86
84

CAVELIER
ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

WEB SITE: www.cavelier-abogados.com
E-MAIL: cavelier@colomsat.net.co

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señora Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comerc
E. S. D.

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00007997 00000001 Folios: 99
Fecha (AMD): 2000-04-14 16:54:45
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 444 REPUESTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Referencia : Expediente No. 00.007.997
Solicitante : **ALZA CORPORATION**
Asunto : Solicitud de patente para: **"VEHÍCULOS VISCOSOS DE FASE SIMPLE NO ACUOSOS ESTABLES Y FORMULACIONES QUE UTILIZAN DICHOS VEHÍCULOS"**
Fecha de la solicitud : 8 de febrero de 2000.

TRAMITE: 02 - EVENTO: 01 - ACTUACION: 08

1. Yo, Emilio FERRERO, obrando como apoderado del solicitante en el asunto antes identificado, me refiero al auto número 0323, notificado por estado del 02 de marzo de 2000.

2. Mediante el auto número 0323 se puso en conocimiento del solicitante el informe que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente. Atiendo a las observaciones de la manera siguiente:

2.1. **Título del invento.** Presento aquí nuevo título en el cual se ha realizado una corrección de un error tipográfico, como sigue

VEHÍCULOS VISCOSOS DE FASE SIMPLE NO ACUOSOS ESTABLES Y FORMULACIONES QUE UTILIZAN DICHOS VEHÍCULOS

RESPUESTA AUTO No. 0323 DEL ESTADO DEL DIA 02 de marzo de 2000

CAVELIER
ABOGADOS

Adicionalmente presento nuevo formato de solicitud en donde aparece el nuevo título que presento.

2.2. **<u>En las reivindicaciones.</u>** Presento junto con este escrito un nuevo pliego reivindicatorio de acuerdo con lo requerido por ese Despacho. En dicho pliego se han realizado las siguientes modificaciones:

- con relación a la reivindicación 1, el solicitante desea aclarar que todos los términos que caracterizan al vehículo objeto de la invención se encuentran definidos en la descripción (páginas 20 a 24), incluido el término 'fase simple'. Por otro lado, se han incluido en esta reivindicación los componentes específicos del vehículo para definir de mejor manera al mismo y se ha cambiado la palabra 'única' por 'simple';

- con relación a las reivindicaciones 2 a 4, el solicitante desea aclarar que ya que los componentes del vehículo son de dos o tres tipos (solvente, polímero y/o tensoactivo), la expresión 'componentes no son del mismo tipo' pretende especificar y delimitar que los componentes deben ser de diferente tipo, es decir, solvente y polímero, o solvente y tensoactivo, o polímero y tensoactivo;

- en la reivindicación 6 se ha corregido un error tipográfico;

- en la reivindicación 10 se ha especificado el nombre del tensoactivo gml;

CAVELIER
ABOGADOS

- con relación a las observaciones hechas a las reivindicaciones 14 a 16, 21 a 23 y 29, se han agregado los componentes del vehículo a las reivindicaciones 14, 15 y 29 (reivindicaciones independientes), de manera que quede mejor definida la formulación. Adicionalmente, el solicitante desea aclarar que la relación en que se encuentran los componentes de la formulación se divulgan en las reivindicaciones 8, 9 y 17. Por otro lado, es importante notar que lo divulgado en las reivindicaciones 15 y 16 y 21 a 23 no son resultados a obtener sino características del objeto de la invención (viscosidad y estabilidad). Por ejemplo, la formulación descrita en la reivindicación 15 está establecida de manera tal que una persona experta en la técnica pueda determinar si una formulación cualquiera hace parte de la presente invención;

- el término 'cerca de' se ha eliminado de las reivindicaciones correspondientes;

- las reivindicaciones 24, 31 y 32 se han eliminado del pliego;

- con relación a la reivindicación 27, el solicitante desea aclarar que los agentes benéficos que se pueden utilizar se encuentran en la reivindicación 19. Ya que los agentes benéficos de la reivindicación 19 pueden no ser estables en agua, su preparación con un bajo contenido de humedad ayuda para su estabilidad. Con el fin de hacer mayor claridad, presento una nueva

reivindicación 27 dependiente de la reivindicación 19, logrando establecer así cuales agentes benéficos pueden ser utilizados en la invención.

- con relación a las reivindicaciones 29 y 30, el solicitante desea aclarar que la expresión 'temperatura elevada' hace referencia a la temperatura a la cual los ingredientes se licuan. Cualquier persona experta en la técnica entenderá que dicha temperatura variará dependiendo del tipo de ingrediente que se utilice.

Le solicito se sirva aceptar ese nuevo capítulo reivindicatorio en sustitución del originalmente presentado, así como las aclaraciones arriba mencionadas.

2.3. **Extracto.** Adjunto a este memorial presento nuevo extracto, nueva tarjeta temática y nueva tarjeta de archivo de propietarios (Formas P-103, P-104 y P-105), los cuales están en conformidad con las modificaciones hechas al pliego reivindicatorio y al título.

2.4. **Arte Final.** Adjunto a este memorial presento los artes finales de acuerdo con lo requerido.

2.5. **Copia Certificada.** Presento con este escrito copia certificada de la solicitud de patente estadounidense número 60/119,170 del 08 de febrero de 1999 junto con su respectiva traducción de su especificación y certificaciones, en la cual se basa la reivindicación de la prioridad.

CAVELIER
ABOGADOS

3. Puesto que se han atendido a cabalidad las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente, atentamente solicito que se continúe su tramitación.

Bogotá, 14 ABR. 2000
Señora Jefe,

EMILIO FERRERO
T.P.A. No. 31.929

COLO 03981-801-011-6
MRE-79

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

TRAMITE: 02 EVENTO: 01 ACTUACION: 01

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social: **ALZA CORPORATION**

No. de Identificación:

Representante Legal (Persona Jurídica):

País de Domicilio: **Estados Unidos de América**

Departamento o Estado: **California, 94303-0802**

Dirección: **950 Page Mill Road,**

Ciudad: **Palo Alto**

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre: **EMILIO FERRERO**

Dirección y Domicilio: **Carrera 4 No. 72-35 Piso 4o. Bogotá, Colombia**

Ciudad:

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es): **1. Stephen A. BERRY, 2. Pamela J. FEREIRA, 3. Houdin DEHNAD, 4. Anna MUCHNIK**

Identificación:

Dirección:

1. **1050 Spring Grove Road, Hollister, CA 95023, Estados Unidos de América**
2. **304 Canoe Court, Redwood City, CA 94065, Estados Unidos de América**
3. **507 Vallejo Street, El Granada, CA 94018-1325, Estados Unidos de América**
4. **1542 Winding Way, Belmont, CA 94002, Estados Unidos de América**

Ciudad:

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención: **VEHÍCULOS VISCOSOS DE FASE SIMPLE NO ACUOSOS ESTABLES Y FORMULACIONES QUE UTILIZAN DICHOS VEHÍCULOS**

PRIORIDAD REIVINDICADA SI ☒ NO ☐ TIPO DE PRIORIDAD ANDINA ☐ UNIONISTA ☒

(33) País	Fecha	No. Solicitud
US. Convención de París	8 de Febrero de 1999	60/119,170

Para Publicar a los ☐ 6 meses ☐ 12 meses ☒ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud

Colo.3981-801-011-6
ID-75

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

6

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

La invención se relaciona con vehículos viscosos estables de fase única no acuosos y a formulaciones que utilizan tales vehículos. Las formulaciones comprenden por lo menos un agente beneficioso uniformemente suspendido en el vehículo. La formulación es capaz de ser almacenada a temperaturas que varían entre frío y la temperatura del cuerpo durante períodos de tiempo largos. las formulaciones son capaces de ser suministradas de manera uniforme a partir de los sistemas de suministro de droga a una salida de velocidad de corte de entre 1 a 1 x 10^{-7} S^{-1}.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica ☐

Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la SIC ☐

Recibo de la tasa respectiva ☐

Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación ☐

Si se reivindica prioridad Andina:

Copia de la primera solicitud ☐

Traducción oficial ☐

Si se reivindica prioridad Unionista:

Copia certificada de la primera solicitud: ☐

Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior

Traducción simple ☐

Capítulo descriptivo ☐

Dibujos, planos necesarios ☐

Capítulo reivindicatorio ☐

Tarjeta archivo propietarios según formato ☐

Tarjeta archivo temático según formato ☐

Extracto para publicación según formato ☐

Arte final 12 x 12 cms Y 6x6 cms ☐

Otros Documentos ☐

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

NOMBRE EMILIO FERRERO CC. 438.019 de Usaquén T.P.No. 31.929

REIVINDICACIONES

1. Un vehículo viscoso biocompatible estable de fase simple y no acuoso capaz de suspender agentes beneficiosos y de dispensar homogéneamente dicho agente beneficioso durante un período de tiempo extendido a temperatura del cuerpo y a velocidades de flujo bajas, en donde dicho vehículo tiene como componentes disolventes, tensoactivos y/o polímeros.

2. El vehículo de la reivindicación 1 que comprende dos componentes seleccionados a partir del grupo que consiste de disolventes, tensoactivos y polímeros, en donde los dos componentes no son del mismo tipo.

3. El vehículo de la reivindicación 1 que comprende al menos dos componentes seleccionados a partir del grupo que consiste de disolventes, tensoactivos y polímeros, en donde los dos componentes no son del mismo tipo.

4. El vehículo de la reivindicación 1 que comprende tres componentes seleccionados a partir del grupo de disolventes, tensoactivos, y polímeros, en donde los componentes no son del mismo tipo.

5. El vehículo de las reivindicaciones 2 o 4 en donde dicho disolvente se selecciona a partir del grupo de ésteres de ácido carboxílico, alcoholes polihídricos, polímeros de alcoholes polihídricos, ácidos grasos, aceites, carbonato de propileno, lauril alcohol, y ésteres de alcoholes polihídricos.

6. El vehículo de las reivindicaciones 2 o 4 en donde dicho tensoactivo se selecciona a partir del grupo de ésteres de alcoholes polihídricos, aceite de castor etoxilado, polisorbatos, ésteres o éteres de alcoholes saturados, y copolímeros de bloque de polioxietilenpolioxipropileno.

7. El vehículo de las reivindicaciones 2 o 4 en donde dicho polímero se selecciona a partir del grupo de poliésteres, pirrolidonas, ésteres o éteres de alcoholes no saturados, y copolímeros de bloque de polioxietilenpolioxipropileno.

8. El vehículo de la reivindicación 2 en donde las proporciones de los componentes están en el rango entre 40:60 a 60:40.

9. El vehículo de la reivindicación 4 en donde las proporciones de los componentes están en el rango de entre 30% a 50% de disolvente, 5% a 20% de tensoactivo y 5% a 60% de polímero.

10. El vehículo de la reivindicación 4 en donde el polímero es polivinilpirrolidona, el tensoactivo es glicerol monolaurato y el disolvente es lactato de laurilo.

11. El vehículo de la reivindicación 4 en donde el polímero es polivinilpirrolidona, el surfactante es polisacárido y el disolvente es lactato de laurilo.

12. El vehículo de la reivindicación 1 que comprende un

antioxidante.

13. El vehículo de la reivindicación 12 en donde dicho antioxidante se selecciona a partir del grupo que consiste en tocoferol, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol, butilatado, hidroxitolueno butilatado y gelato de propilo.

14. Una formulación de proteína viscosa no acuosa estable que comprende

a) por lo menos un agente beneficioso, y

b) un vehículo viscoso biocompatible no acuoso de fase simple, cuya formulación es capaz de dispensarse uniformemente durante un período de tiempo extendido y a una velocidad de flujo baja, en donde dicho vehículo tiene como componentes disolventes, tensoactivos y/o polímeros.

15. Una formulación no acuosa que comprende por lo menos un agente beneficioso uniformemente suspendido en un vehículo viscoso biocompatible no acuoso de fase simple el cual tiene como componentes disolventes, tensoactivos y/o polímeros, cuya formulación puede ser suministrada a partir de un sistema de suministro de droga implantable tal que la velocidad de corte de salida de la formulación está entre 1 y 1 x 10^{-7} S^{-1}.

16. La formulación de la reivindicación 14 en donde dicha formulación es estable a temperatura del cuerpo durante

períodos de tiempo extendidos.

17. La formulación de la reivindicación 14 que comprende por lo menos 0,1% (p/p) de agente beneficioso.

18. La formulación de la reivindicación 14 que comprende por lo menos 10% (p/p) de agente beneficioso.

19. La formulación de la reivindicación 14 en donde dicho agente beneficioso se selecciona del grupo que consiste en un péptido, proteína, nucleótido, hormona, virus o anticuerpo.

20. La formulación de la reivindicación 19 en donde dicho agente beneficioso es una proteína.

21. La formulación de la reivindicación 14 la cual es estable a 65°C durante por lo menos 2 meses.

22. La formulación de la reivindicación 14 la cual es estable a 37°C durante por lo menos 3 meses.

23. La formulación de la reivindicación 14 la cual es estable a 37°C durante por lo menos 1 año.

24. La formulación de la reivindicación 14 en donde dicho vehículo es seleccionado a partir del grupo que consiste de disolvente, tensoactivo y polímero.

25. La formulación de la reivindicación 14 en donde dicho

vehículo comprende un antioxidante.

26. La formulación de la reivindicación 19 la cual comprende un agente beneficioso que ha sido secado a un contenido de humedad muy bajo antes de ser incorporado en dicha formulación.

27. La formulación de la reivindicación 14 la cual es estable después de esterilización.

28. Un método para preparar el vehículo estable viscoso de fase simple de la reivindicación 1 que comprende los pasos de: (1) mezclar los disolventes, tensoactivos y/o polímeros a temperatura elevada bajo condiciones secas para permitirles licuarse y (2) permitir que el líquido de la etapa (1) se enfríe a temperatura de ambiente.

29. Un método para preparar una formulación estable según la reivindicación 14 que comprende combinar el vehículo viscoso de fase simple y el agente beneficioso bajo condiciones secas y mezclarlos bajo vacío a temperatura elevada para dispersar uniformemente el agente beneficioso en el vehículo, y permitir que la formulación se enfríe a temperatura ambiente.

30. Un método para tratar un sujeto que sufre de una condición que puede ser aliviada por la administración de un agente beneficioso, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de la formulación de la reivindicación 14.

31. El método de la reivindicación 30 en donde dicha administración es una administración parenteral.

32. El método de la reivindicación 30 en donde dicha administración es una administración continua a largo término.

33. El método de la reivindicación 30 en donde dicha administración se lleva a cabo por el uso de un sistema de suministro de droga implantable.

34. El método de la reivindicación 30 en donde dicha administración diaria continua durante un período seleccionado a partir del grupo que consiste de 3 meses, 6 meses y 12 meses.

35. El método de la reivindicación 34 en donde dicha administración diaria es llevada a cabo usando un sistema de suministro de droga implantable.

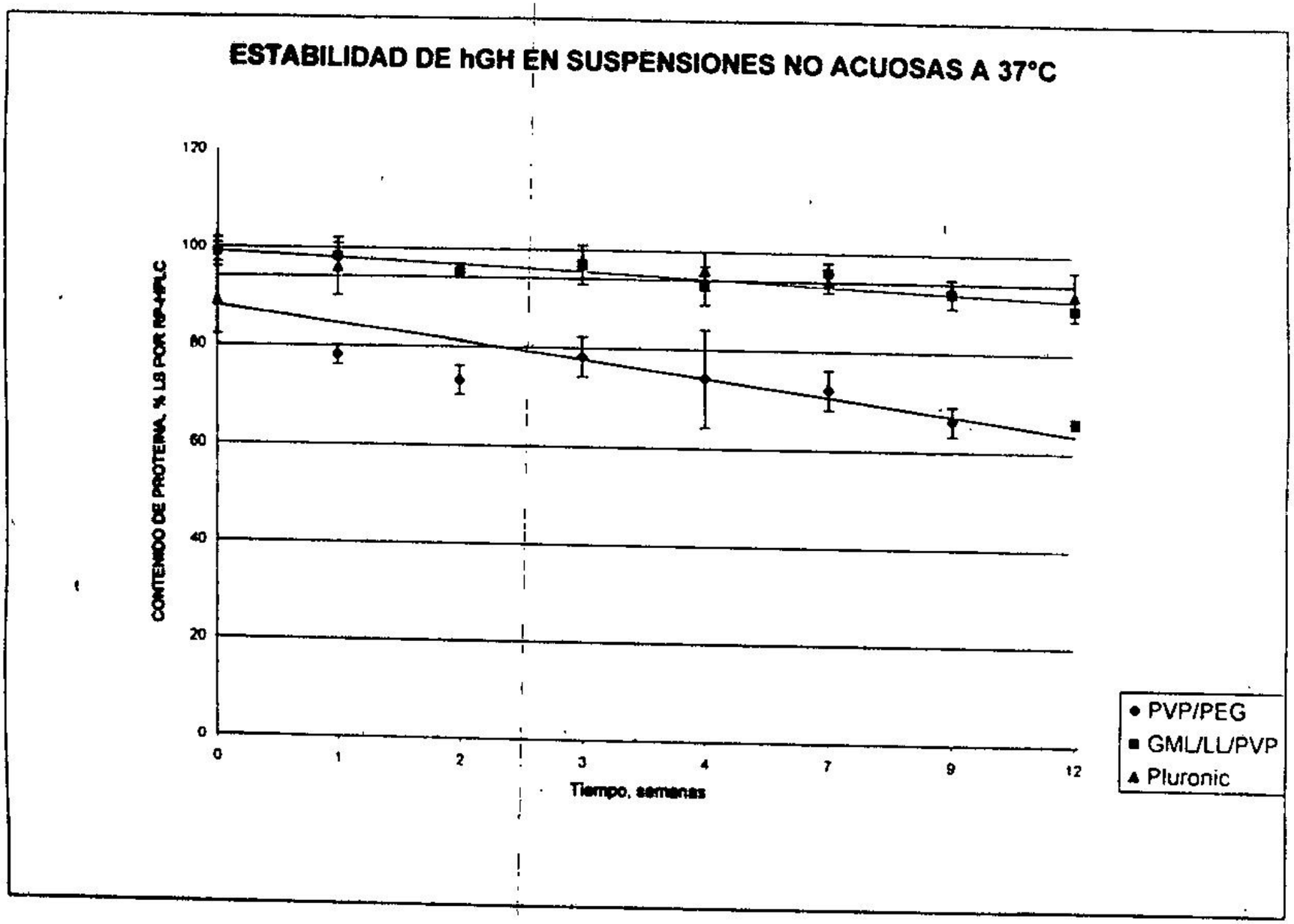

ESTABILIDAD DE hGH EN SUSPENSIONES NO ACUOSAS A 37°C
CONTENIDO DE PROTEINA, % LB POR RP-HPLC
120
100
80
60
40
20
0
0
1
2
3
4
7
9
12
Tiempo, semanas
PVP/PEG
GML/LL/PVP
Pluronic

Figura 1

97

~~101~~

96

Arte fluid

402
97

PA 183365

THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

December 08, 1999

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.

APPLICATION NUMBER: *60/119,170*
FILING DATE: *February 08, 1999*

By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS

P. SWAIN
Certifying Officer

A/PROV 103
98

Please type a plus sign (+) inside this box → [+]

Docket Number: ARC2914P1

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET (Large Entity)

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT under 37 CFR 1.53 (c).

INVENTOR(S)/APPLICANT(S)		
Given Name (first and middle [if any])	Family Name or Surname	Residence (City and either State or Foreign Country)
Stephen A.	Berry	Hollister, California
Pamela J.	Fereira	Redwood City, California
Houdin	Dehnad	El Granada, California
Anna	Muchnik	Belmont, California

☐ *Additional inventors are being named on page 2 attached hereto*

TITLE OF THE INVENTION (280 characters max)

STABLE NON-AQUEOUS SINGLE PHASE GELS EXHIBITING VISCOUS FLUID CHARACTERISTICS AND FORMULATONS UTILIZING SUCH GELS

CORRESPONDENCE ADDRESS

Direct all correspondence to:

☐ Customer Number [ ] → *Place Customer Number Bar Code Label here*

OR

☒ Firm or Individual Name	ALZA Corporation				
Address	Intellectual Property Dept.				
Address	950 Pagemill Road				
City	Palo Alto	State	CA	ZIP	94303
Country	USA	Telephone	(650) 494-5560	Fax	(650) 496-8048

ENCLOSED APPLICATION PARTS *(check all that apply)*

☒ Specification — *Number of Pages* 31

☒ Drawing(s) — *Number of Sheets* 4

☒ Other (specify) Abstract 1 pg.

METHOD OF PAYMENT OF FILING FEES FOR THIS PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT *(check one)*

☐ A check or money order is enclosed to cover the filing fees

☒ The Commissioner is hereby authorized to charge filing fees or credit any overpayment to Deposit Account Number: 01-1173

FILING FEE AMOUNT: $150.00

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government

☒ No.

☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are. _____

Respectfully submitted,

SIGNATURE Pauline Ann Clarke DATE February 8, 1999

TYPED or PRINTED NAME Pauline Ann Clarke REGISTRATION NO. *(if appropriate)* 29,783

TELEPHONE (650) 494-5560

USE ONLY FOR FILING A PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT

SEND TO: Box Provisional Application, Assistant Commissioner for Patents, Washington, DC 20231

P19LARGE/REV04

02/08/99 jc541 U.S. PTO 60/119170 02/08/99

~~104~~
99

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET (Large Entity)

INVENTOR(S)/APPLICANT(S)		
Given Name (first and middle [if any])	Family Name or Surname	Residence (city and either State or Foreign Country)

Certificate of Mailing by Express Mail

I certify that this provisional patent application cover sheet, provisional patent application and fee is being deposited on 2.8.99 with the U.S. Postal Service as "Express Mail Post Office to Addressee" service under 37 C F.R. 1.10 and is addressed to the Assistant Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231.

Renee Lamantia

Signature of Person Mailing Correspondence

Renee Lamantia

Typed or Printed Name of Person Mailing Correspondence

USE ONLY FOR FILING A PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT

SEND TO: Box Provisional Application, Assistant Commissioner for Patents, Washington, DC 20231

P19LARGE/REV04

60020-0750

105
100

I hereby certify that this correspondence is being deposited with the United States Postal Service "Express Mail Post Office to Addressee" service under 37 CFR 1.10 in an envelope addressed to: Assistant Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231 on this date: 2·8·99

Express Mail Label: EM534008934 By: Renee Lamanta

STABLE NON-AQUEOUS SINGLE PHASE GELS EXHIBITING VISCOUS FLUID CHARACTERISTICS AND FORMULATIONS UTILIZING SUCH GELS

Field of the Invention

This invention relates to stable non-aqueous single phase biodegradable biocompatible gels exhibiting viscous fluid characteristics capable of suspending beneficial agents and uniformly dispensing said agents at low flow rates and more particularly to stable uniformly mixed formulations of beneficial agents in stable non-aqueous single phase biodegradable biocompatible gels exhibiting viscous fluid characteristics.

References

The following references are referred to by numbers in brackets ([]) at the relevant portion of the specification.

1. Ahern and Manning, Eds, "Stability of Protein Pharmaceuticals, A: Chemical and Physical Pathways of Protein Degradation", Plenum Press, New York, 1992.
2. Wang, et al., *J. Parenteral Sci. Tech*, **42**: S4-S26 (1988).
3. Desai, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **116**: 9420-9422 (1994).
4. Chang, et al., *Pharm. Tech.*, 80-84 (Jan. 1996).
5. Manning, et al., *Pharm. Res.*, **6**: 903-918 (1989).
6. Hageman, *Drug Dev. Ind. Pharm*, **14**: 2047-2070 (1988).
7. Bell, et al., *Biopolymers*, **35**: 201-209 (1995).
8. Zhang, et al., *Pharm. Res.* **12**: 1447-1452 (1995).
9. Yu, et al., J. Pharm. Sci., 85: 396-401 (1996).
10. Mitchell, U.S. Patent No. 5,411,951 (1995).

11. Brooks, et al., U.S. Patent No. 5,352,662 (1994)
12. Geller, L., U.S. Patent No. 3,869,549 (1975).
13. Larsen, et al., PCT Publication No. WO95/34285 (1995).
14. Knepp, et al., *J. Pharm. Sci. Tech*, **50**: 163-171 (1996).
15. PCT published application 98/00158
16. PCT published application 98/16250
17. Knepp, et al., Pharm. Res. 15 (7) 1090-1095 (1998).
18. PCT published application 98/00157
19. PCT published application 98/00152
20. U.S. Patent 5,540,912
21. U.S. Patent 5,571,525
22. U.S. Patent 5,512,293
23. PCT published application 96/40049
24. Debs, et al., PCT Publication No. WO93/25673 (1993).
25. Debs, et al., PCT Publication No, WO93/24640 (1993).
26. Gibco technical report.
27. Boehringer Mannheim technical report.
28. Avanti Polar Lipid technical report.
29. Huang, et al., PCT Publication No. WO96/27393 (1996).
30. Szoka, et al., PCT Publication NO. WO96/41873 (1996).
31. U.S. Patent 5,614,221
32. U.S. Patent 4,594,108
33. U.S. Patent 5,300,302
34. U.S. Patent 4,588,614
35. U.S. Patent 4,310,516
36. U.S. Patent 5,635,213
37. EP 379,147
38. U.S.P. 23/NF 18, 1995
39. Nicoll, et.al., Endocrine Reviews, 7, 169-2-3 (1986).
40. Chawla, Ann. Rev. Med., 34, 519-547 (1983).
41. Edwards, et al., Science, 239, 769-771 (1988).

42. Isaksson, et al., Ann. Rev. Physiol., 47, 483-499 (1985).
43. Thorner and Vance, J. Clin. Invest., 82, 745-747 (1988).
44. Hughes and Frieson, Ann. Rev. Physiol., 47, 469-482 (1985).
45. G. Becker, et al., Biotech. and Applied Biochem., 10(4), 326-337 (1988).
46. M. Pikal, et al., Pharm. Res., 8(4), 427-436 (1991).
47. L-C The, et al., J. Biol. Chem., 262(14), 6472-6477 (1987).
48. Y.J. Wang and R. Pearlman, Pharm. Biotech., 5, 1-58 (1993).
49. Gilman, et al., The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7th ed. (1990).
50. Remington, Pharmaceutical Sciences, 18th ed. (1990).
51. Remington, Pharmaceutical Sciences, 15th ed. (1975).

Background of the Invention

Peptides, polypeptides, proteins and other proteinaceous substances (e.g., viruses, antibodies) collectively referred to herein as proteins, have great utility as pharmaceuticals in the prevention, treatment and diagnosis of disease. Proteins are naturally active in aqueous environments, thus the preferred formulations of proteins have been in aqueous solutions. However, proteins are only marginally stable in aqueous solutions. Thus, protein pharmaceuticals often require refrigeration or have short shelf-lives under ambient conditions. Further, many proteins have only limited solubility in aqueous and non-aqueous solutions. Even when they are soluble at high concentrations, they are prone to aggregation and precipitation.

Because proteins are not orally bioavailable, the standard method for delivering such compounds has been daily injections. Proteins can degrade via a number of mechanisms, including deamidations of asparagine and glutamine; oxidation of methionine and, to a lesser degree, tryptophan, tyrosine and histidine; hydrolysis of peptide bonds; disulfide interchange; and racemization of chiral amino acid residues [1-8]. Water is a reactant in nearly all of these degradation pathways. Further, water acts as a plasticizer, which

facilitates unfolding and irreversible aggregation of proteins. Since water is a participant in almost all protein degradation pathways, reduction of aqueous protein solution to a dry powder provides an alternative formulation methodology to enhance the stability of protein pharmaceuticals. Proteins can be dried using various techniques, including freeze-drying, spray-drying, lyophilization, and desiccation. Aqueous solutions of proteins are thus dried and stored as dry powders until their use is required.

A serious drawback to drying of proteins is that often one would like to use proteins in some sort of flowable form. Parenteral injection and the use of drug delivery devices for sustained delivery of drug are two examples of the applications where one would like to use proteins in a flowable form. For injection, dried proteins must be reconstituted, adding additional steps which are time-consuming and where contamination may occur, and exposing the protein to potentially destabilizing conditions [8]. For drug delivery devices the protein formulations must be stable for extended periods of time at elevated (physiological) temperature and maintain their flowability for the expected life of the device.

Dispersing powdered proteins or peptides in lipid vehicles to yield parenteral sustained release formulations has been investigated [9-13]. The vehicles used were either various vegetable (sesame, soy, peanut, etc.) or synthetic oils (e.g., Miglyol) gelled with aluminum fatty acid esters such as aluminum stearates (mono-, di- or tri-), or with a polyglycerol ester. Although theoretically these vehicles might preclude solution denaturation and protect the drug from aqueous chemical degradation, the vehicles themselves are unstable at higher temperatures. The storage of liquid vegetable oils at elevated (physiological) temperatures results in the formation of reactive species such as free fatty acids and peroxides (a process which is accelerated by the presence of traces of various metal ions such as copper or iron which can leach from some implantable devices). These peroxides not only adversely affect protein stability [14] but would be toxic when delivered directly to, for example, the central nervous system of a human or animal. In

addition, due to the low viscosity of vegetable oil vehicles, formulations using vegetable oil vehicles do not maintain a uniform dispersion of drug in vehicle over long periods of time (thus, the beneficial agent can not be uniformly dispensed over long periods of time), and the formulation may lose its flowability (due, for example, to aggregation).

The sustained delivery of drugs has many advantages. Use of implantable devices assures patient compliance, since the delivery device is tamper-proof. With one insertion of a device, rather than daily injections, there is reduced site irritation, fewer occupational hazards for practitioners improved cost effectiveness through decreased costs of equipment for repeated injections, reduced hazards of waste disposal, and enhanced efficacy through controlled release. The use of implantable devices for sustained delivery of a wide variety of drugs or other beneficial agents is well known in the art. Typical devices are described, for example, in U.S. Patents Nos. 5,034,229; 5,057,318; 5,110,596; and 5,782,396. The disclosure of each of these patents is incorporated herein by reference.

Proteins, as well as many other biologically active compounds, degrade over time in aqueous solution. Because of this chemical instability, peptide solutions are often not suitable for use in drug delivery devices. Carriers, in which protein powders do not dissolve but rather are suspended, can often offer improved chemical stability. Furthermore, it can be beneficial to suspend the beneficial agent in a carrier when the agent exhibits low solubility in the desired vehicle. However, suspensions can have poor physical stability due to settling and agglomeration of the suspended beneficial agent. The problems with non-aqueous carriers tend to be exacerbated as the concentration of the active compound is increased.

For drug delivering implants, dosing durations of up to one year are not unusual. Beneficial agents which have low therapeutic doses are prime candidates for use in implants. When the device is implanted or stored, settling of the beneficial agent in a liquid formulation can occur. This heterogeneity can adversely affect the concentration of the beneficial agent

dispensed. Compounding this problem is the size of the implanted beneficial agent reservoir. Implant reservoirs are generally on the order of 25-250 μl, but can be up to 25 ml.

Solution formulations of proteins/peptides in non-aqueous polar aprotic solvents such as DMSO and DMF have been shown to be stable at elevated temperatures for long periods of time [15]. However, such solvent based formulations will not be useable for all proteins since many proteins have low solubility in these solvents. The lower the solubility of the protein in the formulation, the more solvent would have to be used for delivery of a specific amount of protein. Low concentration solutions may be useful for injections, but may not be useful for long term delivery at low flow rates.

Non-aqueous anhydrous, aprotic, hydrophobic, non-polar vehicles with low reactivity have been shown to provide stable protein formulations over extended periods of time [16]. Past formulations of albumin, lysozyme or trypsinogen were prepared in perfluorodecalin. Suspensions were formed using perfluorodecalin or methoxyflurane. Although these formulations were prepared, there is no discussion of whether these protein formulations exhibit viscous fluid characteristics or are capable of uniformly dispensing proteins over long periods of time without settling of the proteins.

Formulations of Factor IX were prepared in perfluorodecalin and trifluorotributylamine and formulations of recombinant human α-interferon in perfluorodecalin [17]. Although the article discusses stability of formulations in terms of aggregation, there is no discussion of whether these formulations settle. If formulations settle over time, there may not be aggregation, but there will not be a uniform delivery of the beneficial agent due to the settling.

Proteins have also been stabilized at high concentrations in aqueous formulations [18]. These aqueous formulations were stable at elevated temperatures for long periods of time. However, such concentrated aqueous formulations do not overcome the problem that many proteins are not stable in aqueous formulations.

High concentration peptide formulations have also been prepared using non-aqueous protic solvents such as polyethylene glycol [19]. However, there is no discussion of the viscosity of these formulations, nor their ability to uniformly suspend and deliver proteins over extended periods of time.

Viscous suspensions of PLGA-bupivacaine anesthetic have been prepared and injected into animals [20]. However, these suspensions were prepared just before delivery from a syringe.

Bioerodible drug-containing compositions utilizing polymers and copolymers of d,l-lactic and glycolic acids and mixtures thereof have been prepared [21]. These formulations form matrices for delivery of the drug. Available depot formulations of LHRH-related compounds administered for sustained release over a period of 1-3 months include a formulation comprised of 15% LHRH-related compound dispersed in a matrix of D.L-lactic and glycolic acids copolymer presented as a cylinder to be injected subcutaneously and a formulation comprised of microparticles comprising a core of LHRH-related compound and gelative surrounded by a shell of D,L-lactic and glycolic acids copolymer. These microparticles are suspended in a diluent for injection either subcutaneously or intramuscularly. These products must be stored at room temperature or lower. Aqueous formulations of LHRH-related compounds are known to exhibit both chemical and physical instability, as well as degradation after irradiation.

Ethylenevinyl acetate copolymer/ polyvinylpyrridone mixtures have been used to prepare sustained release delivery formulations for delivery to the oral cavity [22]. These formulations form matrices for delivery of the drug and are not delivered using delivery devices.

Liquid suspensions of cytochrome C in PEG 400/povidone [50/50] have been prepared [23] and tested in veterinary implants over a period of 42 days. Although vehicle viscosities of between 100 to 100,000 poise at 37°C were described, no data was presented to show that zero order release over long periods of time (up to 12 months) could be achieved without protein settling.

DNA complexed with cationic lipids and/or liposomes has been shown to be an efficient means of tranfecting a variety of mammalian cells. Such complexes are simple to prepare and may be used with a wide variety of DNA's and RNA's with little restriction to the size of nucleic acid. Current nucleic acid formulations, including DNA/lipid and RNA/lipid complexes, must be mixed shortly before administration, resulting in inconvenience in manufacture, shipping, storage and administration [24-28]. Frequently, these two-part formulations are not very highly concentrated, requiring the administration of large volumes of solution. Dry powder formulations containing lyophilized nucleic acid/lipid complexes have also been used [29,30], but they require reconstitution with suitable aqueous solution just prior to administration. Aqueous complexes are inherently unstable and lose most, if not all, of their transfection activity within hours or a few days [30].

Polysaccharides have been used to form matrices having pseudoplastic characteristics for injectable formulations of drugs [31]. This patent teaches storage of the drug in a vial and storage of the pseudoplastic gel in another vial or syringe. At the time of use, the gel is pushed out of the syringe into the drug vial and thereafter the combination is drawn back into the syringe, ready to use.

Thickening compositions (e.g., a 2 component thickener of a water soluble high molecular weight organic synthetic or modified natural polymer and a water insoluble but water-swellable and water-disperable organic synthetic or modified natural polymer) to impart pseudoplastic behavior to aqueous compositions has been prepared [32].

Addition of a gelling agent to an aqueous drug solution and stirring to gel has been discussed [33]. The gel is then put into a dispenser for delivery over a period of up to 5 days.

Incorporation of an active agent in a pseudoplastic gel into a porous structure such as textile sheet material has been discussed [34].

An anhydrous pseudoplastic and thixotropic oleaginous vehicle for topical delivery of medicaments has been prepared [35]. The oleaginous

material (e.g., mineral oils, fatty acids or fatty alcohols) are mixed with a thickener (e.g., glycerol fatty acid esters), then heated to above the melting point or pour point to dissolve the thickener, then allowed to cool below the cloud point with agitation.

Intraduodenal administration of a pharmacologically active agent (e.g., L-DOPA) with limited solubility in water dispersed in an aqueous carrier has been discussed [36]. The aqueous carrier has a viscosity of at least 300mPas, measured at a moderate shear rate and preferably has a plastic or pseudoplastic nature.

An extrudable elastic gel as a carrier for oral delivery of a therapeutic agent has been prepared [37]. The gel of this patent is a solution of a therapeutically active agent or mixture of agents, an alcoholic solvent, a hexitol, water and a seaweed polysaccharide.

There is a need to be able to deliver protein compositions to the body which are stable at physiological temperatures over extended periods of time to enable long term delivery of the protein. There is a need to be able to deliver concentrations of proteins which are efficacious. There is a need for a novel non-aqueous formulation capable of homogeneously suspending proteins and dispensing such agents at elevated (physiological) temperatures and low flow rates over extended periods of time.

Summary of the Invention

The present invention provides means for delivering protein compositions to the body which are stable at physiological temperatures over extended period of time to enable long term delivery of the protein.

The present invention provides stable single phase non-aqueous biodegradable biocompatible gels which exhibit viscous fluid characteristics.

The present invention also provides formulations exhibiting viscous fluid characteristics in which beneficial agents are uniformly suspended in stable single phase non-aqueous biodegradable biocompatible gels. In particular, the beneficial agents are formulated in the gels at concentrations of

at least about 0.1%, depending upon the potency of the beneficial agent. These stable formulations may be stored at the temperature appropriate for the beneficial agent. The temperatures can range from cold (not exceeding 8°C), through cool (between 8°C and 15°C), room temperature, to controlled room temperature (mean kinetic temperature calculated to be not more than 25°C) [38], to body temperature (about 37°C) for long periods of time. These formulations are especially useful in implantable delivery devices for long term delivery (e.g., 1-12 months or longer) of drug at physiological temperature, preferably about 37°C.

In one aspect, the invention provides stable single phase non-aqueous biodegradable biocompatible gels which exhibit viscous fluid characteristics.

In a further aspect, the invention provides stable non-aqueous formulations of beneficial agents, said formulations comprising at least one beneficial agent in at least one stable single phase non-aqueous biodegradable biocompatible gelled vehicle exhibiting viscous fluid characteristics. In a preferred embodiment the formulation comprises about 0.1 to 50% (w/w) of beneficial agent, depending on the potency of the beneficial agent, the duration of treatment, and the rate of release for the drug delivery system.

In another aspect, the invention provides stable single phase non-aqueous biodegradable biocompatible gel formulations exhibiting viscous fluid characteristics which are capable of being dispensed at low flow rates of about 0.3 to 100 μl/day, preferably about 0.3 to 4 μl/day for about a 6 month delivery period and 5 to 8 μl/day for about a 3 month delivery period.

In another aspect, the invention provides methods for preparing stable non-aqueous biodegradable biocompatible formulations of a beneficial agent in at least one gelled vehicle exhibiting viscous fluid characteristics. Preferred formulations comprise about 0.1 to 50% (w/w) beneficial agent depending on the potency of the beneficial agent, the duration of treatment, and the rate of release from the delivery system.

In yet a further aspect, the invention provides methods for treating a subject suffering from a condition which may be alleviated by administration of a beneficial agent, said methods comprising administering to said subject an effective amount of a stable non-aqueous formulation comprising at least one beneficial agent in at least one gelled vehicle exhibiting viscous fluid characteristics.

Brief Description of the Drawings

Figure 1 shows the stability of hGH formulations of the present invention as determined at 37°C by reverse phase HPLC.

Figure 2 shows the stability of hGH formulations of the present invention as determined at 37°C by size exclusion chromatography.

Figure 3 shows the average release rate (μl/day) of 10% (w/w) spray-dried lysozyme in formulations of the present invention.

Figure 4 shows the average release rate (μl/day) of 10% (w/w) spray-dried hGH in a glycerol monolaurate/lauryl lactate/polyvinylpyrrolidone vehicle.

Detailed Description of the Invention

The present invention is drawn to the unexpected discovery that uniformly suspending beneficial agents in non-aqueous single phase biodegradable biocompatible gels exhibiting viscous fluid characteristics results in stable formulations which can be delivered at elevated (physiological) temperature over an extended period of time at low flow rates. Previously known formulations of beneficial agents which are buffered aqueous or non-aqueous solutions which may or may not contain excipients do not provide formulations which can be dispensed at elevated (physiological) temperatures at low flow rates over an extended period of time without exhibiting aggregation or degradation of the formulation. In contrast

the presently claimed formulations stabilize beneficial agents and can be stored at the temperature appropriate for the beneficial agent. The temperatures can range from cold (not exceeding 8°C), through cool (between 8°C and 15°C), room temperature, to controlled room temperature (mean kinetic temperature calculated to be not more than 25°C) [38], to body temperature (about 37°C) for long periods of time. These formulations are especially useful in implantable delivery devices for long term delivery (e.g., 1-12 months or longer) of drug at low flow rates and at physiological temperature, preferably about 37°C.

Standard beneficial agent formulations consist of dilute aqueous or non-aqueous solutions or suspensions. Drug stability is usually achieved by varying one or more of the following: pH, buffer type, ionic strength, excipients (EDTA, ascorbic acid, etc.) For these formulations, degradation pathways requiring water (hydrolysis, deamidation, racemization) cannot be fully stabilized. In contrast, in the present invention, beneficial agents formulated in non-aqueous biodegradable biocompatible single phase gels exhibiting viscous fluid characteristics, such as gels containing polyvinylpyrrolidone, vinyl acetate, and/or polyoxyethylenepolyoxypropylene block copolymers were shown to be chemically and physically stable. Non-aqueous gels would be expected to decrease the rate of degradation since they lack the ability to contribute protons to degradation reactions. The viscosity of the formulation will depend upon a number of criteria, including the beneficial agent potency and concentration, and the process by which the formulation is prepared. The viscosity of the formulation can be chosen so that the desired amount of beneficial agent is delivered over the desired period of time.

The invention consists of non-aqueous single phase biodegradable biocompatible gels exhibiting viscous fluid characteristics, use of said gels to form beneficial agent formulations capable of being stable for an extended period of time at elevated (physiological) temperatures, and delivery of said beneficial agents uniformly at low flow rates. The discovery consists of the realization that stable non-aqueous gels exhibiting viscous fluid characteristics

improve the stability of beneficial agents in a wide range of formulation conditions including concentration, elevated temperatures and duration of stable formulation, thus making possible the delivery of beneficial agents in long term implantable devices that would not otherwise be feasible.

Definitions

As used herein, the following terms have the following meanings:

The term "chemical stability" means that an acceptable percentage of degradation products produced by chemical pathways such as, for proteins, oxidation, deamidation, or hydrolysis is formed. In particular, a formulation is considered chemically stable if no more than about 35% breakdown products are formed after 2 months at 37°C.

The term "physical stability" means that an acceptable percentage of aggregates (e.g., dimers, trimers and larger forms) are formed by the beneficial agent. For the formulation (gel and beneficial agent) this term means that the formulation retains stability, flowability, and the ability to uniformly dispense the beneficial agent. In particular, a formulation is considered physically stable if no more than about 15% aggregates are formed after two months at 37°C.

The term "stable formulation" means that at least about 65% chemically and physically stable beneficial agent remains after two months at 37°C (or equivalent conditions at an elevated temperature). Particularly preferred formulations are those which retain at least about 80% chemically and physically stable beneficial agent under these conditions. Especially preferred stable formulations are those which do not exhibit degradation after sterilizing irradiation (e.g., gamma, beta or electron beam).

The term "beneficial agent" means peptides, proteins, nucleotides, hormones, viruses, antibodies, etc. which comprise polymers of amino acid or nucleic acid residues. These beneficial agents are generally degradable in water and generally stable as a dry powder at elevated temperatures.

Synthetically produced, naturally derived or recombinantly produced moieties are included in this term. The term also includes lipoproteins and post translationally modified forms, e.g., glycosylated proteins. Analogs, derivatives, agonists, antagonists and pharmaceutically acceptable salts of any of these are included in this term. The term also includes proteins and/or protein substances which have D-amino acids, modified, derivatized or non-naturally occurring amino acids in the D- or L- configuration and/or peptomimetic units as part of their structure. The term protein will be used in the present invention. The term also means that the beneficial agent is present in the solid state, e.g., powder or crystalline.

The term "excipient" means a more or less inert substance in a formulation which is added as a diluent or vehicle or to give form or consistency. Excipients are distinguished from solvents such as ETOH, which are used to dissolve drugs in formulations. Excipients include non-ionic surfactants such as polysorbates, which are used to solubilize drugs in formulations; preservatives such as benzyl alcohols or methyl or propyl parabens, which are used to prevent or inhibit microbial growth; chelating agents; flavoring agents, and other pharmaceutically acceptable formulation aides.

The term "viscous fluid" means a fluid with a viscosity with a range of about 1,000 to 10,000,000 poise. The term includes Newtonian and non-Newtonian materials. Preferred are fluids with a viscosity of about 50,000 to 250,000 poise. These viscous fluid formulations can uniformly expel drugs suspended in the viscous fluid from implantable drug delivery devices. The formulations exhibit a shear rate at the exit of said devices of 1 to 1 x 10^{-7} reciprocal second, preferably an exit shear rate of 1 x 10^{-2} to 1 x 10^{-5} reciprocal second.

The term "single phase" means a solid, liquid, or gaseous homogeneous system, that exists as a distinct and mechanically separate portion in a heterogeneous system and that is both physically and chemically uniform throughout under both static and dynamic conditions.

The term "biodegradable" or "biodegrade" means a property or characteristic of a body of a microporous, solid or gel material to innocuously disintegrate or break down as a unit structure or entity, over a prolonged period of time, in response to the biological environment in the patient, by one or more physical or chemical degradative processes, for example by enzymatic action, oxidation or reduction, hydrolysis (proteolysis), displacement, e.g. ion exchange, or dissolution by solubilization, emulsion or micelle formation, and which material is then absorbed by the body and surrounding tissue, or otherwise dissipated thereby.

The term "polymer" includes polyesters such as PLA (polylactic acid) and PLGA (polylacticpolyglycolic acid), pyrrolidones such as polyvinylpyrrolidone (having a molecular weight range of about 2,000 to 1,000,000), esters or ethers of unsaturated alcohols such as vinyl acetate, and polyoxyethylenepolyoxypropylene block copolymers such as Pluronic. Currently preferred polymer is polyvinylpyrrolidone.

The term "solvent" includes carboxylic acid esters such as lauryl lactate, polyhydric alcohols such as glycerin, polymers of polyhydric alcohols such as polyethylene glycol (having a molecular weight of about 200 to 600), fatty acids such as oleic acid and octanoic acid, and oils such as castor oil. Currently preferred is lauryl lactate.

The term "surfactant" includes esters of polyhydric alcohols such as glycerol monolaurate, ethoxylated castor oil, polysorbates, esters or ethers of saturated alcohols, and polyoxyethylenepolyoxypropylene block copolymers. Currently preferred are gylcerol monolaurate and polysorbates.

The term "antioxidant" means a pharmaceutically acceptable aid for stablization of the beneficial agent against degradation such as oxidation. Antioxidants include tocopherol (vitamin E), ascorbic acid, ascorbyl palmitate, butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, and propyl gallate. A preferred antioxidant depends on the solubility and efficiency for protecting against degradation or chemical change of the antioxidant in the preferred solvent.

Preparation of Formulations

The present invention is drawn to stable non-aqueous single phase biodegradable biocompatible gels capable of suspending beneficial agents and uniformly dispensing said beneficial agents at elevated (physiological) temperatures at low flow rates over an extended period of time. The present invention is also directed to formulations containing said single phase biocompatible gels and beneficial agents which are stable for prolonged periods of time at elevated (physiological) temperatures.

Standard aqueous peptide and protein formulations require manipulation of buffer type, ionic strength, pH and excipients (e.g., EDTA and ascorbic acid) to achieve stability. In contrast, the claimed formulations achieve stabilization and flowability of beneficial agents by the use of stable non-aqueous single phase biodegradable biocompatible gels exhibiting viscous fluid characteristics.

Examples of beneficial agents which may be formulated using the present invention include those peptides or proteins which have biological activity or which may be used to treat a disease or other pathological condition. They include, but are not limited to, adrenocorticotropic hormone, angiotensin I and II, atrial natriuretic peptide, bombesin, bradykinin, calcitonin, cerebellin, dynorphin N, alpha and beta endorphin, endothelin, enkephalin, epidermal growth factor, fertirelin, follicular gonadotropin releasing peptide, galanin, glucagon, gonadorelin, gonadotropin, goserelin, growth hormone releasing peptide, histrelin, insulin, interferons, leuprolide, LHRH, motilin, nafarerlin, neurotensin, oxytocin, relaxin, somatostatin, substance P, tumor necrosis factor, triptorelin, vasopressin, growth hormone, nerve.growth factor, blood clotting factors, ribozymes, and antisense oligonucleotides. Analogs, derivatives, antagonists agonists and pharmaceutically acceptable salts of the above may also be used.

Human growth hormone (hGH) participates in much of the regulation of normal human growth and development. hGH is a member of a family of

homologous hormones that include placental lactogens, prolactins, and other genetic and species variants of growth hormone [39]. This 22,000 dalton pituitary hormone exhibits a multitude of biological effects, including linear growth (somatogenesis), lactation, activation of macrophages, and insulin-like and diabetogenic effects, among others [40-44]. These biological effects derive from the interaction between hGH and specific cellular receptors.

It is well know that human growth hormone is susceptible to a variety of degradation processes [45-48]. In order to preserve chemical and physical stability of the protein, commercial preparations of hGH are supplied as freeze-dried formulations, stored at 2-8°C. The main routes of degradation are deamidation, oxidation and aggregation. The main promoter of these processes is water.

The beneficial agents useful in the formulations and methods of the present invention can be used in the form of a salt, preferably a pharmaceutically acceptable salt. Useful salts are known to those of skill in the art and include salts with inorganic acids, organic acids, inorganic bases, or organic bases.

Beneficial agents which are not readily soluble in non-aqueous solvents are preferred for use in the present invention. One of skill in the art can easily determine which compounds will be useful on the basis of their solubility. The amount of beneficial agent may vary depending on the potency of the compound, the condition to be treated, the solubility of the compound, the expected dose and the duration of administration. (See, for example, [49,50], the disclosures of which are incorporated herein by reference.)

It has been unexpectedly found that using a stable non-aqueous biodegradable biocompatible gel with viscous fluid characteristics may increase the stability of the beneficial agent. For example, as seen in Figures 1 and 2, hGH was found to be stable at 37°C over 12 weeks in formulations of polyvinylpyrrolidone/PEG; Pluronic; and glycerol monolaurate/lauryl lactate/ polyvinylpyrrolidone. Figure 1 shows stability results using reverse phase HPLC. Figure 2 shows stability results using size exclusion chromatography.

Generally, the stable formulations of the present invention may be prepared by combining the ingredients and blending them at elevated temperature to allow them to liquify and disperse uniformly throughout the batch.

It has been found that freeze-dried or lyophilized pharmaceuticals are often more soluble and/or more rapidly soluble, dispersions are stabilized throughout the shelf life of the product, and products subject to degradation by oxidation have enhanced stability because the process is carried out in a vacuum. The process of drying the active ingredient includes further advantages such as compounds which are relatively unstable in aqueous solution can be processed and filled into dosage containers, dried without elevated temperatures, and then stored in the dry state in which there are relatively few stability problems.

Another method for enhancing stability of pharmaceuticals is spray-drying. In this method liquid droplets are sprayed into a volume of hot air sufficient to produce evaporation and drying of the liquid. The air supplies the heat for evaporation and conveys the dried product to the collector. The spray-dried powder particles are homogenous, approximately spherical in shape, nearly uniform in size, and frequently hollow.

Pharmaceutical formulations, particularly parenteral products, should be sterilized after being sealed in its final container and within as short a time as possible after the filling and sealing have been completed. (See, for example, [51], the disclosure of which is incorporated herein by reference.) Many products will be adversely affected by the elevated temperatures required for thermal sterilization. Such products must, therefore be sterilized by a nonthermal method. Most thermolabile solutions may be sterilized by filtration through bacteria-retaining filters. Subsequently, all operations must be carried out in an aseptic manner so that contamination will not be introduced into the filtrate. Colloids, oleaginous solutions, suspension, and emulsions that are thermolabile may require a process in which each

component is sterilized and the product is formulated and processed under aseptic conditions.

Aseptic handling or manipulations is a technique frequently used in the compounding of products that will not withstand sterilization but in which all of the ingredients are available in a sterile form. In such cases sterility must be maintained throughout the operation and it is necessary to use sterile equipment and material and a controlled working environment.

Dry-heat sterilization may be employed for a few dry solids that are not adversely affected by the high termperatures and for the relatively long heating period required.

Certain dry solids such as penicillin, streptomycin, polyvitamins, and certain hormones are being effectively sterilized by ionized radiation without adverse effects. Sterilization by radiation may employ either electromagnetic radiation or particulate radiation. It is generally agreed that under most conditions a radiation dose of about 2.5 megarads is sufficient to kill the most resistant microorganisms with an adequate safety factor. Electromagnetic radiation, comprised of photons of energy, includes ultraviolet, gamma, X-, and cosmic radiation. Ionization of matter results in the formation of ion pairs, comprised of ejected orbital electrons and their counterpart ions. These ion pairs can result in formation of unstable chemical intermediates.

Combinations of these sterilization procedures may also be used to produce a sterile product.

It has been found that antioxidants, such as tocopherol, ascorbic acid, ascorbyl palmitate, butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, and propyl gallate, may optionally be added to the claimed formulations to assist in reducing the formation of degradation products (e.g., unstable chemical intermediates) during sterilization.

Methodology

We have found that stable non-aqueous beneficial agent formulations exhibiting viscous fluid characteristics are made by combining the ingredients

for the gel and blending them at elevated temperature to allow them to liquify and disperse uniformly throughout the batch. Once a single phase gel is formed, the beneficial agent is added with mixing to uniformly disperse it in the gel.

We have tested these beneficial agent formulations, specifically formulations of hGH, for stability by subjecting them to accelerated aging tests. Results show that these formulations remained stable over extended periods of time.

We have also tested beneficial agent formulations prepared as described herein for stability after 2.5 megarads gamma irradiation. Results show that these formulations remained chemically and physically stable after such irradiation.

We have tested beneficial agent formulations, specifically human growth hormone and lysozyme, for stability by suspending them in a variety of non-aqueous gels exhibiting viscous fluid characteristics prepared according to the present invention, then subjecting them to accelerated aging at elevated temperatures. The stability of the formulations was measured. Results of these studies demonstrate that these formulations were stable at conditions that approximate or exceed storage for one year at 37°C.

A major aspect of the invention is that non-aqueous gels exhibiting viscous fluid characteristics containing beneficial agents are chemically and physically stable over a broad temperature range for long periods of time. The beneficial agents in the gels are also chemically and physically stable over a broad temperature range for long periods of time. Thus, these formulations are advantageous in that they may be shipped and stored at temperatures below, at, or above room temperature for long period of time. They are also suitable for use in implantable delivery devices in which the formulation must be stable at body temperature for extended periods of time.

The formulations of the present invention also remain stable when delivered from implantable drug delivery systems. The beneficial agents have been shown to exhibit zero order release rates when delivered from

implantable drug delivery systems at very low flow rates over extended periods of time.

Disclosure of Examples of the Invention

The following methods were used to perform the studies in the Examples that follow.

1. Preparing Protein powders

Human Growth Hormone (obtained for example, from BresaGen Limited, Adelaide, Australia)

The active agent was reconstituted in deionized water. The solution containing the active agent was buffer exchanged using an Amicon Diaflo® Ultrafiltration membrane (molecular weight cut-off 10,000).

The diafiltrated active agent solution was spray dried using a Yamato mini-spray dryer. Powder was collected in a collection vessel through a cyclone trap. All handling of the spray dried powder took place in a dry box evacuated with nitrogen. The generated powder was analyzed for particle size and distribution, moisture content, protein content and stability by size exclusion and reverse-phase chromatography.

2. Preparation of gels

We have found that stable single phase biocompatible gels may be prepared by combining the ingredients and blending them at elevated temperatures to allow them to liquify and disperse uniformly throughout the batch. The mixing was completed under vacuum to remove trapped air bubbles produced from the powders. The mixer was a dual helix blade mixer (D.I.T.) which runs at a speed around 40 rpm. Higher speeds can be used but are not required.

If a three component gel is made, the solvent portion of the vehicle was added to the heated bowl of the mixer first, followed by the surfactant. The polymer was added last, and the ingredients were mixed until a solution

(single phase) resulted. Vacuum was applied during mixing to remove air bubbles. The solution was dispensed from the bowl while at elevated temperature, and allowed to cool to room temperature. On cooling the vehicle exhibited increased viscosity to the point of being a gel. Dual and single component gels were made using the same process.

3. Preparation of beneficial agent formulations

To prepare the formulation, the single phase gel vehicle was heated and then blended with a weighed amount of beneficial agent. The beneficial agent and the single phase gel were blended in the same manner as the vehicle was prepared, using a dual helix blade mixer (or other similar mixer). Mixing speed was between 40 and 120 rpm for approximately 15 minutes or until a uniform dispersion was attained. The resulting mixture was removed from the mixer, sealed in a dry container, and allowed to cool to room temperature.

4. Preparation of reservoirs

The reservoirs of implantable drug delivery devices (as disclosed in U.S. Patent Application Serial No. 08/595,761, incorporated herein by reference) were filled with the appropriate hGH formulation. The formulation was filled into titanium or polymer reservoirs with a polymer plug blocking each end. The filled reservoir was then sealed in a polyfoil bag and placed in a stability testing oven.

It should be noted that the formulations in the reservoirs of these devices are completely isolated from the outside environment.

5. Reverse Phase-HPLC (RP-HPLC)

All stability samples of hGH were assayed for protein content and chemical stability by reverse phase chromatography (RP-HPLC). Analyses were performed on a Hewlett Packard HP-1090 system with a refrigerated autosampler (4°C). The chromatographic conditions used are listed below.

TABLE 1

RP-HPLC Chromatographic Conditions

Description	Parameter		
Column	J.T. Baker-C18, 4.6x250 mm		
Flow Rate	1.0 mL/min		
Detection	214 nm		
Mobile Phase	A: 0.1% TFA in water		
	B: 0.1% TFA in acetonitrile		
Gradient	time	%A	%B
	0	65	35
	5	50	50
	45	35	65
	50	30	70
	55	65	35

A hGH reference standard solution was prepared and its protein content calculated from the absorbance measurement at 280 nm. Three dilutions of this solution, representing 80%, 100%, and 120% of the expected concentration of hGH in the samples were run in duplicate at the beginning and the end of each run and used to calculate total protein content of the samples.

6. Size Exclusion Chromatography (SEC)

All stability samples of hGH were assayed for protein content and high molecular weight degradation products by size exclusion chromatography. Analyses were performed on a Hewlett Packard HP-1090 system with a refrigerated autosampler (4°C). The chromatographic conditions used are listed below

TABLE 2
SEC Chromatographic Conditions

Description	Parameter
Column	TSK-2000SWXL
Flow Rate	0.5 ml/ min
Detection	214 nm
Mobile Phase	25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, pH 7.0

A hGH reference standard solution was prepared and its protein content calculated from the absorbance measurement at 280 nm. Three dilutions of this solution, representing 80%, 100%, and 120% of the expected concentration of hGH in the samples were run in duplicate at the beginning and the end of each run and used to calculate total protein content of the samples. The amount of high molecular weight degradation products was calculated by area normalization.

The following examples are offered to illustrate this invention and are not meant to be construed in any way as limiting the scope of this invention.

EXAMPLE 1

Preparation of Non-aqueous Gels Exhibiting Viscous Fluid Characteristics

A. Glycerol monolaurate (Danisco Ingredients, New Century, Kansas) (25 g) was dissolved in lauryl lactate (ISP Van Dyk Inc., Belleville, NJ) (35 g) at 65°C. Polyvinylpyrrolidone C30 (BASF, Mount Olive, NJ) (40 g) was added and the mixture blended at about 40 rpm in a dual helix blade mixer (D.I.T.) until a single phase was achieved. Trapped air bubbles were removed by applying vacuum to the mixing chamber. The single phase vehicle was dispensed from the mixer, and allowed to cool to room temperature.

B. Polyvinylpyrrolidone C30 (BASF, Mount Olive, NJ) (50 g) was dissolved in polyethylene glycol 400 (Union Carbide) (50 g) at approximately 65°C until a single phase solution was formed. The single phase vehicle was dispensed from the mixer, and allowed to cool to room temperature.

C. Polyvinylpyrrolidone C30 (BASF, Mount Olive, NJ) (50 g) was dissolved in castor oil (Spectrum, Gardena, CA) (50 g) at approximately 65°C until a single phase solution was formed. The single phase vehicle was dispensed from the mixer, and allowed to cool to room temperature.

D. Polyvinylpyrrolidone C30 (BASF, Mount Olive, NJ) (50 g) was dissolved in octanoic acid (Spectrum, Gardena, CA) at approximately 65°C until a single phase solution was formed. The single phase vehicle was dispensed from the mixer, and allowed to cool to room temperature.

E. Polyvinylpyrrolidone C30 (BASF, Mount Olive, NJ) (50 g) was dissolved in oleic acid (Spectrum, Gardena, CA) at approximately 65°C until a single phase solution was formed. The single phase vehicle was dispensed from the mixer, and allowed to cool to room temperature.

F. Polyvinylpyrrolidone C30 (BASF, Mount Olive, NJ) (35%) was dissolved in glycerin (Baker, NJ) (65%) at approximately 65°C until a single phase solution was formed. The single phase vehicle was dispensed from the mixer, and allowed to cool to room temperature.

G. Cremophor EL (ethoxylated castor oil) (BASF, Mount Olive, NJ) (5%) was dissolved in castor oil (Spectrum, Gardena, CA) (70%), and polyvinylpyrrolidone C30 (BASF, Mount Olive, NJ) (25%) was added and dissolved by mixing at approximately 40 rpm to form a single phase vehicle. The single phase vehicle was dispensed from the mixer, and allowed to cool to room temperature.

H. Pluronic 105 (BASF, Mount Olive, NJ) was heated to approximately 65°C with mixing until melted. The single phase vehicle was dispensed from the mixer, and allowed to cool to room temperature.

EXAMPLE 2

Preparation of hGH

A. Preparation by spray drying

Lyophilized hGH (BresaGen Limited, Adelaide, Australia) was reconstituted in 150 ml of deionized water. This stock solution contained 1050 mg of hGH. Buffer exchange was accomplished using an Amicon Diaflo® Ultrafiltration membrane (molecular weight cut-off 10,000). The ultrafiltration cell was connected to an auxilliary reservoir containing 5mM phosphate buffer (pH 7). The cell's fluid volume, as well as the hGH concentration, remained constant as excipients were replaced by phosphate buffer.

The diafiltrated protein solution (protein concentration in the solution approximately 2%) was spray dried using a Yamato mini-spray dryer. Settings on the spray dryer were as follows: aspiration pressure constantly adjusted to 1.3 kgf/cm^2, inlet temperature 120°C, solution flow rate 2.5 (approximately 3 ml/min). Powder was collected in a collection vessel through a cyclone trap. All handling of the spray dried powder took place in a dry box evacuated with nitrogen (% RH: 1-4%). The water content of the suspending vehicles is shown in the below table.

TABLE 3

WATER CONTENT OF SUSPENDING VEHICLES

Vehicle	Water Content of Vehicle at T 0 % w/w	Water Content of Vehicle in 12 wks. At 37°C % w/w
Pluronic 105	0.25	0.4
GML/LL/PVP	1.5	1.3
PVP/PEG	2.0	2.0

Wherein:

GML = glycerol monolaurate

LL = lauryl lactate

PVP = polyvinylpyrrolidine C30

PEG = polyethyleneglycol 400

EXAMPLE 3

Preparation of hGH Formulation

A portion of the single phase vehicle was weighed (9 g) and heated to 60°C. hGH (BresaGen Limited, Adelaide, Australia) (1 g) was added to the gel and mixed for 15 minutes. The mixing was completed under vacuum to remove air bubbles added from the powder.

Approximately 10 mg of the spray-dried hGH powder were weighed out (content of hGH in the powder was recalculated based on the determined water and salt content) and mixed with 100 µl of the melted organic vehicle (3 samples per each vehicle). Special care was taken while mixing powder in the suspending vehicle to achieve maximum particle uniform dispersion in the vehicle. All steps were done in a dry box.

The resulting suspension was dissolved with 10 ml of release rate buffer and analyzed by size exclusion and reverse-phase chromatography. Spray dried hGH powder was used as a control.

TABLE 4

STABILITY OF hGH SUSPENSIONS AT 37°C AS MEASURED BY SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY

Time Weeks	Spray-dried Powder -80°C %LS	PVP/PEG 400 suspension %LS	GML/LL/PVP suspension %LS	Pluronic 105 suspension %LS
0	96±1	88±6	92±2	87±7
1	99±8	81±2	94±3	93±3
2	99±3	83±1	97±1	94±1
3	97±1	84±2	95±2	95±3
4	95±2	82±8	94±4	93±5
7	95±4	76±3	93±4	88±2
12	97±4	79±3	97±1	95±6

Each data point represents the mean ± relative standard deviation of three individual samples taken from three separate vials.

DISCLOSED BUT NOT CLAIMED

TABLE 5

STABILITY OF hGH SUSPENSIONS at 37°C AS MEASURED BY REVERSE PHASE CHROMATOGRAPHY

Time Weeks	spray-dried Powder -80°C %LS	PVP/PEG 400 suspension %LS	GML/LL/PVP suspension %LS	Pluronic 105 suspension %LS
0	104±1	99±3	99±2	89±7
1	104±8	78±2	98±3	96±6
2	104±4	73±3	95±1	96±1
3	104±2	78±4	97±3	97±4
4	100±2	74±10	93±4	96±4
7	108±5	72±4	96±2	94±2
9	102±3	66±3	92±3	93±2
12	101±2	66±1	89±2	92±5

Each data point represents the mean ± relative standard deviation of three individual samples taken from three separate vials.

EXAMPLE 4

Preparation of Reservoirs

Release Rate Profiles

Titanium reservoir systems of implantable drug delivery devices (as disclosed in U.S. Patent Application Serial No. 08/595,761, incorporated herein by reference) were each assembled with an osmotic engine, piston, and rate controlling membrane. The reservoirs were filled with the appropriate amount of gel formulation and capped with a flow plug. The systems were placed in a water bath at 37°C, and allowed to release formulation for an extended period of time. Released material was sampled twice per week. Assays for released material were completed using reverse

phase HPLC. The resulting concentrations of beneficial agent for each system were converted to released amount per day. The beneficial agent was found to have a zero order release from the implantable drug delivery device. As shown in Figures 3 and 4.

EXAMPLE 5

Stability of hGH in Non-aqueous Gel Formulations

Formulations of 10% w/w hGH in vehicle were prepared as described above and placed in vials. The formulations were subjected to accelerated aging by storing them at elevated temperatures and times shown in the below table in a controlled temperature oven .

TABLE 6

Vehicle	Time(hrs)	Temperature	%LS by SEC	%LS by RP-HPLC
Pluronic 105	0	50°C	98±3	101±3
Pluronic 105	1	50°C	98±3	101±4
Pluronic 105	2	50°C	100±1	102±3
Pluronic 105	4	50°C	101±3	105±3
GML/LL/PVP	0	65°C	99±3	101±3
GML/LL/PVP	1	65°C	93±6	97±6
GML/LL/PVP	2	65°C	91±5	95±5
GML/LL/PVP	4	65°C	95±3	98±3

Each data point represents the mean ± relative standard deviation of three individual samples taken from three separate vials.

Results, presented in the following table, demonstrate that these formulations were able to maintain the stability of the hGH in each case. In each case, at least 70% hGH was retained.

TABLE 7

RECOVERY OF hGH FROM NONAQUEOUS SUSPENSIONS

Vehicle	%LS by RP-HPLC	%LS by Size-exclusion HPLC
PVP/PEG 400	99±3%	88±6%
GML/LL/PVP	99±2%	92±2%
Pluronic 105	89±7%	87±7%

Each data point represents the mean ± relative standard deviation of three individual samples taken from three separate vials.

%LS or % label strength = (measured protein content + theoretical protein content) x 100%

Modification of the above-described modes of carrying out various embodiments of this invention will be apparent to those of skill in the art following the teachings of this invention as set forth herein. The examples described above are not limiting, but are merely exemplary of this invention, the scope of which is defined by the following claims.

ABSTRACT

This invention relates to stable non-aqueous single phase gels exhibiting viscous fluid characteristics and to formulations utilizing such gels. The formulations comprise at least one beneficial agent uniformly suspended in the gel. The formulation is capable of being stored at temperatures ranging from cold to body temperature for long periods of time. The formulations are capable of being uniformly delivered from drug delivery systems at an exit shear rate of between about 1 to 1 x 10^{-7} reciprocal second.

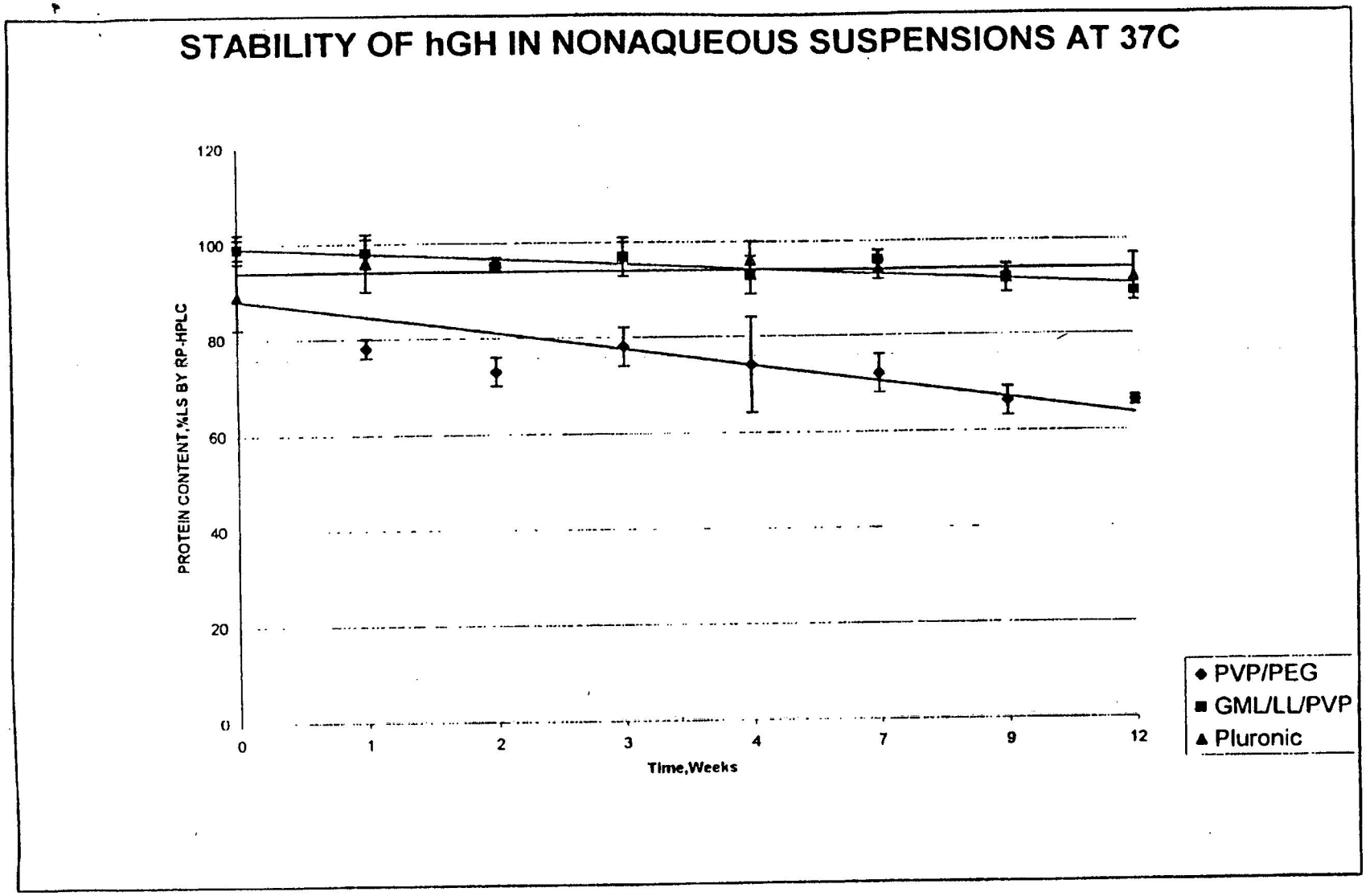


Figure 1

6011697D .020999

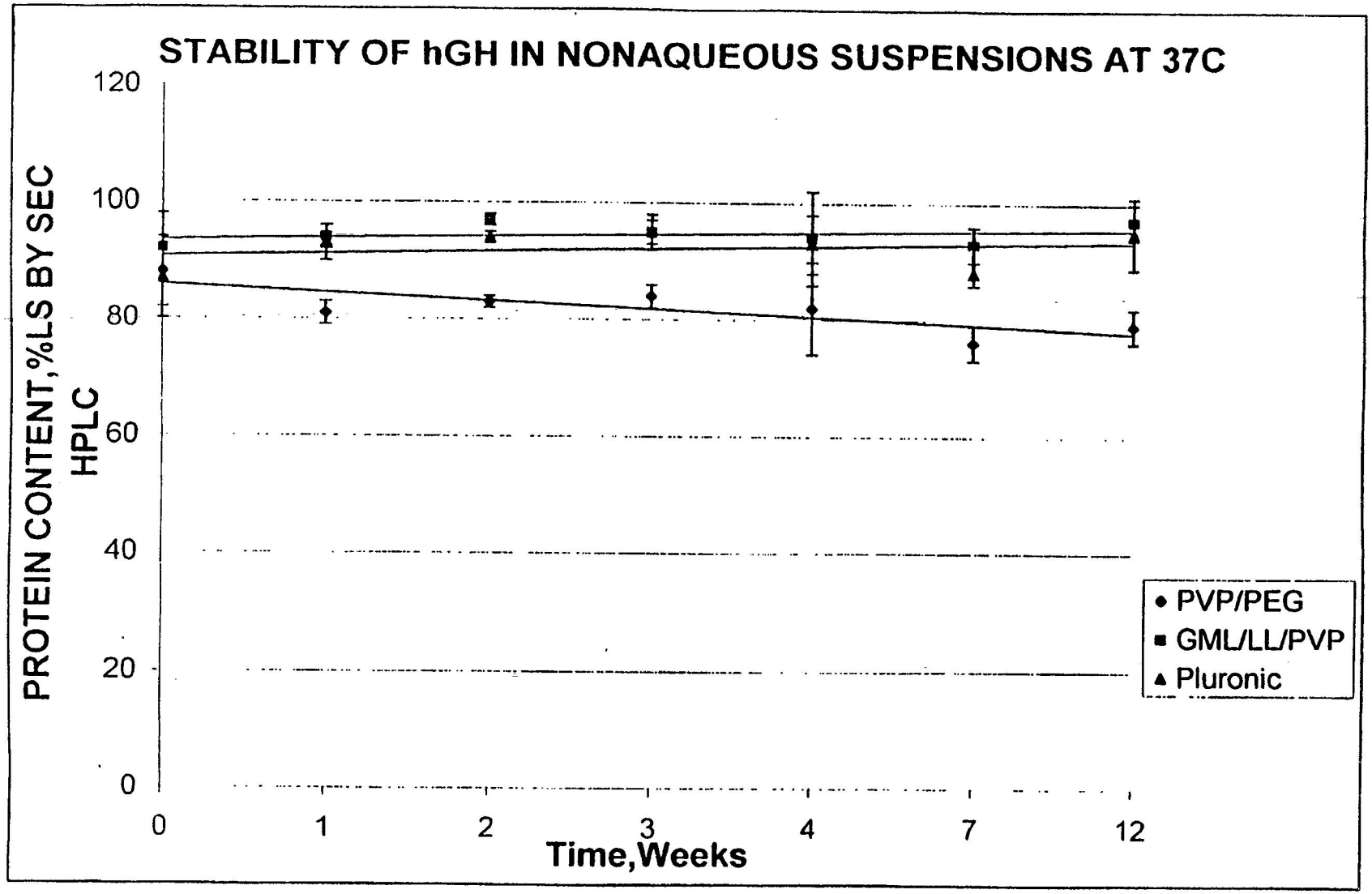


Figure 2

6011917 .030899

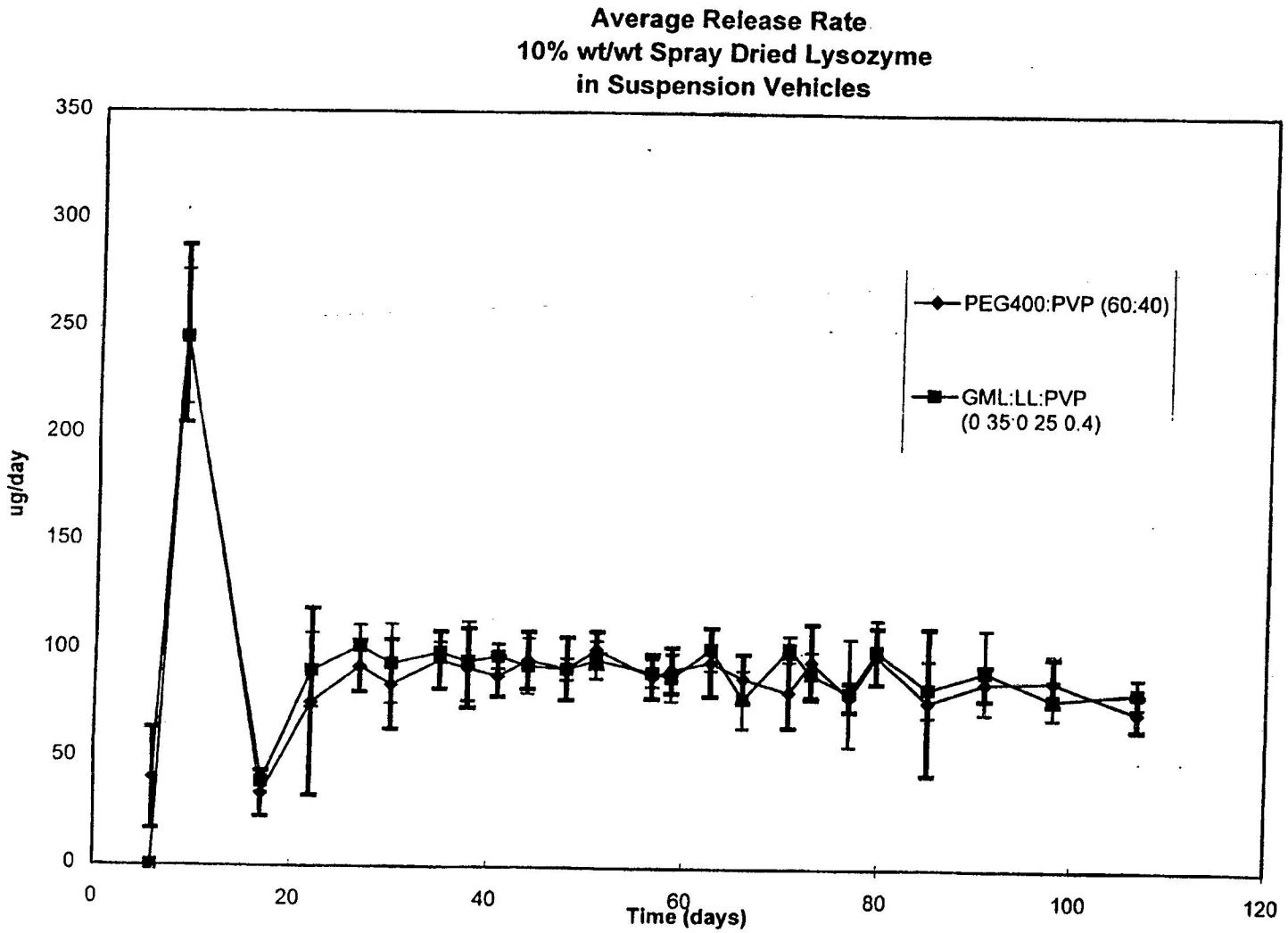


Figure 3

SOLUPLUS_020909

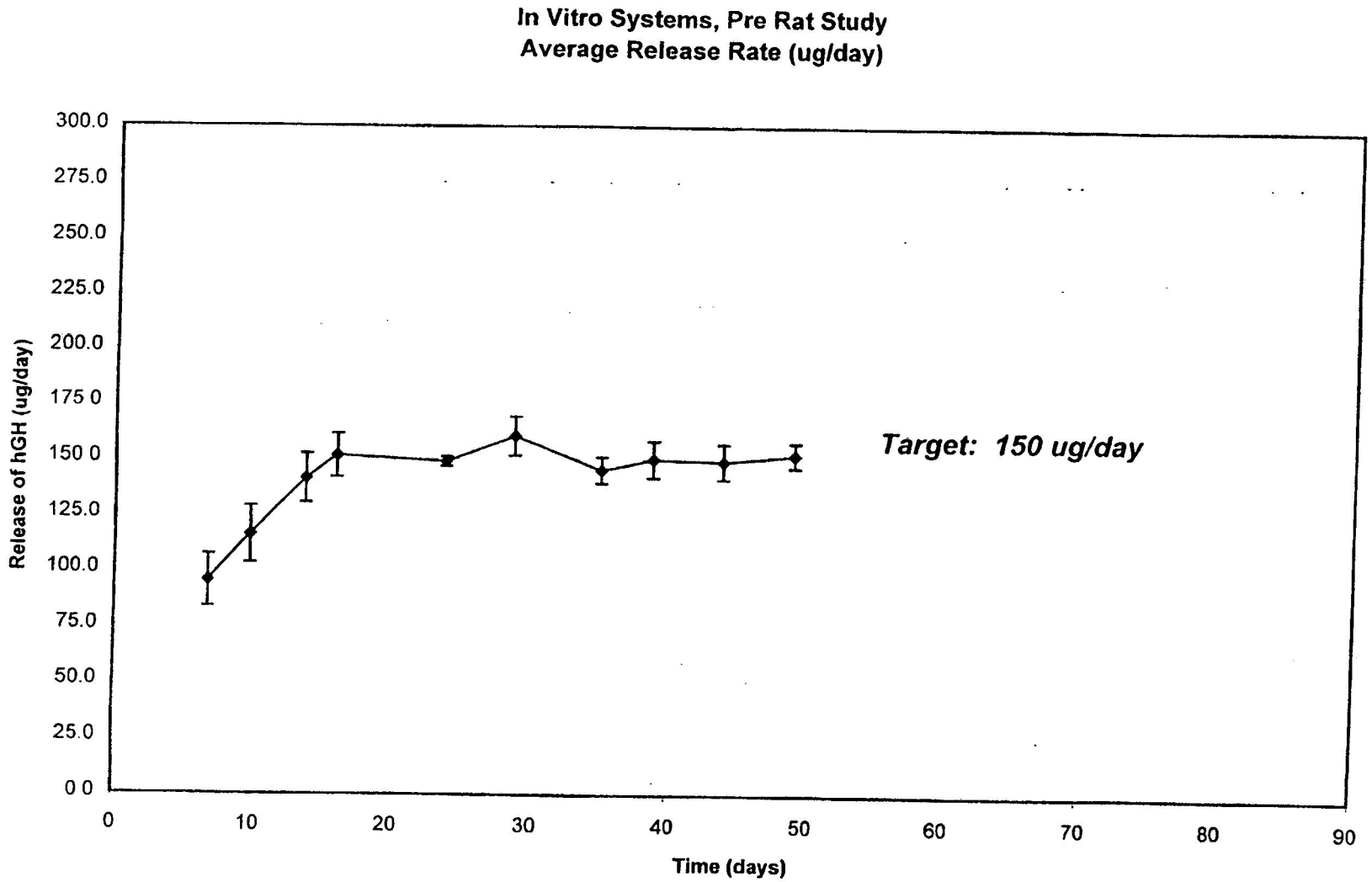


Figure 4

SOLIGEN.020909

142

136

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

A TODOS AQUELLOS A QUIENES LA PRESENTE CONCIERNE:
DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

8 de diciembre de 1999

LA PRESENTE ES PARA CERTIFICAR QUE LA ANEXA A ESTA ES UNA COPIA FIEL DE LOS REGISTROS DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS DE LOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA MAS ADELANTE QUE SATISFACEN LOS REQUISITOS PARA QUE SE OTORGUE UNA FECHA DE PRIORIDAD BAJO 35 USC 111..

SOLICITUD NUMERO: *60/119,170*

FECHA DE PRESENTACION: *08 de febrero de 1999*

Por la Autoridad del
COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS

Firmado por

P. SWAIN

Funcionario Certificador

GELES DE FASE SIMPLE NO ACUOSOS ESTABLES QUE EXHIBEN CARACTERISTICAS DE FLUIDO VISCOSO Y FORMULACIONES QUE UTILIZAN TALES GELES

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se relaciona con geles biocompatibles biodegradables de fase simple no acuosos estables que exhiben características de fluido viscoso, capaces de tener en suspensión agentes benéficos y de suministrar uniformemente dichos agentes a bajos índices de flujos y más particularmente a formulaciones uniformemente mezcladas estables de agentes benéficos en geles biocompatibles biodegradables de fase simple no acuosos estables que exhiben características de fluido viscoso.

REFERENCIAS

Las siguientes referencias están relacionadas mediante números ([]) en la porción relevante de la especificación.

1. Ahern y Manning, Eds, "Stability of Protein Pharmaceuticals, A: Chemical and Physical Pathways of Protein Degradation", Plenum Press, Nueva York, 1992.
2. Wang, et al., J. Parenteral Sci. Tech, 42:S4-S26(1988).
3. Desai, et al., J.Am.Chem.Soc., 116:9420-9422 (1994).
4. Chang, et al., Pharm.Tech.,80-84 (enero 1996).
5. Manning, et al., Pharm.Res.,6:903-918(1989).
6. Hageman, Drug Dev.ind.Pharm,14:2047-2070(1988).
7. Bell, et al., Biopolymers,35:201-209(1995).

8. Zhang, et al., Pharm.Res.12:1447-1452(1995).

9. Yu, et al., J. Pharm. Sci., 85:396-401 (1996).

10. Mitchell, Patente US 5,411,951 (1995).

11. Brooks, et al., Patente US 5,352,662 (1994).

12. Geller, L., Patente US 3,869,549 (1975).

13. Larsen, et al., Publicación PCT No. WO95/34285 (1995).

14. Knepp, et al., J. Pharm. Sci. Tech, 50:163-171 (1996).

15. Solicitud PCT publicada 98/00158.

16. Solicitud PCT publicada 98/16250.

17. Knepp, et al., Pharm.Res. 15(7)1090-1095(1998).

18. Solicitud PCT publicada 98/00157.

19. Solicitud PCT publicada 98/00152.

20. Patente US 5,540,912

21. Patente US 5,571,525

22. Patente US 5,512,293

23. Solicitud PCT publicada 96/40049

24. Debs et al., Publicación PCT No. WO93/25673

25. Debs et al., Publicación PCT No. WO93/24640

26. Reporte técnico de Gibco

27. Reporte técnico de Boehringer Mannheim

28. Reporte técnico de Avanti Polar Lipid

29. Huang, et al., Publicación PCT No. WO96/27393 (1996).

30. Szoka, et al., Publicación PCT No. WO96/41873 (1996).

31. Patente US 5,614,221

32. Patente US 4,594,108

33. Patente US 5,300,302

34. Patente US 4,588,614

35. Patente US 4,310,516

36. Patente US 5,635,213

37. EP 379,147

38. U.S.P.23/NF 18, 1995

39. Nicoll, et al., Endocrine Reviews, 7, 169-2-3 (1986).

40. Chawla, Ann. Rev. Med., 34, 519-547 (1983).

41. Edwards, et al., Science, 239, 769-771 (1988).

42. Isaksson, et al., Ann.Rev.Physiol., 47, 483-499 (1985).

43. Thorner y Vance, J. Clin. Invest., 82, 745-747 (1988).

44. Hughes y Frieson, Ann. Rev. Physiol., 47, 469-482 (1985).

45. G. Becker, et al., Biotech. And Applied Biochem., 10(4), 326-337 (1988)

46. M. Pikal, et al., Pharm. Res., 8(4), 427-436 (1991).

47. L-C The, et al., J. Biol. Chem., 262(14), 6472-6477 (1987).

48. Y.J. Wang y R. Pearlman, Pharm. Biotech., 5, 1-58 (1993).

49. Gilman, et al., The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7ma. Edición (1990).

50. Remington, Pharmaceutical Sciences, Edición 18 (1990).

51. Remington, Pharmaceutical Sciences, Edición 15 (1975).

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los péptidos, polipéptidos, las proteínas y otras sustancias proteinaseas (por ejemplo virus, anticuerpos) llamadas colectivamente aquí como proteínas, tienen gran utilidad como farmacéuticos en la prevención, tratamiento y diagnóstico de enfermedades. Las proteínas son naturalmente activas en ambientes acuosos, así las formulaciones preferidas de las proteínas han estado en soluciones acuosas. Sin embargo, las proteínas son solo marginalmente estables en soluciones acuosas.

Así, los farmacéuticos de proteínas a menudo tienen cortas vidas medias bajo condiciones ambientales o requieren refrigeración. Además, muchas proteínas tienen solo una solubilidad limitada en soluciones acuosas y no acuosas. Aún cuando ellas son solubles en altas concentraciones, ellas son susceptibles a la agregación y precipitación.

En razón de que las proteínas no son oralmente biodisponibles, el método estándar para suministrar tales compuestos ha sido el de inyecciones diarias. Las proteínas pueden degradarse por vías de numerosos mecanismos que incluyen desamidaciones de asparagina y glutamina, oxidación de metionina y, en menor grado, triptófano, tirosina, e histidina; la hidrólisis de enlaces peptídicos; el intercambio de disulfuro, y la racemización de residuos quirales de aminoácidos [1-8]. El agua es un reactivo cercano a todos estos caminos de degradación. Además, el agua actúa como un plastificador, que facilita el desdoblamiento y la agregación irreversible de las proteínas. En razón a que el agua es participante en casi todos los caminos de degradación de la proteína, la reducción de la solución de proteína acuosa a un polvo seco proporciona una metodología de formación alternativa para mejorar la estabilidad de los farmacéuticos de proteína. Las proteínas pueden secarse utilizando varias técnicas, que incluyen secado con congelamiento, secado por rociado, liofilización, y desecación. Las soluciones acuosas de proteínas son secadas y almacenadas como polvos secos hasta que se requiera su uso.

Un serio inconveniente del secado de las proteínas es que a menudo alguien requeriría el uso de las proteínas en alguna suerte de forma fluida. La inyección parenteral y el uso de dispositivos de suministro de droga para suministro sostenido de drogas son dos ejemplos de aplicaciones donde a alguien le gustaría el uso de proteínas en una forma fluida. Para inyecciones, las proteínas secas deben ser

reconstituidas, agregando pasos adicionales que consumen tiempo y donde puede ocurrir contaminación, y exposición de la proteína a condiciones potencialmente desestabilizantes [8]. Para los dispositivos de suministro de droga las formulaciones de proteína deben ser estables durante períodos extendidos de tiempo a temperatura (fisiológica) elevada y mantener su fluidez durante la vida esperada del dispositivo.

Se ha investigado el dispersar proteínas o péptidos en polvo en vehículos lípidos para obtener formulaciones parenterales de suministro sostenido. [9-13]. Los vehículos utilizados fueron o de diferentes vegetales (sésamo, soya, maní, etc.) o aceites sintéticos (por ejemplo, Miglyol), gelados con ésteres de aluminio de ácidos grasos tales como estearatos de aluminio (mono-, di- o tri-), con un éster de poliglicerol. Aunque teóricamente estos vehículos pueden evitar la desnaturalización de la solución y proteger la droga de una degradación química acuosa, los vehículos mismos son inestables a temperaturas mayores. El almacenamiento de aceites vegetales líquidos a temperaturas (fisiológicas) elevadas da como resultado la formación de especies reactivas tales como ácidos grasos y peróxidos libres (un proceso el cual es acelerado por la presencia de trazas de diferentes iones metálicos tales como cobre o hierro los cuales pueden lixiviar a partir de dispositivos implantables). Estos peróxidos no solo afectan de manera adversa la estabilidad de la proteína [14] sino que también pueden ser tóxicos cuando se suministran directamente, por ejemplo, al sistema nervioso central de un ser humano o animal. Además, debido a la baja viscosidad de los vehículos de aceite vegetal, las formulaciones que utilizan vehículos de aceite vegetal no mantienen una dispersión uniforme de la droga en el vehículo durante largos periodos de tiempo (así, el agente beneficioso no puede suministrarse de manera uniforme por largos periodos de

tiempo), y la formulación puede perder su fluidez (debido, por ejemplo, a la agregación).

El suministro prolongado de drogas tiene muchas ventajas. El uso de dispositivos implantables asegura el acatamiento del paciente, ya que el dispositivo de implante es a prueba de violación. Con una inserción del dispositivo, en lugar de inyecciones diarias, se reduce la irritación del sitio de aplicación y los peligros ocupacionales por parte de los practicantes, se mejora el costo efectivo a través de menores costos de equipos para repetidas inyecciones, se reducen los peligros por material de desecho, y se mejora la eficacia a través de la liberación controlada. El uso de dispositivos de implante para suministro sostenido de diferentes drogas u otros agentes benéficos, es bien conocido en la técnica. Se describen dispositivos típicos, por ejemplo, en las patentes estadounidenses Nos. 5,034,229; 5,057,318; 5,110,596; y 5,782,396. La descripción de cada una de estas patentes se incorpora aquí como referencia.

Las proteínas, así como muchos otros compuestos activos biológicos, se degradan en solución acuosa a través del tiempo. A raíz de su inestabilidad química, las soluciones peptídicas usualmente no son apropiadas para uso en dispositivos de suministro de drogas. Los portadores, en los cuales los polvos de proteína no se disuelven sino que se suspenden, usualmente pueden ofrecer una mejor estabilidad química. Más aún, puede ser beneficioso suspender el agente beneficioso en un portador cuando el agente exhibe baja solubilidad en el vehículo deseado. Sin embargo, las suspensiones pueden tener una estabilidad física pobre debido al asentamiento y aglomeración del agente beneficioso suspendido. Los problemas con portadores no acuosos tienden a exacerbarse a medida que la concentración del compuesto activo aumenta.

Para implantes de suministro de drogas, las duraciones de dosis de hasta un año no son inusuales. Los agentes beneficiosos que tienen bajas dosis terapéuticas son candidatos principales para su uso en implantes. Cuando el dispositivo se implanta o almacena, puede ocurrir el asentamiento del agente beneficioso en una formulación líquida. Esta heterogeneidad puede afectar adversamente la concentración del agente beneficioso disperso. Junto con este problema se encuentra el del tamaño del receptáculo de agente beneficioso implantado. Los receptáculos de implante son generalmente del orden de 25 a 250 µl, pero pueden alcanzar hasta 25 ml.

Las formulaciones de solución de proteínas/péptidos en solventes apróticos polares no acuosos tales como el DMSO y el DMF han mostrado ser estables a temperaturas elevadas durante largos periodos de tiempo [15]. Sin embargo, tales formulaciones basadas en solvente no serán utilizables para todas las proteínas en razón a que muchas proteínas tienen baja solubilidad en estos solventes. Entre menor sea la solubilidad de la proteína de la formulación, más solvente tendrá que ser utilizado para el suministro de una cantidad específica de proteína. Las soluciones de concentración baja pueden ser útiles para inyecciones pero pueden no ser útiles durante largos períodos de suministro a bajos índices de flujo.

Los vehículos no polares, hidrofóbicos, apróticos, anhidros no acuosos con baja reactividad han demostrado proporcionar formulaciones de proteínas estables durante períodos de tiempo extensos [16]. Las formulaciones pasadas de albúmina, lisozima o tripsinógeno se prepararon en perfluorodecalina. Las suspensiones se formaron utilizando perfluorodecalina o metoxiflurano. Aunque estas formulaciones fueron preparadas, no hay discusión respecto a si estas formulaciones de proteína

exhiben características de fluido viscoso o si son capaces de entregar proteínas uniformemente durante periodos de tiempo largos sin que las proteínas se asienten.

Se prepararon formulaciones de Factor IX en perfluorodecalina y trifluorotributilamina y formulaciones de α-interferon humano recombinante en perfluorodecalina [17]. Aunque el artículo discute la estabilidad de formulaciones en términos de la agregación, no existe discusión respecto a si estas formulaciones se asientan. Si las formulaciones se asientan a través del tiempo, puede no haber agregación, pero puede no haber una entrega uniforme del agente beneficioso debido al asentamiento.

Las proteínas también han sido estabilizadas a altas concentraciones en formulaciones acuosas [18]. Estas formulaciones acuosas fueron estables a temperaturas elevadas por largos periodos de tiempo. Sin embargo, dichas formulaciones acuosas concentradas no superaron el problema de que muchas proteínas no son estables en formulaciones acuosas.

También se han preparado formulaciones de péptidos de alta concentración utilizando solventes próticos no acuosos como el polietilenglicol [19]. Sin embargo, no existe discusión respecto a la viscosidad de dicha formulación, ni a su habilidad para suspender y suministrar proteínas uniformemente durante periodos de tiempo extensos.

Se han preparado suspensiones viscosas de PLGA-bupivacaína anestésica y se han inyectado en animales [20]. Sin embargo, estas suspensiones se prepararon justo antes de suministrarse a partir de una jeringa.

Se han preparado composiciones bioerodibles que contienen drogas utilizando polímeros y copolímeros de los ácidos d,l-láctico y glicólico y sus mezclas [21]. Estas formulaciones forman matrices para el suministro de la droga. Las formulaciones disponibles en almacenes de compuestos relacionados con LHRH administrados para un suministro sostenido durante un periodo de 1 a 3 meses incluyen una formulación que comprende 15% de compuesto relacionado con LHRH en una matriz de copolímero de ácidos D,L-láctico y glicólico presentada como un cilindro que se inyecta subcutáneamente y una formulación que comprende un núcleo de un compuesto relacionado con LHRH y gel, rodeado por una concha de copolímero de ácidos D,L-láctico y glicólico. Estas micropartículas se suspenden en un diluyente para inyectarse subcutánea o intramuscularmente. Estos productos pueden almacenarse a temperatura ambiente o a menor temperatura. Las formulaciones acuosas de compuestos relacionados con LHRH son conocidos por exhibir inestabilidad química y física, así como degradación después de irradiación.

Se han utilizado mezclas de copolímero de etilenvinil acetato/polivinilpirrolidona para preparar formulaciones de suministro sostenido para entrega en la cavidad oral [22]. Estas formulaciones forman matrices para suministro de la droga y no se suministra utilizando un dispositivo de suministro.

Se han preparado [23] suspensiones líquidas del citocroma C en PEG 400/povidona [50/50] y se han probado en implantes veterinarios durante un período de 42 días. Aunque se describieron viscosidades del vehículo entre 100 y 100 000 poise a 37°C, no se presentaron datos que mostraran logros de liberación de orden cero para periodos largos de tiempo (hasta de 12 meses) sin presentarse asentamiento de la proteína.

Se ha mostrado que el DNA complejo con lípidos y/o liposomas catiónicos son medios eficientes para transfectar una cantidad de células de mamíferos. Dichos complejos son fáciles de preparar y pueden ser utilizados con una amplia variedad de DNA's y RNA's con poca restricción en cuanto al tamaño del ácido nucléico. Las formulaciones de ácidos nucléicos actuales, incluyendo complejos de DNA/lípido y RNA/lípido, deben mezclarse justo antes del suministro, dando como resultado inconvenientes en la manufactura, envío, almacenamiento y suministro [24-28]. Frecuentemente, estas formulaciones de dos partes no son altamente concentradas, lo que requiere de administración de grandes volúmenes de solución. Las formulaciones secas en polvo que contienen complejos liofilizados de ácido nucléico/lípido también se han utilizado [29,30], pero éstas requieren de reconstitución con una solución acuosa apropiada justo antes de la administración. Los complejos acuosos son inherentemente inestables y pierden, si no todo, la mayoría de su actividad de transfección en las horas o días siguientes [30].

Se han utilizado los polisacáridos para formar matrices que tienen características seudoplásticas para formulaciones inyectables de drogas [31]. Esta patente enseña como la droga se almacena en un vial y el gel seudoplástico en otro vial o jeringa. Al momento de usarse, el gel se empuja fuera de la jeringa dentro del vial de droga y después la combinación es traída de vuelta a la jeringa, lista para ser usada.

Se han preparado composiciones espesantes (por ejemplo, un espesante de dos componentes de un polímero natural modificado o sintético orgánico de alto peso molecular soluble en agua, y un polímero natural modificado o sintético orgánico insoluble en agua pero expandible y dispersable en agua) para impartir un comportamiento suedoplástico a composiciones acuosas [32].

Se ha discutido la adición de un agente gelificante a una solución acuosa de droga y agitación hasta gelificar [33]. Luego el gel se coloca en un dispensador para suministrarse durante un periodo de hasta 5 días.

Se ha discutido la incorporación de un agente activo en un gel seudoplástico dentro de una estructura porosa tal como un material de lámina textil [34].

Se ha preparado un vehículo oleaginoso tixotrópico y seudoplástico anhidro para el suministro tópico de medicamentos [35]. El material oleaginoso (por ejemplo, aceites minerales, ácidos o alcoholes grasos), se mezcla con un espesante (por ejemplo, glicerol ésteres de ácidos grasos), luego se calienta por encima del punto de fusión o temperatura de vertido para disolver el espesante, luego se deja enfriar por debajo del punto de empañamiento con agitación.

La administración intraduodenal de un agente farmacológicamente activo (por ejemplo, L-DOPA), con solubilidad limitada en agua, disperso en un portador acuoso, se ha discutido [36]. El portador acuoso tiene una viscosidad de al menos 300 mPas, medida a una relación de esfuerzo moderada y tiene preferiblemente una naturaleza plástica o seudoplástica.

Se ha preparado un gel elástico extruible como portador para el suministro oral de un agente terapéutico [37]. El gel de esta patente es una solución de una agente terapéuticamente activo o una mezcla de agentes, un solvente alcohólico, un hexitol, agua y un polisacárido de alga.

Existe la necesidad de ser capaz de suministrar composiciones de proteína al cuerpo que sean estables a temperaturas fisiológicas durante periodos extendidos

de tiempo para posibilitar el suministro a largo plazo de la proteína. Existe la necesidad de ser capaz de suministrar concentraciones de proteínas que sean eficaces. Existe la necesidad de una formulación no acuosa novedosa capaz de suspender homogéneamente proteínas y suministrar tales agentes a temperaturas (fisiológicas) elevadas y a índices de flujos bajos durante periodos extendidos de tiempo.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona medios para suministrar composiciones de proteínas al cuerpo las cuales sean estables a temperaturas fisiológicas durante periodos de tiempo extendidos para permitir la entrega a largo plazo de la proteína.

La presente invención proporciona geles biocompatibles biodegradables no acuosos de fase simple estables los cuales exhiben características de fluido viscoso.

La presente invención también proporciona formulaciones que exhiben características de fluido viscoso en las cuales los agentes benéficos están uniformemente suspendidos en geles viscosos biocompatibles biodegradables no acuosos de fase simple estables. En particular, los agentes benéficos son formulados en los geles en concentraciones de al menos aproximadamente 0,1%, dependiendo de la potencia del agente benéfico. Estas formulaciones estables pueden ser almacenadas a una temperatura apropiada para el agente benéfico. Estas temperaturas pueden variar desde frío (sin exceder 8°C), a través de temperatura media (entre 8°C y 15°C), temperatura ambiente, hasta temperatura controlada (temperatura cinética media calculada de no más de 25°C) [38], hasta la temperatura del cuerpo (aproximadamente 37°C) durante largos periodos de

tiempo. Estas formulaciones son especialmente útiles en dispositivos implantables de suministro de una droga para entregas a largo plazo (i.e. 1 a 12 meses o más) a temperatura fisiológica, preferiblemente alrededor de 37°C.

En un aspecto, la presente invención proporciona geles biocompatibles biodegradables no acuosos de fase simple estables los cuales exhiben características de fluido viscoso.

En un aspecto adicional, la invención proporciona formulaciones no acuosas estables de agentes beneficiosos, donde dichas formulaciones comprenden al menos un agente benéfico en al menos un vehículo gelificado biocompatible biodegradable no acuoso de fase simple estable que exhibe características de fluido viscoso. En una modalidad preferida la formulación comprende aproximadamente 0,1 a 50% (p/p) del agente benéfico, dependiendo de la potencia del agente benéfico, la duración del tratamiento, y el índice de liberación del sistema de suministro de droga.

En otro aspecto, la presente invención proporciona formulaciones de gel biocompatible biodegradable no acuoso de fase simple estable que exhibe características de fluido viscoso las cuales son capaces de ser suministradas a índices de flujo bajo de aproximadamente 0,3 a 100 µl/día preferiblemente aproximadamente 0,3 a 4µl/día para aproximadamente un período de suministro de 6 meses y preferiblemente de 5 a 8 µl/día para un periodo de suministro de aproximadamente 3 meses.

En otro aspecto, la invención proporciona métodos para preparar formulaciones biocompatibles biodegradables no acuosas estables de un agente benéfico en al menos un vehículo gelificado que exhibe características de fluido

viscoso. Las formulaciones preferidas comprenden aproximadamente 0,1 a 50% (p/p) de agente benéfico dependiendo de la potencia del agente benéfico, la duración del tratamiento, y el índice de liberación del sistema de suministro.

En aún otro aspecto la invención proporciona métodos para el tratamiento de un sujeto que sufre de una condición que puede ser aliviada mediante la administración de un agente benéfico, dichos métodos comprenden la administración a dicho sujeto de una cantidad efectiva de formulación no acuosa estable que comprende al menos un agente benéfico en un vehículo gelificado que exhibe características de fluido viscoso.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra la estabilidad de las formulaciones hGH de la presente invención como se determinó a 37ºC mediante HPLC de fase reversa.

La figura 2 muestra la estabilidad de formulaciones hGH de la presente invención como se determinó a 37ºC mediante cromatografía de exclusión de tamaño.

La figura 3 muestra un índice de liberación promedio (µl/día) de lisosima secada por roseado al 10%(p/p) en formulaciones de la presente invención.

La figura 4 muestra el índice de liberación promedio (µl/día) de hGH secado por roseado 10% (p/p) en un vehículo de monolaurato de glicerol/lactato de laurilo/ polivinilpirrolidona.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención esta dirigida al descubrimiento inesperado de que agentes benéficos uniformemente suspendidos en geles biocompatibles biodegradables de fases simples no acuosos que exhiben características de fluido viscoso, dan como resultado formulaciones estables que pueden ser suministradas a temperaturas (fisiológicas) elevadas durante periodos extendidos de tiempo a índices de flujo bajo. Las formulaciones previamente conocidas de los agentes benéficos que son acuosas amortiguadas o soluciones no acuosas que pueden o no pueden contener excipientes no proporcionan formulaciones que pueden ser uniformemente suministradas a temperaturas (fisiológicas) elevadas a índices de flujo bajo durante períodos extendidos de tiempo sin exhibir agregación o degradación de la formulación. En contraste, las formulaciones reivindicadas actualmente estabilizan los agentes benéficos y pueden ser almacenadas a temperaturas apropiadas para el agente benéfico. Las temperaturas pueden variar desde frío (que no exceda 8°C), a través de temperatura fresca (entre 8°C y 15°C), temperatura ambiente, hasta temperatura ambiente controlada (temperatura cinética promedio calculada de no más de 25°C) [38], hasta temperaturas del cuerpo (aproximadamente 37°C) por largos periodos de tiempo. Estas formulaciones son especialmente útiles en dispositivos de suministro implantable para suministros de largo término (por ejemplo 1 a 12 meses o más) de drogas a bajos índices de flujo y una temperatura fisiológica, preferiblemente de aproximadamente 37°C.

Las formulaciones de agentes benéficos estándar consisten de soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas diluidas. La estabilidad de las drogas es usualmente lograda mediante la variación de uno o más de los siguientes: pH, tipo

de amortiguador, resistencia iónica, excipientes (EDTA, ácido ascórbico, etc.). Para estas formulaciones, los caminos de degradación que requieren agua, hidrólisis, desamidación, racemización) pueden no ser completamente estabilizados. Al contrario, en la presente invención, los agentes benéficos formulados en geles de fase simple biocompatibles biodegradables no acuosos que exhiben características de fluido viscoso, tales como geles que contienen polivinilpirrolidona, vinil acetato, y/o copolímeros de bloque de polioxietilenopolioxipropileno mostraron ser química y físicamente estables. Se esperaba que los geles no acuosos disminuyeran el índice de degradación ya que ellos carecen de la habilidad para contribuir con protones a las reacciones de degradación. La viscosidad de la formulación dependerá de numerosos criterios, que incluyen la potencia del agente benéfico y la concentración; y el proceso mediante el cual la formulación se prepara. La viscosidad de la formulación puede ser escogida de tal forma que la cantidad deseada de agente benéfico se suministra sobre un período deseado de tiempo.

La invención consiste en geles biocompatibles biodegradables de fase simple no acuosos que exhiben características de fluido viscoso, el uso de dichos geles para formar formulaciones de agente benéfico capaces de ser estables durante un periodo extendido de tiempo a temperaturas (fisiológicas) elevadas, y capaces de suministrar dichos agentes benéficos uniformemente a índices de flujo bajos. El descubrimiento consiste en haber encontrado que los geles no acuosos estables que exhiben características de fluido viscoso mejoran la estabilidad de los agentes benéficos en amplios rangos de condiciones de formulación que incluyen concentración, temperaturas elevadas y duración de formulación estable, haciendo así posible el suministro de agentes benéficos en dispositivos implantables a largo plazo que de otra manera no serían factibles.

DEFINICIONES

Como se utiliza aquí, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

El término "estabilidad química" significa que se forma un porcentaje aceptable de productos de degradación producidos mediante caminos químicos tales como, para proteínas, la oxidación, la desamidación, o la hidrólisis. En particular, una formulación se considera químicamente estable si no más del 35% de productos descompuestos se forman después de 2 meses a 37°C.

El término "estabilidad física" significa que un porcentaje aceptable de los agregados (por ejemplo dímeros, trímeros y formas más grandes) se forman mediante el agente benéfico. Para la formulación (gel y agente benéfico) este término significa que la formulación retiene estabilidad, fluidez, y la capacidad de suministrar uniformemente al agente benéfico. En particular, una formulación se considera físicamente estable si no más de aproximadamente 15% de agregados se forman después de 2 meses a 37°C.

El término "formulación estable" significa que al menos aproximadamente 65% del agente benéfico química y físicamente estable permanece después de 2 meses a 37°C (o a condiciones equivalentes a una temperatura elevada). Las formulaciones particularmente preferidas son aquellas que retienen al menos aproximadamente 80% de agente benéfico química y físicamente estable bajo estas condiciones. Las formulaciones estables especialmente preferidas son aquellas que no exhiben degradación después de irradiación para esterilización (por ejemplo rayos gamma, beta o electrones).

El término "agente benéfico" significa péptidos, proteínas, nucleótidos, hormonas, virus, anticuerpos, etc., que comprenden polímeros de aminoácido o residuos de ácido nucléico. Estos agentes benéficos son generalmente degradables en agua y generalmente estables como polvo seco a temperaturas elevadas.

Las porciones producidas naturalmente derivadas o en forma recombinante o sintéticamente producidas se incluyen en este término. El término también incluye lipoproteínas y formas post translacionalmente modificadas, por ejemplo, proteínas glicolisadas. Los análogos, derivados, agonistas, antagonistas y sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de éstas se incluyen en este término. El término también incluye proteínas y/o sustancias de proteínas que tienen D-aminoácidos, o aminoácidos de ocurrencia no-natural o derivados o modificados en la configuración de D- o L- y/o unidades peptomiméticas como parte de su estructura. El término proteína será utilizado en la presente invención. El término también significa que el agente benéfico está presente en estado sólido, por ejemplo, en polvo o cristalino.

El termino "excipiente" significa una sustancia más o menos inerte en una formulación el cual se agrega como un diluyente o vehículo o que le da forma o consistencia. Los excipientes se distinguen de los solventes tales como el ETOH, que son utilizados para disolver drogas en formulaciones. Los excipientes incluyen tensoactivos no iónicos tales como polisorbatos, que son utilizados para solubilizar drogas en formulaciones; preservativos tales como bencilalcoholes; o metil o propil parabenos que son utilizados para evitar o inhibir el crecimiento microbiano, agentes quelantres, agentes saborizantes, y otras ayudas farmacéuticamente aceptables para formulaciones.

El término "fluido viscoso" significa un fluido con una viscosidad en el rango de aproximadamente 1000 a 10.000.000 poise. El término incluye materiales newtonianos y no newtonianos. Los fluidos preferidos son los que tienen una viscosidad de aproximadamente 50.000 a 250.000 poise. Estas formulaciones de fluido viscoso pueden expeler uniformemente drogas suspendidas en el fluido viscoso proveniente de dispositivos de suministro de droga implantable. Las formulaciones exhiben un índice de corte en la salida de dichos dispositivos de 1 a 1×10^{-7} segundo recíproco, preferiblemente un índice de corte de salida de 1×10^{-2} a 1×10^{-5} segundo recíproco.

El término "fase simple" significa un sistema sólido, líquido o gaseoso homogéneo que existe como una porción distintiva y mecánicamente separada en un sistema heterogéneo y que es física y químicamente uniforme a través de ambas condiciones estáticas y dinámicas.

El término "biodegradable" o "biodegradar" significa una propiedad o característica de un cuerpo de un material gelificado o sólido microporoso a desintegrarse o descomponerse inocuamente como una estructura o entidad unitaria, durante un periodo prolongado de tiempo, en respuesta al ambiente biológico en el paciente, mediante uno o más procesos de degradación física o química, por ejemplo mediante acción enzimática, oxidación o reducción, hidrólisis (proteólisis), desplazamiento, por ejemplo intercambio de iones, o disolución mediante solubilización, emulsión o formación de micelas, y cuyo material es entonces absorbido por el cuerpo y el tejido circundante, o disipado de otra manera en el mismo.

El término "polímero" incluye poliésteres tales como PLA (ácido poliláctico) y PLGA (ácido polilacticopoliglicólico), pirrolidonas tales como polivinilpirrolidona (que tiene un rango de peso molecular de aproximadamente 2.000 a 1.000.000), ésteres o éteres de alcoholes insaturados como vinil acetato, copolímeros de bloque de polioxietilenopolioxipropileno tales como Pluronic. El polímero corrientemente preferido es polivinilpirrolidona.

El término "solvente" incluye ésteres de ácido carboxílico tales como lactato de laurilo, alcoholes polihídricos tales como glicerina, polímeros de alcoholes polihídricos tales como polietilenglicol (que tienen un peso molecular de aproximadamente 200 a 600), ácidos grasos tales como ácido oléico y ácido octanóico, aceites tales como aceite de castor. El corrientemente preferido es el lauril lactato.

El término "tensoactivo" incluye ésteres de alcoholes polihídricos tales como monolaurato de glicerol, aceite de castor etoxilado, polisorbatos, ésteres, o éteres de alcoholes saturados y copolímeros de bloque de polioxietilenopolioxipropileno. Los corrientemente preferidos son el monolaurato de glicerol y los polisorbatos.

El término "antioxidante" significa una ayuda farmacéuticamente aceptable para la estabilización del agente benéfico contra la degradación tal como la oxidación. Los antioxidantes incluyen tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado y galato de propilo. Un antioxidante preferido depende de la solubilidad y de la eficiencia del antioxidante para proteger en contra de la degradación o el cambio químico del antioxidante en el solvente preferido.

PREPARACIONES DE LAS FORMULACIONES

La presente invención está dirigida a geles biocompatibles biodegradables de fase simple no acuosos estables que exhiben características de fluido viscoso capaces de poner en suspensión agentes benéficos y suministrar uniformemente dichos agentes benéficos a temperaturas (fisiológicas) elevadas y a índices de flujo bajos durante un periodo extendido de tiempo. La presente invención también está dirigida a formulaciones que contienen dichos geles biocompatibles de fase simple y agentes benéficos los cuales son estables durante periodos prolongados de tiempo a temperaturas (fisiológicas) elevadas.

Las formulaciones de proteínas y péptidos acuosas estándares requieren manipulación del tipo de amortiguamiento, la fuerza iónica, pH y los excipientes (por ejemplo EDTA y ácido ascórbico) para lograr estabilidad. En contraste, las formulaciones reivindicadas logran estabilización y fluidez de los agentes benéficos mediante el uso de geles biocompatibles biodegradables de fase simple no acuosos estables que exhiben características de fluido viscoso.

Ejemplos de agentes benéficos que pueden ser formulados utilizando la presente invención incluyen aquellos péptidos o proteínas que tiene una actividad biológica o que pueden ser utilizados para tratar una enfermedad u otra condición patológica. Ellos incluyen, pero no están limitados a, hormona adrenocorticotrópica, angiotensina I y II, péptido atrial natriurético, bombesina, bradiquinina, calcitonina, cerebelina, dinorfina N, endorfina alfa y beta, endotelina, encefalina, factor de crecimiento epidermal, fertirelina, péptido de liberación de gonadotropina folicular, galanina, glucagon, gonadorelina, gonadotropina, goserelina, péptido de liberación

de hormona de crecimiento, histrelina, insulina, interferonas, leuprolido, LHRH, motilina, nafarelina, neurotensina, oxitocina, relaxina, somatostatina, sustancia P, factor de necrosis de tumor, triptorelina, vasopresina, hormona de crecimiento, factor de crecimiento de nervio, factores coagulantes de la sangre, ribosimas, y oligonucleótidos antisentido. Los análogos, derivados, antagonistas, agonistas y sales farmacéuticamente aceptables de los anteriores también pueden ser utilizados.

La hormona del crecimiento humano (hGH) participa bastante en la regulación del crecimiento y desarrollo humano normal. hGH es un miembro de una familia de hormonas homólogas que incluye lactógenos placentarios, prolactinas, y otras variantes de especie y genéticas de la hormona de crecimiento [39]. Esta hormona pituitaria de 22 000 dalton exhibe una multitud de efectos biológicos, que incluyen el crecimiento lineal (somatogénesis), lactancia, activación de macrófagos, y efectos diabéticos y similares a la insulina, entre otros [40-44]. Estos efectos biológicos se derivan de la interacción entre hGH y receptores celulares específicos.

Es bien conocido que la hormona de crecimiento humano es susceptible a una diversidad de procesos de degradación [45-48]. Para preservar la estabilidad química y física de la proteína, se han suministrado preparaciones comerciales de hGH como formulaciones secadas por congelamiento, almacenadas a 2-8°C. Las rutas principales de degradación son la desamidación, la oxidación y la agregación. El promotor principal de estos procesos es el agua.

Los agentes benéficos útiles en las formulaciones y métodos de la presente invención pueden ser utilizados en la forma de una sal, preferiblemente una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales útiles son conocidas por aquellos expertos

en la técnica e incluyen sales con ácidos inorgánicos, ácidos orgánicos, bases inorgánicas, o bases orgánicas.

Los agentes benéficos que no son fácilmente solubles en los solventes no acuosos son preferidos para uso en la presente invención. Un experto en la técnica puede fácilmente determinar que compuestos serán útiles sobre la base de su solubilidad. La cantidad del agente benéfico puede variar dependiendo de la potencia del compuesto, la condición a ser tratada, la solubilidad del compuesto, la dosis esperada y la duración de la administración. (Ver, por ejemplo, [49-50], las descripciones se incorporan aquí como referencia).

Se ha encontrado inesperadamente que el uso de geles biocompatibles biodegradables de fase simple no acuosas estables que exhiben características de fluido viscoso, puede incrementar la estabilidad del agente benéfico. Por ejemplo, como se ve en las figuras 1 y 2, la hormona de crecimiento humano (hGH) se ha encontrado que es estable a 37°C durante 12 semanas en formulaciones de polivinilpirrolidona/PEG; Pluronic; y monolaurato de glicerol/lactato de laurilo/polivinilpirrolidona. La figura 1 muestra los resultados de estabilidad utilizando HPLC fase reversa. La figura 2 muestra los resultados de estabilidad utilizando cromatografía de exclusión de tamaño.

Generalmente, las formulaciones estables de la presente invención pueden ser preparadas mediante la combinación de los ingredientes y mezclarlos a temperatura elevada para permitirles licuarse y que se dispersen uniformemente a través de la cochada.

Se ha encontrado que los farmacéuticos secados por congelamiento o liofilizados son usualmente más solubles y/o más rápidamente solubles, las dispersiones están estabilizadas durante la vida de anaquel del producto, y los productos que pueden degradarse por oxidación tienen una estabilidad mejorada ya que el proceso se lleva a cabo al vacío. El proceso de secado del ingrediente activo incluye ventajas adicionales tales como compuestos que son relativamente inestables en solución acuosa pueden ser procesados y llenados dentro de contenedores de dosis, secados sin temperaturas elevadas, y luego ser almacenados en estado seco en el cual hay relativamente pocos problemas de estabilidad.

Otro método para mejorar la estabilidad de los farmacéuticos es el secado por rociado. En este método se rocían gotas de líquido en un volumen de aire caliente suficiente para producir la evaporación y secado del líquido. El aire proporciona el calor para la evaporación y transporta el producto seco al colector. Las partículas de polvo secadas por rociado son homogéneas, en forma son aproximadamente esféricas, en tamaño son cercanamente uniformes, y frecuentemente huecas.

Las formulaciones farmacéuticas, en particular los productos parenterales, deben ser esterilizados antes de sellarse en su contenedor final y dentro de un período de tiempo tan corto como sea posible después de llevarse a cabo el llenado y el sellado. (Ver, por ejemplo, [51], la descripción de la cual se incorpora aquí como referencia). Muchos productos serán afectados adversamente por las elevadas temperaturas que se requieren para la esterilización térmica. Dichos productos deben, por lo tanto ser esterilizados por un método no térmico. La mayoría de soluciones termolábiles deben ser esterilizadas por filtración a través de filtros retenedores de bacterias. Subsecuentemente, todas las operaciones deben llevarse

a cabo de manera aséptica para que no se introduzca contaminación dentro del filtrato. Los coloides, soluciones oleaginosas, suspensiones, y emulsiones que son termolábiles pueden requerir de un proceso en el cual cada componente sea esterilizado y el producto formulado y procesado bajo condiciones asépticas.

El manejo o manipulaciones asépticas es una técnica frecuentemente utilizada en la composición de productos que no soportan la esterilización pero en los cuales todos los ingredientes se encuentran disponibles en forma estéril. En tales casos, la esterilización debe mantenerse durante la operación y es necesario usar equipo y material estéril y un ambiente de trabajo controlado.

La esterilización de secado al calor puede ser utilizada para unos pocos sólidos secos que no se afectan adversamente por las altas temperaturas y por el tiempo relativamente largo que se requiere.

Algunos sólidos secos como la penicilina, estreptomicina, polivitaminas, y algunas hormonas están siendo esterilizadas de manera efectiva mediante radiación ionizada, sin efectos adversos. La esterilización por radiación puede emplear ya sea radiación electromagnética o radiación de partículas. Se está de acuerdo generalmente que bajo la mayoría de condiciones una dosis de radiación de alrededor de 2,5 megarad es suficiente para matar los microorganismos más resistentes con un factor adecuado de seguridad. La radiación electromagnética, comprendida por fotones de energía, incluye la radiación ultravioleta, gamma, X- y cósmica. La ionización de la materia da como resultado la formación de pares de iones, comprendidos por electrones orbitales expulsados y sus iones contraparte. Estos pares de iones pueden dar como resultado la formación de intermedios químicos inestables.

-164
162

Se pueden utilizar combinaciones de estos procedimientos para producir un producto estéril.

Se ha encontrado se pueden adicionar antioxidantes, tales como tocoferol, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, y propil galato, a las formulaciones reivindicadas para ayudar a reducir la formación de productos de degradación (por ejemplo intermedios químicos inestables) durante la esterilización.

METODOLOGIA

Nosotros hemos encontrado que las formulaciones de agentes benéficos no acuosas estables que exhiben características de fluido viscoso se preparan mediante la combinación de los ingredientes para el gel y mezclándolos a temperaturas elevadas para permitirles licuarse y dispersarse a través de la cochada. Una vez se forma una fase simple de gel, el agente benéfico se agrega con agitación para dispersarlo uniformemente en el gel.

Nosotros hemos probado estas formulaciones de agente benéfico, específicamente formulaciones de hGH, para su estabilidad, sometiéndolos a pruebas de envejecimiento aceleradas. Los resultados muestran que estas formulaciones permanecen estables durante periodos de tiempo extendido.

Nosotros también hemos probado formulaciones de agentes benéficos preparados como se escribe aquí para su estabilidad después de una irradiación gamma de 2,5 megarads. Los resultados muestran que estas formulaciones permanecieron química y físicamente estables después de tal irradiación.

Nosotros hemos probado formulaciones de agentes benéfico, específicamente hormonas de crecimiento humano y lisozima, para su estabilidad mediante la suspensión de los mismos en una variedad de geles no acuosos que exhiben características de fluido viscoso, preparados de acuerdo con la presente invención, sometiéndolos luego a envejecimiento acelerado a temperaturas elevadas. La estabilidad de las formulaciones fue medida. Los resultados de estos estudios demuestran que estas formulaciones fueron estables a condiciones que aproximaban o excedían el almacenamiento durante un año a 37ºC.

Un aspecto importante de la invención es que los geles no acuosos que exhiben características de fluido viscoso que contienen agentes benéficos, son química y físicamente estables en un amplio rango de temperaturas durante largos períodos de tiempo. Los agentes benéficos en los geles también son química y físicamente estables en un amplio rango de temperaturas durante largos períodos de tiempo. Así, estas formulaciones son ventajosas en cuanto a que éstas pueden ser enviadas y almacenadas a temperaturas por debajo de, o por encima de la temperatura ambiente durante un largo período de tiempo. También son apropiadas para su uso en dispositivos de suministro implantables en los cuales la formulación debe ser estable a temperatura del cuerpo durante períodos extendidos de tiempo.

Las formulaciones de la presente invención también permanecen estables cuando se suministran a partir de sistemas implantables de suministro de drogas. Los agentes benéficos han demostrado tener índices de liberación de orden cero cuando se suministran a partir de sistemas implantables de suministro de drogas a índices de flujo muy bajos durante períodos de tiempo extendidos.

DESCRIPCION DE LOS EJEMPLOS DE LA INVENCION

Los siguientes métodos fueron utilizados para desarrollar los estudios en los ejemplos que siguen.

1. Preparación de proteína en polvo

Hormona de crecimiento humano (obtenida por ejemplo, de BresaGen Limited, Adelaida, Australia). El agente activo fue reconstituido en agua desionizada. La solución que contiene el agente activo fue intercambiada de amortiguador utilizando membrana de ultrafiltración Amicon Diaflo® (corte de peso molecular de 10.000).

La solución de agente activo diafiltrado fue secada con rociado utilizando un secador de mini rociado Yamato. El polvo fue recogido en un vaso de recolección a través de una trampa de ciclón. Todo el manejo del polvo secado por rociado tuvo lugar en una caja seca evacuada con nitrógeno. El polvo generado fue analizado para tamaño y distribución de partículas, contenido de humedad, contenido de proteína y estabilidad mediante la cromatografía por exclusión de tamaño y de fase reversa.

2. Preparación de geles

Hemos encontrado que los geles de fase única biocompatibles estables pueden ser preparados por medio de combinar los ingredientes y mezclarlos a temperaturas elevadas para permitirles licuarse y dispersarse uniformemente a través de la cochada. La mezcla fue completada bajo vacío para remover las burbujas de aire atrapado producidas por los polvos. El mezclador fue un mezclador dual de cuchilla en hélice (D.I.T.) que corre a una velocidad alrededor de 40 rpm. Velocidades mayores pueden ser usadas pero no son requeridas.

Si un gel de tres componentes es preparado, la porción de solvente del vehículo se agrega primero a un recipiente redondo calentado del mezclador, seguido por el tensoactivo. El polímero fue agregado de último, y los ingredientes fueron mezclados hasta que resulta una solución (de fase única). El vacío fue aplicado durante el mezclado para remover las burbujas de aire. La solución fue dispensada desde el recipiente redondo mientras estaba a temperatura elevada, y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente. Al enfriarse, el vehículo exhibió una viscosidad incrementada hasta el punto de ser un gel. Se hicieron geles de dos y único componente usando el mismo proceso.

3. Preparación de las formulaciones de agente beneficioso.

Para preparar la formulación, el vehículo de gel de fase única fue calentado y luego mezclado bajo vacío con una cantidad pesada de agente beneficioso. El agente beneficioso y el gel de fase única fueron mezclados de la misma manera como fue preparado el vehículo, usando un mezclador dual de cuchilla de hélice (o un mezclador similar). La velocidad de mezclado fue entre 40 y 120 rpm durante aproximadamente 15 minutos hasta que una dispersión uniforme fue lograda. La mezcla resultante fue removida del mezclador, sellada en un contenedor seco, y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

4. Preparación de reservorios

Los reservorios de los dispositivos de suministro de droga implantables (según se describió en la solicitud de patente estadounidense serie No. 08/595,761, incorporada aquí como referencia) fueron llenados con la formulación hGH apropiada. La formulación fue llenada dentro de los reservorios de titanio o

polímero con un tapón de polímero bloqueando cada extremo. El reservorio lleno fue entonces sellado en una bolsa de polifoil y se colocó en un horno de ensayo de estabilidad.

Debe notarse que las formulaciones en los reservorios de estos dispositivos están completamente aisladas del ambiente externo.

5. HPLC de fase inversa (RP-HPLC)

Todas las muestras de estabilidad del hGH fueron ensayadas en cuanto a contenido de proteína y estabilidad química por medio de cromatografía de fase inversa (RP-HPLC). Los análisis fueron llevados a cabo en un sistema Hewlett Packard HP-1090 con muestra automática refrigerada (4°C). Las condiciones cromatográficas usadas se dan enseguida.

TABLA 1

Condiciones cromatográficas del RP-HPLC			
Descripción	parámetro		
Columna	J.T. Baker-C18,4,6x250mm		
Velocidad de flujo	1.0 mL/min		
Detección	214 nm		
Fase móvil	A:0,1% TFA en agua B: 0,1% TFA en acetonitrilo		
Gradiente	Tiempo	%A	%B
	0	65	35
	5	50	50
	45	35	65

Condiciones cromatográficas del RP-HPLC			
	50	30	70
	55	65	35

Una solución estándar de referencia de hGH fue preparada y su contenido en proteína calculado a partir de la medida de absorbancia a 280 nm. Tres diluciones de esta solución, representando el 80%, 100%, y 120% de la concentración esperada de hGH en las muestras fueron corridas en duplicado al inicio y al final de cada corrida y usadas para calcular el contenido total de proteína de las muestras.

6. Cromatografía de exclusión de tamaño (SEC)

Todas las muestras de estabilidad de hGH fueron ensayadas en cuanto a contenido de proteína y productos de degradación de alto peso molecular por medio de cromatografía de exclusión de tamaño. Los análisis fueron llevados a cabo en un sistema Hewlett Packard HP-1090 con muestra automática refrigerada (4ºC). Las condiciones cromatográficas usadas se dan abajo.

TABLA 2

Condiciones cromatográficas del SEC	
Descripción	Parámetro
Columna	TSK-2000SWXL
Velocidad de flujo	0,5 ml/min
Detección	214 nm

Condiciones cromatográficas del SEC	
Fase móvil	25 mM de fosfato de sodio, 100 mM de cloruro de sodio, pH 7, 0

Una solución estándar de referencia hGH fue preparada y su contenido en proteína calculado a partir de medidas de absorbancia a 280 nm. Tres diluciones de esta solución, representando el 80%, 100% y 120% de la concentración esperada de hGH en las muestras fueron corridas en duplicado al inicio y al final de cada corrida y usadas para calcular el contenido total de proteína de las muestras. La cantidad de productos de degradación de alto peso molecular fue calculada por normalización de área.

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar esta invención y no significan que están construidas de ninguna manera para limitar el alcance de la presente invención.

EJEMPLO 1

Preparación de geles no acuosos que exhiben características de fluido viscoso

A. Monolaurato de glicerol (Danisco Ingredients, New Century, Kansas) (25g) fueron disueltos en lactato de laurilo (ISP Van Dyk Inc; Belleville.NJ) (35g) a 65ºC. Polivinilpirrolidona C30(BASF, Mount Olive, NJ) (40g) fueron agregados y la mezcla mezclada a cerca de 40 rpm en un mezclador dual de cuchilla de hélice (D.I.T.) hasta que se logró una fase única. Las burbujas de aire atrapadas fueron removidas aplicando vacío a la cámara

de mezclado. El vehículo de fase única fue dispensado desde el mezclador, y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

B. Polivinilpirrolidona C30(BASF, Mount Olive, NJ) (50g) fueron disueltos en polietilenglicol 400 (Unión Carbide) (50g) a aproximadamente 65°C hasta que una solución de fase única fue formada. El vehículo de fase única fue dispensado desde el mezclador, y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

C. Polivinilpirolidona C30(BASF, Mount Olive, NJ) (50g) fueron disueltos en aceite de castor (Spectrum, Gardena, CA) (50 g) a aproximadamente 65°C hasta que una solución de fase única fue formada. El vehículo de fase única fue dispensado desde el mezclador y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

D. Polivinilpirrolidona C30(BASF, Mount Olive, NJ) (50g) fueron disueltos en ácido octanóico (Spectrum, Gardena, CA) (50g) aproximadamente a 65°C hasta que una solución de fase única fue formada. El vehículo de fase única fue dispensado desde el mezclador y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

E. Polivinilpirrolidona C30(BASF, Mount Olive, NJ) (50g) fueron disueltos en ácido oléico (Spectrum, Gardena, CA) a aproximadamente 65°C hasta que una solución de fase única fue formada. El vehículo de fase única fue dispensado desde el mezclador y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

F. Polivinilpirrolidona C30(BASF, Mount Olive, NJ) (35%) fue disuelto en glicerina (Baker, NJ) (65%) a aproximadamente 65ºC hasta que una solución de fase única fue formada. El vehículo de fase única fue dispensado desde el mezclador y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

G. Cremofor EL(aceite de castor etoxilado) (BASF, Mount Olive, NJ) (5%) fue disuelto en aceite de castor (Spectrum, Gardena, CA) (70%) y polivinilpirrolidona C30 (BASF, Mount Olive NJ) (25%) fue agregado y disuelto por medio de mezclado a aproximadamente 40 rpm para formar un vehículo de fase única. El vehículo de fase única fue dispensado desde el mezclador, y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

H. Pluronic 105 (BASF, Mount Olive, NJ) fue calentado a aproximadamente 65ºC con mezclado hasta que se fundió. El vehículo de fase única fue dispensado desde el mezclador y se le permitió enfriarse a temperatura ambiente.

EJEMPLO 2

Preparación de hGH

A. Preparación por secado por rociado

hGH liofilizado (BresaGen Limited, Adelaida, Australia) fue reconstituido en 150 ml de agua desionizada. Esta solución de partida contenía 1050 mg de hGH. Intercambio de amortiguador fue llevado a cabo cruzando una membrana de ultrafiltración Amicon Diaflo® (corte de peso molecular 10,000). La celda de

ultrafiltración fue conectada a un reservorio auxiliar que contenía 5 mM de amortiguador de fosfato (pH 7). El volumen de fluido en la celda, lo mismo que la concentración de hGH permanecieron constantes a medida que los excipientes fueron reemplazados por el amortiguador de fosfato.

La solución de proteína diafiltrada (concentración de proteína en la solución de aproximadamente 2%) fue secada por rociado usando un rociador de minichorro Yamato. Los parámetros sobre el secador de rociado fueron los siguientes: presión de aspiración constantemente ajustada a 1,3 kg/cm^2, temperatura de entrada 120°C, velocidad de flujo de la solución 2,5 (aproximadamente 3 ml/min). El polvo fue recolectado en una vasija de recolección a través de una trampa de ciclón. Todo el manejo del polvo secado por rociado tuvo lugar en una caja seca evacuada con nitrógeno (% RH: 1-4%). El contenido de agua de los vehículos suspendidos se muestra en la tabla que sigue.

TABLA 3

Contenido de agua de los vehículos suspendidos		
Vehículo	Contenido de agua del vehículo T 0 % p/p	Contenido de agua del vehículo en 12 semanas a 37°C % p/p
Pluronic 105	0,25	0,4
GML/LL/PVP	1,5	1,3
PVP/PEG	2,0	2,0

En donde:

GML = monolaurato de glicerol

LL = lactato de laurilo

PVP = polivinilpirrolidona C30

PEG = polietilenglicol 400

EJEMPLO 3

Preparación de la formulación Hgh

Una porción del vehículo viscoso de fase única fue pesado (9g) y calentado a 60°C. hGH (BresaGen Limited, Adelaida, Australia) (1g) fue agregado al gel y mezclado durante 15 minutos. El mezclado fue completado bajo vacío para remover las burbujas de aire agregadas a partir del polvo.

Aproximadamente 10 mg de polvo secado por rociado de hGH fue pesado (el contenido de hGH en el polvo fue recalculado basado sobre el agua determinada y el contenido de sal) y mezclado con 100µL del vehículo orgánico fundido (3 muestras por cada vehículo). Se tuvo cuidado especial mientras que se mezclaba el polvo en el vehículo de suspensión para lograr la máxima dispersión uniforme de partículas en el vehículo. Todas las etapas fueron hechas en una caja seca.

La suspensión resultante fue disuelta con 10 ml de amortiguador de índice de liberación y analizada por cromatografía de exclusión de tamaño y de fase inversa. El polvo hGH de secado por rociado fue usado como un control.

TABLA 4

Estabilidad de las suspensiones de hGH a 37°C según se midieron por cromatografía de exclusión de tamaño				
Tiempo semanas	polvo seco rociado- 80°C %LS	PVP/PEG400 en suspensión %LS	Suspensión GML/LL/PVP %LS	Suspensión pluronic 105 %LS

0	96±1	88±6	92±2	87±7
1	99±8	81±2	94±3	93±3
2	99±3	83±1	97±1	94±1
3	97±1	84±2	95±2	95±3
4	95±2	82±8	94±4	93±5
7	95±4	76±3	93±4	88±2
12	97±4	79±3	97±1	95±6

Cada punto de datos representa la media más o menos la desviación estándar relativa de las tres muestras individuales tomadas a partir de 3 frascos separados.

TABLA 5

Estabilidad de las suspensiones de hGH a 37ºC según se midió por cromatografía de fase inversa				
Tiempo semanas	Polvo seco rociado- 80ºC %LS	PVP/PEG400 en suspensión %LS	Suspensión GML/LL/PVP %LS	Suspensión pluronic 105 %LS
0	104±1	99±3	99±2	89±7
1	104±8	78±2	98±3	96±6
2	104±4	73±3	95±1	96±1
3	104±2	78±4	97±3	97±4
4	100±2	74±10	93±4	96±4
7	108±5	72±4	96±2	94±2
9	102±3	66±3	92±3	93±2

12	101±2	66±1	89±2	92±5

Cada punto de datos representa la media ± la desviación estándar relativa de las tres muestras individuales tomadas a partir de tres frascos separados.

EJEMPLO 4

Preparación de reservorios

Perfiles de índice de liberación

Los sistemas de reservorios de titanio de dispositivos de suministro de droga implantables (según se describe en la solicitud de patente estadounidense serie No. 08/595,761, e incorporada aquí como referencia) fueron cada uno ensamblados con un motor osmótico, pistón y una membrana de control de velocidad. Los reservorios fueron llenados con la cantidad apropiada de la formulación de gel y tapados con un tapón de flujo. Los sistemas fueron colocados en un baño de agua a 37ºC, y se les permitió liberar la formulación durante un período de tiempo extendido. Se obtuvieron muestras del material liberado dos veces por semana. Los ensayos para el material liberado fueron completados usando el HPLC de fase inversa. Las concentraciones resultantes del agente beneficioso para cada sistema fueron convertidas a cantidades liberadas por día. Se encontró que el agente beneficioso tenía una liberación de orden cero desde el dispositivo de suministro de droga implantable. Como se muestra en las figuras 3 y 4.

EJEMPLO 5

Estabilidad de hGH en formulaciones de gel no acuoso

Las formulaciones de 10% p/p de hGH en vehículo fueron preparadas según se describió anteriormente y colocadas en frascos. Las formulaciones fueron sometidas a un envejecimiento acelerado por medio de almacenarlas a temperaturas elevadas y tiempos mostrados en la tabla que sigue en un horno de temperatura controlada.

TABLA 6

Vehículo	Tiempo (h)	Temperatura	% de LS por SEC	%LS por RP-HPLC
Pluronic 105	0	50°C	98±3	101±3
Pluronic105	1	50°C	98±3	101±4
Pluronic105	2	50°C	100±1	102±3
Pluronic105	4	50°C	101±3	105±3
GML/LL/PVP	0	65°C	99±3	101±3
GML/LL/PVP	1	65°C	93±6	97±6
GML/LL/PVP	2	65°C	91±3	95±5
GML/LL/PVP	4	65°C	95±3	98±3

Cada punto de datos represente la media ± la desviación estándar relativa de las tres muestras individuales tomadas a partir de tres frascos separados.

Los resultados, presentados en la siguiente tabla, demuestran que estas formulaciones fueron capaces de mantener la estabilidad del hGH en cada caso. En cada caso por lo menos el 70% del hGH fue retenido.

TABLA 7

Recuperación de hGH de las suspensiones no acuosas		
Vehículo	%LS por RP-HPLC	%LS por exclusión de tamaño HPLC
PVP/PEG 400	99±3%	88±6%
GML/LL/PVP	99±2%	92±2%
Pluronic 105	89±7%	87±7%

Cada punto de datos representa la media ± desviación estándar relativa de tres muestras individuales tomadas a partir de tres frascos separados.

%LS o % de esfuerzo demarcado = (el contenido de proteína medida + contenido de proteína teórica) x 100%.

La modificación de los modos anteriormente descritos de llevar a cabo las varias modalidades de la presente invención serán evidentes para aquellos versados en la materia siguiendo las enseñanzas de la presente invención como se establece aquí. Los ejemplos descritos anteriormente no son limitativos sino son solamente ejemplares de esta invención, el alcance de la cual se define por las siguientes reivindicaciones.

RESUMEN

Esta invención se relaciona con geles no acuosos de fase simple estables que exhiben características de fluido viscoso y a formulaciones que utilizan dichos geles. Las formulaciones comprenden al menos un agente benéfico uniformemente suspendido en el gel. La formulación es capaz de ser almacenada a temperaturas que van de frío a temperatura del cuerpo durante largos periodos de tiempo. Las

formulaciones son capaces de ser uniformemente suministradas a partir de sistemas de suministro de drogas a un índice de corte en la salida de entre alrededor de 1 a 1 x 10^{-7} s^{-1}.

COLO 03981 801 011-6
MLR/jag.
78.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

179

2002-02-20
372

2do. EXAMEN DE FORMA PATENTE DE INVENCION

Folio 185

Radicación no 0-7997

Concepto Técnico no 233 Clasificación Internacional de Patentes A61K 9/00

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 38 de la Decisión 486 se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

SI [X]	NO [ ]	Contiene un resumen de la invención (Art.26-e).
SI [X]	NO [ ]	Contiene el título o nombre de la invención (Art.27-d).
SI [X]	NO [ ]	Contiene la descripción de la invención (Art.26-b).
SI [X]	NO [ ]	NO ES APLICABLE [ ] Contiene los dibujos necesarios para comprender la invención (Art.26-d)
SI [X]	NO [ ]	Contiene una o más reivindicaciones. (Art.26-c).
SI [ ]	NO [ ]	NO ES APLICABLE [X] Han sido desarrollados los productos y/o procedimientos a partir de recursos genéticos o de sus productos derivados de los que cualquiera de los Países Miembros es país de origen. (Art. 26- h).
SI [ ]	NO [ ]	NO ES APLICABLE [X]Los productos .y/o procedimientos han sido obtenidos o desarrollados a partir de los conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas, afroamericanas, o locales de los países miembros, de acuerdo a lo establecido en la Decisión 391 y sus modificaciones y reglamentaciones vigentes.(Art.26-i).
SI [ ]	NO [X]	La invención se refiere a un producto relativo a un material biológico. (Art.26-J).
SI [X]	NO [ ]	La prioridad coincide con la materia reivindicada.
SI [X]	NO [ ]	CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS

OBSERVACIONES Y OTROS: SI [ ] NO [ ] ver hoja(s) anexa(s)

1. Modifica título inicial, por el consignado en folio 86
2. Anexa nuevo capítulo reivindicatorio (folios 92a 97) en reemplazo del originalmente presentado
3. Adjunta nuevo extracto para publicación (folio 100), nuevas tarjetas de propietarios (folio 98) y de archivo temático (folio 99), y arte final (folio 101

EXAMINADOR TÉCNICO
202041

Bogotá D. C., 20 feb /02

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

180

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Folio 186

2002-03-22
416

2020
Bogotá, D.C.

Doctor(a)
EMILIO FERRERO
Apoderado(a)

REFERENCIA:	Radicación No.	**007997**
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio No.	305
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la comunidad andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

Cúmplase
Dado en bogotá, D.C., a los 25 FEB. 2002

ALIX CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Bogotá, D.C., 24-01-05 El extracto de esta solicitud fue publicado en el número 514 de la Gaceta de Propiedad Industrial, de fecha 22-03-02. El término hábil señalado por la ley expiró el 27-06-02 y SI__ NO X se presentaron oposiciones por parte de terceros.

202041

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: info@sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia