

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 533 101**

51 Int. Cl.:

A61K 31/567 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 31/569 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 15/18 (2006.01)

A61P 15/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2011 E 11714245 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.01.2015 EP 2552404**

54 Título: **Forma medicamentosa parenteral que libera inhibidores de aromatasa y gestágenos, para el tratamiento de la endometriosis**

30 Prioridad:

31.03.2010 DE 102010003494

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.04.2015

73 Titular/es:

**BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH
(100.0%)**

**Alfred-Nobel-Strasse 10
40789 Monheim, DE**

72 Inventor/es:

**PAKKALIN, ARTO;
KNAUTHE, RUDOLF;
SCHMITZ, HEINZ;
TALLING, CHRISTINE;
JUKARAINEN, HARRI y
KOROLAINEN, HENRIIKKA**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 533 101 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Forma medicamentosa parenteral que libera inhibidores de aromatasas y gestágenos, para el tratamiento de la endometriosis

5 El contenido de la presente invención para el tratamiento de la endometriosis es la habilitación de una forma medicamentosa parenteral (sistema de suministro) para la liberación controlada de anastrozol con una tasa que no induce estimulación alguna de los ovarios por un retro-acoplamiento negativo del eje hipófisis-ovario (ningún aumento de la secreción de gonadotropinas que induciría una estimulación del desarrollo de folículos) y levonorgestrel con una tasa que habilita un efecto anticonceptivo sobre la base de efectos locales conocidos (tales como, p. ej. reducción y espesamiento de la mucosa cervical con el fin de impedir el ascenso de esperma, efectos sobre el endometrio y la motilidad de los tubos con el fin de impedir la implantación y el transporte de óvulos). La combinación de un IA y de un gestágeno en dosificación inhibitoria de la ovulación conduciría, en virtud de una intensa represión de la síntesis de estrógenos propia del cuerpo, a síntomas de deficiencia en estrógenos (p. ej. sofocos, disminución de la densidad ósea). En virtud de las bajas dosificaciones utilizadas en esta invención (anastrozol sin regulación antagonista y levonorgestrel sin inhibición fiable de la ovulación) se minimiza eficazmente el riesgo de síntomas de deficiencia en estrógenos por parte de la combinación. La forma medicamentosa que se describe en esta memoria es una forma medicamentosa sobre una base polimérica que comprende al menos una cámara, en donde la una cámara o todas las cámaras abarca/abarcaban un núcleo o un núcleo rodeado por una membrana, en donde el núcleo y la membrana se componen esencialmente de las mismas composiciones poliméricas o de composiciones poliméricas diferentes, en donde al menos una cámara comprende anastrozol y al menos una cámara, que puede ser la misma cámara que comprende anastrozol, o diferente de ella, comprende levonorgestrel. La forma medicamentosa parenteral que es adecuada para la entrega de principios activos terapéuticos con una tasa de liberación controlada a lo largo de un espacio de tiempo prolongado, es un anillo intravaginal [IVR; las expresiones anillo intravaginal y anillo vaginal se utilizan de manera sinónima] ascendiendo el tiempo de aplicación a una 1 semana hasta 3 meses, preferiblemente a 4 hasta 6 semanas. Un IVR ofrece la ventaja adicional de desplegar efectos locales adicionales en lesiones del endometrio en la proximidad del lugar de aplicación.

La endometriosis es una enfermedad crónica que afecta a aproximadamente el 10% de las mujeres en edad fértil. La enfermedad se caracteriza por la presencia de tejido de tipo endometrio fuera de la cavidad uterina. Existen diferentes teorías sobre la patogénesis de la endometriosis. Probablemente, en la mayoría de los casos es desencadenada por una menstruación retrógrada en la que el tejido endometrial accede a la cavidad abdominal a través de las trompas de Falopio, en donde las células endometriales se adhieren a la superficie de tejidos y órganos abdominales con el fin de formar implantes endometriales ectópicos, es decir, lesiones endometrióticas.

Este tejido de tipo endometrio puede responder de la misma manera que el endometrio normal a variaciones del entorno hormonal durante el ciclo de menstruación, de modo que el tejido se comporta de la misma manera que el endometrio propiamente dicho en el caso de las variaciones de las concentraciones de estrógenos y progesterona. En el transcurso de la enfermedad, estas lesiones endometrióticas pueden, sin embargo, desacoplarse del ciclo de menstruación normal. La presencia de implantes endometriales sobre superficies abdominales (implantes endometriales) puede desencadenar reacciones inflamatorias que pueden representar, junto con el desarrollo de fibras nerviosas, las correspondencias para los síntomas típicos asociados a la endometriosis tales como, p. ej., dolor de bajo vientre, dismenorrea y dispareunia.

Los tratamientos actuales utilizados en la endometriosis se basan en la inhibición de la producción ovárica de estrógenos a través de la inhibición central del eje hipófisis-ovario (por ejemplo análogos de la hormona liberadora de gonadotropina [análogos de GnRH]. danazol, acetato de medroxiprogesterona, dienogest, contraceptivos orales combinados (COCs "combined oral contraceptives"). La inhibición de la producción ovárica de estrógenos conduce, sin embargo, en el tratamiento con análogos de GnRH a efectos secundarios que están asociados con la deficiencia de estrógenos tales como, p. ej., sofocos y descalcificación de los huesos como los más importantes, si durante el tratamiento no se añade estrógeno alguno. Otros efectos secundarios pueden comprender: hemorragia transitoria de la vagina, sequedad de la vagina, libido reducido, mastodinia, insomnio, depresión, irritabilidad y cansancio, dolor de cabeza y elasticidad reducida de la piel. Para reducir estos efectos secundarios bajo terapia con análogos de GnRH se desarrollaron los denominados planes de tratamiento Add-back, en los que a la terapia con análogos de GnRH se agregaron estrógenos (conjugados) o acetato de noretisterona (NETA, que es metabolizado en parte para formar estradiol). Ambas terapias (análogos de GnRH + estrógeno o análogos de GnRH + NETA) se aplican con toda su dosis eficaz, lo cual significa también que puede manifestarse el espectro completo de efectos secundarios a esperar de estas medicaciones. Los COCs administrados solos son también eficaces en el tratamiento de la endometriosis y no requieren terapia Add-Back alguna.

Al igual que también en los planes de tratamiento Add-back, mediante el tratamiento con COCs se aporta a la paciente estrógeno exógeno, en este caso el estrógeno fuerte etinilestradiol. La aportación exógena de estrógenos puede perjudicar en tal caso, en teoría, la actividad del gestágeno o del análogo de GnRH frente a la enfermedad dependiente de estrógenos endometriosis.

5 Por otra parte, la inhibición del eje hipófisis-ovario no tiene influencia alguna sobre los lugares de la producción de estrógenos fuera de los ovarios, lo cual pudiera tener una importancia decisiva para nuevas modalidades de tratamiento de la endometriosis. En investigaciones previas se encontró que la enzima aromatasa, la cual cataliza la transformación de testosterona y otros precursores andrógenos en estrógeno, es expresada en lesiones endometrióticas (Urabe M et al., Acta Endocrinol. (Copenh.) 1989, 121(2): 259-64, Noble LS et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 1996, 81(1): 174-9). En consecuencia, lesiones endometrióticas pueden producir cantidades localmente considerables de estradiol, lo cual podría explicar el fracaso del tratamiento de las terapias arriba mencionadas que únicamente inhiben la producción ovárica de estrógenos. Adicionalmente, se demostró que el mediador de la inflamación prostaglandina E2 actúa como un estimulador eficaz de la expresión de la aromatasa y refuerza adicionalmente la producción local de estrógenos en el medio inflamatorio de lesiones endometrióticas (Noble LS et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 1997, 82(2): 600-6).

En el caso de dosificaciones típicas (por ejemplo 1 mg/día de anastrozol) los IAs reducen el nivel sistémico de estrógeno de mujeres después de la menopausia en más de > 85% (Geisler J et al., J. Clin. Oncol. 2002, 20(3): 751-757). En mujeres antes de la menopausia, este efecto es reducido mediante una regulación antagonista a través del eje hipófisis-ovario (es decir, la percepción hipofisaria de niveles sistémicos reducidos de estrógenos conduce a la secreción de gonadotropinas que estimulan la síntesis de estrógenos en los ovarios y elevan, en parte, el efecto del IA), con lo cual se excita el desarrollo ovárico de folículos (este efecto es utilizado en el caso de las pacientes que padecen de una sub-fertilidad ovárica con el fin de excitar el desarrollo de folículos). Por este motivo, en varios ensayos clínicos en pacientes con endometriosis se utilizaron IAs en dosificaciones que se utilizan típicamente en el caso de mujeres después de la menopausia para el tratamiento del cáncer de mama, en combinación con medicamentos que inhiben la regulación antagonista, por ejemplo con NETA (Ailawadi RK et al., Fertility & Sterility 2004, 81(2): 290-296) o COCs (Amsterdam LL et al. 2005, Fertility & Sterility 2005, 84(2): 300-304). En el caso de estas combinaciones, junto a la inhibición de la regulación antagonista se considera como ventaja la disminución de los efectos secundarios ligados a la deficiencia de estrógeno. La administración de estrógeno exógeno o NETA en estas combinaciones puede, sin embargo, reducir la eficacia (véase antes) de IAs en el tratamiento de los síntomas de la endometriosis.

El documento WO 03/15872 describe un procedimiento para el tratamiento o la evitación de fibroides uterinos o endometriosis mediante la administración intravaginal de un IA a una paciente. La invención da a conocer la ventaja de efectos locales de una monoterapia con IAs y reivindica la disminución de efectos secundarios sistémicos mediante la administración local. La solicitud no da a conocer la combinación de un IA con un gestágeno en forma de una forma medicamentosa parenteral, en particular no una combinación de un IA con un gestágeno en un IVR o IUD. A diferencia de la presente invención, el documento WO 03/15872 no da a conocer agente alguno para conseguir un efecto anticonceptivo que es decisivo en la presente invención, ya que, en el caso de un perfil conveniente del producto, es de importancia decisiva impedir un embarazo cuando una mujer en edad fértil se encuentre bajo tratamiento con un IA. La solución técnica descrita en la presente invención es la combinación del IA y del efecto anticonceptivo de un gestágeno en una forma medicamentosa parenteral, con el fin de impedir la separación física de ambos y, de esta forma, excluir la posibilidad de que un IA se utilice sin una protección anticonceptiva para el tratamiento de la endometriosis. Esta posibilidad no se excluye cuando se utilizan dos formas medicamentosas físicamente separables.

También la combinación de un IA con un gestágeno (IA + NETA, Ailawadi RK et al., 2004) o con un COC (Amsterdam LL et al., 2005; documento WO 04/69260) se propuso para el uso oral. Ambas combinaciones deben impedir síntomas de la deficiencia de estrógenos mediante la administración exógena de actividad de los estrógenos (metabolismo de estrógenos de NETA; etinilestradiol en COCs). El inconveniente de estas modalidades de tratamiento y de la diferenciación de la invención descrita en esta solicitud estriba en que en ambos casos es necesaria la administración de actividad exógena de estrógenos (NETA es transformado en parte en estrógenos; COCs contienen el fuerte estrógeno etinilestradiol), con el fin de impedir efectos secundarios. Con ello se debilita el efecto farmacológico del IA sobre el tejido endometriótico. Además, estas divulgaciones no describen las ventajas de una aplicación local del IA que inhibe la aromatasa localmente expresada de lesiones endometriales en el entorno de la forma medicamentosa, con lo que se reduce la dosis necesaria para conseguir el efecto farmacológico completo deseado.

55 L.A. Hefler et al. han investigado en un estudio piloto el papel de anastrozol en pacientes con endometriosis recto-vaginal [Fertility and sterility (ISSN: 0015-0282) tomo: 84 (2005)]. También Hefler se contenta sin la adición de estrógeno exógeno en el tratamiento de la endometriosis. Sin embargo, Hefler no da a conocer utilizar contraceptivos con contenido en hormonas y no ha reconocido que puedan emplearse gestágenos cuando éstos,

como en el caso de la presente invención, se dosifican en baja cantidad y se administran localmente junto con anastrozol. Además de ello, Hefler administra en el estudio descrito adicionalmente, además, 1,2 gramos de calcio, así como 800 UI de vitamina D (colecalfiferol) con el fin de garantizar una absorción vaginal suficiente del anastrozol.

5 El documento US 2005/0101579 (Shippen et al.) da a conocer supositorios vaginales o rectales para el tratamiento de la endometriosis que contienen un inhibidor de aromatasa y el gestágeno progesterona. En el estudio casuístico dado a conocer se administran por vía oral diariamente 1 mg de anastrozol y 200 mg de progesterona y, adicionalmente, también 0,5 µg de calcitriol y 12,5 mg de Rofecoxib. El régimen allí descrito conducía, sin embargo, a una atrofia vaginal en virtud de una deficiencia de estrógenos, de modo que después de las primeras seis
10 semanas de tratamiento se hizo necesaria una administración de estrógenos. Un régimen "add back" de este tipo se impide en el caso de la presente invención.

La invención que se describe en la presente solicitud se acerca posiblemente mucho a la solicitud de patente WO 03/17973 que da a conocer la aplicación de IAs por vía vaginal, solos o en combinación con otros compuestos que afectan al metabolismo de los estrógeno tales como, p. ej., inhibidores de ciclooxigenasa-2 (inhibidores de COX-2) e inhibidores de 17-beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa-1 (inhibidores de 17βHSD-1). Además, la invención reivindica un procedimiento en el que no se inhibe la síntesis de estrógenos en los ovarios. La invención da a conocer la ventaja de combinaciones de IAs con otros medicamentos que influyen sobre el metabolismo de los estrógenos, a través de la aplicación local. La solicitud no da a conocer la combinación de un IA con un gestágeno en forma de una forma medicamentosa parenteral, en particular no una combinación de un IA con un gestágeno en
15 las dosificaciones descritas en un IVR. A diferencia de la presente invención, el documento WO 03/17973 no da a conocer agente alguno para conseguir un efecto anticonceptivo. También aquí es importante reconocer que sólo la combinación físicamente inseparable de la actividad de IA con el efecto anticonceptivo conduce a un producto conveniente.

En el documento US 2011/0033519 A1 (fecha de publicación: 10 de febrero de 2011) se describen formas medicamentosas que suministran localmente al tejido del útero inhibidores de aromatasa eventualmente en combinación con sustancias de acción contraceptiva. Con ello, deben tratarse o prevenirse enfermedades tales como mioma, adenomiosis y endometriosis. Dado que los gestágenos podrían estimular el desarrollo de miomas, se desaconseja su uso y, en su lugar, se prefiere cobre y otros metales nobles como principio contraceptivo. Dosis de inhibidores de IUD-aromatasa adecuadas se indican - p. ej. para anastrozol - con 1 µg - 10 mg/día. En el caso de un
25 tiempo de uso allí propuesto de 5 - 10 años, esto parece, sin embargo, apenas técnicamente realizable.

Un aspecto de la invención descrita en la presente solicitud en el caso de utilizar un IVR se basa en el concepto de la aplicación local de una dosis de un IA que no induce efectos reguladores antagonistas del eje hipófisis-ovario, pero muestra su efecto inhibidor de aromatasa en las lesiones endometrióticas. Sin efectos reguladores antagonistas como consecuencia de la administración de anastrozol, no existe necesidad alguna de utilizar un gestágeno o COCs para la inhibición del eje hipófisis-ovario, con lo que se posibilita una reducción de la dosis del gestágeno a la dosis necesaria para conseguir un efecto anticonceptivo por medio de mecanismos locales. De este modo se evitan síntomas de la deficiencia de estrógenos y no será necesaria una administración de estrógeno exógeno. Dado que la endometriosis es una enfermedad dependiente de estrógenos, no se perjudica la eficacia terapéutica del anastrozol debido a la ausente administración de estrógenos exógenos. Dado que también los gestágenos tienen un efecto inhibidor sobre la expresión de aromatasa, el gestágeno podría contribuir al efecto del anastrozol en la
35 presente invención.

Para evitar, por una parte, efectos reguladores antagonistas del eje hipófisis-ovario en la dosis mayor posible del anastrozol y, por otra parte, para alcanzar la mejor eficacia anticonceptiva de la anticoncepción basada en gestágeno con la dosis de gestágeno mayor posible por debajo de la dosis inhibidora de la ovulación, las sustancias activas deben emplearse en una formulación con liberación controlada que evite grandes fluctuaciones del nivel en suero que pudieran desencadenar un regulación antagonista por parte del eje hipófisis-ovario. Esto se consigue mediante una forma medicamentosa parenteral, preferiblemente mediante un IVR.
45

De este modo, en la invención que se describe en la presente solicitud se combina un tratamiento eficaz de la endometriosis con un procedimiento anticonceptivo fiable en un modo de aplicación que coopera a una elevada aceptación mediante una forma medicamentosa parenteral (ninguna absorción de anastrozol sin una protección anticonceptiva y, por lo tanto, ninguna exposición involuntaria de un embrión a anastrozol). A diferencia de los procedimientos descritos en el estado conocido de la técnica, la combinación conforme a la presente invención se reduce, tanto frente a la cantidad de anastrozol como a la de levonorgestrel, a la cantidad que se requiere para la eficacia, con lo que también se minimiza el riesgo de efectos secundarios desfavorables que está ligados con niveles reducidos de estrógenos, por ejemplo sofocos, descalcificación de los huesos, etc.
50
55

Con el fin de minimizar el riesgo de efectos secundarios que están ligados con una deficiencia de estrógenos, la exposición de levonorgestrel a la que se aspira en la presente invención se encontrará por debajo de la exposición que se alcanza mediante la administración de levonorgestrel con dosis inhibitoras de la ovulación (independientemente de la vía de administración), pero lo suficientemente altas como para proporcionar una eficacia anticonceptiva mediante efectos locales tal como se miden, por ejemplo, con la puntuación Insler (Insler V et al., Int. J. Gynecol. Obstet. 1972, 10: 223-228). Las dosis orales inhibitoras de la ovulación de diferentes gestágenos y levonorgestrel - que tras administración oral conducen a determinadas concentraciones en plasma o en suero específicas para gestágenos - se describen en la bibliografía tal como, p. ej., en Neumann F et al., Reproduktionsmedizin, 1998, 14: 257-264, y Taubert H D, Kuhl, H, Kontrazeption mit Hormonen, 2ª ed. 1995. Con fines ilustrativos: la dosis de anastrozol en la combinación no estimulará la actividad de los ovarios esencialmente más allá de los efectos típicos, basados sólo en gestágeno, esperados en la presente invención en la dosis de gestágeno a administrar. La estructura experimental para la determinación de la dosis de levonorgestrel y anastrozol se describe en la parte experimental.

La forma medicamentosa conforme a la invención, que comprende una combinación de anastrozol con levonorgestrel, es particularmente adecuada para el tratamiento de la endometriosis, al proporcionar ésta la actividad contra los síntomas ligados a la endometriosis y, con ello, minimiza el riesgo de efectos secundarios ligados a la deficiencia de estrógenos (por ejemplo, descalcificación de los huesos, sofocos). Al mismo tiempo, la invención proporciona una exposición diaria a levonorgestrel, no separable físicamente, con el fin de garantizar una eficacia anticonceptiva fiable y, con ello, evitar el riesgo de un embarazo con la subsiguiente exposición involuntaria del embrión a anastrozol. Este es un punto de vista principal de la invención, ya que mejora la seguridad del producto deseado de una manera razonable (véanse, a diferencia de ello, los documentos WO 03/15872 y WO 03/17973). Además, en el caso de la aplicación parenteral/local en una forma medicamentosa con tasa de liberación controlada tal como se materializa en la forma de realización (IVR), en contraposición a la aplicación oral, se puede alcanzar una dosificación adecuada, con el fin de alcanzar el resultado médico deseado con la mejor disminución posible de los efectos secundarios más importantes que están ligados a una exposición fluctuante a las sustancias activas (amplitud entre los mayores niveles en suero, por ejemplo después de la absorción de formulaciones orales, y profundos niveles en suero antes de la siguiente absorción. Además, puede ser particularmente ventajosa la aplicación local para el tratamiento de lesiones endometrióticas en la proximidad de la forma medicamentosa parenteral (por ejemplo, en el caso de endometriosis vaginal, endometriosis profunda infiltrante, adenomiosis o endometriosis de cul-de-sac).

Anastrozol es un compuesto que inhibe el efecto de la enzima aromatasas que, mediante un proceso denominado aromatización, transforma andrógenos en estrógenos. Mediante su efecto, anastrozol reduce o bloque la síntesis de estrógenos.

Una **forma medicamentosa parenteral**, tal como pasa a emplearse en la invención, es un IVR. Un IVR es una forma medicamentosa polimérica, esencialmente en forma de anillo, que proporciona una liberación controlada de sustancias activas a la vagina a lo largo de espacios de tiempo prolongados.

Tasa de liberación significa la cantidad de sustancia activa media liberada de la forma medicamentosa durante 24 horas, que se encuentra a disposición del tejido circundante para la absorción. El experto en la materia conoce que la tasa de liberación media puede disminuir de una forma medicamentosa parenteral a lo largo del espacio de tiempo de la aplicación.

Forma medicamentosa para la liberación controlada a largo plazo significa una forma medicamentosa arbitraria que es adecuada para la administración de medicamentos a lo largo de un espacio de tiempo prolongado y que evita fluctuaciones de niveles de medicamentos que son normalmente inducidos por formulaciones con una liberación inmediata (por ejemplo, comprimidos, inyecciones, etc.).

Un **gestágeno**, tal como pasa a emplearse en la presente invención, es levonorgestrel.

Un **gestágeno en una tasa de liberación diaria que se encuentra por debajo de la dosis inhibitora de la ovulación, pero que es lo suficientemente elevada como para proporcionar una protección anticonceptiva fiable** significa que efectos conocidos tales como, p. ej., la disminución y el espesamiento de la mucosa cervical que impiden el ascenso de espermatozoides, y efectos sobre el endometrio y sobre la motilidad de los tubos que impiden el implante y el transporte de óvulos, impiden la fecundación de los óvulos. Una dosificación de gestágenos típica para este efecto se encuentra en el preparado Microlut[®] con una dosificación en comprimido de 30 µg de levonorgestrel.

Dosis inhibitoras de la ovulación orales típicas son (Neumann F et al., Reproduktionsmedizin, 1998, 14: 257-264; Taubert H D, Kuhl, H, Kontrazeption mit Hormonen, 2ª ed. 1995):

Gestágeno	Dosis inhibitora de la ovulación [µg/día p.o.]	
	Neumann et al.	Tauber y Kuhl
Noretisterona	500	400
Acetato de noretisterona	500	
Linestrenol	2000	2000
Norgestimat	200	200
Levonorgestrel	50	60
Desogestrel	60	60
Gestoden	30	30
Dienogest	1000	
Acetato de clormadinona	1500-2000	1700
Acetato de ciproterona	1000	1000
Acetato de medroxiprogesterona	10	
Drospirenona	2000	
3-ceto-desogestrel		60

5 Observaciones: el experto en la materia conoce que los valores de la dosis inhibitora de la ovulación de gestágenos varían en cierta medida por motivos metodológicos y estadísticos. La dosis de levonorgestrel/exposición utilizada en la presente invención se encontrará por debajo de la exposición que conduciría, en el caso de una aplicación parenteral u oral, a una inhibición fiable de la ovulación. Para aplicaciones orales, la dosis inhibitora de la ovulación en la bibliografía y en los ejemplos se indica en la tabla precedente.

10 Cuando se desconoce la dosis inhibitora de la ovulación para un gestágeno dado, se determina la tasa de liberación a utilizar en una forma medicamentosa parenteral en un examen farmacocinético/farmacodinámico, midiéndose los efectos ováricos, cervicales y hormonales de diferentes dosificaciones de un gestágeno a utilizar (actividad de los ovarios mediante ultrasonidos transvaginales, nivel de hormonas en la sangre, puntuación Insler en la mucosa cervical). Como ejemplo de una dosis no inhibitora de la ovulación con seguridad, pero localmente eficaz, la
 15 exposición sistémica de levonorgestrel (LNG) después de la liberación a partir del IVR corresponde a una exposición de levonorgestrel después de administración oral en una dosificación de más 10 µg, pero menor que 50 µg al día.

El experto en la materia conoce que en el caso de un IVR sobre una base polimérica puede producirse, poco después de la introducción, una liberación considerablemente incrementada de las sustancias activas (el denominado efecto de estallido). IVRs sobre una base polimérica que muestran un efecto de estallido de este tipo
 20 poco después de la introducción se consideran también como reivindicados, aún cuando la tasa de liberación está incrementada durante la duración del efecto de estallido.

Un **inhibidor de aromatasa (IA) en una tasa de liberación diaria que no induce estimulación alguna de los ovarios a través de un retro-acoplamiento negativo del eje hipófisis-ovario** (ningún aumento de la secreción de gonadotropinas que induciría una estimulación del desarrollo del folículo) significa la dosis máxima que no induce
 25 desarrollo adicional alguno del folículo en comparación con el ciclo tratado con gestágenos tal como se examina mediante la determinación de niveles de hormonas en sangre (hormona estimulante del folículo = FSH, hormona luteinizante = LH, estradiol, progesterona) y mediciones por ultrasonidos transvaginales.

Cuando se desconoce para un IA dado, la tasa de liberación a utilizar en el caso de una forma medicamentosa parenteral se determina conforme al Ejemplo 2 de la presente solicitud. En el caso de anastrozol, la expresión
 30 sistémica alcanzada mediante la forma medicamentosa asciende, en promedio, a menos de la exposición provocada por 1 mg (o entre 0,1 mg y 0,9 mg) por día/oral. En este caso, se han de tener en cuenta fenómenos de acumulación farmacocinéticos.

El experto en la materia conoce que en el caso de un IVR, poco después de la introducción, se puede producir una liberación de sustancias activas considerablemente incrementada (el así denominado efecto de estallido). IVRs
 35 sobre una base polimérica que muestran un efecto de estallido de este tipo poco después de la introducción se consideran reivindicados, aún cuando esté incrementada la tasa de liberación durante la duración del efecto de estallido.

La aplicación en un IVR proporciona una formulación favorable con una variabilidad escasa del nivel en suero del medicamento, en el que se evita el metabolismo de la sustancia medicamentosa en el primer paso por el hígado y se mejora la aceptación de tratamiento, ya que no es necesario recordar diariamente la toma del medicamento. En particular, el principio anticonceptivo de la píldora de gestágeno (POP, "Progestin only pill") requeriría, en una dosificación por debajo de la dosis inhibitoria de la ovulación, un esquema de toma exacto con el fin de garantizar un efecto anticonceptivo fiable. A este respecto, la administración continua mediante un IVR es muy ventajosa. La aplicación local posibilita una dosificación adecuada con el fin de conseguir el efecto médico deseado junto con una disminución de efectos secundarios esenciales que están ligados a la exposición sistémica frente a las sustancias activas. El experto en la materia conoce que en el caso de la aplicación de un IVR (u otras formulaciones de depósito, en particular también en el caso de formas medicamentosas basadas en polímeros) puede producirse una variación (caída) de la tasa de liberación diaria a lo largo del espacio de tiempo de la administración. Un IVR que muestra una variación de este tipo se considera reivindicado.

Los IVRs contienen anastrozol en calidad de inhibidor de aromatasas. En el caso del IVR con contenido en anastrozol, la exposición a anastrozol sistémica alcanzada después de la liberación a partir del IVR corresponde a la exposición de anastrozol después de la administración oral en una dosificación entre 0,1 mg y 0,9 mg de anastrozol al día. Este IVR contiene como gestágeno levonorgestrel.

En el caso del IVR, la exposición a levonorgestrel sistémica alcanzada después de la liberación a partir del IVR corresponde a la exposición de levonorgestrel después de la administración oral en una dosificación mayor que 10 µg, pero menor que 50 µg por día.

Se reivindica un IVR que contiene al mismo tiempo anastrozol en calidad de inhibidor de aromatasas y levonorgestrel en calidad de gestágeno para la aplicación específica en el tratamiento de la endometriosis, en el que la exposición sistémica a anastrozol a alcanzar después de la liberación del IVR corresponde a la exposición de anastrozol después de la administración oral en una dosificación entre 0,1 mg y 0,9 mg de anastrozol al día, y en el que la exposición a levonorgestrel sistémica alcanzada después de la liberación del IVR corresponde a la exposición de levonorgestrel después de la administración oral en una dosificación mayor que 10 µg, pero menor que 50 µg por día, no conteniendo el anillo intravaginal estrógeno alguno.

La duración de la liberación a largo plazo asciende, en el caso del IVR particularmente preferido, a una semana hasta tres meses, de manera particularmente preferida a 4 hasta 6 semanas. En el caso de las formas medicamentosas de acuerdo con la invención puede suceder, en virtud del efecto de estallido, que las tasas de liberación deseadas de acuerdo con la invención se alcancen sólo después de uno, dos o tres días, en casos excepcionales también sólo después de una semana tras el comienzo del tratamiento. El comienzo del tratamiento es en este caso el instante de la aplicación de la forma medicamentosa.

Todas las formas de realización preferidas mencionadas en esta memoria sirven para el tratamiento de la endometriosis. Particularmente preferido es el tratamiento de la endometriosis en el caso de una contracepción simultánea. Asimismo, particularmente preferido es un método para el tratamiento simultáneo de la endometriosis y para la contracepción, eventualmente utilizando una de las formas medicamentosas preferidas arriba mencionadas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE UNA FORMA MEDICAMENTOSA PARENTERAL

Formas medicamentosas parenterales, incluidos, por ejemplo, implantes, dispositivo intrauterino y anillos intravaginales, que pueden proporcionar una liberación controlada de sustancias activas a lo largo de espacios de tiempo prolongados, se preparan típicamente a partir de polímeros biológicamente compatibles y contienen uno o varios medicamentos que son liberados por difusión a través de la matriz polimérica. En la bibliografía se conocen varios tipos constructivos diferentes de formas medicamentosas. Algunas formas medicamentosas pueden comprender una matriz polimérica, pero ninguna membrana o pared que rodee a la matriz (forma medicamentosa monolítica), mientras que algunas otras formas medicamentosas comprenden una matriz polimérica, un núcleo, la cual/el cual está rodeado por una membrana. La administración simultánea de dos o más sustancias activas terapéuticas se utiliza de manera ampliamente difundida, y a partir de la bibliografía se conocen varios tipos constructivos diferentes de formas medicamentosas.

Conforme a una forma de realización de la invención, la forma medicamentosa comprende al menos una cámara que comprende un núcleo, o un núcleo que está rodeado por una membrana, en donde el núcleo y la membrana comprenden las mismas o diferentes composiciones de polímeros, en donde al menos una de las cámaras comprende anastrozol, y eventualmente al menos una cámara, que puede ser la misma cámara que la cámara que comprende anastrozol, o diferente de ella, comprende levonorgestrel en calidad de gestágeno.

Por consiguiente, la cámara comprende esencialmente una composición polimérica, en donde la composición polimérica del núcleo, de la membrana o de ambos puede comprender una sustancia activa terapéutica o sustancias activas terapéuticas. La composición polimérica puede elegirse de manera adecuada de forma que se regule la liberación de la sustancia activa terapéutica a través del núcleo, la membrana o ambos.

5 Conforme a la forma de realización en la que la forma medicamentosa comprende dos o más cámaras, las cámaras pueden estar dispuestas vecinas una con otra, una junto a otra, una sobre otra o, al menos en parte, una dentro de otra, y pueden estar separadas entre sí por una membrana de separación o una cámara de placebo inerte. Las cámaras pueden ser macizas o huecas.

10 La membrana, en caso de que haya una presente, puede cubrir toda la forma medicamentosa o puede cubrir sólo una parte de la forma medicamentosa, con lo que el grado de expansión puede variar en función de varios factores, por ejemplo de la elección de los materiales y de la elección de las sustancias activas. La membrana se puede componer de más de una capa. El espesor de la membrana depende de los materiales y sustancias activas utilizados, así como del perfil de liberación deseado, pero, por lo general, el espesor es menor que el espesor del elemento del núcleo.

15 Las composiciones poliméricas del núcleo, de la membrana y de la posible membrana de separación o de la cámara de placebo inerte pueden ser iguales o diferentes entre sí y pueden representar un único polímero o una mezcla de polímeros, o pueden estar preparadas a partir de polímeros mixtos entre sí.

20 En principio, puede utilizarse cualquier polímero biodegradable o no biodegradable, siempre que sea biológicamente compatible. Ejemplos de materiales poliméricos habitualmente utilizados comprenden, pero no se limitan a polisiloxanos, poliuretanos, poliuretanos termoplásticos, copolímeros de etileno/acetato de vinilo (EVA) y copolímeros de dimetilsiloxanos y metilvinilsiloxanos, polímeros biológicamente degradables, por ejemplo poli(ácidos hidroxialcanoicos), poli(ácidos lácticos), poli(ácidos glicólicos), poli(glicolida), poli(L-lactida), poli(lactida-co-glicolida) y una mezcla de al menos dos de ellos.

25 La integridad estructural del material puede reforzarse mediante la adición de un material en forma de partículas tal como, p. ej., óxido de silicio o sílice. La composición polimérica puede comprender también un material adicional, por ejemplo para ajustar propiedades hidrófilas o hidrófobas, con el fin de alcanzar la tasa de liberación deseada de uno o varios de los agentes terapéuticos, teniendo en cuenta que todas las sustancias aditivas deben ser biológicamente compatibles y no nocivas para la paciente. El núcleo o la membrana pueden comprender, por ejemplo, también agentes formadores de complejos tales como, p. ej., derivados de ciclodextrina, con el fin de
30 ajustar el estallido inicial de la sustancia al nivel aceptado o deseado. También pueden añadirse coadyuvantes tales como, p. ej., tensioactivos, agentes antiespumantes, estabilizadores, solubilizantes o retardadores de la absorción, o una mezcla de dos o más sustancias de este tipo, con el fin de conferir al cuerpo de la forma medicamentosa propiedades físicas deseadas. Además, al cuerpo de la forma medicamentosa o a la membrana o a ambos pueden
35 añadirse aditivos tales como pigmentos, abrillantadores, agentes de mateado, colorantes, mica o similares, con el fin de conferir a la forma medicamentosa un aspecto óptico deseado.

PREPARACIÓN DE UNA FORMA MEDICAMENTOSA PARENTERAL

La forma medicamentosa parenteral conforme a la presente invención puede prepararse conforme a procedimientos estándares que son conocidos en el sector técnico, y la configuración y el tamaño de la forma medicamentosa pueden elegirse libremente por parte del experto en la materia.

40 A la composición polimérica del núcleo o de la membrana puede añadirse por mezcladura, utilizando diferentes procedimientos, una cantidad suficiente de al menos una sustancia activa terapéutica, dependiendo el procedimiento de la estabilidad de la sustancia. Por ejemplo, la sustancia puede mezclarse homogéneamente con la matriz polimérica, o el material polimérico y la sustancia pueden disolverse en un disolvente adecuado o en una mezcla de disolventes (diclorometano, tetrahidrofurano, etc.), después se puede retirar la mayor parte del disolvente a presión
45 reducida con el fin de dejar que la disolución viscosa cristalice, seguido de un secado ulterior y de granulación de la composición polimérica del medicamento. La sustancia activa terapéutica puede incorporarse también por mezcladura en un polímero fundido, en particular cuando se utilicen elastómeros termoplásticos, seguido de enfriamiento de la mezcla. A continuación, la composición polimérica del medicamento se elabora a la forma deseada, en donde se utilizan procedimientos conocidos tales como, p. ej., moldeo, colada por inyección, colada por rotación/inyección, colada, extrusión tal como, p. ej., coextrusión, extrusión por revestimiento y/o extrusión mixta, y
50 otros procedimientos adecuados.

El material para la membrana, con o sin sustancia activa terapéutica, puede prepararse conforme a los procedimientos precedentemente descritos. La membrana puede aplicarse sobre los núcleos, por ejemplo mediante

colada, pulverización o inmersión, mediante extrusión por revestimiento o procesos de co-extrusión, o mediante estirado mecánico o dilatación de una membrana tubular pre-acabada por parte de gas puesto bajo presión, por ejemplo aire, o mediante expansión en un disolvente adecuado, por ejemplo propanol, isopropanol, ciclohexano, diglima y similares.

5 La varilla polimérica, así obtenida, puede cortarse en trozos de longitud deseada con el fin de formar una cámara que comprenda un núcleo o un núcleo envuelto por una membrana. La cámara o dos o más cámaras unidas entre sí pueden reunirse como una forma medicamentosa esencialmente anular. La expresión "esencialmente anular" se ha de entender de modo que junto a formas medicamentosas anulares también queden abarcadas otras estructuras esencialmente anulares que sean adecuadas para la administración vaginal, por ejemplo espirales enrolladas
10 helicoidalmente y sistemas de anillo con una superficie enrollada.

Los extremos de las cámaras o de la combinación de cámaras pueden unirse entre sí, utilizándose un medio de acoplamiento que puede ser un proceso arbitrario, un mecanismo arbitrario, un dispositivo arbitrario o un material arbitrario que sea conocido en el sector para unir entre sí materiales o estructuras. El acoplamiento puede comprender, por ejemplo, la unión con disolvente, unión con pegamento, fusión por calor, unión con calor, presión,
15 etc. Cámaras tubulares pueden también unirse entre sí utilizando un tapón o espiga, que esté hecho de un material inerte, biológicamente compatible arbitrario, por ejemplo de un material inerte que no permita el transporte de sustancias activas. Además, formas medicamentosas esencialmente anulares pueden producirse mediante la disposición de una cámara o de una combinación de cámaras en un útil conformador a temperatura elevada e inyección de polietileno fundido con elevada densidad entre los extremos, tras lo cual el anillo producido se enfría o se une mediante soldadura o mediante la unión de los extremos.
20

Ejemplo de Referencia 1: Determinación de la dosis de gestágeno de acuerdo con la invención mediante examen de la inhibición de la ovulación

En el caso de un examen de la inhibición de la ovulación, el gestágeno considerado se examina en diferentes dosificaciones, determinándose el efecto del gestágeno sobre la maduración ovárica del folículo y la ovulación con ayuda de exámenes transvaginales por ultrasonidos y mediciones de los niveles de hormonas en sangre (estradiol,
25 progesterona). Además, se examina la mucosa cervical conforme a la puntuación Insler en cuanto a variaciones previstas de las propiedades de la mucosa que son típicas para el proceso de la anticoncepción y que sólo se basan en gestágeno (Insler V et al., Int. J. Gynecol. Obstet. 1972, 10(6): 223-228). La dosis que inhibe la ovulación en menos de un 95%, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 40-80%, y alcanza una puntuación Insler de la mucosa cervical de < 9, se elige como dosis de gestágeno en la presente invención. Esta dosis es específica para cada uno de los gestágenos. El experto en la materia conoce y, por lo tanto, espera que en el caso de este procedimiento de la anticoncepción tenga lugar un cierto desarrollo del folículo (por ejemplo, la aparición de folículos persistentes de los ovarios es un efecto conocido de la píldora de gestágeno Microlut®; véase la información científica Microlut, de fecha julio de 2007, página 2 [4.4.2 advertencias: folículo persistente del ovario]). En la
30 identificación de la dosis se han de tener en cuenta fenómenos de acumulación farmacocinéticos.
35

Ejemplo de Referencia 2: efectos de un inhibidor de aromatasas sobre el eje hipófisis-ovario y el desarrollo del folículo

En el caso de un examen farmacodinámico adicional se examina el efecto del IA que se aplica a través de una forma medicamentosa parenteral, preferiblemente a través de un IVR, sobre el eje hipófisis-ovario y el desarrollo del folículo mediante determinación de los niveles de hormonas en sangre (hormona estimulante del folículo = FSH, hormona luteinizante = LH, estradiol, progesterona) y mediciones transvaginales por ultrasonidos solas y/o en combinación con un gestágeno. La exposición más baja con IA y gestágeno que induce un crecimiento adicional del folículo en comparación con el ciclo no tratado o tratado con gestágeno, puede utilizarse como valor umbral para la dosificación del IA en combinación con gestágeno. Esta dosis debe ser específica para cada uno de los IAs. En la
40 bibliografía se describe que puede manifestarse una estimulación ovárica mediante un IA en el caso de dosificaciones de, por ejemplo, 2,5 mg de letrozol, 1 mg de anastrozol, aplicado por vía oral (Mitwally MF y Casper RF, Fertil. Steril. 2001, 75(2): 305-9, Fisher SA et al., Fertil. Steril. agosto 2002; 78(2): 280-5, Badawy A et al., Fertil. Steril. 2008, 89(5): 1209-1212, Wu HH et al., Gynecol. Endocrinol. 2007, 23(2): 76-81). La exposición diaria media pretendida de, por ejemplo, anastrozol que se entrega a través de la forma medicamentosa parenteral preferida, que
45 en el caso de la presente invención es un IVR o IUD, se encontrará por debajo de 1 mg (o entre 0,1 mg y 0,9 mg). En el caso de letrozol, se encontrará por debajo de 2,5 mg (o entre 0,1 mg y 2,4 mg).
50

Mediante el examen farmacodinámico arriba descrito en el hombre se determina la mayor cantidad posible de IA en combinación con la dosis de gestágeno precedentemente descrita que no conduce por sí sola a una estimulación adicional del crecimiento del folículo en comparación con el gestágeno determinado como se ha indicado

precedentemente. El efecto del gestágeno sobre la mucosa cervical debe mantenerse en el caso de la combinación con IAs.

La estructura experimental es válida para todas las aplicaciones parenterales. Para un IVR se llevarían a cabo los experimentos precedentemente descritos para los distintos componentes y para la combinación con IVRs.

5 Ejemplo 3: Preparación de los anillos intravaginales para el estudio *in vivo*

Para un estudio *in vivo* con monos *Cynomolgus* se prepararon anillos intravaginales liberadores de anastrozol, adaptados en tamaño a los monos *Cynomolgus*. Los anillos tenían un diámetro exterior de 14 mm y una sección transversal de 2,3 mm.

10 Los anillos contenían un núcleo con anastrozol y elastómero que estaba revestido con una membrana controladora de la liberación. Las dosificaciones de medicamentos previstas se alcanzaron mediante una elección adecuada de los materiales para el núcleo y la membrana y mediante el ajuste de la concentración de medicamento y la superficie del núcleo con contenido en anastrozol en combinación con el espesor de la membrana. Mediante una elección adecuada de estos parámetros se puede controlar la liberación de anastrozol a lo largo de más de 30 días.

15 Se prepararon tres formulaciones (A, B, C; en la Figura 1 designadas como dosis elevada, media y baja) de anillos liberadores de anastrozol, que en cada caso liberan anastrozol a lo largo de al menos 30 días. Las dosificaciones de partida de anastrozol ascendieron a 390 µg/día (A), 85 µg/día (B) o bien 27 µg/día (C). Asimismo se prepararon anillos de placebo.

a) Preparación de los anillos liberadores de anastrozol

Núcleo

20 Se prepararon dos composiciones de núcleo, conteniendo una anastrozol en una matriz a base de elastómero de silicona (polidimetilsiloxano) y conteniendo la otra sólo el elastómero de silicona (polidimetilsiloxano). El núcleo con contenido en anastrozol se preparó mezclando en una mezcladora anastrozol (micronizado) con el elastómero de silicona. El contenido en anastrozol de la mezcla ascendió a 35% en peso. La mezcla se conformó y endureció en un molde para formar una pequeña varilla elástica con un espesor de 2 mm (esto también podría haberse realizado mediante extrusión a través de una boquilla). El núcleo del elastómero de silicona se extrudió para formar una pequeña varilla elástica con un espesor de 2 mm (esto también podría haber tenido lugar en un molde).

Membrana

30 La manguera de membrana que controla la liberación de medicamento se preparó mediante extrusión de la manguera a partir de elastómero de silicona (polidimetilsiloxano). El espesor de pared de la manguera (el espesor de la membrana) ascendió a aproximadamente 1,5 mm.

Ensamblaje del anillo

El núcleo de anastrozol se cortó en tres tramos: 38 mm (A), 6 mm (B) y 1,5 mm (C). El núcleo de elastómero de silicona se cortó en dos tramos, de manera que se alcanzó una longitud total de 38 mm. La manguera de membrana se cortó en un tramo de 38 mm y se expandió en ciclohexano.

35 El anillo se constituyó añadiendo el o los segmentos de núcleo a la manguera de membrana expandida. La manguera se conformó mediante solapamiento para formar un anillo. Después de la evaporación del disolvente, la manguera se contrajo y se presionó estrechamente entre sí a las partes.

Liberación de anastrozol

Método

40 La liberación de anastrozol a partir de los anillos se analizó *in vitro* a 37°C en una disolución acuosa al 1,0% de 2-HP-β-CD (2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina) en un baño de sacudimiento (100 rpm). Las disoluciones se cambiaron diariamente, a excepción de los fines de semana. Las disoluciones de las muestras se analizaron mediante HPLC, utilizándose una columna Inertsil ODS-3, 150 x 4 mm, 5 µm y metanol/agua (1/1) como eluyente a un caudal de 1,0 ml/min. La longitud de onda de detección para anastrozol era 215 nm. Paralelamente, se ensayaron tres anillos.

Tasa de liberación *in vitro*

Los anillos se sometieron a ensayo *in vitro* hasta durante 40 días. La tasa de liberación *in vitro* era continua y controlada, pero en el ensayo mostró una disminución del valor de partida de en total aproximadamente 30% después de 30 días. Las tasas de liberación de partida ascendieron a 390 µg/día (A), 85 µg/día (B) o bien 27 µg/día (C) y la liberación media durante los 30 días ascendió a 305 µg/día (A), 64 µg/día (B) y 16 µg/día (C).

La tasa de liberación *in vitro* de anastrozol se describe en la Figura 1.

Examen *ex-vivo* de los anillos para monos

Los anillos (5) utilizados de las dosis respectivas (A, B y C) se curvaron y se analizaron en cuanto al contenido residual en anastrozol. El contenido en anastrozol se determinó extrayendo el anillo con (THF), seguido de análisis por HPLC.

Se obtuvo un valor estimativo para la liberación de anastrozol *in vivo*, calculando la disminución de la cantidad de anastrozol en el anillo durante el uso, p. ej., el contenido original menos el contenido residual *ex-vivo*, y dividiendo esto por el número de días en los que se encontraba en uso el anillo (diferente). En la Tabla 1 se recoge el contenido en anastrozol *ex-vivo* medio (5 anillos) por dosis y el contenido en anastrozol en los anillos comparativos (anillos no utilizados) junto con la tasa de liberación de anastrozol media calculada por día.

Tabla 1. Valor estimativo para la liberación de anastrozol por día *in vivo* para las dosis A, B y C, calculado a partir de la duración media del ensayo *in-vivo* y de los resultados del ensayo medios para los anillos *ex-vivo* y los anillos comparativos no utilizados

Dosis	Valor de ensayo medio para los anillos <i>ex-vivo</i> (mg)	Valor de ensayo medio para los anillos comparativos (mg)	Tasa de liberación media por día (µg/día)
A	32,8	41,1	277
B	4,9	6,5	54
C	1,1	1,5	15

Ejemplo 4: Detección de la factibilidad en cinomolgos

El mono Cynomolgus se adecuaba como animal modelo para examinar aspectos endocrinos humanos en virtud de su sistema reproductor equiparable al del ser humano (Weinbauer, N., Niehaus, Srivastav, Fuch, Esch, y J. Mark Cline (2008). "Physiology and Endocrinology of the Ovarian Cycle in Macaques" Toxicologic Pathology 36(7): 7S-23S). Este mono comprende, entre otros, la longitud del ciclo, receptores hormonales, morfología, sistema endocrino y la regulación del eje hipófisis-ovario (Borgi, M. R., R. Niesvisky, et al. (1983). "Administration of agonistic and antagonistic analogues of LH-RH induce anovulation in Macaca fascicularis". Contraception 27(6): 619-626. Satoru Oneda, T. I., Katsumi Hamana (1996). "Ovarian Response to Exogenous Gonadotropins in Infant Cynomolgus Monkeys" International Journal of Toxicology, 15(3): 194-204). El efecto farmacodinámico y farmacocinético de dosificaciones administradas por vía intravaginal del inhibidor de aromatasa anastrozol se examinó mediante el empleo de un anillo vaginal (IVR) con tres tasas de liberación diferentes a lo largo de un ciclo menstrual. Mediante la determinación de las hormonas estradiol, FSH, progesterona (las tomas de sangre necesarias para ello tuvieron lugar a lo largo de todo el tiempo del ensayo, el día 1, cuatro tomas [0h, 1h, 3h, 6h, después de la colocación del IVR], en cada caso 1 toma los días 2 y 3, a partir de este instante siguieron otras tomas cada 3^{er} día) y mediante exámenes por ultrasonidos del ovario (2 veces por semana) se examinó, entre otros, la influencia sobre el eje hipófisis-ovario. Las determinaciones hormonales se llevaron a cabo según la prescripción de los proveedores (estradiol [Siemens/DPC], progesterona [Beckman-Coulter/DSL], FSH [SHG]). A cinco animales por grupo se les insertó un IVR con una liberación inicial *in vitro* de 0 µg/día (placebo, sin anastrozol), 390 µg/día, 85 µg/día y 27 µg/día uno a tres días después del último día de la regla. Animales con un ciclo irregular fueron excluidos del ensayo.

Una disminución del nivel en estradiol a lo largo de todo el ciclo con una caída significativa durante la fase folicular - decisiva para la proliferación dependiente de estrógenos del endometrio y de lesiones endometrióticas - se observó en el grupo con una liberación inicial de 390 µg/día (Tabla 2, línea 5 y Figura 2). Como se representa en las líneas 1, 2 y 3 de la Tabla 2, se suprime la regulación antagonista por parte del eje hipófisis-ovario en las dosificaciones utilizadas (ninguna diferencia con respecto al control placebo). Niveles de FSH equiparables entre los grupos demuestran que las dosificaciones utilizadas no determinan estimulación alguna del eje hipófisis-ovario. De manera coincidente con esta observación, no se observó formación de quistes ováricos (véase la línea 7, Tabla 2). Este

experimento demuestra que en el modelo con animales es posible, con un inhibidor de aromatasa (por ejemplo anastrozol), reducir los niveles endógenos de estrógenos sin desencadenar una regulación antagonista.

Las siguientes tablas contienen un resumen de las tasas de liberación *in vivo* e *in vitro* [Tabla 1] de anastrozol a partir del IVR, los niveles de estradiol (E2), progesterona y FSH bajo diversas dosificaciones de anastrozol, así como datos sobre la formación de quistes ováricos durante el ciclo (días 1-26) [Tabla 2].

5

Tabla 1: Resumen de las tasas de liberación *in vivo* e *in vitro*

	Anastrozol
Liberación <i>in vitro</i> inicial (día 1) (µg/día)	
(A)	390
(B)	85
(C)	27
Liberación <i>in vitro</i> media (30 días) (µg/día)	
(A)	305
(B)	64
(C)	16
Concentración en suero <i>in vivo</i> media (30 días) (µg/L)	
(A)	5,9
(B)	1,4
(C)	0,3
Liberación <i>in vivo</i> media (30 días) (µg/día) (basada en PK)	
(A)	278
(B)	66
(C)	16
Basada en el análisis de IVR ex-vivo	
(A)	277
(B)	54
(C)	15
Unión de proteínas del plasma [fracción libre, fu]	
Cinómolgos	34%
Ser humano	52%
CL_{pi} [L/h/kg]	
Cinómolgos	0,58
Ser humano (CL/F)	0,02
Tasa de liberación de IVR <i>in vivo</i> constante calculada en ser humano (para obtener niveles en plasma que corresponden a la dosis efectiva en cinómolgos)	≈ 250 µg/día/paciente de 60 kg
Tasa de liberación de IVR <i>in vitro</i> constante calculada (en tampón) (para obtener niveles en plasma en ser humano que corresponden a la dosis efectiva en cinómolgos)	≈ 270 µg/día/paciente de 60 kg
Tasa de liberación de IVR <i>in vitro</i> inicial calculada (en tampón) con una tasa de liberación decreciente (32% en 4 semanas) (para obtener niveles en plasma en ser humano que corresponden a la dosis efectiva en cinómolgos) (dosis humana)	≈ 350 µg/día/paciente de 60 kg

10

Tabla 2: Niveles de estradiol (E2), progesterona y FSH y la formación de quistes ováricos durante el ciclo (días 1-26)

		Placebo	Anastrozol 27 µg/día (tasa de liberación inicial <i>in vitro</i>)	Anastrozol 85 µg/día (tasa de liberación inicial <i>in vitro</i>)	Anastrozol 390 µg/día (tasa de liberación inicial <i>in vitro</i>)	Valor P frente a placebo
1	FSH (µg/L) Ø nivel/día sin máximo pre-ovulatorio	4,85 +/- 2,70	5,52 +/- 3,07	4,90 +/- 2,58	4,83 +/- 2,91	No significativo
2	Progesterona (nmol/L) Ø nivel/día fase folicular	5,65 +/- 5,99	5,57 +/- 5,11	6,58 +/- 3,91	4,58 +/- 2,64	No significativo
3	Progesterona (nmol/l) Ø nivel/día fase luteal	51,61 +/- 37,54	91,92 +/- 52,78	60,02 +/- 22,65	92,88 +/- 55,50	No significativo
4	E2 pmol/L AUC (día del ciclo 1-26)	3768 +/- 684,9	4862 +/- 1986	4126 +/- 2063	2784 +/- 999,8	No significativo
5	E2 pmol/L AUC (folicular, día del ciclo 1-17)	3137 +/- 295,5	3854 +/- 927,5	3235 +/- 1101	1978 +/- 350,6	P <0,0478 (Anastrozol 390 µg/día frente a Placebo)
6	E2 pmol/L AUC (luteal, día del ciclo 17-26)	404 +/- 211,9	403,2 +/- 169,7	605,1 +/- 264,1	342,9 +/- 135,2	No significativo
7	Quistes ováricos (ultrasonidos)	ninguno	ninguno	ninguno	ninguno	No indicado

La Figura 2 muestra el nivel de estradiol (pmol/L) durante la fase folicular. 390 µg de anastrozol por día reduce el nivel de estradiol de forma significativa (valor P < 0,0478) en comparación con el grupo placebo.

- 5 La determinación de la concentración cuantitativa de anastrozol en muestras de plasma tuvo lugar después de extracción líquido-líquido con cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC/ESI-MS/MS). Los análisis se llevaron a cabo en un Agilent 1200 y un AB Sciex Triple Quad 5500 en modo de ionización positivo. Para ello, de cada una de las muestras de plasma se tomaron primeramente 100 µL, se mezclaron con 300 µL de una disolución acuosa que contenía un compuesto arbitrario, no estructuralmente relacionado, como patrón interno y se extrajo con 1,3 ml de metil-butilo terciario-éter en una Mass Prep Station de Perkin Elmer. Después de la separación de fases, se separó la fase orgánica y el residuo se recogió con 30 µL de eluyente LC (50% de metanol/50% de agua, v/v). De ello se inyectaron 5 µL en la LC/MS/MS, se recogió la transición m/z 294 ([M + H]⁺) → 225 y se integró la señal con el software de AB Sciex Analyst 1.5. A partir de las superficies resultantes se determinaron las concentraciones de las muestras de plasma con ayuda de una curva de calibración presente en la misma secuencia (0, 0,0500 a 1000 nM en plasma, n = 2). El límite de detección inferior de este método ascendió a aproximadamente 1,2 µg/L (curva de calibración cuadrática, ponderación 1/x). Los transcurros en el tiempo de la concentración en plasma de anastrozol se encuentran en la Figura 3. La determinación de la unión de proteínas del plasma (fracción libre [fu]) de anastrozol en plasma humano y de cinomolgos tuvo lugar mediante diálisis en equilibrio (véase **Banker**, M. J. Banker, et al. (2003). "Development and Validation of a 96-Well Equilibrium Dialysis Apparatus for Measuring Plasma Protein Binding" J. Pharm. Sci. 92(5): 967-974) a lo largo de siete horas a 37°C en un sistema de aparatos de microdiálisis basado en 96 pocillos (HT-Dialysis LLC) con una membrana de diálisis a base de celulosa regenerada (MWCO 3,5K) y subsiguiente medición de los dializados mediante LC/ESI-MS/MS. El cálculo de la fracción libre (fu) proporcionó en el hombre 34% y en cinomolgos 52%.

25 La Figura 3 muestra los transcurros en el tiempo de la concentración en plasma de anastrozol después de la administración IVR en cinomolgos hembras.

La concentración en plasma media (C_{ss}) de anastrozol se calculó como valor medio de todas las concentraciones medidas de en cada caso un grupo de dosis desde el día después de colocar el IVR hasta el final del ensayo.

Para calcular la tasa de liberación *in vivo* de anastrozol a partir del anillo vaginal se determinó en un ensayo separado el aclaramiento plasmático (CL) *in vivo* en cinomolgos hembras. Para ello, a cinomolgos hembras se les

administró por vía intravenosa anastrozol con una dosis de en cada caso 0,2 mg/kg en PEG400 al 50%, en diferentes momentos se tomaron muestras de sangre y se determinó la concentración en plasma mediante LC/ESI-MS/MS. El aclaramiento plasmático (CL) calculado a partir de ello ascendió para anastrozol a 0,58 L/h/kg.

5 Las tasas de liberación medias *in vivo* (R_{in}) a partir del IVR se calcularon seguidamente de manera correspondiente a la ecuación: $R_{in} = C_{ss} \cdot CL$ (véase la Tabla X). Se demostró que las tasas de liberación medias, así calculadas, a veces se adaptaban bien a las tasas de liberación *in vitro* en el tampón (factor de corrección *in vitro/in vivo* 1.1). Además, coincidían bien con la tasa de liberación media *in vivo*, calculada a partir del contenido residual *ex vivo* de los anillos portados al final del estudio.

10 A continuación, se estimó, la tasa de liberación IVR *in vitro* de un IVR para la aplicación humana que es necesaria para alcanzar un nivel de suero que en monos conduce a una disminución de estradiol. En cinomolgos, ésta se alcanzó en el grupo de dosis más elevado a una concentración en suero media (C_{ss}) de 5,9 µg/L. La correspondiente concentración en suero eficaz en el hombre se estima en 9 µg/L, teniendo en cuenta la unión de proteínas en plasma específica de la especie de manera correspondiente a la siguiente Ecuación (1).

$$\text{Ecuación 1: } C_{ss_{humano}} = C_{ss_{mono}} \cdot \frac{f_{u_{mono}}}{f_{u_{humano}}}$$

15 La tasa de liberación media *in vivo* a partir del IVR, que es necesaria para alcanzar una concentración en plasma de 9 µg/L en el hombre, se calculó de manera correspondiente a la Ecuación 2. Para ello, se requiere el aclaramiento plasmático de anastrozol en el hombre. Este aclaramiento es conocido sólo después de la administración oral (CL/F) (Clin. Pharmacol. and Biopharmac. Review NDA 020541 (28.09.1995) y pudo utilizarse para el cálculo como CL, dado que la biodisponibilidad (F) oral se aproxima a 1.

$$20 \quad \text{Ecuación 2: } R_{in_{humano}} = C_{ss_{humano}} \cdot CL_{humano}$$

25 Resultó una tasa de liberación humana *in vivo* de 246 µg/d que debe tener lugar de forma constante con el fin de alcanzar en el hombre niveles que en el mono alcanzaban una disminución de estradiol. Suponiendo una permeación equiparable de anastrozol en la vagina del mono y del hombre, con el factor de corrección de 1,1, calculado *in vitro/in vivo* a partir del ensayo en monos, resulta una tasa de liberación *in vitro* constante requerida para el hombre en tampón de anastrozol de 270 µg/d. En el caso de que en el IVR en el hombre resulte una caída de la tasa de liberación a lo largo del tiempo equiparable a la del mono, la tasa de liberación *in vitro* inicial correspondiente debería ser superior, se calculó con aprox. 350 µg por día (Tabla 1).

índice de Figuras

30 **Figura 1:** Tasa de liberación *in vitro* (µg/d) de anastrozol para las formulaciones A (dosis elevada = 390 µg/día), B (dosis media = 85 µg/día) y C (dosis baja = 27 µg/día).

Figura 2: Nivel de estradiol (pmol/L) durante la fase folicular. 390 µg de anastrozol por día disminuye el nivel de estradiol de manera significativa (valor $P < 0,0478$) en comparación con el grupo placebo.

35 **Figura 3:** Transcursos en el tiempo de la concentración en plasma de anastrozol después de administración IVR en cinomolgos hembras.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Anillo intravaginal que contiene anastrozol y levonorgestrel para la aplicación específica en el tratamiento de la endometriosis, en el que la exposición sistémica a anastrozol alcanzada después de la liberación del IVR corresponde a la exposición de anastrozol tras la administración oral en una dosificación de entre 0,1 mg y 0,9 mg de anastrozol por día, y en el que la exposición sistémica a levonorgestrel alcanzada después de la liberación del IVR corresponde a la exposición de levonorgestrel tras la administración oral en una dosificación de más de 10 µg, pero de menos de 50 µg por día, no conteniendo el anillo intravaginal estrógeno alguno.
- 10 2. Anillo intravaginal para la aplicación específica en el tratamiento de la endometriosis según la reivindicación 1, en el que las tasas de liberación deseadas, allí reivindicadas, se alcanzan, en virtud del efecto de estallido, sólo uno, dos o tres días después del comienzo del tratamiento.
3. Anillo intravaginal para la aplicación específica en el tratamiento de la endometriosis según una de las reivindicaciones antes mencionadas, en el que la duración del tratamiento asciende a 1 semana hasta 3 meses.
4. Anillo intravaginal para la aplicación específica en el tratamiento de la endometriosis según la reivindicación 3, en el que la duración del tratamiento asciende a 4 hasta 6 semanas.

15

Figura 1: Tasa de liberación *in-vitro* (µg/d) de anastrozol para las formulaciones A, B y C

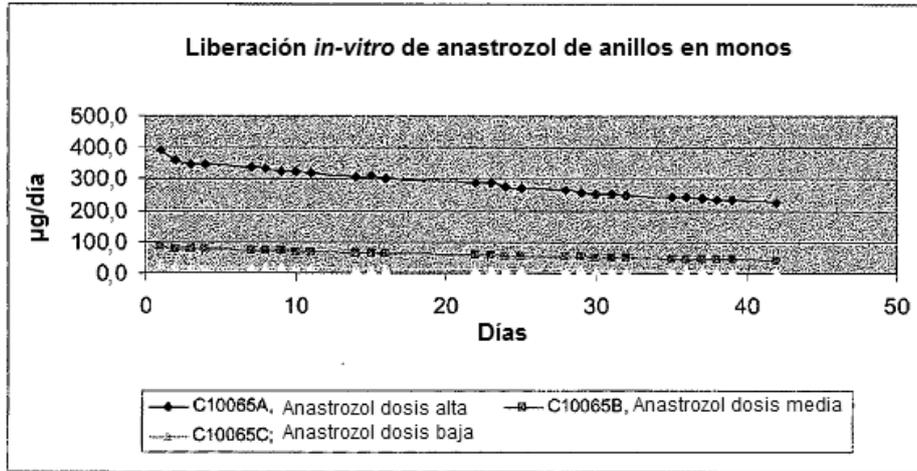


Figura 2: Nivel de estradiol (pmol/L) durante la fase folicular. 390 µg de anastrozol por día reduce de manera significativa el nivel de estradiol (valor P < 0,0478) en comparación con el grupo placebo

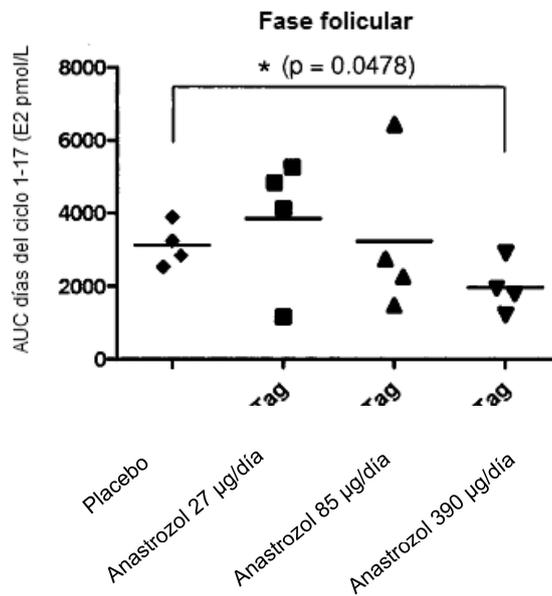


Figura 3: Transcursos en el tiempo de la concentración en plasma de anastrozol después de administración IVR en cinomolgos hembras.

