tungstato sódico fue administrado en el agua de bebida (*ad libitum*) mediante una solución de 2 mg/ml de tungstato sódico dihidrato (comercializado por Carlo Erba) en agua destilada tras la fase de pre-tratamiento (día 0 de tratamiento) y durante 12 días.

20

C. Resultados

En los días 0, 2, 5, 7, 9 y 12 del período de tratamiento se monitorizó el peso corporal, y tras las 6 horas de ayuno de cada uno de los días mencionados anteriormente se determinó la glucosa en sangre, mediante la extracción de sangre de la vena caudal y con un sensor de glucosa (AccuTrend glucose sensor Roche. Mannheim, Germany).

25

En la tabla 3 se resume los niveles de glucemia expresados en mg/dl, y en la tabla 4 se resumen el peso corporal de los ratones en estudio expresada en gramos.

Tabla 3

30

Glucemias (mg/dl)	R1327	R1345	R1347	R1354	R1376	R1381	Promedio
Día 0	146	129	115	126	141	112	128,17
Día 2	136	128	118	110	105	107	117,33
Día 5	125	142	114	111	137	105	122,33
Día 7	140	110	106	89	133	135	118,83
Día 9	125	153	109	108	131	125	125,17
Día 12	136	116	111	86	123	141	118,83

Tabla 4

Peso corporal (g)	1327	1345	1347	1354	1376	1381	Promedio
Día 0	22,7	15,33	18,21	16,5	13,99	15,45	17,03
Día 2	22,9	14,84	18,98	17,01	14,18	16,04	17,33
Día 5	22,61	14,89	18,2	16,61	13,79	15,72	16,97
Día 7	22,42	15,07	17,81	16,35	13,74	15,66	16,84
Día 9	22,85	15,56	17,9	16,89	14,5	16,39	17,35
Día 12	23,15	15,91	18,24	17,19	14,92	16,89	17,72

Los resultados de la Tabla 3 y 4 muestran que durante la administración de tungstato sódico no se observan variaciones en el peso corporal ni en la glucemia en los primeros 12 días de tratamiento, el mismo período durante el cual a partir del 7 día de tratamiento ya se consigue la restablecer de la ovulación en los ratones hembras ensayados (cf. Tabla 1).

5

Así, los resultados de las Tablas 1 a 4 demuestran que una sal de tungsteno (VI) es un tratamiento eficaz para la recuperación de la ovulación y/o el aumento de la implantación del oocito, de manera independiente de cambios en el peso corporal y cambios en el metabolismo de los carbohidratos. Así, se demuestra que la administración de una sal de tungsteno (VI) tal y como se define en la presente invención tiene un efecto directo sobre el sistema reproductor femenino y por lo tanto es eficaz para el tratamiento de la infertilidad en mamíferos hembras no diabéticos.

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable, o un solvato del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina en mamíferos no diabéticos.
2. Uso según reivindicación 1, donde el mamífero es un humano.
- 10 3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el grupo catiónico es un catión alcalino o alcalinotérreo.
- 15 4. Uso según reivindicación 3, donde el grupo catiónico se selecciona entre el grupo que consiste en sodio, potasio, magnesio y calcio.
5. Uso según reivindicación 4, donde la sal de tungsteno (VI) es la sal sódica de tungsteno (VI).
6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el solvato es el dihidrato.
- 20 7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde el tratamiento de la infertilidad femenina comprende la restauración de la ovulación.
- 25 8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el tratamiento de la infertilidad femenina comprende aumentar la implantación del cigoto en la pared uterina.
9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde la infertilidad femenina cursa con una alteración del eje hipotalámico-hipofisario.
- 30 10. Uso según reivindicación 9, donde la alteración del eje hipotalámico-hipofisario se selecciona entre el grupo que consiste en síndrome ovario poliquístico, síndrome metabólico, hiperprolactinemia, endometriosis, desórdenes alimentarios, obesidad, hipotiroidismo, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus eritematoso, cirrosis, artritis reumatoide, celiaquía, fallo renal crónico y causas idiopáticas.
- 35 11. Uso según reivindicación 10, donde la alteración del eje hipotalámico-hipofisario es por causas idiopáticas.
- 40 12. Uso según reivindicación 10, donde los desórdenes alimentarios se seleccionan entre anorexia nerviosa y bulimia.
13. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-12, donde la sal de tungsteno (VI), o un solvato del mismo forma parte de una composición farmacéutica o veterinaria que además comprende excipientes o portadores farmacéuticamente o veterinariamente aceptables.
- 45 14. Uso según reivindicación 13, donde la composición farmacéutica o veterinaria es una composición de administración vía oral.
- 50 15. Uso según reivindicación 14, donde la composición de administración vía oral es una composición líquida.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201330071

②② Fecha de presentación de la solicitud: 22.01.2013

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K33/24** (2006.01)
A61P15/00 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	BALLESTER J et al. Tungstate administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes. Human Reproduction (Oxford) AGO 2007 08.2007 VOL: 22 No: 8 Págs: 2128-2135 ISSN 0268-1161 Doi: doi:10.1093/humrep/dem168, tablas 1 y 2, página 2129, columna 1, último párrafo y página 2134, columna 2, primer párrafo	1-15
A	ES 2275873 T3 (QUIMICA FARM BAYER SA) 16.06.2007, todo el documento.	1-15
A	ES 2108642 A1 (QUIMICA FARM BAYER SA) 16.12.1997, todo el documento.	1-15
A	US 2008206356 A1 (GUINOVART CIRERA JOAN JOSEP et al.) 28.08.2008, todo el documento.	1-15

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
29.11.2013

Examinador
H. Aylagas Cancio

Página
1/4

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

A61K, A61P

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

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, XPESP, XPESP2, REGISTRY, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 29.11.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-15	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-15	SI
	Reivindicaciones	NO

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

Base de la Opinión.-

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

1. Documentos considerados.-

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	BALLESTER J et al. Tungstate administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes. Human Reproduction (Oxford) AGO 2007 08.2007 VOL: 22 No: 8 Págs: 2128-2135 ISSN 0268-1161 Doi: doi:10.1093/humrep/dem168, tablas 1 y 2, página 2129, columna 1, último párrafo y página 2134, columna 2, primer párrafo.	31.07.2007
D02	ES 2275873 T3 (QUIMICA FARM BAYER SA)	16.06.2007
D03	ES 2108642 A1 (QUIMICA FARM BAYER SA)	16.12.1997
D04	US 2008206356 A1 (GUINOVART CIRERA JOAN JOSEP et al.)	28.08.2008

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

La presente solicitud se refiere al uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéuticamente o veterinariamente aceptable, de preferencia dicho grupo consiste en sodio, potasio, magnesio y calcio, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la infertilidad femenina en mamíferos no diabéticos. La infertilidad cursa con una alteración del eje hipotalámico-hipofisario.

Los documentos encontrados en el estado de la técnica se refieren al uso de sales de tungsteno (VI) en el tratamiento de la obesidad en mamíferos obesos pero no diabéticos (documento D2), en el tratamiento oral de la diabetes mellitus (documento D2) y en el tratamiento de desordenes degenerativos (documento D3).

El documento D1 se refiere a un estudio sobre la administración de tungstato para la mejora de la función sexual y reproductora en ratas hembras con una diabetes inducida por estreptozotocina. Se comprueba cómo se mejora la capacidad reproductiva de dichas ratas con el empleo de una solución bebida de 2 mg/ml durante 12 semanas (ver tablas 1 y 2, página 2129, columna 1, último párrafo y página 2134, columna 2, primer párrafo).

Por lo tanto, en ninguno de los documentos citados se cita la utilización de animales con infertilidad, pero no diabéticos.

En consecuencia, la materia correspondiente a las reivindicaciones 1-15 de la presente solicitud tienen novedad y actividad inventiva según los artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.