

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 753 822**

51 Int. Cl.:

A61K 38/24 (2006.01)

A61P 15/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2004** **E 10075419 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019** **EP 2292252**

54 Título: **Combinación unitaria de FSH y hCG**

30 Prioridad:

03.06.2003 US 452926

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

14.04.2020

73 Titular/es:

FERRING B.V. (100.0%)
P.O. Box 3129 2130 KC, Polaris Avenue 144
2132 JX Hoofddorp, NL

72 Inventor/es:

FILICORI, MARCO

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 753 822 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

Combinación unitaria de FSH y hCG

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a formulaciones de gonadotropina novedosas. Más específicamente, la invención se refiere a formulaciones farmacéuticas, útiles para la estimulación ovárica, en las que están presentes tanto la hormona foliculoestimulante (FSH) como la gonadotropina coriónica humana (hCG).

10

Antecedentes de la invención

Los procedimientos de tecnología de reproducción asistida (TRA) normalmente requieren tratamiento con gonadotropinas exógenas para estimular el crecimiento y la maduración de los folículos ováricos. Cuando se usan gonadotropinas para tratar mujeres anovulatorias, el objetivo es replicar el ciclo menstrual normal, cuando un solo folículo dominante madura antes de la inducción de la ovulación. Por el contrario, para mujeres sometidas a fertilización in vitro (FIV), se emplea la estimulación ovárica controlada (EOC) para estimular el crecimiento y la maduración de varios folículos ováricos, produciendo múltiples ovocitos, que luego se recuperan para su uso en el procedimiento de FIV.

15

20

A pesar de los recientes avances en la TRA, la estimulación ovárica a través de gonadotropinas exógenas no tiene un éxito uniforme debido, en parte, a la variación de las respuestas individuales al tratamiento con gonadotropinas. Esta variabilidad complica el manejo del paciente y puede dar como resultado nacimientos múltiples y complicaciones potencialmente mortales.

25

Las gonadotropinas se secretan por la glándula pituitaria bajo el control de la hormona liberadora de gonadotropinas hipotalámica (GnRH). La hormona foliculoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) son las hormonas pituitarias esenciales para la maduración folicular (folículoogénesis) y la luteinización. La FSH se requiere para el reclutamiento folicular (es decir, el crecimiento temprano de folículos ováricos) al comienzo del ciclo menstrual espontáneo, y también apoya la folículoogénesis de etapa media y tardía.

30

La FSH se administra de manera terapéutica para inducir la folículoogénesis en mujeres anovulatorias y mujeres sometidas a EOC. En métodos tradicionales de estimulación ovulatoria, se administra FSH a lo largo del tratamiento hasta el momento en que se recuperan los ovocitos. Esta estimulación continua mediante FSH puede provocar múltiples concepciones y el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) de condición potencialmente fatal. Disminuir la dosificación de FSH puede reducir el riesgo de SHO, pero dosificaciones bajas de FSH producen cantidades foliculares inadecuadas y, por tanto, disminuyen las posibilidades de éxito en la reproducción asistida.

35

La LH funciona durante todas las etapas de un ciclo menstrual normal. La LH estimula las células tecas del folículo para producir el sustrato andrógeno que se convierte en estrógeno por el sistema de aromatasa en las células de granulosa. Durante las últimas etapas de la maduración del folículo, aproximadamente de 5 a 7 días antes de la ovulación, los folículos ováricos grandes comienzan a expresar receptores de LH en células de granulosa, lo que hace a esos folículos sensibles a LH para un desarrollo y maduración continuos. Hillier *et al.*, *Mol. Cell Endocrinol.*100:51 (1994), Campbell *et al. J. Reprod. Fertil.*117:244 (1999). A continuación, una oleada de LH de medio ciclo desencadena la etapa final de la maduración folicular y ovulación en un ciclo menstrual normal. La ovulación sigue a la oleada de LH de medio ciclo dentro de 24 a 48 horas. Finalmente, en la segunda parte del ciclo menstrual, la fase luteínica, la producción estimulada de LH de estrógeno y progesterona en el cuerpo lúteo del ovario prepara el útero para la implantación y el embarazo.

40

45

En los protocolos de estimulación ovárica, la hCG puede servir como fuente de actividad de LH porque la hCG y la LH actúan a través del mismo receptor. Filicori *et al. Human Reprod.*17:2009 (2002a); Martin *et al., Fertil. Steril.*76: O-49 (2002). En relación con la LH, la hCG tiene una semivida más larga y, por lo tanto, es más potente que la LH, aunque la literatura tiende a tratar la hCG y la LH como intercambiables. De hecho, la literatura científica generalmente no menciona la determinación de la fuente de actividad de LH en preparaciones de gonadotropina de origen natural. Pero véase el documento de Filicori *et al., Human Reprod. Update* 8:543, 552 (2002b) ("probablemente, el contenido de hCG de una preparación de hMG [uno particular]" extrapolado para ser, " ~5 UI por ampolla", de manera que, "de las 75 UI de potencia de LH contenida en esta preparación de hMG, aproximadamente 30 UI se proporcionan por la hCG).

55

La literatura da a conocer el uso de la actividad de LH o dosis bajas de hCG en combinación con FSH a lo largo de la estimulación ovulatoria, pero falta orientación con respecto a las cantidades efectivas y el momento de la suplementación de la actividad de LH. Por ejemplo, el resumen de Martin *et al., Fertil. Steril.*76: O-49 (2002), da a conocer la administración de 2,5 µg de hCG recombinante diariamente (manteniendo niveles de hCG de suero de 1-3 mUI/ml) durante la estimulación ovulatoria. Gordon *et al.* da a conocer la administración de 75 UI de FSH con actividad de 0, 1, 25 y 75 UI de LH. *Human Reprod.*12 (Supl.1): 52 (1997a); *ibid.*: 53 (1997b).

60

65

Estudios publicados dan a conocer la administración de actividad de LH, a lo largo de la estimulación, en proporciones de FSH con respecto a LH de 150:0, 150:37,5, 150:75 y 150:150. Filicori *et al.* (2002a). Además, la literatura documenta la complementación de la estimulación de FSH con 50 UI de hCG/día (Filicori *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.* 84:2659 (1999)), y protocolos en los que se administra 150 UI de FSH durante 7 días, seguido de tratamiento con proporciones de FSH con respecto a hCG de 150:0, 50:50, 25:100 y 0:200 (*ibid.* 87:1156 (2002c)).

La literatura documenta otras composiciones que contienen tanto actividad de FSH como de LH, así como el uso de FSH en combinación con actividad de LH. Por ejemplo, la solicitud PCT WO 00/67778, publicada el 16 de noviembre de 2000, está dirigida al uso de LH o una cantidad equivalente de hCG en combinación con FSH para inducir folículoogénesis en mujeres anovulatorias. Más particularmente, la solicitud '778 da a conocer la administración de LH o "un análogo biológicamente activo de la misma" en dosis de 100 a 1500 UI por día (página 4, líneas 26-29) y en proporciones de FSH: LH que oscilan desde 1:1,5 hasta 1:20 (*id.*, líneas 16-18).

La patente estadounidense n.º 5.929.028 está dirigida a formulaciones líquidas que contienen una o más gonadotropinas naturales o recombinantes, que incluyen FSH, LH y hCG. La patente '028 comenta las composiciones derivadas naturalmente de la gonadotropina menopáusica humana (hMG), que tienen actividades de FSH y LH en una proporción de aproximadamente 1:1, pero no menciona ninguna proporción de FSH con respecto a LH distinta a la proporción 1:1 de las preparaciones comerciales de hMG.

Adicionalmente, existen formulaciones comerciales que contienen FSH y LH. Hay preparaciones derivadas del ser humano disponibles que contienen 75 UI de FSH con actividad de 75 UI de LH (Pergonal, Humegon, Menogon, Repronex y Menopur) y 75 UI de FSH con actividad de 25 o 35 UI de LH (Normegon y Pergogreen).

Sin embargo, es una convencionalmente se sabe que niveles "excesivos" de LH, aunque mal definidos, dan como resultado atresia folicular, supresión de proliferación celular de granulosa y luteinización prematura. Véase, generalmente, el documento de Filicori, *Fertil. Steril.* 79:253 (2003). Aunque trabajos recientes sugieren lo contrario, persiste en el campo una noción de que los niveles de actividad de LH deben estar dentro de un intervalo determinado, y que niveles por debajo o por encima de un "techo de LH" perjudican el desarrollo normal de folículo. Shoham, *Fertil. Steril.* 70: 1170 (2002).

En resumen, hay evidencia publicada de que suplementar FSH con actividad de LH durante la inducción de ovulación reduce la duración del tratamiento y la cantidad de gonadotropina utilizada para lograr el desarrollo adecuado de folículo. Filicori *et al.* (1999), (2002b). Por otro lado, persiste la creencia de que los niveles de actividad altos de LH impactan de manera negativa en el desarrollo folicular.

Esa creencia ha guiado el paradigma convencional de estimulación ovárica, que implica la administración de FSH a lo largo de la estimulación ovárica controlada. La actividad de LH exógena se considera innecesaria e incluso perjudicial durante las etapas de tempranas a etapas intermedias del desarrollo folicular. Por consiguiente, los medios tradicionales de estimulación ovárica implican el tratamiento solo con FSH, normalmente a 75 UI/día. En este protocolo tradicional, la actividad de LH se administra para inducir la ovulación solo después de que el folículo alcance una determinada etapa de desarrollo. Tan solo recientemente se ha administrado actividad de LH a lo largo del tratamiento, y la cantidad y el momento óptimos de actividad de LH que es efectiva en este contexto siguen siendo controvertidos.

Sumario de la invención

Los protocolos convencionales de estimulación de ovulación no adoptan regímenes de tratamiento selectivos que optimicen el desarrollo de folículo ovárico. Además, las preparaciones gonadotrópicas disponibles no se adaptan fácilmente a diferentes objetivos terapéuticos. Por tanto, existe la necesidad de composiciones que combinen FSH y hCG en proporciones variables, para permitir al médico adaptar un régimen de tratamiento de gonadotropina a las necesidades del paciente individual. También se necesita metodología para utilizar tales composiciones para estimular la folículoogénesis en mujeres anovulatorias y en el contexto de procedimientos de TRA.

Para estos fines, entre otros, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen diversas cantidades de FSH y hCG, así como diversas proporciones de FSH con respecto a hCG, suministradas en una sola preparación. Estos compuestos permiten al médico optimizar la estimulación ovulatoria de manera flexible que no es posible con las preparaciones disponibles.

La presente invención también comprende un enfoque para inducir la ovulación, utilizando composiciones con proporciones de FSH:hCG variables. La metodología inventiva permite ajustes incrementales en la proporción de FSH con respecto a hCG, en función de la fase de folículoogénesis o de variación en la respuesta del paciente, dando como resultado una estimulación ovulatoria más segura y exitosa.

La presente invención proporciona un producto inyectable que comprende composiciones farmacéuticas que contienen FSH y hCG adecuadas para su administración de manera independiente o conjunta, donde la cantidad de

FSH y hCG se selecciona del grupo que consiste en: 50 UI de FSH y 100 UI de hCG; 50 UI de FSH y 200 UI de hCG; 75 UI de FSH y 25 UI de hCG; 75 UI de FSH y 50 UI de hCG; 75 UI de FSH y 75 UI de hCG; 75 UI de FSH y 100 UI de hCG; 150 UI de FSH y 10 UI de hCG; 150 UI de FSH y 25 UI de hCG; 150 UI de FSH y 75 UI de hCG; y 150 UI de FSH y 100 UI de hCG.

5 En este sentido, el uso de la frase “consiste esencialmente en” significa que la composición, aunque posiblemente tenga otros componentes, no incluye ningún componente que inhiba o menoscabe de otro modo las propiedades beneficiosas de la composición con respecto a la folículoogénesis o la maduración folicular.

10 En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un producto que comprende una o más dosis unitarias de una formulación que comprende una sola composición farmacéutica que consiste esencialmente en FSH y hCG en al menos un portador farmacéuticamente aceptable, en el que la cantidad de FSH y hCG se selecciona del grupo que consiste en: 50 UI de FSH y 100 UI de hCG; 50 UI de FSH y 200 UI de hCG; 75 UI de FSH y 25 UI de hCG; 75 UI de FSH y 50 UI de hCG; 75 UI de FSH y 75 UI de hCG; 75 UI de FSH y 100 UI de hCG; 150 UI de FSH y 10 UI de hCG; 150 UI de FSH y 25 UI de hCG; 150 UI de FSH y 50 UI de hCG; 150 UI de FSH y 75 UI de hCG; y 150 UI de FSH y 100 UI de hCG.

Breve descripción de los dibujos

20 La figura 1 muestra valores útiles de proporción de FSH con respecto a hCG, donde la cantidad de FSH se expresa en unidades internacionales (UI) y la cantidad de hCG se expresa en UI (figura1A) y microgramos (figura1B).

La figura 2 es un gráfico de barras que representa un protocolo de tratamiento propuesto según la invención, que utiliza composiciones de FSH:hCG tal como se describió anteriormente.

25

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

30 La invención proporciona composiciones para un paradigma terapéutico novedoso, caracterizado por la administración de hCG en combinación con FSH durante todas las etapas de tratamiento y por un ajuste de la proporción de FSH con respecto a hCG, para optimizar la estimulación ovulatoria. Este paradigma se aparta sustancialmente del enfoque convencional, donde la FSH se administra sola, normalmente a 75-300 UI/día, y un bolo de actividad de LH se administra a mediados del ciclo para inducir la ovulación.

35 La invención proporciona composiciones farmacéuticas con una gama de proporciones de FSH con respecto a hCG. Las composiciones de la invención permiten al médico adaptar fácilmente el tratamiento a la situación de un paciente dado, permitiendo que la proporción de FSH con respecto a hCG se ajuste basándose en diferentes etapas de la folículoogénesis y variando la respuesta del paciente a las gonadotropinas. Además, tener una gama de composiciones terapéuticas disponibles, que incluye aquellas con altos niveles de hCG, permite al médico adaptarse fácilmente a los requisitos terapéuticos de diversos procedimientos TRA. Esta flexibilidad no es posible con las preparaciones gonadotrópicas actuales.

40 Debido a que las composiciones de la invención tienen una amplia gama de proporciones de FSH con respecto a hCG, la invención puede utilizarse fácilmente para estimular la folículoogénesis y la ovulación en cualquier procedimiento de inducción de ovulación y TRA que incluyen entre otros, tratamiento de infertilidad anovulatoria, fertilización *in-vitro* (FIV), inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI), transferencia intrafalopiana de gametos (GIFT), transferencia intrafalopiana de cigoto (ZIFT), transferencia de embriones criopreservados, inseminación intrauterina (IU), transferencia de ovocitos de donantes, transferencia de embriones criopreservados de ovocitos de donantes y ciclos de TRA para la transferencia de útero huésped. Las composiciones de la invención también pueden utilizarse para tratar pacientes anovulatorios y pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico y el síndrome de ovario poliquístico.

45 Las composiciones de la invención emplean hCG como fuente de actividad de LH. La hCG se une a receptores de LH y ejerce a través de los mismos sus acciones biológicas; no existen receptores hCG independientes. El uso de hCG según la invención tiene ventajas significativas sobre el uso de LH. Por ejemplo, la hCG derivada de ser humano es de menor coste que cualquier FSH derivada de ser humano o recombinante. Desde una perspectiva de coste, por lo tanto, es favorable minimizar la cantidad de FSH utilizada durante el protocolo de estimulación. Además, el uso de hCG en una composición farmacéutica de la invención apoya de manera más efectiva y fisiológica las etapas finales de maduración de folículos ováricos grandes y maduros durante EOC, aumenta los niveles ováricos y de estrógeno en sangre, mejora la calidad ovocitaria y embrionaria, disminuye la cantidad y la duración de la administración de FSH, y reduce el riesgo de complicaciones asociadas a FSH como múltiples concepciones y SHO.

50 En resumen, las composiciones de la invención potencian regímenes de tratamiento que logran mayores tasas de éxito, que disminuyen el riesgo de complicaciones, que son fáciles de implementar y que son de menor coste que los de la práctica convencional.

65

A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos se utilizan de manera que se ajustan al uso técnico común. En general, la nomenclatura de esta descripción y los procedimientos de laboratorio descritos se conocen bien y se emplean comúnmente en la técnica. Las técnicas habituales se utilizan para métodos de ácido nucleico recombinante, cultivo microbiano, cultivo celular, cultivo de tejidos, transformación, química analítica, química sintética orgánica, síntesis química, análisis químico y formulación y administración farmacéutica. Generalmente, se realizan reacciones enzimáticas y etapas de aislamiento y/o purificación según las especificaciones de los fabricantes. A falta de indicación de lo contrario, las técnicas y procedimientos en cuestión se realizan según la metodología convencional dada a conocer, por ejemplo, en el documento de Sambrook *et al.*, MOLECULAR CLONING A LABORATORY MANUAL, 2ª ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989), y CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, 1989).

Combinaciones unitarias de FSH y hCG

La invención proporciona nuevas composiciones farmacéuticas útiles para inducir la estimulación ovárica en un mamífero. "Mamífero" se refiere a un humano, primate no humano, oveja, cerdo, vaca, caballo, burro, ratón, rata, conejo, conejillo de indias, perro, gato o animal salvaje en cautividad. Preferiblemente, el mamífero es un humano.

El producto inyectable comprende composiciones farmacéuticas que contienen FSH y hCG adecuadas para su administración de manera independiente o conjunta, en el que la cantidad de FSH y hCG se selecciona del grupo que consiste en: 50 UI de FSH y 100 UI de hCG; 50 UI de FSH y 200 UI de hCG; 75 UI de FSH y 25 UI de hCG; 75 UI de FSH y 50 UI de hCG; 75 UI de FSH y 75 UI de hCG; 75 UI de FSH y 100 UI de hCG; 150 UI de FSH y 10 UI de hCG; 150 UI de FSH y 25 UI de hCG; 150 UI de FSH y 75 UI de hCG; y 150 UI de FSH y 100 UI de hCG.

Puede obtenerse FSH purificada por cualquier método conocido en la técnica. FSH, tal como se utiliza en el presente documento, incluye FSH derivada de ser humano y recombinante, análogos de FSH, así como formas desglucosilada, no glucosilada y glucosilada modificada.

Puede purificarse FSH derivada de ser humano por cualquier medio conocido en la técnica a partir de fuentes naturales como la orina, la pituitaria y la placenta. Los procedimientos para aislar la FSH derivada de ser humano se describen, por ejemplo, en el documento de Fevold *et al.* *Endocrinology* 26:999 (1940), Fraenkel-Conrat *et al.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 45:627 (1940), McShan y Meyer, *J. Biol. Chem.* 135:473 (1940), Greep *et al.*, *ibid.* 133:289 (1940), Li *et al.*, *Science* 109: 445 (1949), y Roos y Gemzell, CIBRA FOUNDATION STUDY GROUP, n.º 22 (Little, Brown and Co., Boston, MA, 1965).

La FSH derivada de ser humano purificada está disponible comercialmente y se vende con los nombres Fostimon® (AMSA/IBSA), Metrodin HP® (Serono) y Bravelle (Ferring). La FSH recombinante puede obtenerse por cualquiera de varios medios conocidos. Por ejemplo, el documento de Keene *et al.*, *J. Biol. Chem.* 26: 4769 (1989) y el documento WO 86/04589 describen la expresión y purificación de FSH humana biológicamente activa en células de roedor.

La FSH recombinante también está disponible comercialmente con los nombres Foilistim® (Organon), Puregon® (Organon) y Gonol-F® (Serono).

Puede ser ventajoso emplear isoformas de FSH que difieren en la medida en que se modifican de manera postraslática. Debido a diferentes modificaciones, las isoformas presentan diferencias en la carga general, grado de ácido siálico (un azúcar terminal) o incorporación de sulfato, afinidad de unión de receptores y semivida plasmática. Chappel *et al.*, *Endocrine Reviews* 4:179 (1983); Snyder *et al.* *Mol. Cell. Endocrin.* 54:115 (1987). Estas formas pueden ser independientes entre sí basándose en su carga general y todas las isoformas presentan actividad biológica. Las isoformas que presentan una mayor carga negativa neta son más fuertemente sialiladas, presentan una mayor tasa de aclaramiento metabólico y una mayor actividad biológica debido a su tiempo de supervivencia plasmática extendido.

La hCG puede obtenerse por cualquier medio conocido en la técnica. La hCG, tal como se utiliza en el presente documento, incluye la hCG recombinante y derivada de ser humano. La hCG derivada de ser humano puede purificarse a partir de cualquier fuente apropiada (por ejemplo, orina y placenta) por cualquier método conocido en la técnica tal como se da a conocer en Zondek y Aschheim, *Klin. Wochenschr.* 7: 931 (1928), Katzman y *et al.*, *ibid.* 148:501 (1943), y Claesson *et al.*, *Acta Endocrinol.* 1: 1 (1948), entre otros. La hCG humana purificada está disponible comercialmente y se vende bajo los nombres Profasi HP® (Serono), Gonasi® (AMSA/IBSA) y Choragon, Novarelin (Ferring). Los métodos de expresión y purificación de hCG recombinante se conocen en la técnica y se dan a conocer, por ejemplo, en el documento de Gupta y Dighe, *J. Mol. Endocrinology* 22:273 (1999).

La hCG recombinante posee aproximadamente una actividad 25 veces mayor en peso en comparación con la hCG derivada de ser humano. Por ejemplo, véase el documento de Chang *et al.*, *Fertil. Steril.* 76: 67 (2001); The European Recombinant Human Chorionic Gonadotrophin Study Group, *Fertil. Steril.* 75:1111 (2001). Por tanto, la cantidad de hCG puede ajustarse en consecuencia para proporcionar las unidades internacionales deseadas de actividad de hCG cuando se utiliza hCG recombinante en las composiciones. Un ajuste a lo largo de esta línea, basándose en los valores de la figura 1A, se representa en la figura 1B.

- La cantidad de actividad de FSH y hCG puede determinarse utilizando métodos de ensayo conocidos en la técnica. 1 UI de hCG equivale a 5-7 UI de LH en el bioensayo de la farmacopea Van Hell. Van Hell *et al.*, *Acta Endocrin.* 47: 409 (1964). La actividad de hCG en una composición puede determinarse utilizando cualquier método de ensayo conocido, incluyendo el bioensayo Van Hell, ensayos de radiorreceptores tal como se describe, por ejemplo, en el documento de Dighe & Moudgal. *Arch. Biochem. Biophys.* 225:490 (1983), bioensayos de animales completos, ensayo de agotamiento de ácido ascórbico ovárico y bioensayo de células de Leydig MA10 dados a conocer en Ascoli, *Endocrinology* 108: 88 (1981). De manera similar, la actividad de FSH puede determinarse utilizando ensayos de unión de receptores y bioensayos de animales completos.
- La cantidad de proteína de FSH y hCG en una composición dada puede determinarse por el peso del compuesto sólido, ensayos de proteínas, como los ensayos de Bradford y Lowry, y técnicas de inmunoensayo como ELISA e inmunoelctrotransferencia.
- Las composiciones de FSH:hCG pueden formularse mezclando, en una solución acuosa, productos de FSH y hCG purificados, con ajustes por lotes para alcanzar la proporción de FSH:hCG deseada, seguido de filtración estéril, llenado estéril y, si se desea, liofilización. La composición de FSH:hCG también puede formularse utilizando un método, en el que se establecen condiciones de purificación que producen la proporción de FSH:hCG deseada en primera instancia (es decir, sin preparación como tal).
- Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden formularse para dar composiciones muy conocidas para cualquier vía de administración de fármacos, por ejemplo, oral, rectal, parenteral (intravenosa, intramuscular o subcutánea), intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, local (polvos, ungüentos o gotas), o como pulverización bucal o nasal. Una composición típica para tal propósito comprende un portador farmacéuticamente aceptable, tales como soluciones acuosas, excipientes no tóxicos, incluyendo sales, conservantes, tampones y similares, tal como se describe en el documento REMINGT'S PHACTICAL SCIENCES, 15ª Ed. (Mack Publishing Co., 1975), págs. 1405-12 y 1461-87, y THE NATIONAL FORMULARY XIV, 14ª Ed. (American Pharmaceutical Association, 1975), entre otros.
- Ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados, diluyentes, disolventes o vehículos incluyen agua, etanol, polioles (como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), carboximetilcelulosa y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (como aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables como oleato de etilo.
- Las composiciones de la presente invención también pueden contener aditivos tales como pero no limitados a conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. Pueden incluirse agentes antibacterianos y antifúngicos para prevenir el crecimiento de microbios e incluye, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido sórbico de fenol y similares. Además, puede ser deseable incluir agentes isotónicos como azúcares, cloruro de sodio y similares.
- En algunos casos, para realizar una acción prolongada, es deseable ralentizar la absorción de FSH y hCG de inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La tasa de absorción de FSH y hCG depende entonces de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño de cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una combinación de FSH y hCG administrada por vía parenteral se logra disolviendo o suspendiendo la combinación la FSH y hCG en un vehículo oleoso.
- Pueden realizarse formas de medicamento de absorción lenta inyectable formando matrices de microencapsulado de la combinación de FSH y hCG en polímeros biodegradables como ácido poliláctico, ácido poliglicólico. Dependiendo de la proporción de la combinación de FSH y hCG con respecto al polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la tasa de liberación de combinación de FSH y hCG. Algunos ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones inyectables de absorción lenta atrapando la combinación de FSH y hCG en liposomas o microemulsiones que son compatibles con tejidos corporales.
- Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril justo antes de su uso. Las formulaciones inyectables pueden suministrarse en cualquier recipiente adecuado, por ejemplo, un vial, una jeringa precargada, cartuchos de inyección y similares.
- Las formulaciones inyectables pueden suministrarse como un producto que tiene composiciones farmacéuticas que contienen o bien FSH o bien hCG adecuada para su administración de manera independiente o conjunta. Si se administra por separado, la administración puede ser secuencial. El producto puede suministrarse en cualquier envase adecuado. Por ejemplo, un producto puede contener un número de jeringas precargadas que contienen o bien FSH, hCG, o bien una combinación de FSH y hCG, las jeringas envasadas en un envase blíster u otros medios para mantener la esterilidad. Un producto puede contener opcionalmente instrucciones para utilizar las

formulaciones de FHS y hCG.

El pH y la concentración exacta de los diversos componentes de la composición farmacéutica se ajustan según práctica rutinaria en este campo. Véase el documento GOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS FOR THERAPEUTICS, 7ª ed.

En una realización preferida, las composiciones de la invención se suministran como composiciones para administración parenteral. Se conocen en la técnica métodos generales para la preparación de las formulaciones parenterales y se describen en el documento REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, *supra*, págs. 780 a 820. Las composiciones parenterales pueden suministrarse en formulación líquida o como un sólido que se mezclará con un medio inyectable estéril justo antes de su administración. En una realización especialmente preferida, las composiciones parenterales se suministran en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación.

“Forma unitaria de dosificación” en esta descripción se refiere a unidades físicamente discretas que son adecuadas como dosificaciones unitarias para un mamífero sujeto que va a tratarse, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación para las nuevas formas unitarias de dosificación de la invención se dicta por y dependen directamente de las características únicas del material activo y del efecto terapéutico particular que se logrará y las limitaciones inherentes en la técnica de la preparación de materiales activos para su uso en mamíferos sujetos.

Una forma unitaria de dosificación puede contener dosis unitarias de FSH y hCG adecuadas para su administración de manera independiente o conjunta, en la que la cantidad de FSH y hCG se selecciona del grupo que consiste en: 50 UI de FSH y 100 UI de hCG; 50 UI de FSH y 200 UI de hCG; 75 UI de FSH y 25 UI de hCG; 75 UI de FSH y 50 UI de hCG; 75 UI de FSH y 75 UI de hCG; 75 UI de FSH y 100 UI de hCG; 150 UI de FSH y 10 UI de hCG; 150 UI de FSH y 25 UI de hCG; 150 UI de FSH y 75 UI de hCG; y 150 UI de FSH y 100 UI de hCG. Expresadas en proporciones, la FSH y la hCG están generalmente presentes cada una en desde aproximadamente 0,1 µg hasta aproximadamente 2000 mg/ml.

Las suspensiones pueden contener agentes modificadores de reología como, por ejemplo, alcoholes isoestearilo etoxilados, ésteres de sorbitano y sorbitol polioxietileno, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

Un experto habitual apreciará que pueden determinarse empíricamente cantidades efectivas de la FSH y hCG y las proporciones adecuadas de FSH con respecto a hCG. Las composiciones pueden administrarse a un sujeto, con necesidad de estimulación ovárica, como composiciones farmacéuticas en combinación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Se entenderá que, cuando se administra a un paciente humano, el uso diario total de los agentes o composición de la presente invención se decidirá por el médico tratante dentro del alcance de un juicio médico razonable. El nivel de dosis terapéuticamente específica para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores: el tipo y grado de respuesta que se debe lograr; actividad de la composición o agente específico empleado; la composición o los agentes específicos empleados; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el tiempo de administración, vía de administración y tasa de excreción del agente; la duración del tratamiento, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Uso de combinaciones de “vial único” de FSH y hCG en estimulación ovulatoria

Basándose en los objetivos del tratamiento, puede seleccionarse una composición con la proporción adecuada de FSH con respecto a hCG y puede administrarse la composición o una serie de composiciones a lo largo del período de estimulación ovárica. El médico puede iniciar la estimulación con una proporción y luego ajustar las proporciones de FSH con respecto a hCG a lo largo del ciclo. Los ajustes realizados durante el tratamiento pueden basarse en el momento de administración durante el ciclo o en respuesta a indicadores foliculares o esteroideogénicos, como el número y tamaño de folículos y los niveles hormonales del paciente.

Por ejemplo, al tratar mujeres anovulatorias caracterizadas por amenorrea hipogonadotrópica, pueden seleccionarse y administrarse composiciones de la invención para imitar los niveles de actividad de FSH y LH que ocurren durante un ciclo menstrual normal. Una composición con una proporción de FSH con respecto a hCG de 100:5 (no de la invención) se administraría inicialmente a diario. A partir del sexto día, por ejemplo, se monitorizarían los niveles de estradiol sérico y número y tamaño de folículo. Una vez detectados al menos dos folículos mayores de 12 mm y niveles de estradiol superiores a 200 pg/ml, el tratamiento continuará utilizando una composición de la invención con una proporción FSH con respecto a hCG de 50:200 que se administrará hasta los parámetros de maduración final de al menos un folículo mayor de 17 mm y se alcanzan niveles de estradiol más altos que 400 pg/ml. Al alcanzar los parámetros de maduración final, la ovulación se desencadenará con 10.000 UI de hCG.

Los estudios clínicos preliminares demuestran los efectos positivos de la administración de hCG antes de inducir la ovulación. Los resultados de un estudio se proporcionan en la tabla 1. Cuatro grupos de mujeres recibieron 250 UI

de FSH por día durante los primeros ocho días de un ciclo de EOC. Comenzando en aproximadamente el día nueve y continuando hasta aproximadamente el día doce, el grupo I continuó recibiendo 250 IU de FSH por día, el grupo II recibió 50 UI de FSH y 100 UI de hCG por día (composición de la invención), el grupo III recibió 50 UI de FSH y 200 UI de hCG por día (composición de la invención), y el grupo IV recibió 50 UI de FSH y 400 UI de hCG por día (ejemplo comparativo). La ecografía preovulatoria reveló un aumento en el número de folículos grandes (> 14 mm) para los grupos que recibieron hCG. Además, se recuperaron casi el doble de ovocitos tras la ovulación en los grupos II y III, que recibieron 100 UI de hCG y 200 UI de hCG por día en composiciones de la invención, respectivamente. La tasa de fertilización y el número de embriones de buena calidad fueron similares entre todos los grupos, pero el número de embarazos fue aproximadamente tres veces mayor para el grupo que recibió 100 UI de hCG por día que el grupo que recibió solo FSH. Este estudio demuestra que el uso de FSH y hCG de manera conjunta, en las etapas tardías de inducción de ovulación, aumenta el número de folículos grandes en desarrollo, aumenta el número de ovocitos recuperados y puede mejorar las tasas de embarazo.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse de manera conjunta con uno o más de otros compuestos o moléculas. "Administrarse de manera conjunta" se refiere a una administración simultánea en la misma formulación o en dos formulaciones diferentes.

Las composiciones de la invención pueden administrarse con o a continuación de agonistas y antagonistas de GnRH. Los agonistas y antagonistas de GnRH se utilizan para los procedimientos de inducción de ovulación para prevenir la ovulación espontánea durante la administración de gonadotropina. El antagonista de GnRH suprime la actividad endógena de LH, dando como resultado menos ovocitos viables. Por consiguiente, las composiciones de la invención pueden administrarse al inicio del tratamiento con antagonistas de GnRH para proporcionar niveles de actividad de LH que son suficientes para estimular el desarrollo folicular y la maduración de ovocitos.

Para proporcionar flexibilidad adicional, las composiciones de la invención pueden administrarse de manera conjunta con las preparaciones de gonadotropina actualmente disponibles, como FSH pura, hCG pura, LH pura y preparaciones de hMG.

Las composiciones de FSH:hCG se administran secuencialmente a lo largo de la estimulación ovárica. La administración "secuencial" se refiere a una diferencia de tiempo de segundos, minutos, horas o días entre la administración de las composiciones. Cada administración secuencial subsecuente puede estar compuesta por una composición con la misma proporción de FSH con respecto a hCG que la administración anterior o una proporción diferente de FSH con respecto a hCG. En una realización preferida, la administración secuencial se realiza con composiciones de FSH:hCG que difieren en la proporción de FSH con respecto a hCG. En una realización más preferida, cada composición sucesiva contiene una mayor cantidad de hCG con respecto a la composición anterior en la serie. En una realización especialmente preferida, la proporción de FSH con respecto a hCG se cambia gradualmente, como se muestra en la figura 2.

En la realización más preferida, la proporción de FSH con respecto a hCG se ajusta a lo largo de la serie en respuesta a la reacción del paciente a la composición de FSH:hCG según lo indicado por marcadores foliculogénicos y esteroidogénicos. Cuando se forman 2-4 folículos intermedios (12-14 mm) y se alcanzan niveles de estradiol de 200-600 pg/ml, esto es una indicación de que se ha logrado una foliculogénesis adecuada mediante una preparación rica en FSH y es apropiado cambiar a una preparación rica en hCG.

La foliculogénesis y la esteroidogénesis deben monitorizarse a lo largo de la estimulación ovárica por cualquier medio conocido en la técnica. La monitorización de niveles hormonales y el tamaño del folículo proporciona información sobre la respuesta ovárica durante el régimen de tratamiento y permite al médico ajustar la proporción de FSH con respecto a hCG durante el tratamiento. El tamaño del folículo puede determinarse, por ejemplo, utilizando ecografía pélvica transvaginal. Los folículos se clasifican como grandes (>14 mm), intermedios (10-14 mm) o pequeños (<10 mm). La ecografía pélvica transvaginal puede realizarse con frecuencia, por ejemplo, en los días de tratamiento 0, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20, hasta la administración preovulatoria de hCG.

Los niveles de estradiol pueden medirse utilizando cualquier medio conocido en la técnica a partir de cualquier fluido corporal apropiado (por ejemplo, sangre, orina y saliva), utilizando un inmunoensayo o un ensayo quimioluminiscente.

Estimulación ovulatoria controlada para fertilización in vitro

El tratamiento se inicia en la fase lútea media de un ciclo menstrual espontáneo cuando se administra un agonista de GnRH. La inducción de ovulación se inicia 1-2 semanas más tarde, después de la menstruación espontánea. Alternativamente, se administra un antagonista de GnRH a partir del sexto día de estimulación ovárica. Los pacientes reciben inyecciones diarias de 200 UI de FSH:10 UI de hCG desde el día 1 y continúan hasta la aparición de 4 folículos de al menos >11 mm y niveles de estradiol sérico >600 pg/ml. A partir de este día y hasta el final del tratamiento, los pacientes reciben administración diaria de 50 UI de FSH:200 UI de hCG.

La monitorización de tratamiento se lleva a cabo a lo largo de la administración de FSH:hCG. Cada día se extrae

una muestra de sangre entre 0800-0900 y se preparan muestras de suero de la manera habitual. Se determinan los niveles de estradiol. La ecografía transvaginal se realiza con frecuencia durante el tratamiento con FSH:hCG y hasta justo antes de la administración preovulatoria de hCG. Los niveles de estradiol se monitorizan utilizando ensayos de quimioluminiscencia (Chiron Corp. Diagnostics ACS 180, Milán, Italia).

5 Tras obtener los parámetros de maduración finales, cuatro folículos de >14 mm y 17 niveles de β -estradiol de 800-1500 pg/ml, un bolo de hCG, se administran, por ejemplo, 10.000 UI de hCG para desencadenar la ovulación y se recuperan los ovocitos.

10 Tabla 1. Efectos de proporciones variables de FSH:hCG en el resultado de las etapas tardías de estimulación ovárica para reproducción asistida.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Dosis de rFSH diaria objetivo hasta el cambio	250	250	250	250
Dosis de rFSH diaria objetivo después del cambio	ND	50	50	50
Dosis de hCG diaria objetivo después del cambio	ND	100	200	400
Ciclos iniciados	20	20	20	20
Ciclos de estimulación completados	15	18	17	17
Tasa (% de participantes que completaron el ciclo de estimulación)	75%	90%	85%	85%
Pacientes que responden al tratamiento (aquellos que completaron los ciclos de estimulación)				
Duración de tratamiento total (días)	11,3±0,4	12,0±0,2	12,2±0,3	12,1±0,2
Administración de FSH (días)	11,3±0,4	8,1±0,2	8,4±0,2	7,8±0,3
Administración de hCG (días)	ND	3,9±0,2	3,9±0,2	4,3±0,2
Cantidad real de rFSH administrada (UI total a lo largo de la duración del ciclo)	2833±103	2211±52	2297±49	2156±58
Cantidad real de hCG administrada (UI total a lo largo de la duración del ciclo)	ND	394±21	776±34	1718±75

ES 2 753 822 T3

Ecografía preovulatoria

Folículos pequeños (<10 mm)	5,9±0,5	2,8±0,3	2,4±0,2	1,9±0,1
Folículos intermedios (10-14 mm)	6,4±0,7	3,4±0,6	3,2±0,8	3,1±0,4
Folículos grandes (> 14 mm)	7,4±1,1	14,2±1,1	16,7±1,5	15,3±1,6
Folículos totales (por paciente que responde al tratamiento)	19,7±2,0	20,4±1,7	22,3±2,0	20,3±1,8

Resultados de TRA

Ovocitos recuperados (por ciclo de estimulación)	7,5±1,4	13,2±1,2	13,5±1,7	9,8±1,3
Tasa de fertilización (ovocitos fertilizados/ovocitos recuperados)	64±7 %	64±3 %	65±4 %	61±7
Embriones de buena calidad (ovocitos de buena calidad/número total de embriones obtenidos)	83±7 %	83±5 %	80±5 %	73±8 %
Embriones transferidos (por ciclo de estimulación)	2,0±0,2	2,3±0,1	2,4±0,1	2,4±0,2
Pruebas de embarazo positivas	2	8	4	4
Tasa de pruebas de embarazo positivas (por ciclos de estimulación totales)	13%	44%	24%	24%
Embarazos detectados por ecografía	2	7	4	3
Tasa de embarazo detectada por ecografía (por ciclos totales de estimulación)	13%	39%	24%	18%
Gestaciones de gemelos	0	0	1	0
Abortos (espontáneos)	0	1	0	2
Tasa de abortos (por número total de embarazos obtenidos)	0%	14%	0%	67%

REIVINDICACIONES

- 5 1. Producto inyectable que comprende composiciones farmacéuticas que contienen FSH y hCG adecuadas para su administración de manera separada o conjunta, en el que la cantidad de FSH y hCG se selecciona del grupo que consiste en: 50 UI de FSH y 100 UI de hCG; 50 UI de FSH y 200 UI de hCG; 75 UI de FSH y 25 UI de hCG; 75 UI de FSH y 50 UI de hCG; 75 UI de FSH y 75 UI de hCG; 75 UI de FSH y 100 UI de hCG; 150 UI de FSH y 10 UI de hCG; 150 UI de FSH y 25 UI de hCG; 150 UI de FSH y 75 UI de hCG; y 150 UI de FSH y 100 UI de hCG.
- 10 2. Producto inyectable según la reivindicación 1 que comprende composiciones farmacéuticas que contienen una o más dosis unitarias de FSH y hCG adecuadas para su administración de manera separada o conjunta, en el que la cantidad de FSH y hCG se selecciona del grupo que consiste en: 50 UI de FSH y 100 UI de hCG; 50 UI de FSH y 200 UI de hCG; 75 UI de FSH y 25 UI de hCG; 75 UI de FSH y 50 UI de hCG; 75 UI de FSH y 75 UI de hCG; 75 UI de FSH y 100 UI de hCG; 150 UI de FSH y 10 UI de hCG; 150 UI de FSH y 25 UI de hCG; 150 UI de FSH y 75 UI de hCG; y 150 UI de FSH y 100 UI de hCG.
- 15 3. Producto según cualquier reivindicación anterior en el que la hCG es hCG recombinante.
- 20 4. Producto según cualquier reivindicación anterior en el que la FSH es FSH recombinante.
- 25 5. Producto que comprende una o más dosis unitarias de una formulación que comprende una composición farmacéutica única que consiste esencialmente en FSH y hCG en al menos un portador farmacéuticamente aceptable, en el que la cantidad de FSH y hCG se selecciona del grupo que consiste en: 50 UI de FSH y 100 UI de hCG; 50 UI de FSH y 200 UI de hCG; 75 UI de FSH y 25 UI de hCG; 75 UI de FSH y 50 UI de hCG; 75 UI de FSH y 75 UI de hCG; 75 UI de FSH y 100 UI de hCG; 150 UI de FSH y 10 UI de hCG; 150 UI de FSH y 25 UI de hCG; 150 UI de FSH y 50 UI de hCG; 150 UI de FSH y 75 UI de hCG; y 150 UI de FSH y 100 UI de hCG.

FIGURA 1A

	FSH (UI)				
	50	75	100	150	200
hCG (UI)	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5
	10	10	10	10	10
	25	25	25	25	25
	50	50	50	50	50
	75	75	75	75	75
	100	100	100	100	100
	200	200	200	200	200
	300	300	300	300	300
	400	400	400	400	400

FIGURA 1B

	FSH (UI)				
	50	75	100	150	200
hCG recombinante (µg)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2
	3	3	3	3	3
	4	4	4	4	4
	8	8	8	8	8
	12	12	12	12	12
	16	16	16	16	16

FIGURA 2

