

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-134491- -00000-0000

Fecha: 2014-06-20 15:30:48 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO: ANILLO VAGINAL QUE COMPRENDE DHEA O DHEA SULFATO Y OPCIONALMENTE UN AGENTE MODULADOR DE LA LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO, ÚTIL PARA AUMENTAR LA RESERVA OVÁRICA EN MUJERES Y PARA ALIVIA SÍNTOMAS ASOCIADOS A LA MENOPAUSIA

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL A61F 6/06

71. SOLICITANTE: UNIVERSIDAD DE CHILE y LABORATORIOS ANDRÓMACO S.A.

DOMICILIO: Santiago, Chile y Santiago, Chile

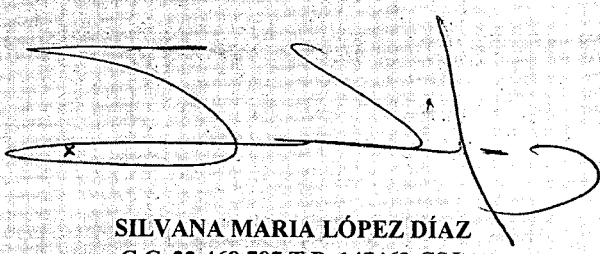
74. APODERADA SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ

22. BOGOTÁ, D.C.

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO No. 14-134491- -00000-0000 Fecha: 2014-06-20 15:30:48 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 5
---	--

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL – PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
	Solicitud Internacional No.	PCT/IB2011/056023	Fecha 29 de Diciembre de 2011
	Publicación Internacional No.	WO 2013/098592 A1	Fecha 04 de Julio de 2013
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
	ANILLO VAGINAL QUE COMPRENDE DHEA O DHEA SULFATO Y OPCIONALMENTE UN AGENTE MODULADOR DE LA LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO, ÚTIL PARA AUMENTAR LA RESERVA OVÁRICA EN MUJERES Y PARA ALIVIAR SÍNTOMAS ASOCIADOS A LA MENOPAUSIA		
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP) A61F 6/06		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
	APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
	UNIVERSIDAD DE CHILE y LABORATORIOS ANDRÓMACO S.A.		
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
	DIRECCIÓN: Avenida Libertador Bernardo O'Higgins 1058 y Avenida Quilín 5273 Peñalolén		
	No. TELÉFONO:		
	CORREO ELECTRONICO:		
	CIUDAD: Santiago, Santiago 7931398,		
	PAÍS DE RESIDENCIA: Chile		
	LUGAR DE CONSTITUCIÓN: Chile		
7	INVENTOR (ES)		
	APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD
	1.FUENTES GARCÍA,	Frans Ariel	Chilena
	2.CHEN,	Shu-Chen	Chilena
	3.BELTRÁN APABLAZA,	Marianela del Carmen	Chilena
	DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:		
8	DATOS INVENTOR (ES)		
	DIRECCIÓN	CIUDAD	PAÍS RESIDENCIA
	1. Avenida Libertador Bernardo O'Higgins 1058,	Santiago 8330111,	Chile
	2. Avenida Quilín 5273 Peñalolén,	Santiago 7931398,	Chile
	3. Avenida Quilín 5273 Peñalolén,	Santiago, 7931398,	Chile
	OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)		
	☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.		
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
	APELLIDOS	NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
	LÓPEZ DÍAZ	SILVANA MARIA	C.C. 22.468.787 T.P. 147463 CSJ
	DIRECCIÓN	Cra. 11 No. 86 – 53, Piso 6	No. TELÉFONO 6181088
	CIUDAD	Bogotá, D.C.	CORREO ELECTRÓNICO notificaciones@clarkemodet.com.co.
	PAÍS	Colombia	
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☐ SI ☐ NO		
	(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO
			(32) FECHA AAA/MM/DD

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	Nº 14-058442 14-0	Fecha 04/06/2014 20/06/2014
16	FIRMA DEL APODERADO :		
 SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ C.C. 22.468.787 T.P. 147463 CSJ			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción Nº de folios 42		9. ☐ Poderes, si fuera el caso.	
2. ☒ Reivindicaciones Nº Reivindicaciones: 19		10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante. Regla 4.17	
3. ☒ Dibujos y/o figuras Nº folios: 13		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☐ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

2

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0058442

Bogotá D.C., Junio 04 de 2014 - 07:44:01

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	596597595	03/06/2014	99.651.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
				\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-134491- -00000-0000

Fecha: 2014-06-20 15:30:48 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Junio 4 de 2014 - 07:44:16

2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0065730

Bogotá D.C., Junio 20 de 2014 - 15:00:46

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	16931	12/02/2014		31.000.00
RECIBO DE CA	999999999	47131	05/05/2014		21.000.00
RECIBO DE CA	999999999	58710	04/06/2014		62.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO

CONCEPTO

Vr.UNDITARIO

Vr.CONCEPTO

3 50005-01-01 SOLICITUDES

1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA
ADICIONAL A LAS 10 INIC

31.000.00

93.000.00

\$93.000.00

SON: **NOVENTA Y TRES MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-134491- -00000-0000

Fecha: 2014-06-20 15:30:48

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 5

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Junio 20 de 2014 - 15:00:47

	PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS		
Dependencia:	Fecha: <u>14</u> / <u>6</u> / <u>20</u> AAAA MM DD	Recorrido: <u>4</u>	
2020			
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-134491	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD ☒
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: Folio (4) ANEXA CD; el contiene un total (4) archivo en PDF y fue procesado correctamente.
Fenny



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-134491- -00000-0000

Fecha: 2014-06-20 15:30:48 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ANILLO VAGINAL QUE COMPRENDE DHEA O DHEA SULFATO Y
OPCIONALMENTE UN AGENTE MODULADOR DE LA LIBERACIÓN DEL
PRINCIPIO ACTIVO, ÚTIL PARA AUMENTAR LA RESERVA OVÁRICA EN
MUJERES Y PARA ALIVIAR SÍNTOMAS ASOCIADOS A LA MENOPAUSIA

CAMPO DE APLICACIÓN

La presente invención se refiere a un anillo vaginal que contiene como agente activo dehidroepiandrosterona (DHEA) o dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) y, opcionalmente, excipientes farmacéuticamente aceptables que modifican la liberación del agente activo, útil para aumentar la reserva ovárica disminuida en mujeres y para el alivio de los síntomas asociados a la menopausia, tales como atrofia vulvovaginal y disfunción sexual femenina.

ESTADO DE LA TÉCNICA

Desde que se cuenta con métodos anticonceptivos efectivos, la mujer ha ido postergando su maternidad llegando incluso a tener su primer hijo a una edad promedio de 29-30 años, de acuerdo a estadísticas en algunos países europeos, lo que contrasta con la edad promedio entre 23 y 25 que había a principios de los años '80 (Alviggi et al 2009). Por otra parte, la capacidad reproductiva de la mujer disminuye con el transcurso de los años, comenzando a declinar a una edad promedio de 30 años (Broekmans et al 2009).

La combinación del retardo voluntario del primer embarazo con la reducción natural de la fecundidad que ocurre con el aumento de la edad, ha dado lugar a un aumento constante de las mujeres mayores de 35 años que buscan el tratamiento de tecnologías de reproducción asistida (ART). Son procedimientos de alta complejidad y muy costosos que no siempre arrojan resultados positivos. Uno de los principales factores que influye adversamente es la edad avanzada de la paciente, por lo que las mejoras en estos tratamientos están dirigidas a modificar las condiciones que existen en este grupo de mujeres.

La terapia habitual para las mujeres infértiles está orientada a estimular los ovarios, inducir el desarrollo de los folículos y la liberación de los ovocitos. Consiste en tratamientos farmacológicos con gonadotropinas, como la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), gonadotropina menopáusica humana (HMG), gonadotropina coriónica humana (HCG) y la hormona folículo estimulante (FSH). Además es posible realizar pre-tratamientos con estrógenos junto con hormona del crecimiento (GH) con el fin de aumentar la acción de las gonadotropinas. Sin embargo, los efectos clínicos de la estimulación ovárica son limitados y las respuestas no han sido completamente satisfactorias. Con estos tratamientos se cree que entre el 20 y 60% de las mujeres logra embarazarse y de éstas, entre el 70% y 85% tendría un embarazo sin complicaciones dando a luz un bebé sano y saludable. De no conseguir buenos resultados las pacientes pueden repetir los tratamientos con gonadotropinas pero sólo durante un periodo máximo de 7 ciclos.

La fecundación *in vitro* (FIV) es uno de los procedimientos más utilizado en la tecnología de reproducción asistida. Consiste en poner en contacto óvulos de la mujer con los espermatozoides del hombre. La primera etapa es estimular los ovarios, luego se recuperan los ovocitos mediante una punción y en el laboratorio se realiza la inseminación *in vitro*, para finalmente transferir uno o más de los embriones resultantes al útero de la paciente.

Los tratamientos de estimulación ovárica con gonadotropinas se utilizan también como parte inicial y fundamental en el protocolo de la FIV. Se persigue estimular el desarrollo folicular ovárico y lograr la liberación de ovocitos para recuperarlos, bajo anestesia, mediante aspiración del fluido folicular.

Una baja respuesta del ovario a la estimulación de gonadotropinas es más común en mujeres desde los 35 años, puesto que los ovarios son menos sensibles a la FSH con el aumento de la edad (Alviggi et al 2009). A su vez, también disminuye la probabilidad de implantación del embrión y el éxito del nacimiento después de la fecundación *in vitro*. En contraste se ha observado que los resultados en pacientes que utilizan huevos donantes, permanecen relativamente constantes con el aumento

de la edad, demostrando que los bajos resultados en mujeres mayores están relacionados más bien con los ovocitos que con factores uterinos.

Aunque se considera que la edad cronológica es el parámetro más importante para proyectar la respuesta ovárica a la FSH, la tasa de envejecimiento reproductivo varía considerablemente entre individuos. Tanto los factores ambientales como genéticos contribuyen al envejecimiento biológico de los ovarios, de manera que la edad cronológica y la edad biológica no siempre son equivalentes. Tanto las mujeres mayores de edad como las que tienen envejecimiento ovárico prematuro, producen pocos ovocitos y de éstos, pocos son viables y normales (te Velde et al 2002, Broekmans et al 2009). Aun cuando en los procedimientos de la FIV los ovarios son sometidos a estimulaciones máximas con gonadotropinas, la baja producción de ovocitos sumado a la menor calidad de los mismos constituyen uno de los principales inconvenientes en el éxito de la FIV.

El envejecimiento reproductivo en la mujer comienza antes de nacer hasta la transición a la menopausia, siendo la disminución de la reserva de los folículos en los ovarios que no se encuentran en crecimiento (NGF, del inglés non-growing follicles), el principal mecanismo que ocurre en este proceso. La foliculogénesis se inicia en la semana 12 de gestación y finaliza alrededor de la semana 21. A los 4 - 5 meses de la vida fetal, se cuenta con alrededor de 6 - 7 millones de ovocitos rodeados por una capa de células granulosas para formar el stock de folículos primordiales. En la segunda mitad de la vida fetal se produce una pérdida por apoptosis de la gran mayoría de los folículos primordiales y al nacer la mujer cuenta con una dotación de tan sólo 1 a 2 millones de estos folículos (Markström et al 2002). Después del nacimiento continúa la pérdida folicular a una tasa más lenta, llegando a una dotación de unos 400.000 folículos en la menarquia (te Velde et al 2002).

Los primeros modelos mostraron que la tasa de disminución de los NGF sigue un patrón exponencial y bifásico con una aceleración en el decaimiento cuando el número de folículos cae por bajo el nivel crítico de 25.000 ovocitos, lo que normalmente ocurre a los 38 años aproximadamente, para finalmente llegar a la

menopausia con sólo unos mil ovocitos (Faddy et al 1992, Faddy et al 1996). Posteriormente, utilizando nuevas tecnologías de medición y análisis, se mostró que la disminución de los NGF es gradual a lo largo de la vida, sin un súbito decaimiento sino que con un consistente aumento en la tasa de pérdida folicular a medida que avanza la edad (Hansen et al 2008). Como resultado de esta aceleración, el número de folículos decae más rápido a medida que avanzan los años.

Más recientemente se ha presentado un modelo que relaciona la población de NGF en el ovario humano con la edad de la mujer, desde la concepción a la menopausia (Wallace et al 2010). A partir de este análisis se estima que 95% de las mujeres a la edad de 30 años sólo cuentan con el 12% de la población máxima de NGF que tenían antes de nacer y que a los 40 años sólo permanece el 3% de los NGF. Además encontraron que el reclutamiento de los NGF a la fase de maduración, aumenta desde el nacimiento hasta los 14 años y luego disminuye hasta la menopausia.

La disminución de la población de los NGF es un proceso fisiológico y continuo que ocurre junto con la disminución de la calidad ovárica de los ovocitos remanentes (te Velde et al 2002). Se piensa que el stock de NGFs es representativo de la reserva ovárica (Hansen et al 2008). La menor calidad ovárica se debería a un aumento en la imposibilidad de la separación meiótica que corresponde a anomalías en la separación de las cromátidas, lo que ocasionaría una tasa creciente de aneuploidía en los embriones tempranos en mujeres de mayor edad (Battaglia et al 1996, Kuliev et al 2005, Pellestor et al 2005, Hunt et al 2008). Como resultado se observa un aumento de los abortos espontáneos y de las mutaciones cromosomales en los embarazos después de los 35 años (Munne et al 1995, Munne et al 2005). La infertilidad natural también puede ocurrir de forma prematura en mujeres más jóvenes. El cambio a una menor respuesta del ovario se conoce como "reserva ovárica disminuida" (ROD) o "función ovárica disminuida" (FOD).

Los folículos primordiales constantemente están siendo reclutados, desde antes del nacimiento, para unirse al grupo de los folículos en crecimiento temprano. En esta etapa de reclutamiento inicial los folículos son arrestados en la primera

profase meiótica. Después de la pubertad, en cada nuevo ciclo, se reclutan un número limitado de folículos en crecimiento (reclutamiento cíclico), y luego de una selección final, se produce el predominio y ovulación de un folículo único (Gougeon 1996, McGee et al 2000). En un determinado momento de la vida, la mayoría de los folículos primordiales se mantienen en un estado latente y, los que no alcanzan el estado preovulatorio, son destinados a la atresia en estados tempranos del desarrollo folicular, sin alcanzar a ser maduros y disponibles para ser ovulados. Aproximadamente sólo 0,1% de los ovocitos reanuda la meiosis al ser estimulados con un aumento de la hormona luteinizante (LH) que induce ovulación, formando el gameto haploide disponible para ser fecundado.

La condición referida como infertilidad femenina incluye a las mujeres que intentan embarazarse y no lo logran en un periodo de 12 meses (Evers 2002). Muchas de estas mujeres tienen más de 35 años y sufren de una infertilidad natural. Existen marcadores endocrinos y de ultrasonido que son útiles para estimar la edad biológica ovárica de pacientes individuales y que ayudan a mejorar la atención personalizada, la información y el manejo apropiado de estas pacientes. Entre los marcadores se incluyen: niveles de FSH, recuento de folículos antrales (AFC, del inglés antral follicle count), inhibina-B y hormona anti-Mülleriana (AMH).

Se ha mostrado que niveles basales elevados de FSH están asociados con una respuesta pobre a la estimulación ovárica, lo que puede ser ocasionado por un reducido número de ovocitos que conduce a tasas de embarazo más bajas al utilizar tecnologías de reproducción asistida (Abdalla et al 2004, Alviggi et al 2009). Una respuesta pobre a la estimulación ovárica se define como un recuento de folículos antrales (AFC) menor a 5, donde dichos folículos miden entre 2 y 5 mm (Klinkert et al 2005).

La AMH es una glicoproteína dimérica producida por células de la granulosa de folículos preantrales y antrales pequeños. Su producción comienza cuando los folículos se diferencian desde el estado primordial al primario y continúa hasta que los folículos han alcanzado el estado antral medio con diámetros entre 2-6 mm. La producción de AMH se detiene una vez que los folículos han alcanzado el estado

dominante, que es la etapa de crecimiento folicular dependiente de FSH (Ueno et al 1989, Fanchin et al 2003, Broekmans et al 2009). Además la AMH desaparece cuando los folículos llegan al estado de atresia (Visser et al 2006).

La AMH es uno de los principales reguladores en el proceso de reclutamiento folicular temprano desde el stock de folículos primordiales (Durlinger et al 2002). Se ha mostrado que en la ausencia de AMH, los folículos son más sensibles a la FSH y avanzan a estados tempranos de desarrollo folicular (Durlinger et al 1999, Durlinger et al 2001). Una vez que la AMH es producida por los folículos en crecimiento pequeño tiene al menos dos sitios de acción en la foliculogénesis, inhibir el reclutamiento folicular inicial e inhibir el crecimiento y la selección de folículos preantrales y antrales pequeños dependientes de FSH (van Houten 2010).

Inicialmente, cuando se detectaron niveles séricos de AMH, se postuló a esta hormona como un buen indicador para detectar patologías tumorales en las gónadas femeninas y masculinas (Hudson et al 1990, Lee et al 1996). Posteriormente, se visualizó a la AMH como un candidato promisorio para evaluar el envejecimiento ovárico (revisado en Visser et al 2006). Como el aspecto cuantitativo de este proceso se refleja por la disminución del stock de folículos primordiales, y como este stock es imposible medirlo directamente, puede estimarse indirectamente por el número de folículos en crecimiento (Scheffer et al 1999), puesto que el número de folículos en crecimiento es proporcional al tamaño de la reserva de folículos primordiales (Scheffer et al 2003). Por este motivo, un factor secretado principalmente por folículos en crecimiento, como la AMH, reflejará el tamaño del stock de folículos primordiales.

Se ha observado en ratonas que los niveles séricos de AMH disminuyen gradualmente con el aumento de la edad, mientras que la expresión de AMH en folículos individuales en crecimiento no cambia. La disminución sérica de AMH correlaciona con la disminución del número de folículos en crecimiento y principalmente con el decaimiento de folículos primordiales (Kevenaar ME et al 2006). De la misma manera, en la mujer adulta los niveles séricos de AMH disminuyen con el aumento de la edad hasta niveles no detectables en la

menopausia (de Vet A et al 2002, van Rooij et al, 2005). Se ha mostrado que los niveles de AMH no se modifican con el ciclo menstrual y tampoco varían significativamente entre los ciclos (Fanchin et al 2005, Hehenkamp et al 2006), lo que sugiere que la AMH no es regulada por gonadotropinas (van Houten ELAF et al 2010).

Los niveles de AMH correlacionan estrechamente con el recuento de folículos antrales (AFC), y también con otros marcadores del envejecimiento ovárico, tales como FSH e inhibina B en el día 3 del ciclo (de Vet A et al 2002). Pero se ha observado que los niveles de AMH disminuyen antes que los otros marcadores, resultando en el mejor indicador para predecir el inicio de la transición a la menopausia (van Rooij et al 2004). También se observó que la AMH es mejor marcador para predecir la edad reproductiva de la mujer que la edad cronológica (van Disseldorp et al 2008).

De los marcadores disponibles para evaluar la reserva ovárica, los niveles de AMH constituyen un confiable indicador para determinar el estado de los ovarios, siendo un parámetro útil para los procedimientos de ART. Se ha demostrado que los niveles de AMH están estrechamente correlacionados con el recuento de folículos antrales (AFC) previo al tratamiento de inducción de la ovulación y con el número de ovocitos que son recuperados después del tratamiento (van Houten ELAF et al 2010). Los niveles de AMH son significativamente más bajos en las pacientes que responden pobremente a la estimulación, que en las que tienen una respuesta normal (Seifer et al 2002, van Rooij et al 2002). Si bien la AMH es un buen índice de predicción para conocer la reserva ovárica, también se ha mostrado que esta hormona tiene un bajo rendimiento en predecir el embarazo, al igual que el AFC (Broer et al 2009). Estos resultados permiten sugerir que la AMH es un buen marcador para aspectos cuantitativos de la reserva ovárica, no así para evaluar la calidad ovárica. No obstante, existe una estrecha relación entre los niveles de AMH y el número de ovocitos que se recuperan. Otros autores han encontrado una relación directa entre los altos niveles de AMH y los buenos resultados de embarazos químicos y clínicos por procedimientos de ART, que incluyen FIV e inyección de esperma intracitoplasmática (ICSI) (Dehghani-Firouzabadi et al 2008). En estos

estudios, las buenas respondedoras presentaron niveles de AMH considerablemente más altos que las respondedoras pobres. Esta respuesta se refiere al número de ovocitos recuperados en los procedimientos. En las mujeres con infertilidad natural, el bajo número de ovocitos recuperados en los tratamientos de FIV es una de las mayores limitantes en el éxito del procedimiento, por tanto, conseguir que este número aumente de <4 (respondedores pobres) a ≥ 4 (buenos respondedores) es un excelente resultado que podría amplificar considerablemente las probabilidades de embarazo en la FIV.

Debido a estos antecedentes es imprescindible conseguir que los niveles de AMH aumenten en las mujeres que serán sometidas a programas de reproducción asistida.

La dehidroepiandrosterona (DHEA) y DHEA sulfato (DHEA-S) son esteroides secretados en grandes cantidades por la glándula adrenal, que son convertidos en androstenodiona o androstenodiol y luego, en tejidos periféricos, en potentes andrógenos y estrógenos (Adams 1985, Labrie 1991). Los niveles séricos de DHEA y DHEA-S son la principal fuente de andrógenos en la mujer. Diversos reportes han mostrado que con el envejecimiento en la mujer se produce una disminución progresiva de los niveles séricos de DHEA y de DHEA-S a partir de los 30 años de edad (Orentreich et al 1984, Labrie et al 1997). En las mujeres, a los 50-60 años el DHEA sérico ha disminuido un 70% del valor máximo que se registra a los 20-30 años (Labrie et al 1997). En la circulación, DHEA-S puede ser metabolizado a DHEA por sulfhidrolasas en tejidos periféricos y adrenales. Se ha reportado que 64% de la producción diaria de DHEA-S puede ser convertida en la mujer a DHEA, pero sólo un 13% de DHEA es metabolizado de regreso a DHEA-S por la hidroesteroide sulfatasa (revisado en Kroboth et al 1999). DHEA y DHEA-S sirven como precursores para 75% de los estrógenos activos en la mujer premenopáusica y para 100% en la menopausia (Labrie et al 1997).

Se ha observado en ratas que luego de la administración de supositorios vaginales de DHEA se producen cambios morfológicos a nivel vaginal lo que indica

que hay conversión local a esteroides sexuales activos que tienen acción estrogénica y/o androgénica (Labrie, 1991).

Existen varios reportes científicos (Casson et al 2000, Barad et al 2005, Barad et al 2006, Barad et al 2007, Sönmezer et al 2009, Gleicher et al 2009, Mamas et al 2009, Gleicher et al 2010a, Gleicher et al 2010b, Gleicher et al 2010c, Wiser et al 2010) y documentos de patentes (US20060089339, US2006089308, US2008269180, US2010048525 y US2010113407, US20110207708, US7615544) que muestran que la administración de DHEA o de DHEA-S mejora la producción del número de ovocitos, la calidad de los mismos, el número y la calidad de embriones, mejora las tasas de embarazo espontáneos, las tasas de embarazo por FIV, las tasas de embarazo acumulativos, el tiempo de concepción y reduce los abortos espontáneos.

Los tratamientos descritos para el aumento de la reserva ovárica incluyen administración oral de DHEA en dosis de 50 a 100 mg una vez al día por un periodo de uno a cuatro o más meses. En las solicitudes de patentes US2010048525 y US2010113407 se utilizan esas dosis de DHEA por vía oral, por al menos un mes para mejorar la reserva ovárica medida por los cambios de los niveles séricos de AMH. En estos documentos se describe la evaluación de la respuesta en mujeres a la inducción de la ovulación medido por el rendimiento en la producción de ovocitos y embriones por la administración de DHEA por un periodo de al menos un mes y más preferiblemente por al menos cuatro meses. También se evaluó el mejoramiento del recuento de embriones acumulativos que implica un mejoramiento de la cantidad y calidad de ovocitos y embriones, y una mejora en las tasas de embriones euploides. El efecto es positivo a los dos meses de tratamiento pero se mejora aun más si se prosigue por un periodo igual o superior a 16 semanas. Además se observó un aumento en el número de ovocitos fertilizados con las dosis y duración de tratamientos indicados, aumentó el número de embriones al día 3, aumentó el número de ovocitos euploides y el número de embriones transferidos en las mujeres con reserva ovárica disminuida. Hubo también un aumento de los niveles de DHEA, un aumento en las concepciones espontáneas, un aumento en las

tasas de embarazos y en los embarazos acumulativos, particularmente en aquellas mujeres que presentaban reserva ovárica disminuida.

Se ha observado que la administración de DHEA provocó un aumento de los niveles basales de AMH en mujeres que han recibido DHEA por vía oral en dosis diarias por un periodo de entre 30 a 120 días (US20100048525, US20100113407, US20110207708), y como la AMH se ha sugerido como un marcador más específico de la reserva ovárica, se ha utilizado para evaluar el efecto de DHEA en la funcionalidad ovárica. Se realizaron las mediciones de AMH antes y después de la administración de DHEA y observaron que los niveles séricos de AMH mejoraron significativamente así como el éxito en los embarazos respecto de la variación de la AMH (Gleicher et al 2010a).

En un estudio realizado en 190 mujeres (descrito en US20110207708, US20100048525, US20100113407), de las cuales 89 tenían una edad promedio de 41,6 años utilizaron 75 mg de DHEA una vez al día o tres dosis al día de 25 mg cada una, por un periodo de hasta cuatro meses previo al inicio del procedimiento de FIV. Las otras 101 mujeres del grupo control, tenían en promedio 40 años y recibieron tratamiento para la infertilidad pero sin el uso de DHEA. El resultado primario fue el embarazo clínico. Se sometieron a estimulación ovárica con FSH y HMG. Las pacientes del grupo de estudio recibieron DHEA hasta la obtención de un test de embarazo positivo o hasta que la paciente finalizó el tratamiento. Los resultados fueron significativamente más altos en el grupo de estudio con un 28% de embarazos clínicos versus 11% en el grupo control. El tratamiento con DHEA aumentó los embarazos clínicos por al menos 150% y además redujo el tiempo acumulativo de los embarazos. Por otra parte, la tasa de abortos espontáneos fue menor en el grupo tratado con DHEA, siendo de sólo 20% comparado con 36% en el grupo control.

En las solicitudes de patentes norteamericanas US20100048525, US20100113407 y US 20110207708 también se describen los resultados de estudios clínicos que muestran el efecto de la administración de DHEA en las tasas de aborto espontáneo en mujeres infértiles con reserva ovárica disminuida,

realizados en dos centros de fertilidad independientes, uno en Estados Unidos y otro de Canadá. Los resultados se compararon con las tasas nacionales de abortos espontáneos reportados en Estados Unidos para los embarazos por FIV en el año 2004. La reducción de los abortos espontáneos fue similar en ambos centros con una disminución de 15,0% y 15,2%, respectivamente. Las diferencias fueron observadas en todas las edades pero fueron más pronunciadas en mujeres mayores de 35 años. Estos resultados también fueron descritos por Gleicher et al, 2009.

A la fecha, en todos los tratamientos descritos para aumentar la reserva ovárica disminuida se ha utilizado DHEA por vía oral, lo que implica administraciones diarias por periodos largos (de uno a cuatro o más meses) que pueden ser con ingestas de una a tres veces al día. Por otra parte se conoce la inconveniencia adicional de la vía oral porque el DHEA sufre una degradación importante en el hígado, en cambio se sabe que se absorbe muy bien por vía sistémica después de la aplicación en la piel y mucosas y se ha descubierto que se pueden administrar dosis terapéuticamente eficaces de DHEA por la vía transmucosa (ES2227523). Con este tipo de administración se evitarían el efecto de primer paso hepático y la incomodidad de administrar por inyección.

Es sabido que la vía vaginal puede representar ventajas en término de disminución de los efectos laterales y una mejor concentración del producto activo en el sitio de interés. La racionalidad de esta afirmación reside en el concepto de "primer paso uterino" de acuerdo al cual los fármacos administrados por vía vaginal se dirigen preferentemente a los órganos pelvianos. Los mecanismos responsables de esta direccionalidad del flujo consisten básicamente en la absorción pasiva por simple osmosis, el peristaltismo uterino, la amplia red de vasos venosos que rodean los dos tercios de la vagina que drenan hacia el itsmo uterino y una especial distribución de la microcirculación alrededor del útero y los anexos. Este último mecanismo es denominado "de contracorriente vascular" y consiste en el paso directo de solutos desde la vena a la arteria por razones de grandes superficies en íntimo contacto y con flujos opuestos.

En el estado del arte se ha divulgado el uso de óvulos o supositorios vaginales que comprenden DHEA en el tratamiento de atrofia vulvovaginal, disfunción sexual en mujeres post menopáusicas y para aliviar otros síntomas de la menopausia. Como referencia se incluyen la publicación de solicitud de patente internacional WO2009021323 y los reportes de Labrie et al 2008 y Labrie et al 2009. En estos documentos se describen el uso de DHEA en óvulos vaginales en dosis de 3,25 mg (0,25%), 6,5 mg (0,5%), 13 mg (1,0%) y 23,4 mg (1,8%) que son administrados diariamente por periodos que van desde una hasta doce semanas para el tratamiento de los trastornos mencionados.

Por otra parte, se ha observado que las preparaciones vaginales que contienen estrógenos provocan aumentos en la concentración sistémica y no sólo cambios a nivel local, lo que aumenta el riesgo de los efectos secundarios propios de los estrógenos (Beral V 2003, Heiss et al, 2008). Con el uso de los supositorios diarios de DHEA no se registraron cambios en el nivel de los estrógenos plasmáticos (Labrie et al 2008) sino que se mantuvo los niveles séricos dentro de los valores encontrados en mujeres post menopáusicas normales, evitando así el riesgo aumentado de cáncer de mamas encontrado con el uso de algunas preparaciones de estrógenos administrados intravaginal o sistémicamente.

En el estado del arte es posible encontrar la descripción de diferentes formas farmacéuticas para administrar DHEA o DHEA-S como también el uso de éstos en el tratamiento o prevención de diversas patologías. Como referencia se incluyen los documentos de patente ES2227523, EP1350541, US5948434, US5955455, US2009054383 y ES2098193. En estas patentes se describen las cápsulas blandas para vía oral; crema, gel, ungüento, loción y parches para administración transdermal o percutánea; óvulos y supositorios para administración intravaginal. No se encuentran descritos anillos vaginales que comprendan DHEA, sino que sólo en el documento de patente US2009054383 se menciona un anillo entre diversas posibilidades de administración, pero no se describe un anillo vaginal en particular.

En la industria farmacéutica se ha abordado el desarrollo de anillos vaginales para el suministro de diferentes tipos de principios activos, pero sólo algunos que

comprenden hormonas han llegado a formar parte del arsenal terapéutico para ser usados en humanos. Esto porque sólo se ha demostrado eficacia y seguridad para unos pocos productos en la forma de anillos vaginales, que los ha hecho meritorios de la aprobación por parte de las autoridades sanitarias de diferentes países. Estos anillos se utilizan como anticonceptivo en monoterapia (Progering®, progesterona), terapia combinada (NuvaRing®, etonogestrel y etinilestradiol), terapia de reemplazo hormonal con estradiol en el tratamiento de síntomas de la menopausia (Estring®, Femring®) y como suplemento lúteo en mujeres que requieren aporte exógeno de progesterona en casos de infertilidad para receptoras de ovodonación, fecundación *in vitro*, transferencia embrionaria y otras técnicas de reproducción asistida (Fertiring®).

En la patente US6951654 se menciona que la liberación de la droga desde anillos formados por un diseño homogéneo o de matriz, en el cual el agente activo está homogéneamente distribuido en un sistema elastomérico, proporciona una liberación con un decaimiento exponencial, de primer orden, caracterizada por una liberación inicial alta de la droga, seguida por una liberación más lenta, y se indica que la droga no puede ser liberada con una tasa de liberación sustancialmente constante o controlada (orden cero). En la patente US6951654 se describen sistemas de liberación intravaginal de droga, sustancialmente de primer orden durante las primeras 24 horas, seguido por al menos tres días de liberación de orden cero. Se mencionan anillos que comprenden un agente antimicrobiano y agentes aumentadores de la liberación del agente activo, tales como polivinilpirrolidona, éteres de celulosa, ácido poliacrílico, carbomer, ácido algínico, azúcares como lactosa, ciclodextrinas, entre otros. Entre los resultados que muestran liberaciones acumulativas de la droga hasta el día 25, se observa que a igual dosis, 50 mg de metronidazol (MET), los anillos con 5% y 10% de polivinilpirrolidona (PVP) liberaron mayor cantidad de droga que los anillos sin PVP a lo largo de los 25 días. Al comparar con mayores dosis se observa un comportamiento distinto (Figura 3 de la patente US6951654). En los primeros tres días la liberación desde anillos vaginales que contienen PVP y 50 mg de metronidazol (MET) es levemente mayor que desde los anillos que contienen mayor dosis del agente activo (100 mg MET) sin PVP. A partir del día 6 comienza a disminuir la liberación de los anillos con PVP llegando a

ser menor que la de los sistemas que no contienen el agente (100 mg MET). Desde el día 13, la liberación acumulada de los anillos con PVP es significativamente menor que desde los anillos con el doble de la dosis pero sin PVP. En la patente US6951654 se observa que la adición de PVP o lactosa a los anillos induce una mayor liberación de los antisépticos, pero este aumento no llega a ser sostenido en el tiempo y además no supera la liberación de dosis más altas del ingrediente activo que no comprenden PVP a lo largo del tiempo.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Existe la necesidad de una formulación de liberación sostenida que entregue DHEA o DHEA-S, para ser usada en el tratamiento o prevención de patologías o desórdenes que son mejorados con el uso de DHEA, donde dicha formulación se administre sólo una vez al mes, cada dos o cada tres meses, de manera de facilitar las terapias a largo plazo que son propias del efecto terapéutico de DHEA, y a través de una vía de administración que permita disminuir o eliminar el efecto del primer paso hepático.

La formulación puede comprender DHEA o la forma sulfatada, DHEA-S, puesto que DHEA-S es convertido endógenamente en la forma no sulfatada.

La formulación descrita en la presente solicitud se refiere a un anillo vaginal de liberación sostenida que comprende DHEA o su forma sulfatada DHEA-S.

Más preferentemente la presente solicitud se refiere a un anillo vaginal de liberación sostenida que comprende DHEA o DHEA-S y un agente modificador de la liberación del agente activo.

De manera aun más preferida, la presente invención se refiere a un anillo vaginal de liberación sostenida que comprende DHEA o DHEA-S y un agente modificador de la liberación del agente activo, tal como PVP K-30, lactosa, celulosa microcristalina o lauril sulfato de sodio.

Con el anillo vaginal de liberación sostenida de la presente invención es posible obtener concentraciones tisulares (locales) elevadas y niveles plasmáticos que pueden minimizarse o maximizarse dependiendo de la presencia de un agente modulador y de la concentración que se utilice en la formulación del anillo vaginal, lo que permite manejar los niveles plasmáticos deseados de la DHEA, dependiendo de la patología a tratar, del tiempo del tratamiento y de los órganos blancos a los que se quiera llegar.

Adicionalmente se describe el uso de un anillo vaginal de liberación sostenida que comprende como agente activo DHEA o DHEA-S y, opcionalmente, un agente modificador de la liberación del agente activo, en el tratamiento o prevención de patologías o desórdenes que son mejorados con el uso de DHEA.

Más específicamente, la presente invención se refiere al uso de un anillo vaginal de liberación sostenida que comprende como agente activo DHEA o DHEA-S y opcionalmente un agente modificador de la liberación del agente activo para aumentar la reserva ovárica en mujeres con reserva ovárica disminuida.

Adicionalmente la presente invención se refiere al uso de un anillo vaginal de liberación sostenida que comprende como agente activo DHEA o DHEA-S y opcionalmente un agente modificador de la liberación del agente activo para el tratamiento de los síntomas asociados a la menopausia

Adicionalmente, la presente invención se refiere al uso de un anillo vaginal de liberación sostenida que comprende como agente activo DHEA o DHEA-S y opcionalmente un agente modificador de la liberación del agente activo para el tratamiento de síntomas de la atrofia vulvovaginal y disfunción sexual en mujeres post menopáusicas.

Más preferiblemente se presenta un anillo vaginal que comprende DHEA o DHEA-S y un aumentador de la liberación de la droga, específicamente PVP K-30. Sorprendentemente se ha encontrado que administrando los anillos vaginales con DHEA y PVP-K30, aumenta la concentración endometrial de DHEA, sin aumentar en el mismo grado la concentración plasmática de la droga, comparado con la

administración de un anillo vaginal con la misma concentración de DHEA pero sin PVP-K30. Esto permite asegurar una concentración terapéutica en el tejido blanco manteniendo bajas las concentraciones plasmáticas, garantizando el efecto terapéutico local y disminuyendo la probabilidad de efectos secundarios sistémicos no deseados. Este efecto no se observó utilizando otros aumentadores de la liberación conocidos en el estado del arte. El PVP K-30 corresponde al polímero de 1-vinil-2-pirrolidona, o polivinilpirrolidona, con viscosidad en solución al 1% (o valor K) entre 26 y 35 centistokes.

DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

Figura 1.- Perfil de liberación *in vitro* de dehidroepiandrosterona (DHEA) desde anillos vaginales que comprenden 2,0 g de DHEA sin PVP K-30 o con 10% y 15% de PVP K-30.

Figura 2.- Perfil de liberación *in vitro* de dehidroepiandrosterona (DHEA) desde anillos vaginales que comprenden 1,0 g de DHEA sin PVP K-30 o con 10% y 15% de PVP K-30.

Figura 3.- Perfil de liberación *in vitro* de dehidroepiandrosterona (DHEA) desde anillos vaginales que comprenden 0,5 g de DHEA sin PVP K-30 o con 15% y 20% de PVP K-30.

Figura 4.- Liberación *in vitro* promedio de dehidroepiandrosterona (DHEA) entre los días 1 a 4 desde anillos vaginales que comprenden 2,5 g, 2,0 g, 1,0 g y 0,5 g de DHEA sin PVP K-30 o con 5%, 10%, 15% y 20% de PVP K-30.

Figura 5.- Liberación *in vitro* promedio de dehidroepiandrosterona (DHEA) entre los días 5 a 30 desde anillos vaginales que comprenden 2,5 g, 2,0 g, 1,0 g y 0,5 g de DHEA sin PVP K-30 o con 5%, 10%, 15% y 20% de PVP K-30.

Figura 6.- Liberación *in vitro* promedio de dehidroepiandrosterona (DHEA) entre los días 31 a 90 desde anillos vaginales que comprenden 2,5 g, 2,0 g, 1,0 g y 0,5 g de DHEA sin PVP K-30 o con 5%, 10%, 15% y 20% de PVP K-30.

Figura 7.- Perfil de liberación *in vitro* de dehidroepiandrosterona (DHEA) desde anillos vaginales que comprenden 1,0 g de DHEA sin PVP K-30 y desde anillos que comprenden 1,0 g de DHEA con 15% de PVP K-30, y 2,5 g de DHEA con 5% de PVP K-30.

Figura 8.- Perfil de liberación *in vitro* de dehidroepiandrosterona (DHEA) desde anillos vaginales que comprenden 2,0 g de DHEA sin PVP K-30 y desde anillos que comprenden 0,5 g de DHEA con 20% de PVP K-30.

Figura 9.- Perfil de liberación *in vitro* de dehidroepiandrosterona (DHEA) desde anillos vaginales que comprenden 2,0 g de DHEA sin lactosa o con 10% y 15% de lactosa.

Figura 10.- Perfil de liberación *in vitro* de dehidroepiandrosterona (DHEA) desde anillos vaginales que comprenden 2,0 g de DHEA sin lauril sulfato de sodio (LSS) o con 0,5% de LSS.

Figura 11.- Niveles de dehidroepiandrosterona (DHEA) en plasma y fluido endometrial de mujeres, luego de la administración de anillos vaginales que comprenden 1,0 g de DHEA sin agente modulador de la liberación de la droga.

Figura 12.- Niveles de dehidroepiandrosterona (DHEA) en fluido endometrial de mujeres, luego de la administración de anillos vaginales que comprenden 1,0 g y 2,0 g de DHEA sin PVP K-30 y 1,0 g de DHEA con 15% de PVP K-30.

Figura 13.- Niveles de dehidroepiandrosterona (DHEA) en plasma de mujeres, luego de la administración de anillos vaginales que comprenden 1,0 g y 2,0 g de DHEA sin PVP K-30 y 1,0 g de DHEA con 15% de PVP K-30.

EJEMPLOS DE APLICACIÓN DE LA INVENCION

Ejemplo 1.- Anillos vaginales que comprenden DHEA o DHEA-S

Se fabricaron anillos vaginales comprendiendo diferentes cantidades de DHEA o DHEA-S. Además se agregó un agente modulador de la liberación del principio activo seleccionado entre:

- PVP K-30: Polivinilpirrolidona K-30 o polímero de 1-vinil-2-pirrolidona con viscosidad en solución al 1% entre 26 y 35 centistokes (valor K entre 26 y 35)
- Laurilsulfato de sodio
- Cremophor RH40: Aceite de ricino hidrogenado etoxilado (CAS 61788-85-0)
- Policarbofil AA-1: Polycarbophil AA-1; polímero del ácido acrílico entrecruzado con divinil glicol (CAS 9003-97-8)
- Lactosa
- Celulosa microcristalina.

1.1.- Formulaciones ensayadas

En las Tablas 1, 1a, 2 y 2a se detallan Formulaciones Generales (FG) ensayadas. Se incluyen los polímeros utilizados junto con los diferentes agentes modificadores de liberación.

Tabla 1.- Formulaciones de los anillos vaginales que contienen DHEA y PVP K-30

INGREDIENTE	% P/P				
	FG - 1	FG - 2	FG - 3	FG - 4	FG - 5
Polímero A: Polímero de vinil polidimetilsiloxano + sílica amorfa (25%) + catalizador de platino	63,0 - 85,0	66,0 - 80,0	58,0 - 75,0	48,0 - 72	48,0 - 68,0
Polímero B: Copolímero dimetil metilhidrogeno siloxano (20%) + polidimetilsiloxano	7,0 - 10,0	7,0 - 10,0	7,0 - 10,0	7,0 - 10,0	7,0 - 10,0
DHEA	5,0 - 30,0	5,0 - 25,0	5,0 - 30,0	3,0 - 35,0	2,0 - 30,0
PVP K-30	0	2,0 - 5,0	5,0 - 10,0	10,0 - 15,0	15,0 - 20,0

Tabla 2.- Formulaciones de anillos vaginales que contienen DHEA y modificadores de la liberación del ingrediente activo distintos a PVP K-30

INGREDIENTE	% P/P					
	FG - 6	FG - 7	FG - 8	FG - 9	FG - 10	FG - 11
Polímero A: Polímero de vinil polidimetilsiloxano + sílica amorfa (25%) + catalizador de platino	62,9 - 84,0	61,0 - 80,0	55,0 - 77,0	53,0 - 72,0	57,0 - 77,0	0
Polímero B: Copolímero dimetil metilhidrogeno siloxano (20%) + polidimetilsiloxano	7,0 - 10,0	8,0 - 10,0	8,0 - 10,0	7,0 - 10,0	6,0 - 7,0	0
Polímero C: Polidimetilsiloxano con grupo hidroxilo terminal	0	0	0	0	0	68,8 - 91,0
Polímero D: Tetra - n - propil-silicato ; Si(OC ₃ H ₇) ₄	0	0	0	0	0	1,0 - 3,0
Octoato de estaño; Sn(C ₈ H ₁₅ O ₂) ₂	0	0	0	0	0	0,2 - 1,0
DHEA	5,0 - 30,0	5,0 - 30,0	5,0 - 30,0	3,0 - 30,0	1,0 - 32,0	5,0 - 30,0
Lauril sulfato de sodio	0,1-1,0	0	0	0	0	0
Cremophor RH40	0	1,0 - 5,0	0	0	0	0
Policarbofil AA-1	0	0	7,0 - 8,0	0	0	0
Lactosa	0	0	0	10,0 - 15,0	0	0
Celulosa microcristalina	0	0	0	0	5,0 - 15,0	0

También se prepararon anillos vaginales que comprendían la forma sulfatada de DHEA (DHEA-S), en lugar de DHEA, como se indica en las Tablas 1a y 2a.

Tabla 1a.- Formulaciones de los anillos vaginales que contienen DHEA-S y PVP K-30

INGREDIENTE	% P/P				
	FG - 12	FG - 13	FG - 14	FG - 15	FG - 16
Polímero A: Polímero de vinil polidimetilsiloxano + sílica amorfa (25%) + catalizador de platino	63,0 - 85,0	66,0 - 80,0	58,0 - 75,0	48,0 - 72	48,0 - 68,0
Polímero B: Copolímero dimetil metilhidrogeno siloxano (20%) + polidimetilsiloxano	7,0 - 10,0	7,0 - 10,0	7,0 - 10,0	7,0 - 10,0	7,0 - 10,0
DHEA-S	5,0 - 30,0	5,0 - 25,0	5,0 - 30,0	3,0 - 35,0	2,0 - 30,0
PVP K-30	0	2,0 - 5,0	5,0 - 10,0	10,0 - 15,0	15,0 - 20,0

Tabla 2a.- Formulaciones de anillos vaginales que contienen DHEA-S y modificadores de la liberación del ingrediente activo distintos a PVP K-30

INGREDIENTE	% P/P					
	FG - 17	FG - 18	FG - 19	FG - 20	FG - 21	FG - 22
Polímero A: Polímero de vinil polidimetilsiloxano + sílica amorfa (25%) + catalizador de platino	62,9 - 84,0	61,0 - 80,0	55,0 - 77,0	53,0 - 72,0	57,0 - 77,0	0
Polímero B: Copolímero dimetil metilhidrogeno siloxano (20%) + polidimetilsiloxano	7,0 - 10,0	8,0 - 10,0	8,0 - 10,0	7,0 - 10,0	6,0 - 7,0	0
Polímero C: Polidimetilsiloxano con grupo hidroxilo terminal	0	0	0	0	0	68,8 - 91,0
Polímero D: Tetra - n - propil-silicato ; Si(OC ₃ H ₇) ₄	0	0	0	0	0	1,0 - 3,0
Octoato de estaño; Sn(C ₈ H ₁₅ O ₂) ₂	0	0	0	0	0	0,2 - 1,0
DHEA-S	5,0 - 30,0	5,0 - 30,0	5,0 - 30,0	3,0 - 30,0	1,0 - 32,0	5,0 - 30,0
Lauril sulfato de sodio	0,1-1,0	0	0	0	0	0
Cremophor RH40	0	1,0 - 5,0	0	0	0	0
Policarbofil AA-1	0	0	7,0 - 8,0	0	0	0
Lactosa	0	0	0	10,0 - 15,0	0	0
Celulosa microcristalina	0	0	0	0	5,0 - 15,0	0

Se realizaron diversos ensayos de formulaciones para obtener anillos que polimerizaran o curaran adecuadamente con las cantidades necesarias del principio activo y en la presencia de un agente modulador de la liberación. Los anillos que contenían Cremophor RH40 (Fórmula General 7, FG-7 y Fórmula General 18, FG-18) o policarbofil (Fórmula General 8, FG-8 y Fórmula General 19, FG-19) no curaron, por lo que estos agentes fueron descartados. Los demás anillos mencionados en las Tablas 1, 1a, 2 y 2a polimerizaron en las condiciones probadas.

Los anillos elaborados tenían un peso entre 6,0 y 10,5 gramos, que varía según el grosor del anillo. Se fabricaron anillos con diámetro externo entre 54 a 58 mm y sección transversal entre 3 a 9 mm.

1.2.- Procedimiento de fabricación de los anillos vaginales

Se preparó una mezcla homogénea con todos los ingredientes para inyectar a los moldes de los anillos. Primero se pesaron las cantidades necesarias de cada ingrediente: el polímero A, el agente modificador de la liberación, si corresponde, y DHEA o DHEA-S. Estos ingredientes se mezclaron hasta homogenización y se agregó el polímero B mezclando constantemente. La mezcla se inyectó a los moldes de los anillos a temperatura ambiente y luego se mantuvieron en estufa a 105 °C por 1 hora. Posteriormente los moldes se enfriaron y los anillos formados se desensamblaron de sus respectivos moldes obteniendo el producto final.

También se fabricaron anillos con otros polímeros, que se prepararon pesando cada ingrediente, como se señaló anteriormente, pero reemplazando el polímero A por el polímero C y el polímero B se reemplazó por el polímero D, según lo indicado en las Tablas 2 (FG-11) y 2a (FG-22). Además se adicionó octoato de estaño como catalizador de la reacción de polimerización entre los polímeros C y D. Los ingredientes se mezclaron hasta homogeneidad y se inyectaron a los moldes de los anillos. Estos permanecieron a temperatura ambiente (23-25°C) por 1 hora. Luego los anillos formados se desensamblaron de sus respectivos moldes obteniendo el producto final.

1.3.- Formulaciones preferidas de la presente invención

De acuerdo a las Formulaciones Generales de las Tablas 1 y 2, se prepararon formulaciones de anillos vaginales que comprenden diferentes cantidades de DHEA y de aumentadores de la liberación de la droga. En las Tablas 3, 4, 5 y 6 se incluyen formulaciones preferidas de la presente invención. Todas las cantidades de los ingredientes están expresadas en gramos.

Tabla 3.- Formulaciones farmacéuticas de anillos vaginales con DHEA que contienen PVP K-30

Fórmulas Específicas	Polímero A	Polímero B	DHEA	PVP K-30
FE - 1	8,5	1,0	0,5	0
FE - 2	8,0	1,0		0,5
FE - 3	7,5	1,0		1,0
FE - 4	7,0	1,0		1,5
FE - 5	6,8	0,7		2,0
FE - 6	8,0	1,0	1,0	0
FE - 7	7,5	1,0		0,5
FE - 8	7,0	1,0		1,0
FE - 9	6,5	1,0		1,5
FE - 10	6,3	0,7		2,0
FE - 11	7,0	1,0	2,0	0
FE - 12	6,5	1,0		0,5
FE - 13	6,0	1,0		1,0
FE - 14	5,5	1,0		1,5
FE - 15	5,0	1,0		2,0
FE - 16	6,5	1,0	2,5	0
FE - 17	6,0	1,0		0,5
FE - 18	5,7	0,8		1,0
FE - 19	5,0	1,0		1,5

Tabla 4.- Formulaciones farmacéuticas de anillos vaginales con DHEA que contienen lauril sulfato de sodio (LSS)

Fórmulas Específicas	Polímero A	Polímero B	DHEA	LSS
FE - 20	6,99	1,0	2,0	0,01
FE - 21	6,95	1,0		0,05

Tabla 5.- Formulaciones farmacéuticas de anillos vaginales con DHEA que contienen lactosa

Fórmulas Específicas	Polímero A	Polímero B	DHEA	Lactosa
FE - 22	7,1	0,9	1,0	1,0
FE - 23	6,6	0,9		1,5
FE - 24	6,1	0,9	2,0	1,0
FE - 25	5,6	0,9		1,5

Tabla 6.- Formulaciones farmacéuticas de anillos vaginales con DHEA que contienen celulosa microcristalina

Fórmulas Específicas	Polímero A	Polímero B	DHEA	Celulosa microcristalina
FE - 26	7,7	0,7	1,0	0,5
FE - 27	6,7	0,7		1,5
FE - 28	6,7	0,7	2,0	0,5
FE - 29	5,7	0,7		1,5

Las formulaciones específicas (FE) indicadas en las Tablas 3 a 6 también fueron preparadas utilizando como agente activo DHE-S en lugar de DHEA. Todos los anillos preparados de acuerdo a las proporciones indicadas en estas Tablas polimerizaron adecuadamente.

Ejemplo 2.- Estudios de liberación *in vitro*

Se realizaron estudios de liberación *in vitro* con los anillos vaginales descritos en las Tablas 1 a 6, de acuerdo al siguiente procedimiento analítico. En la descripción de resultados se utilizará la nomenclatura de las Tablas 3 a 6 para las formulaciones ensayadas, como "FE-n", donde n corresponde al número de la formulación indicado en estas tablas.

a) Preparación del medio de difusión: Medir exactamente 189 mL de Zephiran® (Cloruro de benzalconio al 17 %), transferir a un bidón de polietileno con llave que contiene 24 litros de agua destilada. Agitar para homogenizar. Rotular el bidón, asignándole el número de lote de preparación y colocar la fecha de elaboración.

Una vez preparado el medio de difusión, se debe realizar control a la solución mediante la medición de absorbancia a 262,4 nm, y la lectura resultante debe fluctuar entre 1,3-1,6; de lo contrario se debe descartar la solución.

b) Preparación de muestras: Pesar 4 anillos de cada formulación seleccionada en forma individual tomados al azar, anotar el peso respectivo. Atar cada uno de los anillos con hilo de polietileno de longitud adecuada que permita sumergir

completamente los anillos. Suspender los anillos en frasco de polietileno de 500 mL de boca ancha con tapa rosca (para evitar la pérdida de medio de difusión), fijar los anillos con cinta adhesiva en la superficie externa de los frascos, de manera tal que quede a $2,0 \pm 0,2$ cm de la base de cada frasco. Rotular los frascos con su anillo correspondiente.

Colocar los frascos con las muestras en el baño de agua termoregulado (Yamato, Modelo BT-47. Japón), colocar la temperatura a 37°C , hacer funcionar el sistema de agitación a 100 rpm. Verificar la temperatura del baño y la velocidad de agitación todos los días. La temperatura debe estar entre $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y la velocidad de agitación dentro de 100 ± 5 rpm.

Cambiar las soluciones del medio diariamente (después de 24 horas), excepto el día domingo. A partir de la segunda semana se descartan las muestras de los días lunes. Cabe señalar que se debe cambiar el medio de difusión a la misma hora todos los días.

c) Procedimiento analítico: Las muestras tomadas y preparadas se determinan mediante Espectrofotometría U.V. a 210 nm.

Se debe realizar una curva de calibración con diferentes concentraciones de DHEA micronizado en el medio de difusión, con el fin de determinar el rango de concentraciones en que cumple la Ley de Lamber Beer. Establecer la concentración de los estándares a preparar y si es necesario efectuar diluciones a las muestras tomadas.

d) Preparación de soluciones estándares de DHEA: Pesar con exactitud alrededor de 25 mg de estándar de DHEA micronizado, transferir a un matraz aforado de 50 mL, agregar aproximadamente 25 mL de etanol, disolver y completar al volumen con etanol. La concentración obtenida de la solución stock es de aproximadamente 0,5 mg/mL. Tomar una alícuota de 2,0 mL de solución stock con pipeta volumétrica a un matraz aforado de 25 mL, completar volumen con el medio de difusión utilizado para las muestras a medir. La concentración obtenida es de aproximadamente 0,04 mg/mL.

Se procede a la medición de absorbancia a 210 nm de las muestras tomadas y los estándares preparados.

Las cantidades liberadas de dehidroepiandrosterona al día, se calcularon según las siguientes fórmulas:

$$\text{Factor absorbancia} = \frac{\text{Concentración Estándar} \times \text{Volumen (400 mL)}}{\text{Absorbancia promedio Estándares}}$$

$$\text{mg de DHEA} = (\text{Factor Absorbancia}) \times (\text{Absorbancia de la Muestra})$$

A continuación se describen resultados de ensayos de liberación *in vitro* de anillos vaginales que comprendían DHEA y un agente modificador de la liberación de la droga.

2.1. Igual dosis de DHEA (2,0 g) en distintas concentraciones de PVP K-30

En la Figura 1 se observa que los anillos que contenían 2,0 g de DHEA en ausencia de PVP K-30 (FE-11) presentaron una liberación inicial promedio (día 1) de 19,8 mg de DHEA (ver además Tabla 7). La liberación inicial desde los anillos que contenían 10% (FE-13) y 15% (FE-14) de PVP K-30 fue mayor que en ausencia de este agente, alcanzando valores promedio de 29,4 y 32,9 mg, respectivamente. De igual manera, los anillos que contenían 5% (FE-12) de PVP K-30, también presentaron mayor liberación que los anillos sin este agente, alcanzando valores de 23,6 mg (Tabla 7) en el día 1 a igual dosis de DHEA (2,0 g). En el transcurso de los primeros 4 días, la liberación más acentuada se mantiene para los anillos con PVP K-30 aunque se produce una disminución inicial bastante pronunciada en todos los casos (ver Figura 1).

En la Tabla 7 se indican las cantidades promedio de DHEA liberadas durante los primeros 4 días desde anillos que contenían PVP K-30 en las concentraciones

indicadas. Para cada condición se tomaron muestras en cuadruplicado de los medios de liberación de cuatro anillos.

Tabla 7.- Liberación promedio de DHEA desde anillos que comprenden 2,0 g de DHEA de acuerdo a las Fórmulas Específicas (FE) indicadas en la Tabla 3

Días	Liberación Promedio de DHEA (mg)			
	FE - 11 0% PVP K-30	FE - 12 5% PVP K-30	FE - 13 10% PVP K-30	FE - 14 15% PVP K-30
1	19,8	25,1	29,4	32,9
2	19,5	22,7	25,6	28,4
3	18,7	22,4	25,1	27,5
4	18,3	21,1	24,0	26,3
Liberación Promedio días 1-4	19,1	22,8	26,0	28,8

A partir del día 15, la pendiente de la curva de liberación es mucho menor y los anillos continúan liberando DHEA de manera constante y permanente en el tiempo, lo que se mantiene hasta el día 90. También se observa que la liberación de DHEA en tiempos largos fue siempre mayor en los anillos que contenían PVP K-30, como se distingue claramente en la Figura 1, al comparar los anillos con igual dosis de DHEA (2,0 g) sin PVP y con 10% y 15% de PVP K-30, siendo aun mayor en aquellos anillos con mayor cantidad de este agente. En 15% de PVP K-30, la liberación promedio de DHEA entre los días 5 a 30 fue de 21,5 mg; en cambio en 10% el promedio fue de 18,7 mg, en 5% fue de 14,5 mg y en ausencia de PVP K-30 fue de 12,2 mg (Figura 5, barras blancas). Es notable observar que la liberación de DHEA permaneció aun hasta los 90 días manteniendo la tendencia observada en los tiempos menores; es así como se distingue que la liberación promedio de DHEA entre los días 31 a 90 en presencia de 15% PVP K-30 fue de 17,5 mg; en cambio en 10% el promedio fue de 14,7 mg, en 5% fue de 9,3 mg y en ausencia de PVP K-30 fue de 6,7 mg (Figura 6, barras blancas).

2.2.- Dosis bajas de DHEA en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de PVP K-30

A dosis menores de DHEA (1,0 g y 0,5 g) se observó el mismo efecto de PVP K-30, es decir, la liberación del principio activo fue mayor en aquellos anillos que contenían PVP K-30, lo que aumentó a medida que incrementó la concentración de este agente (Figuras 2 y 3). Adicionalmente en los anillos con la dosis más baja de DHEA (0,5 g) se observó saturación del efecto del PVP K-30, como se evidencia en la Figura 3 donde no se distingue una diferencia en la liberación de DHEA entre 15% (FE-4) (círculos) y 20% (FE-5) (rombos) de PVP K-30.

2.3.- Dosis alta de DHEA en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de PVP K-30

Por otra parte, se ensayaron anillos que contenían altas dosis de DHEA (2,5 g) en ausencia (FE-16) y en presencia de PVP K-30 (FE-17 y FE-18). En todos los casos los anillos que no contenían PVP K-30 liberaron una menor cantidad de DHEA durante todo el tiempo ensayado. Entre los días 1 a 4, los anillos que no contenían PVP K-30 liberaron 22,3 mg de DHEA, los anillos con 5% de DHEA (FE-17) liberaron 26,1 mg de DHEA y los anillos con 10% PVP K-30 (FE-28) liberaron 32,1 mg de DHEA (Figura 4, barras grises). En los días posteriores (5 a 30 días), la liberación de DHEA también aumentó conforme se aumentaba la concentración de PVP K-30, siendo de 14,7 mg, 18,5 mg y 24,2 mg, para 0%, 5% y 10% de PVP K-30, respectivamente (Figura 5, barras grises). De igual manera, en los tiempos más largos (31 a 90 días), aún se observó una liberación importante de DHEA desde estos anillos, llegando a 10,8 mg, 14,0 mg y 19,1 mg para las concentraciones de 0%, 5% y 10% de PVP K-30 (Figura 6, barras grises).

La dosis de 2,5 g de DHEA fue la mayor dosis ensayada y concordantemente fue con la que se obtuvo una mayor liberación de DHEA, con o sin PVP K-30. La liberación obtenida con DHEA 2,5 g sin PVP K-30 pudo ser alcanzada y sobrepasada por anillos que contenían dosis bajas de DHEA (1,0 g o 0,5 g) en presencia de 10% y 15% de PVP K-30 (FE-9, Tabla 3) como se visualiza en las Figuras 4 a 6 en todos los tiempos de liberación. Por otra parte, la liberación

obtenida desde anillos con 2,5 g de DHEA y 5% de PVP K-30 fue alcanzada con anillos que comprendían 1,0 g de DEA y 15% de PVP K-30, como se observa en la Figura 7 donde se comparó la liberación desde los anillos con 1,0 g de DHEA en ausencia (FE-6) (triángulos) o en presencia de 15% (FE-9) PVP K-30 (cuadrados) con anillos que contenían 2,5 g de DHEA y 5% de PVP K-30 (rombos).

En forma similar, el nivel de liberación de los anillos que contenían 2,0 g de DHEA sin PVP K-30 fue menor que la liberación desde anillos que contenían dosis más baja de DHEA (0,5 g) con 20% PVP K-30 (FE-5), como se observa en la Figura 8 y como se compara en las Figuras 4, 5 y 6 barras blancas (0% PVP K-30) versus barras achuradas (15% y 20% PVP K-30).

Tabla 8.-

COMPOSICION ANILLO			PROPIEDADES FISICAS				
DHEA (g)	Agente modulador	(%) Agente modulador	Consistencia	Brillo	Flexibilidad	Porosidad	Pegajosidad
0,5	No	0	+	+++	+++	-	-
0,5	PVP K-30	15	++	++	++	+	+
0,5	PVP K-30	20	+++	+	++	+++	++
1,0	No	0	+	+++	+++	-	-
1,0	PVP K-30	10	++	++	++	-	-
1,0	PVP K-30	15	++	+	++	+++	+
2,0	No	0	++	+++	++	-	-
2,0	PVP K-30	5	++	++	++	+	+
2,0	PVP K-30	10	++	+	++	+	+
2,0	PVP K-30	15	+++	+	+	+++	++
2,5	No	0	++	+++	++	+	+
2,5	PVP K-30	5	++	++	+	+++	++
2,5	PVP K-30	10	+++	++	+	+++	++
2,0 (*)	No	0	+++	++	+	+++	++

(*) Estos anillos vaginales fueron preparados con polímero DDU 4340, según la Fórmula General 11 (FG-11) indicada en la Tabla 2.

2.4.- Otros agentes modificadores de la liberación del principio activo

Los anillos que contenían DHEA en dosis de 1,0 g y 2,0 g junto con lactosa 10% (FE-22 y FE-24), lactosa 15% (FE-23 y FE-25), celulosa microcristalina 5% (FE-26 y FE-28) o con celulosa microcristalina 15% (FE-27 y FE-29), liberaron una mayor cantidad de DHEA en tiempos cortos comparado con los anillos que contenían DHEA pero sin lactosa o sin celulosa microcristalina; alcanzando los mismos niveles de liberación que estos últimos en tiempos más largos. En la Figura 9 se observa el

efecto de lactosa 10% y 15% que produjo una mayor liberación de DHEA desde los anillos entre los días 1 a 22; pero entre los días 23 a 90 los niveles de liberación fueron indistinguibles entre los anillos con y sin lactosa.

Los anillos que contenían 2,0 g de DHEA con lauril sulfato de sodio (LSS) 0,1% (FE-20) o 0,5% (FE-21), también liberaron una mayor cantidad de la droga que los anillos que no contenían LSS, pero sólo en tiempos cortos (días 1 a 15). Entre los días 16 a 90 no se observaron diferencias entre los anillos con y sin el agente, tal como se observa en la Figura 10 para los anillos que contenían 0,5% LSS y los que no lo contenían.

También se probaron concentraciones mayores de LSS pero los anillos no curaron adecuadamente por lo que fueron descartados.

De estos resultados se concluye que sólo con PVP K-30 es posible conseguir una mayor liberación del principio activo comparado con anillos que no tenían el agente, tanto a tiempos cortos como a tiempos largos (hasta al menos 90 días). De los agentes probados con ninguno se obtuvo un efecto similar, ya sea los anillos no curaron durante la fabricación en la etapa de polimerización o no presentaron diferencias de liberación a tiempos largos.

La mayor liberación de DHEA desde anillos que contenían PVP K-30, como agente modulador de la liberación, fue sostenida en el tiempo aun hasta los 90 días, siendo la liberación siempre mayor que la de los anillos que no contenían este agente.

Estos resultados son absolutamente sorprendentes, pues nada permitía predecir que los anillos que comprendían PVP K-30 presentarían un perfil de liberación como el observado, a diferencia de todos los otros agentes probados.

2.5.- Otros polímeros

Se ensayaron anillos formados por Polímeros C y D (ver Tabla 2, FG-11) que comprendían diferentes dosis de DHEA sin PVP K-30. Estos anillos fueron descartados como recomendables para un producto de uso humano, por las

propiedades físicas que presentaron (ver más abajo y Tabla 8). De todas maneras se evaluó el perfil de liberación de los anillos que contenían DHEA y se observó que liberaron una mayor cantidad del principio activo en todo el tiempo registrado, comparado con los anillos fabricados con Polímero A.

Estos resultados demuestran que para un producto farmacéutico en la forma de anillo vaginal no es suficiente que los anillos muestren un perfil de liberación *in vitro* con una elevada y constante tasa de liberación del agente activo, sino que también deben poseer características físicas apropiadas, entre otros factores, para cumplir con los requisitos de aceptabilidad de un producto terminado.

Ejemplo 3.- Propiedades físicas de los anillos

Los anillos vaginales que comprenden DHEA, además de las características de liberación del principio activo necesarias para alcanzar niveles tisulares que permitan conseguir el efecto terapéutico, deben poseer otras propiedades que lo hagan apropiado para la administración intravaginal, además de ciertos requisitos de aceptabilidad para las usuarias. Entre éstas, el anillo debe ser flexible para que la usuaria pueda presionarlo de manera de darle la forma necesaria para insertarlo en la vagina. Además el anillo debe tener una superficie lisa, uniforme, suave al tacto, sin pegajosidad y de consistencia regular, es decir, con cierta blandura para facilitar su aplicación.

Se ensayaron anillos con diferentes dosis de DHEA que contenían diferentes agentes moduladores de la liberación de principio activo en distintas concentraciones. En estos anillos se evaluaron propiedades de consistencia (dureza), flexibilidad, porosidad, pegajosidad y brillo.

Los anillos que comprendían DHEA con PVP K-30 como agente modificador de la liberación presentaron diferentes propiedades físicas dependiendo de la concentración de este agente y de la cantidad de DHEA en el anillo. La adición de PVP K-30 aumentó gradualmente la dureza (consistencia), disminuyendo la

flexibilidad y aumentando la porosidad de éstos. Además, en dosis altas de PVP K-30 y de DHEA, aumentó notoriamente la pegajosidad de los anillos.

Estas observaciones se aprecian claramente en la Tabla 8 donde se listan las concentraciones de DHEA utilizadas junto a las concentraciones del agente modulador de la liberación del principio activo.

Concordantemente con las propiedades que deben poseer los anillos de administración intravaginal, se descartaron aquellos que tenían una consistencia mayor, no tenían brillo, eran poco o nada flexibles y eran claramente porosos y pegajosos. De esta manera no son apropiados para administración intravaginal los anillos que comprenden altas concentraciones de DHEA y/o de PVP K-30, es decir los anillos con 2,5 g de DHEA y 10% de PVP K-30, los anillos con 2,0 g de DHEA y 15% de PVP K-30 y los anillos con 0,5 g de DHEA y 20% de PVP K-30 (Tabla 8).

Los otros modificadores de la liberación que fueron ensayados, también alteraron las propiedades físicas de los anillos que contenían DHEA. Los anillos que contenían lactosa presentaron una consistencia similar a la observada en los anillos con PVP K-30 a la misma dosis de DHEA, como se observa al comparar los datos de la Tabla 8 con la Tabla 9. La flexibilidad de los anillos que contenían 2,0 g de DHEA y lactosa fue mucho menor que la de los anillos que contenían 1,0 g de DHEA con este agente (10% o 15%). Los anillos con lactosa presentaron alta porosidad y un bajo nivel de pegajosidad y brillo. Considerando sólo las propiedades físicas, no son recomendables como producto final los anillos que contienen altas dosis de DHEA (2,0 g) y lactosa (15%) (Tabla 9).

Los anillos con DHEA y 0,5% de celulosa microcristalina presentaron propiedades físicas de consistencia, flexibilidad, pegajosidad y brillo, apropiadas para ser administrados por vía transvaginal, aun cuando presentaron cierto grado de porosidad. Los anillos con altas dosis de celulosa microcristalina (15%) no resultaron recomendables como producto final por su alta consistencia (dureza) y alta porosidad (superficie rugosa) (Tabla 9).

También se ensayaron anillos que contenían 2,0 g de DHEA y 0,1% o 0,5% de lauril sulfato de sodio (LSS). En ambas condiciones los anillos presentaron buenas propiedades físicas (Tabla 9), por lo que si se consideraran sólo estos parámetros, serían recomendables como producto final.

Tabla 9.-

COMPOSICION ANILLO			PROPIEDADES FISICAS				
DHEA (g)	Agente modulador	Agente modulador (%)	Consistencia	Brillo	Flexibilidad	Porosidad	Pegajosidad
1,0	Lactosa	10	++	++	+++	+	+
1,0	Lactosa	15	+++	+	++	++	+
2,0	Lactosa	10	++	+	+	++	+
2,0	Lactosa	15	+++	+	+	+++	+
1,0	Celulosa microcristalina	5	++	+	++	++	-
1,0	Celulosa microcristalina	15	+++	+	+	+++	+
2,0	Celulosa microcristalina	5	++	++	++	+++	+
2,0	Celulosa microcristalina	15	+++	+	+	+++	+
2,0	LSS	0,1	++	++	++	+	-
2,0	LSS	0,5	++	+	++	+	-

Por otra parte, los polímeros alternativos utilizados para la fabricación de los anillos (polímeros C y D, definidos en la Tabla 2) también influyeron en las propiedades físicas de éstos. En el proceso de fabricación al inyectar los moldes, ya se observaba que la mezcla que contenía estos polímeros era notablemente más consistente y viscosa que las mezclas con los otros polímeros (polímeros A y B), dificultando su inyección y el llenado de los moldes por la presión que se debía ejercer. Los anillos polimerizaron (curaron) pero resultaron muy rígidos, duros y poco flexibles, lo que hacía difícil mantenerlos doblados simulando su condición de la aplicación intravaginal. Por tanto, debido a la alta consistencia (dureza), poca flexibilidad, cierta porosidad y pegajosidad (Tabla 8), estos anillos no son recomendables como producto final.

Ejemplo 4.- Estudios de liberación de DHEA *in vivo*

Para evaluar la liberación y absorción de DHEA *in vivo* por vía vaginal, se administraron 3 anillos vaginales con distintas formulaciones en nueve mujeres

voluntarias sanas mayores de 38 años de edad. Se midieron los niveles plasmáticos y endometriales del agente activo luego de la administración de anillos que contenían DHEA con o sin agente modulador.

Los anillos utilizados en este estudio contenían: 1) 1,0 g de DHEA sin agente modulador; 2) 2,0 g de DHEA sin agente modulador; y 3) 1,0 g de DHEA más 15% PVP K-30. Cada uno de estos anillos se administró en tres voluntarias. Estas dosis de agentes activo y modulador fueron elegidas para los estudios *in vivo* debido a que en los estudios de liberación *in vitro* presentaron entre ellos una marcada diferencia en la cantidad liberada de DHEA, durante todo el tiempo registrado (1-90 días), y además por las excelentes propiedades físicas de los respectivos anillos. El conjunto de estas características los hacía recomendables como posibles productos finales.

Las mujeres se instalaron el anillo vaginal en el día 3 a 5 de su ciclo menstrual o una vez terminado el sangrado abundante de su menstruación. Se tomaron muestras sanguíneas de cada voluntaria en los siguientes tiempos (en horas post-administración del anillo): 1, 2, 6, 24, 72, 120, 168, 216, 360, 372, 528 y 720. También se tomaron muestras de fluido endometrial en los días: 3, 7, 15 y 22 post-administración del anillo. Se indicó a las voluntarias que el anillo puede permanecer instalado durante el siguiente ciclo menstrual, pero que podía ser retirado si les ocasionaba molestias por un abundante flujo.

Se descartaron los datos de niveles plasmáticos a las 720 horas (30 días) de las voluntarias que tuvieron que retirar el anillo vaginal. Dos voluntarias, una del Grupo 1 y otra del Grupo 3, se retiraron el anillo. Las demás mujeres mantuvieron el anillo instalado por al menos 60 días. Se analizaron los resultados obtenidos hasta los 30 días, con el fin de estandarizar la evaluación.

En la Figura 11 se muestran los niveles plasmáticos y endometriales de DHEA obtenidos luego de la administración de anillos con 1,0 g de DHEA sin agente modulador. La cantidad de DHEA en el plasma fue más baja que en el endometrio con un máximo cercano a los 20 nmoles/L. Los niveles de DHEA en el endometrio (cuadrados) fueron notoriamente más elevados alcanzando valores de 56,2 nmoles/L. Se observó que los niveles plasmáticos de DHEA tienden a mantenerse

constantes después de las 216 horas (9 días) post-administración del anillo, alcanzando valores cercanos a 13 nmoles/L.

Los niveles endometriales de DHEA obtenidos luego de la administración de anillos que contenían 1,0 g de DHEA y 15% de PVP K-30, fueron mayores que con los anillos sin PVP K-30 a igual dosis de DHEA. En la Figura 12 se distingue claramente este efecto. Cuando se administraron anillos que contenían el agente modulador, la cantidad de DHEA encontrada en las muestras fue, en promedio, 1,9 veces mayor (triángulos) que con los anillos sin agente modulador (cuadrados). Por otra parte, los anillos que contenían 1,0 g de DHEA con 15% PVP K-30 (triángulos), indujeron un aumento promedio de 1,5 veces mayor que los anillos que contenían 2,0 g de DHEA sin agente modulador (cruces). En estos resultados fue posible distinguir un pico en los niveles de DHEA en el endometrio a los 7 días post-administración del anillo vaginal. Es probable que el pico no ocurra exactamente en este tiempo, lo que pudo haber quedado encubierto debido al bajo número de muestras de fluido endometrial en el tiempo, posibles de obtener en las mujeres. Aun así los resultados son concluyentes y permiten indicar que la cantidad de DHEA que se alcanza en el endometrio con los anillos vaginales que contenían PVP K-30 fue significativamente mayor que con los anillos que no contenían este agente, tanto para los anillos con 1,0 g como 2,0 g de DHEA. Estos resultados son comparables con los obtenidos en los ensayos de liberación *in vitro*. El aumento de la liberación *in vitro* de DHEA entre los días 5 a 30 (ver Figura 5) para los anillos que contenían 1,0 g de DHEA con 15% PVP K-30 respecto a los anillos sin este agente, fue en promedio de 1,8 veces (versus 1,9 veces en el endometrio), y fue de 1,6 veces respecto a los anillos que contenían 2,0 g de DHEA sin PVP K-30 (versus 1,5 veces en el endometrio, Figura 12). Es decir, que los niveles de DHEA obtenidos en el endometrio desde anillos vaginales, pueden ser proyectados a partir de las cantidades de DHEA que se obtienen en la liberación *in vitro*.

Al medir los niveles de DHEA en el plasma se observó un comportamiento diferente a lo observado en el fluido endometrial. Por una parte, los niveles plasmáticos encontrados con dosis de 1,0 g de DHEA fueron mayores para los anillos que contenían el agente modificador PVP K-30 que para los que no lo

contenían (Figura 13, cruces versus círculos), con un aumento de 1,4 veces; siendo consistente con los resultados obtenidos en los ensayos de liberación *in vitro* que arrojaron diferencias de 1,8 veces entre estos dos tipos de anillos (ver Figura 5, barras punteadas). Por otra parte, para los anillos con 1,0 g de DHEA y 15% PVP K-30 podían predecirse niveles plasmáticos 1,6 veces mayores respecto a los anillos que contenían mayor dosis de DHEA (2,0 g) sin el agente modificador, dado su comportamiento en la liberación *in vitro* (Figura 5, barra punteada 15% PVP K-30 versus barra blanca 0% PVP K-30); pero el efecto en los niveles plasmáticos se invirtió, puesto que fueron mayores para los anillos que contenían 2,0 g de DHEA que para los anillos con 1,0 g de DHEA y 15% PVP K-30 (Figura 13, triángulos versus cruces).

Estos resultados son absolutamente inesperados e impredecibles, puesto que en la liberación *in vitro* se observó una mayor liberación de DHEA en presencia de 15% PVP-K30 respecto a todas las dosis de DHEA pero sin este agente. Esto no permitía proyectar que *in vivo* se obtendría una mayor concentración tisular de DHEA pero una menor concentración plasmática con los anillos con PVP K-30 comparado con los anillos sin este agente y con mayores dosis de DHEA.

De los resultados de liberación *in vitro* se esperaba que a una misma concentración de DHEA los anillos con PVP K-30 proporcionaran una concentración mayor de DHEA que los anillos sin PVP K-30, tanto a nivel plasmático como endometrial, pero se han obtenido resultados sorprendentes que muestran que con los anillos que comprenden PVP K-30 se alcanzan niveles más altos de la droga en el tejido *in situ* sin aumentar en el mismo orden las concentraciones plasmáticas, no así con los anillos que no contienen PVP K-30.

Al aumentar la cantidad de DHEA en los anillos (sin adicionar PVP K-30) con el fin de obtener concentraciones más altas en el endometrio, también va aumentando la concentración plasmática de la droga (Figura 13). Por tanto, para obtener una concentración tisular mayor, sin afectar de la misma manera la concentración plasmática, basta con coadministrar DHEA y PVP en el anillo sin aumentar la dosis de DHEA en el mismo (Figura 13).

De manera alternativa, los resultados encontrados permiten indicar que los anillos vaginales que contienen otros agentes moduladores de la liberación, tales como lactosa, LSS y celulosa microcristalina, también son útiles para liberar DHEA en el endometrio, puesto que los ensayos *in vitro* muestran que se libera el agente activo de manera sostenida hasta por lo menos 30 a 90 días. Aun más, estos agentes también indujeron una liberación mayor de DHEA desde los anillos que los contenían durante al menos los primeros 15 a 22 días.

REFERENCIAS

- Abdalla H and Thum MY, 2004, An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Human Reprod* 19: 893-898
- Adams, 1985. *Mol Cell Endocrinol* 41:1-17
- Alviggi C, Humaidan P, Howles CM, Tredway D, Hillier SG. 2009. Biological versus chronological ovarian age: implications for assisted reproductive technology. *Reprod Biol Endocrinol* 7:101
- Battaglia DE et al., 1996, Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum Reprod* 11:2217-2222
- Barad DH, Gleicher N. 2005. Increased oocyte production after treatment with dehydroepiandrosterone. *Fertil Steril* 84:756
- Barad D, Gleicher N. 2006. Effect of dehydroepiandrosterone on oocyte and embryo yields, embryo grade and cell number in IVF. *Human Reprod* 21: 2845-2849
- Barad D, Brill H, Gleicher N. 2007. Update on the use of dehydroepiandrosterone supplementation among women with diminished ovarian function. *J Assist Reprod Genet* 24: 629-634
- Beral V. 2003. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 362: 419-427
- Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. 2009. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev* 30:465-493
- Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. 2009. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 91:705-714
- Casson PR, Lindsay MS, Pisarka MD, Carson SA, Buster JE. 2000. Dehydroepiandrosterone supplementation augments ovarian stimulation in poor responders: a case series. *Human Reprod* 15: 2129-2132
- de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Temen APN, Fauser BC. 2002. Antimullerian hormona serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 77:357-62
- Dehghani-Firouzabadi R, Tayebi N, Asgharnia M. 2008. Serum level of Anti-Mullerian Hormone in early follicular phase as a predictor of ovarian reserve and pregnancy outcome in assisted reproductive technology cycles. *Arch Iranian Med* 11:371-376

Durlinger AL et al. 2002. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* 124: 601-609

Durlinger AL et al. 1999. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 140:5789-5796

Durlinger AL et al. 2001. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 142:4891-4899

Evers JL, 2002, Female subfertility, *Lancet* 360:151-159

Fanchin R, Taieb J, Lozano DH, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. 2005. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum Reprod* 20:923-927

Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. 1992. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 7:1342-1346

Faddy MJ, Gosden RG, 1996. A model conforming the decline in follicle numbers to the age of menopause in women. *Hum Reprod* 11:1484-1486

Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. 2003. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 18:323-327

Gleicher N, Ryan E, Weghofer A, Blanco-Mejia S, Barad DH. 2009. Miscarriage rates after dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation in women with diminished ovarian reserve: a case control study. *Reprod Biol Endocrinol* 7:108

Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. 2010a. Improvement in diminished ovarian reserve after dehydroepiandrosterone supplementation. *Reprod Biomed* 21: 360-365

Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. 2010b. Dehydroepiandrosterone (DHEA) reduces embryo aneuploidy: direct evidence from preimplantation genetic screening (PGS) supplementation. *Reprod Biol Endocrinol* 8:140

Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. 2010c. Anti-Müllerian hormone (AMH) defines, independent of age, low versus good live-birth chances in women with severely diminished ovarian reserve. *Fertil Steril* 94: 2824-2827

Gougeon A. 1996. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocrine Reviews* 17:121-155

Hansen KR, Knowlton NS, Thyer AC, Charleston JS, Soules MR, Klein NA. 2008. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause, *Hum Reprod* 23:699-708

Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. 2006. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab* 91:4057-4063

Heiss G, Wallace R, Anderson GL, Aragaki A, Beresford SA, Brzyski R, Chlebowski RT, Gass M, LaCroix A, Manson JE, Prentice RL, Rossouw J, Stefanick ML. 2008. Health risks and benefits 3 years after stopping randomized treatment with estrogen and progestin. *JAMA* 299:1036-1045

Hudson PL, Douglas I, Donahoe PK, Cate RL, Epstein J, Pepinsky RB, MacLaughlin DT. 1990. An immunoassay to detect human müllerian inhibiting substance in males and females during normal development. *J Clin Endocrinol Metab* 70:16-22

Hunt PA and Hassold TJ, 2008, Human females meiosis: what makes a good egg go bad? *Trends Genet* 24:86-93

Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, van de Lang-Born, de Jong FH, Groome NP, Themmen APN, Viseer JA, 2006. Serum anti-Müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology* 147: 3228-3234

Klinkert ER et al., 2005, Expected poor responders on the basis of an astral follicle count do not Benefit from a higher starting dose of gonadotrophins in IVF treatment: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 20:611-615

Kroboth PD, Salek FS, Pittenger AL, Fabian TJ, Frye RF. 1999. DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol* 39: 327-348

Kuliev A et al., 2005, Frequency and distribution of chromosome abnormalities in human oocytes. *Cytogenet Genome Res* 111:193-198

Labrie F. 1991. Intracrinology. *Mol Cell Endocrinol* 78: C113-C118

Labrie F, Bélanger A, Cusan L, Gomez JL, Candas B. 1997. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging. *J Clin Endocrinol Metab* 82:2396-2402.

Labrie F, Bélanger A, Bélanger P, Bérubé R, Martel C, Cusan L, Gomez J, Candas B, Castiel I, Chaussade V, Deloche C, Leclaire J. 2006. Androgen glucuronides, instead of testosterone, as the new markers of androgenic activity in women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 99:182-188.

Labrie F, Cusan L, Gomez JL, Côté I, Bérubé R, Bélanger P, Martel C, Labrie C. 2008. Effect of intravaginal DHEA on serum DHEA and eleven of its metabolites in postmenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 111: 178-194.

Labrie F, Archer D, Bouchard C, Fortier M, Cusan L, Gomez JL, Girard G, Baron M, Ayotte N, Moreau M, Dubé R, Côté I, Labrie C, Lavoie L, Berger L, Gilbert L, Martel

C, Balser J. 2009. Effect of intravaginal dehydroepiandrosterone (Prasterone) on libido and sexual dysfunction in postmenopausal women. *Menopause* 16:923-931.

Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S, Hasegawa Y, Noto RA, Schoenfeld D, MacLaughlin DT, 1996. Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 81:571-576

Mamas L, Mamas E. 2009. Dehydroepiandrosterone supplementation in assisted reproduction: rationale and results. *Curr Opin Obstet Gynecol* 21: 306-308

Markström E, Svensson ECh, Shao R, Svanberg B, Billig H. 2002. Survival factors regulating ovarian apoptosis-dependence on follicle differentiation. *Reproduction* 123:23-30

McGee EA and Hhsueh AJ. 2000. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev* 21:200-214

Munne S et al., 1995, Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 64:382-391

Munne S et al., 2005, Preimplantation genetic diagnosis reduces pregnancy loss in women aged 35 years and older with a history of recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 84: 331-335

Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelmann JH. 1984. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 59:551-555.

Pellestor F et al., 2005, Effect of maternal age on the frequency of cytogenetic abnormalities in human oocytes. *Cytogenet Genome Res* 111:206-212

Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER, 1999. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 72:845-851

Scheffer GJ, Broekmans FJ, Looman CW, Blankenstein M, Fauser BC, teJong FH, 2003. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum Reprod* 18:700-706

Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Sheldon RM. 2002. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 77:468-471

Sönmezer M, Ozmen B, Cil AP, Ozkavukçu S, Taşçi T, Olmuş H, Atabekoğlu CS. 2009. Dehydroepiandrosterone supplementation improves ovarian response and cycle outcome in poor responders. *Reprod Biomed* 19:508-513

te Velde ER and Pearson PL. 2002. The variability of female reproductive ageing. *Human Reprod Update* 8:141-154

Ueno S et al., 1989. Müllerian inhibiting substance in the adult rat ovary during various stages of the estrous cycle. *Endocrinology* 125:1060-1066

Van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT, Broekmans FJ. 2008. Relationship of serum antimüllerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 93:2129-2134

van Houten ELAF, Themmen APN, Visser JA, 2010. Anti-Müllerian hormone (AMH): Regulator and marker of ovarian function. *Annals d'Endocrinologie* 71:191-197

van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH, Fauser BJ, Themmen AP, te Velde ER. 2005. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 83:979-987

van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH, Themmen AP. 2002. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 17:3065-3071

van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH, Themmen AP, te Velde ER. 2004. Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 11:601-606

Visser JA et al., 2006. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 131:1-9

Wallace WH, Kelsey TW. 2010. Human ovarian reserve from conception to the menopause, *PloS ONE* 5(1): e87772

Wiser A, Gonen O, Ghetler Y, Shavit T, Berkovitz A, Shulman A. 2010. Addition of dehydroepiandrosterone (DHEA) for poor-responder patients before and during IVF treatment improves the pregnancy rate: A randomized prospective study. *Human Reprod* 25: 2496-2500

PLIEGO DE REIVINDICACIONES

1. Anillo vaginal de liberación sostenida, CARACTERIZADO porque comprende como agente activo dehidroepiandrosterona, dehidroepiandrosterona sulfato o una sal farmacéuticamente aceptable de éstos, y opcionalmente un agente modulador de la liberación del agente activo.
2. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque el agente activo es dehidroepiandrosterona.
3. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque el agente activo es dehidroepiandrosterona sulfato.
4. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque el agente modulador de la liberación es polivinilpirrolidona K-30.
5. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque el agente modulador de la liberación es lactosa.
6. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque el agente modulador de la liberación es celulosa microcristalina.
7. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque el agente modulador de la liberación es lauril sulfato de sodio.
8. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque libera el principio activo de manera sostenida por al menos 90 días.
9. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 8, CARACTERIZADO porque libera el principio activo de manera sostenida por al menos 60 días.

10. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 8, CARACTERIZADO porque libera el principio activo de manera sostenida por al menos 30 días.
11. Anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque comprende 1% a 32% en peso de dehidroepiandrosterona, en relación al peso total de la formulación.
12. Anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque comprende 0 a 25% en peso de polivinilpirrolidona K-30, en relación al peso total de la formulación.
13. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil para aumentar la reserva ovárica en mujeres.
14. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil en programas de reproducción asistida.
15. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil en el tratamiento de los síntomas asociados a la menopausia.
16. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil en el tratamiento de síntomas de la atrofia vulvovaginal en mujeres post menopáusicas.
17. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil en el tratamiento de la disfunción sexual en mujeres post menopáusicas.

REIVINDICACIONES MODIFICADAS
recibidas por la oficina Internacional el 19 de Noviembre 2012 (19.11.2012).

PLIEGO DE REIVINDICACIONES

1. Anillo vaginal de liberación sostenida CARACTERIZADO porque comprende como agente activo dehidroepiandrosterona, dehidroepiandrosterona sulfato o una sal farmacéuticamente aceptable de éstos, y además comprende polivinilpirrolidona K-30, como un agente modulador de la liberación del agente activo.
2. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque el agente activo es dehidroepiandrosterona.
3. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque el agente activo es dehidroepiandrosterona sulfato.
4. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque libera el principio activo de manera sostenida por al menos 90 días.
5. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 4 CARACTERIZADO porque libera el principio activo de manera sostenida por al menos 60 días.
6. Anillo vaginal de acuerdo con la reivindicación 4 CARACTERIZADO porque libera el principio activo de manera sostenida por al menos 30 días.
7. Anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque comprende 1% a 32% en peso de dehidroepiandrosterona, en relación al peso total de la formulación.
8. Anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque comprende 0 a 25% en peso de polivinilpirrolidona K-30, en relación al peso total de la formulación.

9. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil para aumentar la reserva ovárica en mujeres.
10. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil en programas de reproducción asistida.
11. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil en el tratamiento de los síntomas asociados a la menopausia.
12. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil en el tratamiento de síntomas de la atrofia vulvovaginal en mujeres post menopáusicas.
13. Uso de un anillo vaginal de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento útil en el tratamiento de la disfunción sexual en mujeres post menopáusicas.

FIG. 1

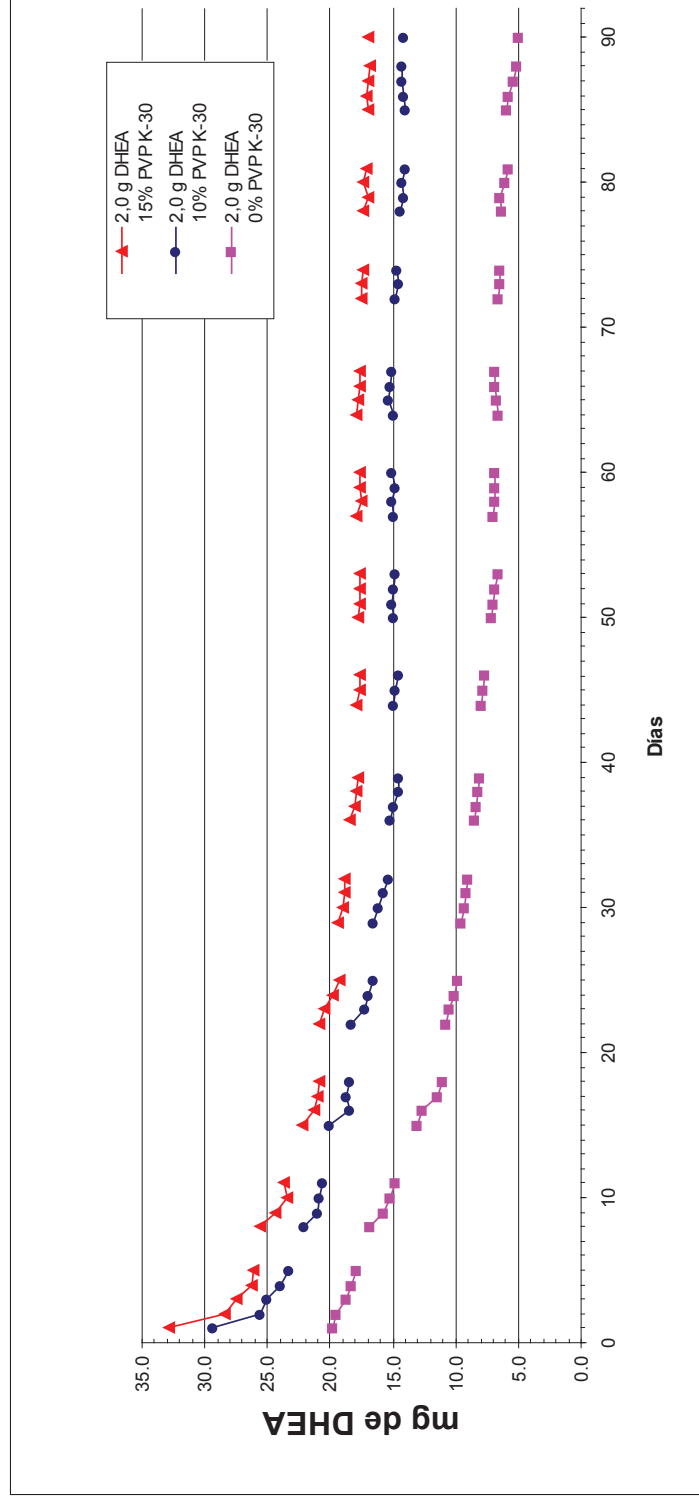


FIG. 2

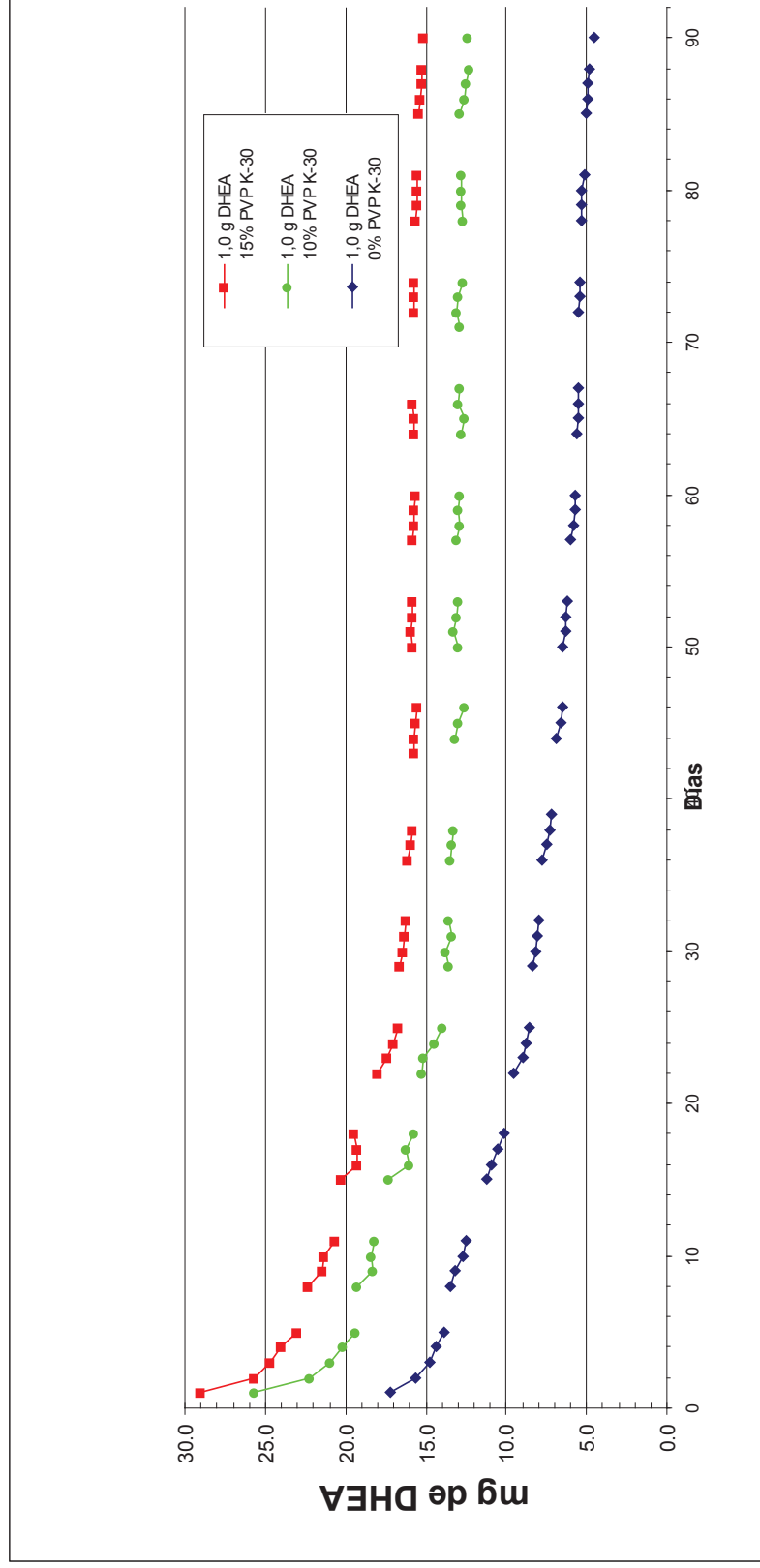


FIG. 3

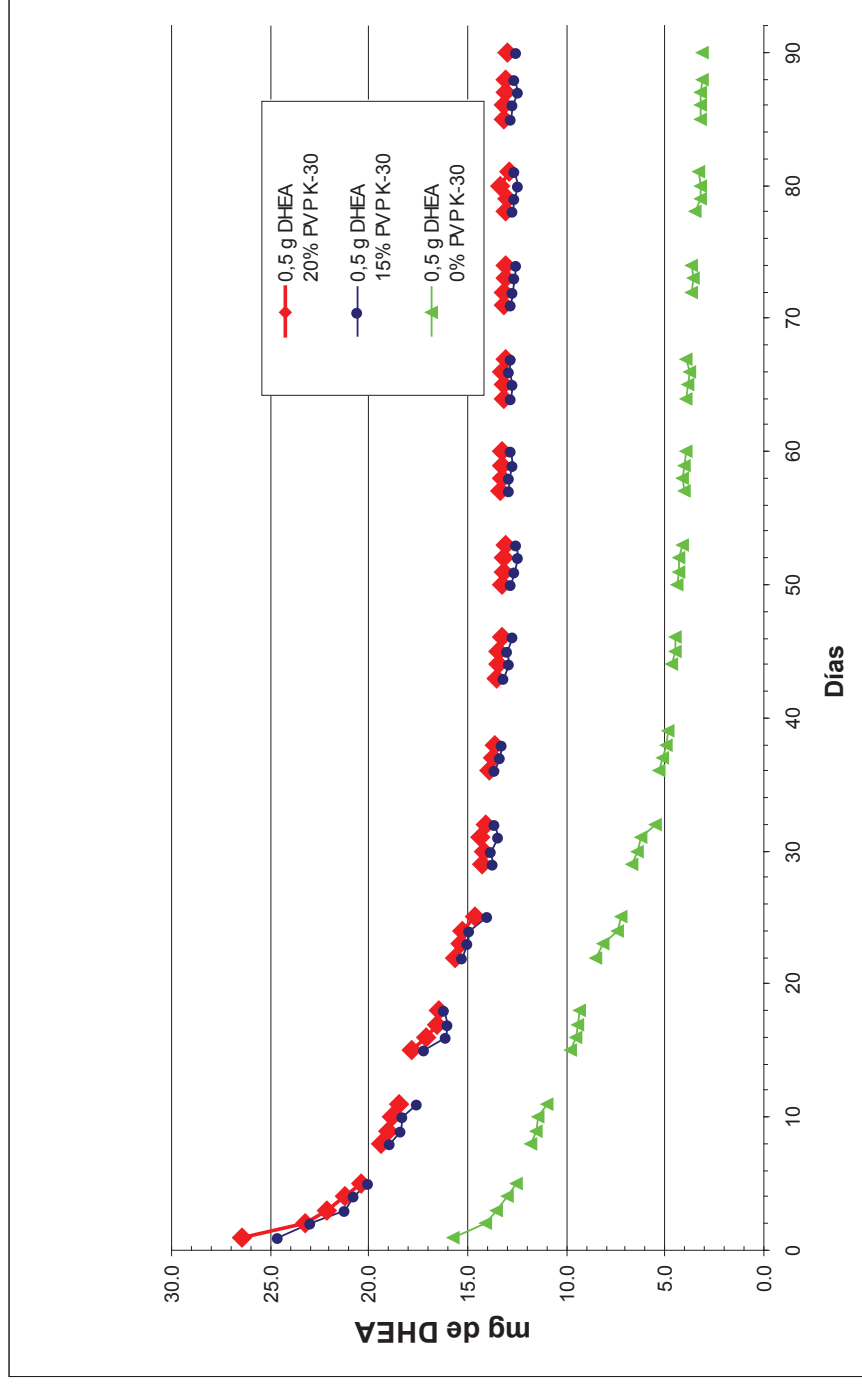


FIG. 4

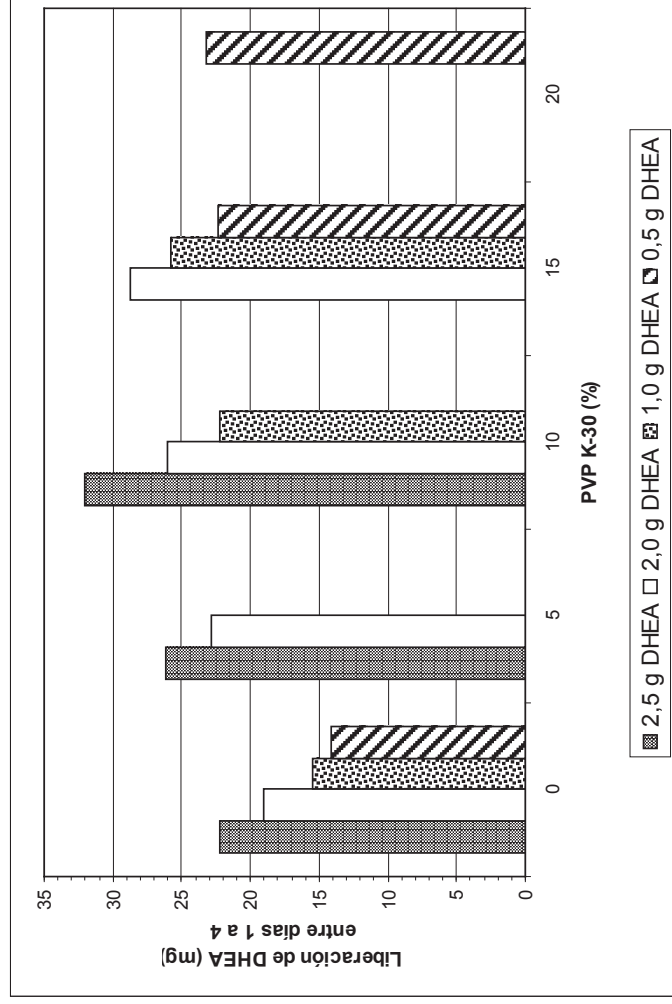


FIG. 5

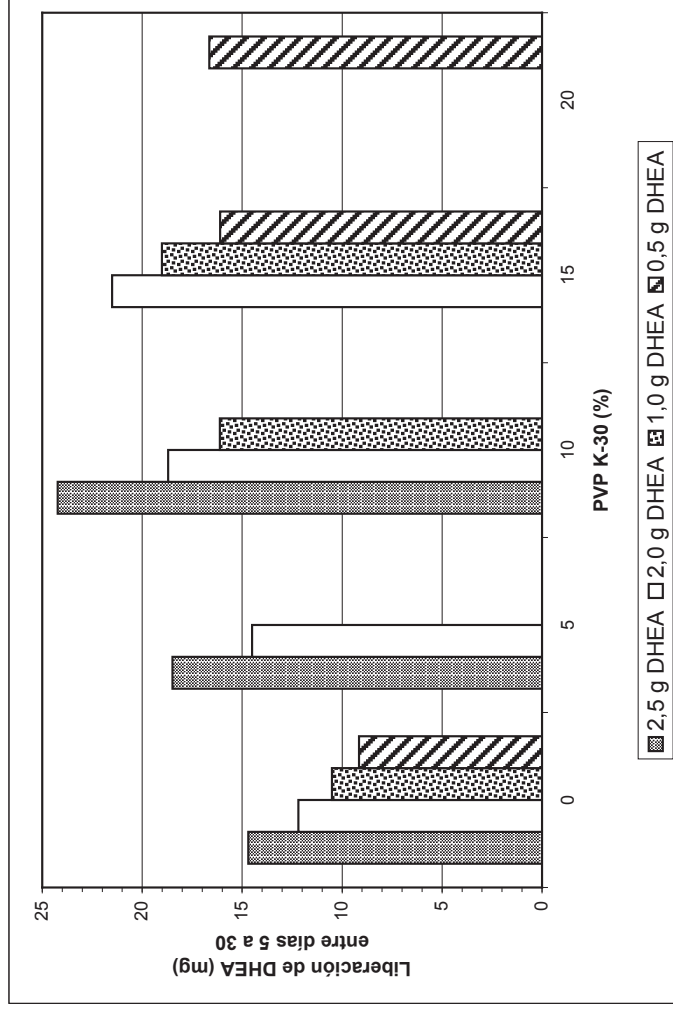


FIG. 6

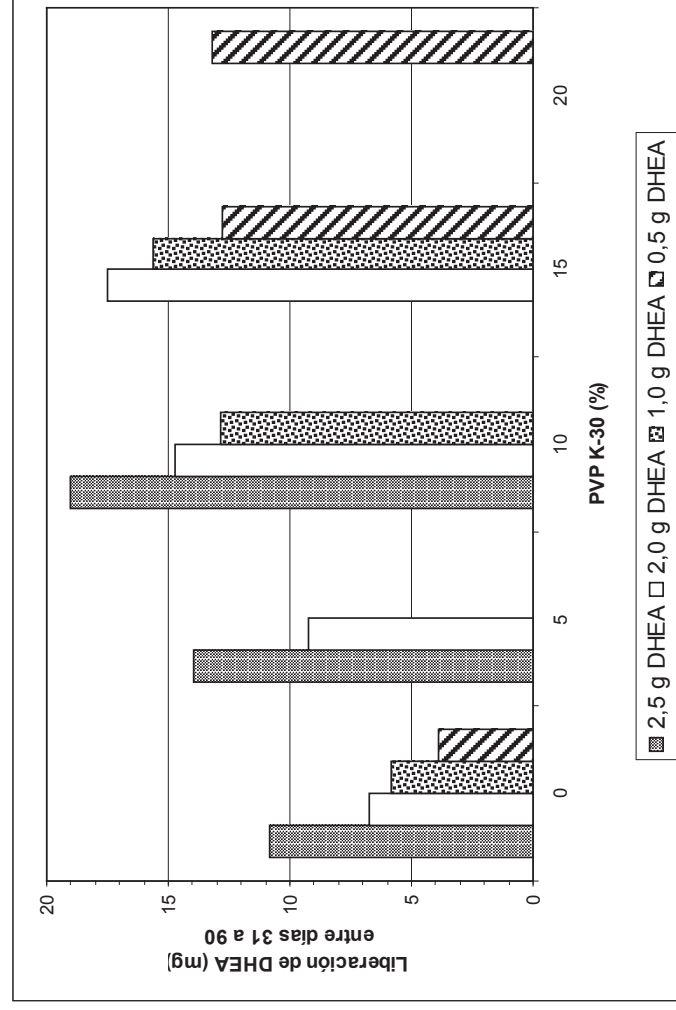


FIG. 7

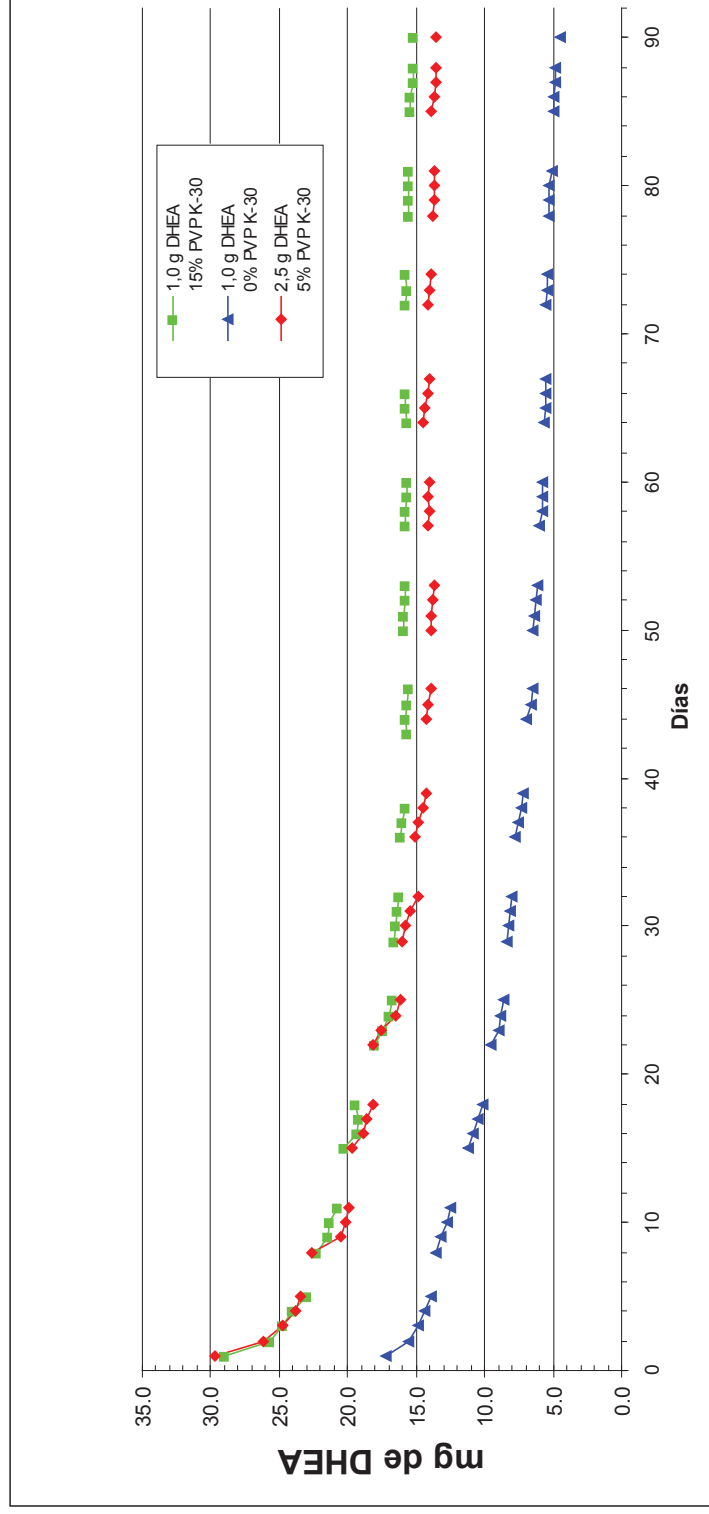


FIG. 8

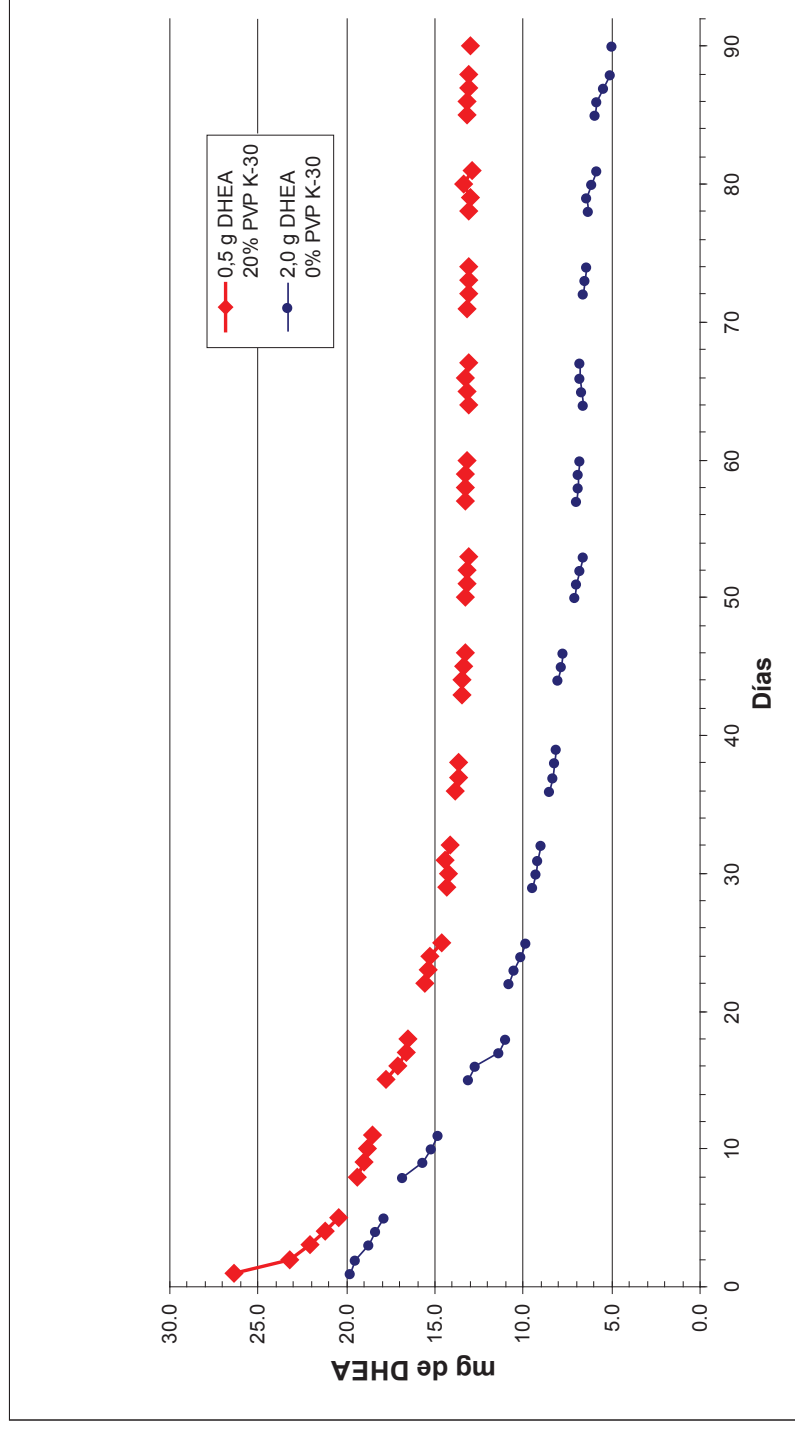


FIG. 9

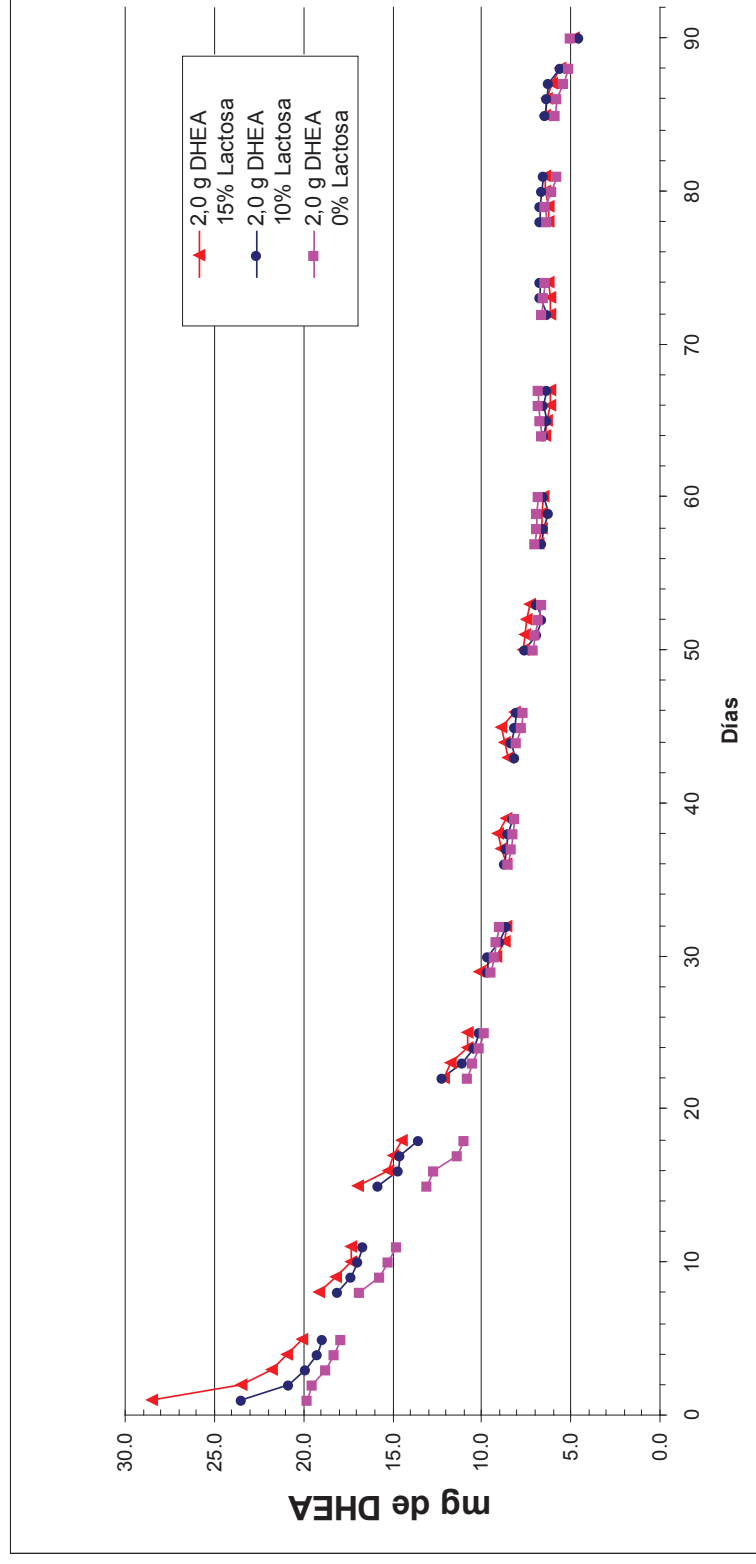


FIG. 10

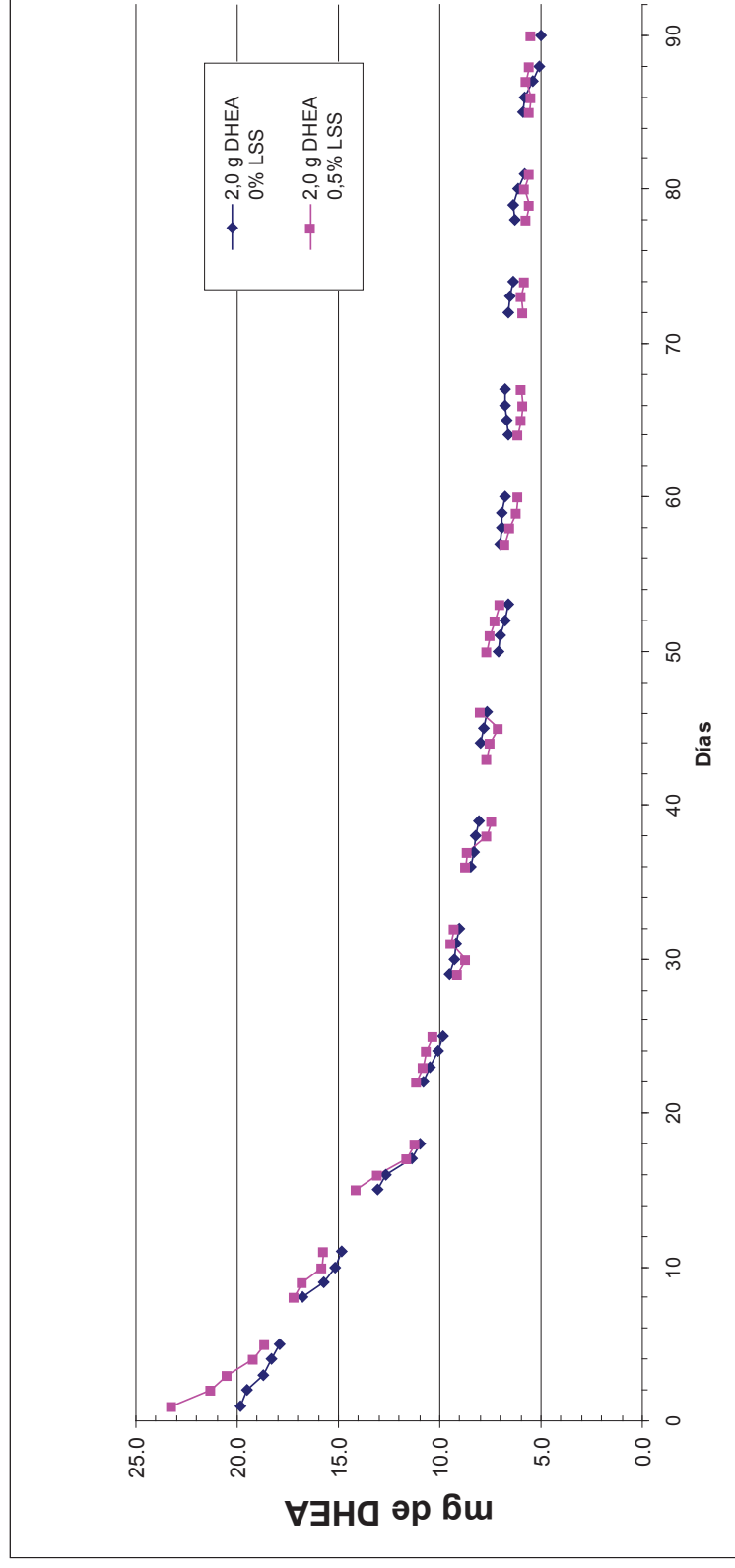


FIG. 11

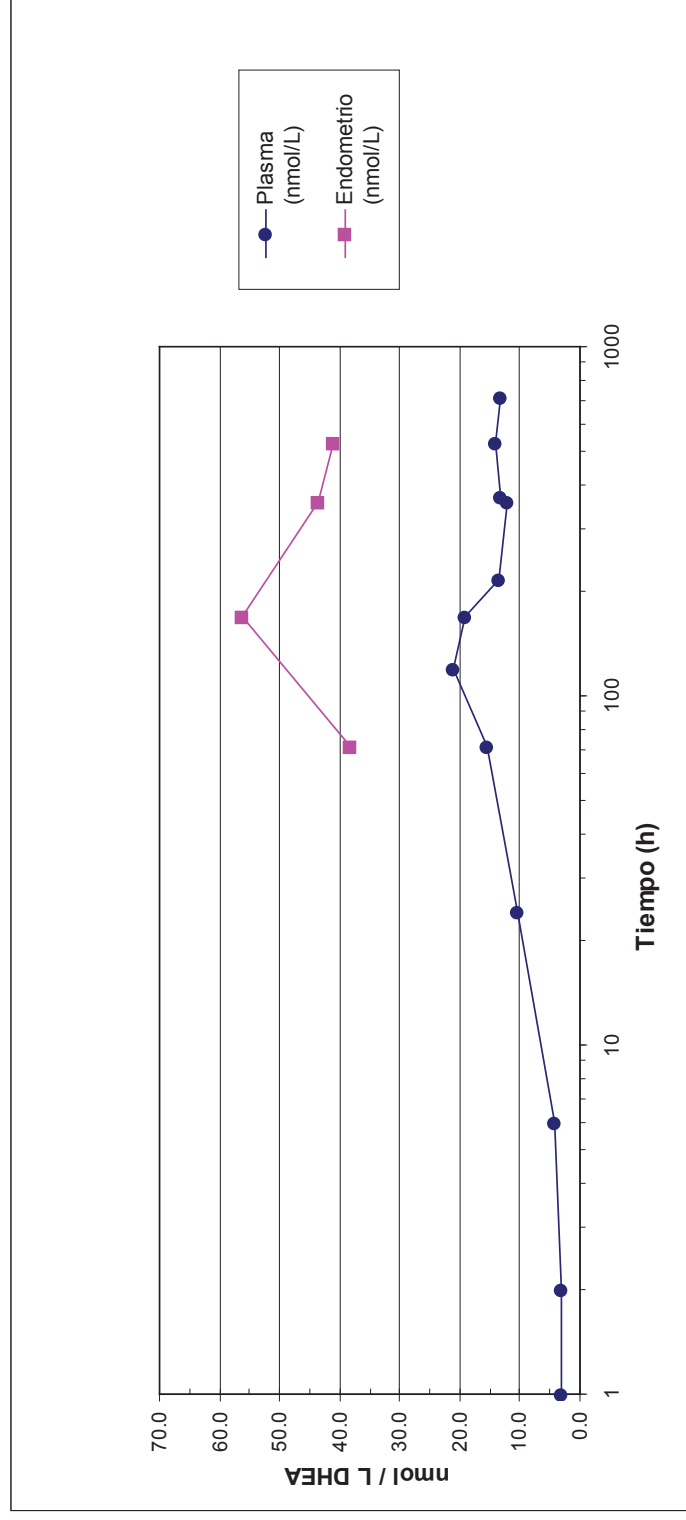


FIG. 12

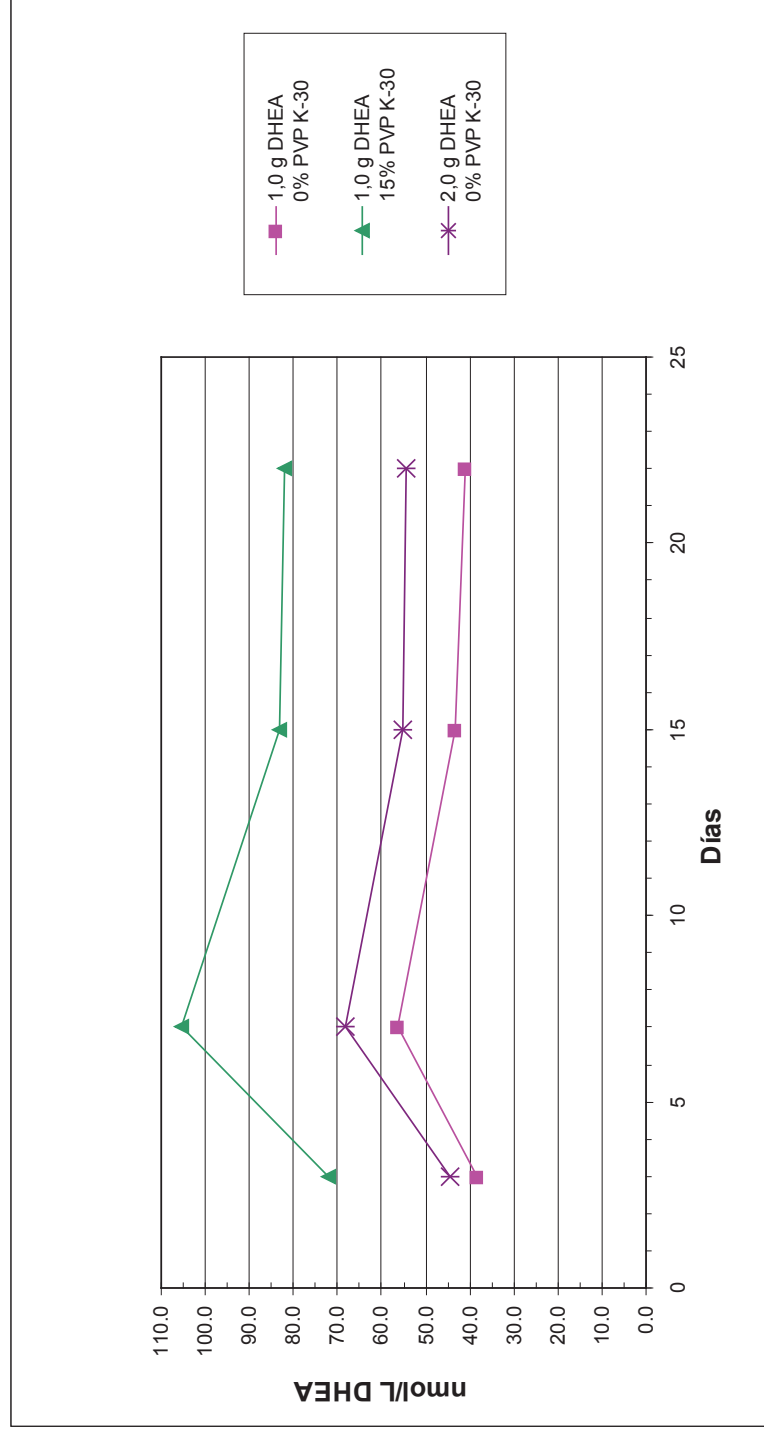
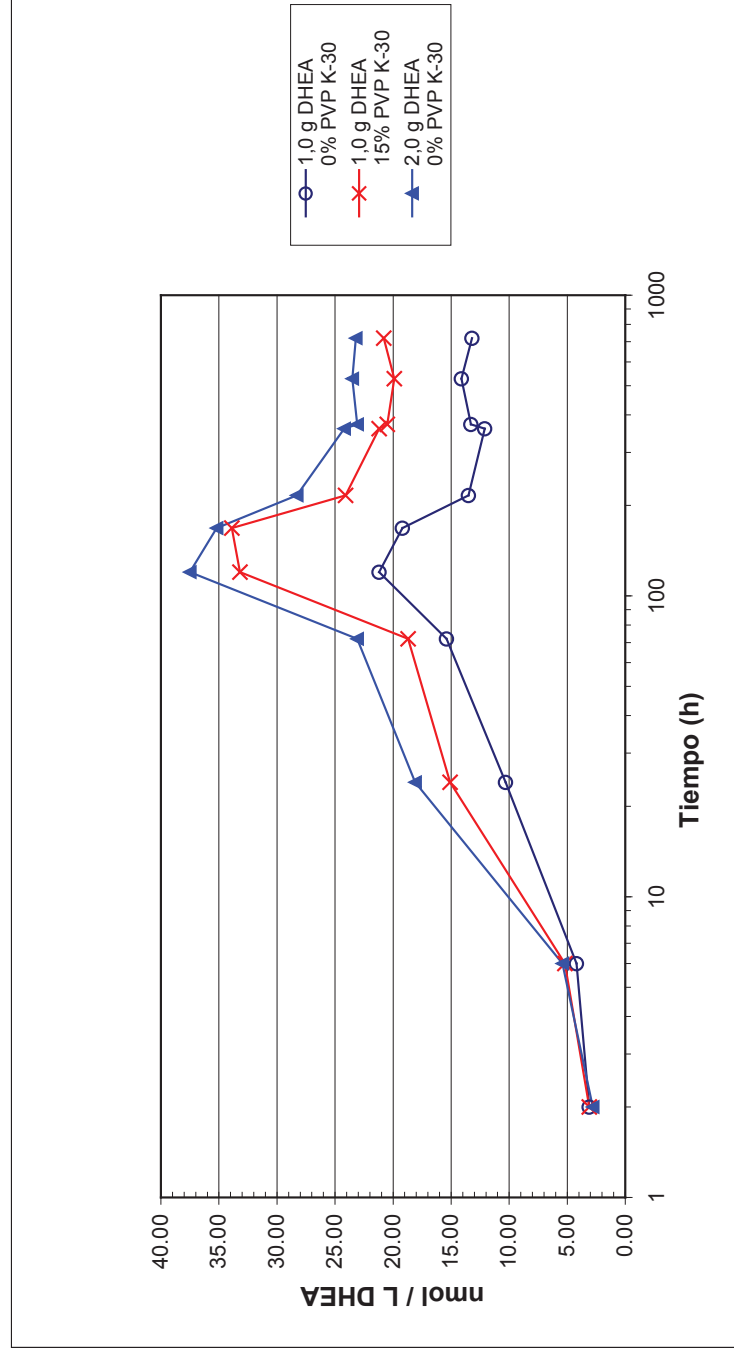


FIG. 13



RESUMEN

Anillo vaginal de liberación sostenida que comprende como principio activo dehidroepiandrosterona (DHEA), dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) o una sal farmacéuticamente aceptable de éstos y, opcionalmente, un agente modulador de la liberación del principio activo, donde la cantidad del ingrediente activo se encuentra entre 1% a 32% en peso, en relación al peso total de la formulación y el agente modulador se selecciona entre: polivinilpirrolidona K-30, lactosa, celulosa microcristalina y lauril sulfato de sodio. El anillo vaginal de la presente invención es útil para aumentar la reserva ovárica en mujeres, para ser utilizado como medicamento en programas de reproducción asistida y para aliviar síntomas asociados a la menopausia, tales como síntomas de la atrofia vulvovaginal y disfunción sexual en mujeres post menopáusicas.

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la
Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
4 de julio de 2013 (04.07.2013)

WIPO | PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2013/098592 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A61F 6/06 (2006.01) A61M 31/00 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) A61K 31/5415 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/IB2011/056023

(22) Fecha de presentación internacional:

29 de diciembre de 2011 (29.12.2011)

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(71) Solicitantes (para todos los Estados designados salvo US):

UNIVERSIDAD DE CHILE [CL/CL]; Avenida
Libertador Bernardo O'Higgins, 1058, Santiago (CL).
LABORATORIOS ANDRÓMACO S.A. [CL/CL];
Avenida Quilín 5273, Peñalolén, Santiago, 7931398 (CL).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): FUENTES

GARCÍA, Frans Ariel [CL/CL]; Avenida Libertador
Bernardo O'Higgins, 1058, Santiago, 8330111 (CL).
CHEN, Shu-Chen [CL/CL]; Avenida Quilín 5273,
Peñalolén, Santiago, 7931398 (CL). BELTRÁN
APABLAZA, Marianela del Carmen [CL/CL]; Avenida
Quilín 5273, Peñalolén, Santiago, 7931398 (CL).

(74) Mandatario: CLARKE MODET & CO CHILE;

Huerfanos 835, Piso 10, Edificio Opera, Santiago (CL).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,

para toda clase de protección nacional admisible): AE,
AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR,

BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM,
KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA,
MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG,
NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección regional admisible):

ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ,
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR,
HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL,
PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaraciones según la Regla 4.17:

- sobre la identidad del inventor (Regla 4.17(i))
- sobre el derecho del solicitante para solicitar y que le sea
concedida una patente (Regla 4.17(ii))
- sobre la calidad de inventor (Regla 4.17(iv))

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- con reivindicaciones modificadas (Art. 19(1))

(54) Title: VAGINAL RING WHICH INCLUDES DHEA OR DHEA SULPHATE AND OPTIONALLY AN AGENT FOR MODULATING THE RELEASE OF THE ACTIVE PRINCIPLE, WHICH CAN BE USED TO INCREASE THE OVARIAN RESERVE IN WOMEN AND TO RELIEVE SYMPTOMS ASSOCIATED WITH MENOPAUSE

(54) Título : ANILLO VAGINAL QUE COMPRENDE DHEA O DHEA SULFATO Y OPCIONALMENTE UN AGENTE MODULADOR DE LA LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO, ÚTIL PARA AUMENTAR LA RESERVA OVÁRICA EN MUJERES Y PARA ALIVIAR SÍNTOMAS ASOCIADOS A LA MENOPAUSIA

(57) Abstract: The invention relates to a sustained-release vaginal ring which includes dehydroepiandrosterone (DHEA), dehydroepiandrosterone sulphate (DHEA-S) or a pharmaceutically acceptable salt thereof as an active principle and, optionally, an agent modulating the release of the active principle, in which the amount of the active principle is between 1 wt % and 32 wt % in relation to the total weight of the formulation, and the modulating agent is selected between: polyvinylpyrrolidone K-30, lactose, microcrystalline cellulose and sodium lauryl sulphate. The vaginal ring of the present invention can be used to increase the ovarian reserve in women, to be used as a drug in assisted reproduction programmes and to relieve symptoms associated with menopause, such as symptoms of vulvar and vaginal atrophy and sexual dysfunction in post-menopausal women.

(57) Resumen: Anillo vaginal de liberación sostenida que comprende como principio activo dehidroepiandrosterona (DHEA), dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) o una sal farmacéuticamente aceptable de éstos y, opcionalmente, un agente modulador de la liberación del principio activo, donde la cantidad del ingrediente activo se encuentra entre 1 % a 32% en peso, en relación al peso total de la formulación y el agente modulador se selecciona entre: polivinilpirrolidona K-30, lactosa, celulosa microcristalina y lauril sulfato de sodio. El anillo vaginal de la presente invención es útil para aumentar la reserva ovárica en mujeres, para ser utilizado como medicamento en programas de reproducción asistida y para aliviar síntomas asociados a la menopausia, tales como síntomas de la atrofia vulvovaginal y disfunción sexual en mujeres post menopáusicas.

WO 2013/098592 A1

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 14 - 0058442			
		Bogotá D.C., Junio 04 de 2014 - 07:44:01			
RECIBIDO DE : CLARKE MODET		NI 830.008.643			
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	596597595	03/06/2014	99.651.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00	
				\$515.000.00	
=====					
SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pls 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia					
Web: www.slc.gov.co e-mal: info@slc.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240					
Junio 4 de 2014 - 07:44:16					

