



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

04-122903

54. TITULO VEHICULOS INYECTABLES SOLIDOS DE ACIDO
HALURONICO PARA ADMINISTRACION DE PROTEINAS OSTEOGENICAS.

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL C12N 1/00.

71. SOLICITANTE WUETH - FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS, S.R.L.

DOMICILIO ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - ITALIA

74. APODERADO HUMBERTO RUBIO CAMACHO

22. BOGOTA, D.C., 07 DE DICIEMBRE DE 2004.

LS

PETITORIO

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

① SOLICITUD DE:
☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad
☐ Capítulo I ☒ Capítulo II

Nombre: **1.- WYETH**
2.- FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS, S.R.L.
Dirección: **1.- Five Giralda Farms**
2.- Via Ponte della Fabbrica, 3/B I-35031
SOLICITANTE Domicilio: **1.- Madison, New Jersey, Estados Unidos de América**
(71) **2.- Abano Terme, Italia**
Lugar de constitución: **1.- New Jersey, Estados Unidos de América**
2.- Abano Terme, Italia

Nombre: **HUMBERTO RUBIO CAMACHO** IDENTIFICACIÓN
REPRESENTANTE Dirección: **Carrera 7 No. 74 - 64, Of. 506** C.C. ☒ NIT ☐
O APODERADO Teléfono: **3132408** Fax: **3131647** C.E. ☐ OTRO ☐
(74) E-mail: No. 17192.062 T.P. 50.007 CSJ

② Nombre: **Rebecca H. Li; Hyun D. KIM**
INVENTOR(ES): Dirección: **ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA**
(72) Domicilio: **ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA**

PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/US03/14609** Fecha **12 DE MAYO DE 2,003**
Publicación Internacional No. **WO 03/099992** Fecha **04 DE DICIEMBRE DE 2,003**

TÍTULO (54) "VEHÍCULOS INYECTABLES SÓLIDOS DE ÁCIDO
HALURÓNICO PARA ADMINISTRACIÓN DE PROTEÍNAS OSTEOGÉNICAS"

Clasificación Internacional (51) C12N 1/00

Prioridad (33) País de origen (32) Fecha (31) Número de
solicitud
SI ☒ NO ☐ **ESTADOS UNIDOS 17 DE MAYO DE 2,002 US88: 60/381,580**
DE AMÉRICA

Comprobante de pago No. **0 - 91,701** Fecha: **26 DE NOVIEMBRE DE 2,004**

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la publicación PCT
- ☒ Copia informe búsqueda internacional.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ Copia de las modificaciones efectuadas de acuerdo con el Artículo 28 PCT en Fase Nacional.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☒ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☐ Otros

(11) Figura característica:

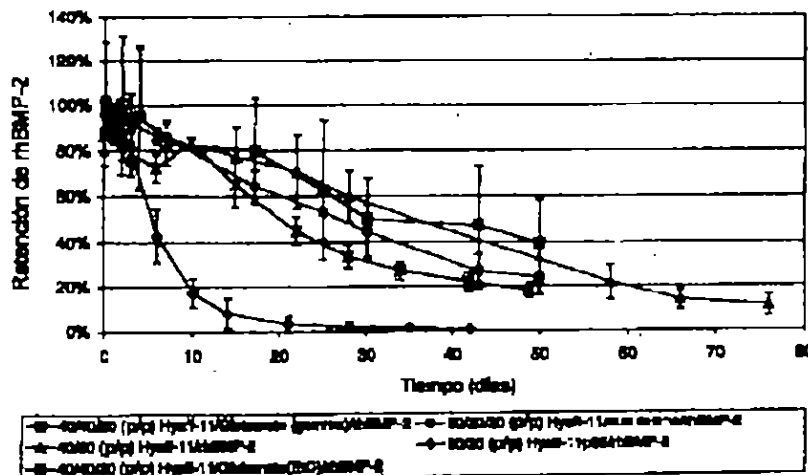


Figura 1

(12)

HUMBERTO RUBIO CAMACHO

FIRMA

[Handwritten signature]

C.C. 17'192.062 de Bogotá

T.P. 50.007 Consejo Superior de
La Judicatura

37

PARA USO EXCLUSIVO DE
HUMBERTO RUBIO & CIA. LTDA

**PATENTE DE INVENCION
"VEHICULOS INYECTABLES
SOLIDOS DE ACIDO HIALURONICO
PARA ADMINISTRACIÓN DE
PROTEINAS OSTEOGENICAS"**

NIT : 800174089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 91,701
FECHA : NOVIEMBRE 26 DE 2004

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 84122983 00000000 Folios: 50
Fecha (AID): 2004-12-07 14:03:15
Trámite : 811 PCT-PATENT 379 FASE MACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

===== CONSIGNACION =====

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
HUMBERTO RUBIO ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	33700257	26/11/2004	7,381,000.00

===== CONCEPTO =====

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
		TOTAL :	\$ 422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
4 December 2003 (04.12.2003)

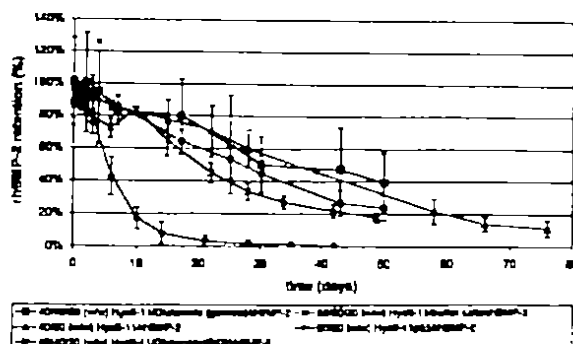
PCT

(10) International Publication Number
WO 03/099992 A2

- (51) International Patent Classification⁷: C12N (74) Agent: GARRETT, Arthur, S.; Finnegan, Henderson, Farahow, Garrett & Dunner, LLP, 1300 I Street, NW, Washington, DC 20005-3315 (US).
- (21) International Application Number: PCT/US03/14609
- (22) International Filing Date: 12 May 2003 (12.05.2003) (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/381,590 17 May 2002 (17.05.2002) US
- (71) Applicants (for all designated States except US): WYETH [US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US). FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS, S.R.L. [IT/IT]; Via Ponte della Fabbrica, 3/B, I-35031 Abano Terme (IT).
- (72) Inventors: and
- (73) Inventors/Applicants (for US only): LI, Rebecca, H. [US/US]; 14 Shire Lane, Bedford, MA 01730 (US). KIM, Hyun, D. [KR/US]; 262 Washington Street, Boxford, MA 01921 (US).
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW). Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM). European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR). OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report

[Continued on next page]

(54) Title: INJECTABLE SOLID HYALURONIC ACID CARRIERS FOR DELIVERY OF OSTEOGENIC PROTEINS



(57) Abstract: An injectable or implantable rod-shaped formulation is disclosed for delivery of osteogenic proteins. The formulation comprises hyaluronic acid derivatives and osteogenic proteins, and optional excipients and active ingredients such as a bone resorption inhibitor. Methods of making injectable rod-shaped pharmaceutical compositions and methods of using the osteogenic compositions to treat osteoporotic and/or osteopenic bone are also disclosed.



For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

5

LAM/EEB/RBH

From the INTERNATIONAL BUREAU

6

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

GARRETT, Arthur, S.
Finnegan, Henderson, Farabow, Garrett & Dunner, LLP
1300 I Street, NW
Washington, DC 20005-3315
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 04 December 2003 (04.12.03)		
Applicant's or agent's file reference 8702.110-304		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/US03/14609	International filing date (day/month/year) 12 May 2003 (12.05.03)	Priority date (day/month/year) 17 May 2002 (17.05.02)
Applicant WYETH et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:

AU, AZ, BY, CH, CN, CO, DE, DZ, EP, HU, JP, KG, KP, KR, MD, MK, MZ, RU, TM, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE, AG, AL, AM, AP, AT, BA, BB, BG, BR, BZ, CA, CR, CU, CZ, DK, DM, EA, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, ID, IL, IN, IS, KE, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MG, MN, MW, MX, NI, NO, NZ, OA, OM, PH, PL, PT, RO, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 04 December 2003 (04.12.03) under No. WO 03/099992

4. **TIME LIMITS for filing a demand for international preliminary examination and for entry into the national phase**

The applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph, be 30 MONTHS from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 19 months from the priority date, but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain designated or elected Offices. For regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

For filing a demand for international preliminary examination, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume IA, Chapter IX. Only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

It is the applicant's sole responsibility to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer DEC 18 2003 Judith Zahra Finnegan, Henderson, Farabow, Telephone No. (41-22) 338.91.0000, L.L.P.
--	---

PATENT COOPERATION TREATY

7

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

INFORMATION CONCERNING ELECTED
OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

To:

CAM/CEM/RBIL

GARRETT, Arthur, S.
Finnegan, Henderson, Farabow,
Garrett & Dunner, LLP
1300 I Street, NW
Washington, DC 20005-3315
United States of America

Date of mailing (day/month/year)

18 June 2004 (18.06.2004)

Applicant's or agent's file reference

8702.110-304

IMPORTANT INFORMATION

International application No.

PCT/US2003/014609

International filing date (day/month/year)

12 May 2003 (12.05.2003)

Priority date (day/month/year)

17 May 2002 (17.05.2002)

Applicant

WYETH et al

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

EP : AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR

National : BG, CA, CN, DE, IL, JP, KP, KR, MN, NO, PL, RO, RU, SK, US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

AP : GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW

EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM

OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG

National : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BR, BY, BZ, CH, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC,
EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IN, IS, KE, KG, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MW, MX, MZ, NI, NZ, OM, PH, PT, SC, SD, SE, SG, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the International application (Article 38(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 38(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

RECEIVED

JUL 12 2004

Finnegan, Henderson, Farabow,
Garrett & Dunner, L.L.P.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 338.89.95

Authorized officer:

Claudio BORTON (Fax 338-8995)

Telephone No. (41-22) 338 8481

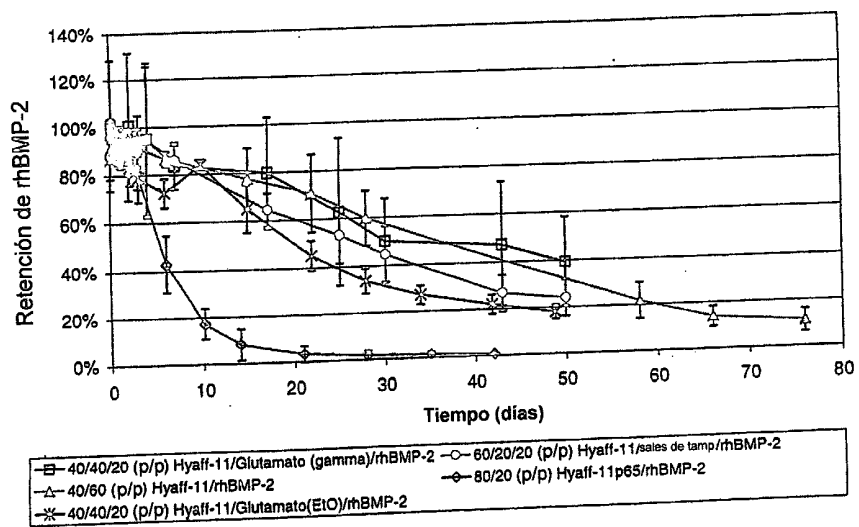


Figura 1

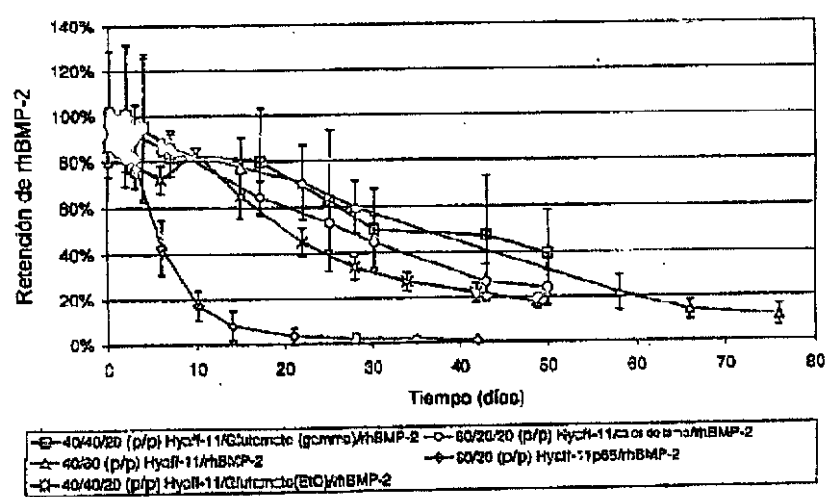


Figura 1

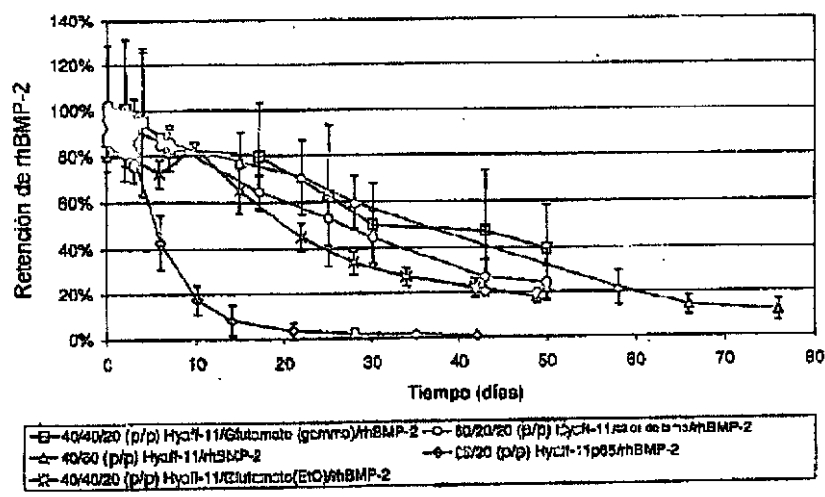


Figura 1

VEHÍCULOS INYECTABLES SÓLIDOS DE ÁCIDO HIALURÓNICO PARA ADMINISTRACIÓN DE PROTEÍNAS OSTEOGÉNICAS

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere al campo de las proteínas osteogénicas y a formulaciones farmacéuticas de las mismas. Más particularmente, la presente invención implica formulaciones farmacéuticas inyectables o implantables sólidas que comprenden derivados de ácido hialurónico y proteínas osteogénicas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La osteoporosis idiopática es una enfermedad de etiología desconocida caracterizada por una pérdida progresiva de la masa ósea y un incremento de la fragilidad, que da como resultado un marcado incremento en la susceptibilidad a las fracturas. La osteoporosis está entre todos los trastornos musculoesqueléticos más extendidos, que afectan al cincuenta-sesenta por ciento de las mujeres sobre
15 los 45 años de edad. Praemer et al., Musculoskeletal Conditions in the United States, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Park Ridge, IL (1992). A causa de que su incidencia incrementa con la edad y el porcentaje de la población anciana está incrementando, la osteoporosis llegará a ser más habitual con el tiempo. La osteoporosis es difícil de tratar localmente, y actualmente no hay cura
20 conocida. Finalmente, y lo más significativo, la osteoporosis está asociada con una morbilidad y mortalidad sustanciales. La fractura más seria que la osteoporosis da como resultado es la del fémur proximal en la región de la articulación de la cadera. Con una incidencia anual de más de 300.000 casos, las fracturas de cadera son actualmente la fractura más habitual en los ancianos. Una de cada
25 seis mujeres caucásicas tendrá una fractura de cadera durante su vida (Cumming et al., Arch Inter Med 149:2455-2458 (1989)), y para aquellas que alcanzan la edad de 90, esta cifra llega a ser una de tres.

 De los pacientes que son independientes y viven en casa en el momento de la fractura de cadera, aproximadamente el 20 por ciento permanecen en una
30 institución de cuidados de largo periodo durante al menos un año después de la fractura. Durante el primer año después de la lesión, el índice de mortalidad es aproximadamente el 15% más alto que para controles de edad y género

combinados. Preamer et al., supra. La incidencia incrementada de la fractura de fémur proximal observada en pacientes ancianos esta principalmente relacionada con una densidad ósea reducida en sus fémur proximales, así como una propensión incrementada a caerse. Hay una relación inversa entre la pérdida ósea relacionada con la edad en el fémur proximal y el riesgo de fractura de cadera. Cada reducción de una desviación estándar (SD) en la densidad del cuello óseo femoral incrementa el riesgo ajustado a la edad de fractura de cadera 2,6 veces (95% CI 1,9 - 3,6), y mujeres con densidad ósea en el cuartil más bajo tienen un riesgo de fractura de cadera 8,5 veces mayor que aquellas en el cuartil más alto. Cummings et al., The Lancet 341:72-75 (1993). Esta relación entre la masa ósea de cadera y el riesgo de fractura de cadera permite la detección y la identificación de pacientes con riesgo de fractura. Pacientes que están dos desviaciones estándar por debajo del pico de masa ósea de cadera han pasado bajo el "umbral de fractura".

Las terapias actuales para la osteoporosis son sistémicas. Estas incluyen fluoruros, bisfosfonatos, calcitonina, estrógenos y progestinas, testosterona, metabolitos de vitamina D, y/o calcio. En los Estados Unidos, sólo los estrógenos y el alendronato, un bisfosfonato, están indicados para la prevención de fracturas de cadera en mujeres osteoporóticas posmenopáusicas. Cada uno de estos agentes requiere administración continua durante un periodo de años.

Además del tratamiento de huesos osteoporóticos, son necesarios métodos de tratamiento o prevención de fracturas relacionadas con la osteoporosis, por ejemplo mediante administración local de proteínas osteogénicas. A causa de esta necesidad, a pesar de la variedad y disponibilidad de materiales de vehículo para administrar proteínas osteogénicas, también son necesarios vehículos seguros, eficaces y aplicables en líneas generales para tratamiento local de defectos óseos. Por consiguiente, a pesar de los esfuerzos en este campo, permanece una necesidad de un método eficaz de reparación y/o tratamiento de huesos osteoporóticos y osteopénicos, y de minimizar o reducir la incidencia o severidad de las fracturas relacionadas con la osteoporosis.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona composiciones sólidas inyectables o

implantables, con forma de bastoncillo para administración intraósea de proteínas osteogénicas. En una realización, la composición comprende la proteína osteogénica y ésteres de ácido hialurónico. En otra realización, la composición también puede comprender un inhibidor de la resorción ósea tal como un bisfosfonato. Aun en otra realización, la composición también puede comprender uno o más excipientes, tales como una sal, un polisacárido, un péptido, una proteína, un aminoácido, un polímero sintético, polímeros naturales, o un tensioactivo farmacéuticamente aceptables. Las composiciones sólidas, con forma de bastoncillo inyectables o implantables de la invención proporcionan una retención prolongada del agente osteoinductivo en el sitio de administración.

La presente invención también proporciona métodos y composiciones para incrementar la masa y calidad óseas, y para minimizar o reducir la incidencia o gravedad de las fracturas relacionadas con la osteoporosis. Por consiguiente, la presente invención proporciona métodos y composiciones útiles para reducir la incidencia de fracturas de huesos osteoporóticos u osteopénicos. En particular, la presente invención comprende métodos de tratamiento de pacientes con osteoporosis, o con otra evidencia de enfermedad osteoporótica u osteopénica. Las realizaciones preferidas donde la presente invención puede resultar particularmente útil incluye el tratamiento de huesos con metáfisis, incluyendo el fémur proximal (cadera), el húmero proximal (parte superior del brazo), el radio distal (muñeca), y los cuerpos vertebrales (columna), particularmente el cuerpo vertebral.

El método comprende la administración a un sitio de hueso osteopénico u osteoporótico, o un sitio de baja densidad o masa ósea, una composición sólida con forma de bastoncillo que comprende una cantidad eficaz de al menos un agente activo que es capaz de inducir el crecimiento del hueso o incrementar la formación de tejido óseo o reducir la pérdida ósea en el sitio. La masa ósea se denomina habitualmente "contenido mineral óseo" o "BMC" y se mide en gramos. La densidad ósea se denomina habitualmente "densidad mineral ósea" o "BMD" y se expresa como gramos por unidad de área o gramos por unidad de volumen. En una realización particular, el modo de administración es mediante inyección intravenosa. En realizaciones ilustrativas, el agente activo es una o más proteínas

seleccionadas entre el grupo compuesto por proteínas conocidas como la superfamilia de proteínas de factores transformantes del crecimiento beta ("TGF- β "), preferiblemente seleccionadas entre las proteínas morfogenéticas óseas ("BMP"), los factores de crecimiento y diferenciación ("GDF"), así como otras

5 proteínas, como se describe en este documento más detalladamente. Los métodos y composiciones de la presente invención son ventajosos en el sentido de que proporcionan un tratamiento localizado para huesos osteoporóticos u osteopénicos, así como un tratamiento sistémico. La presente invención es también ventajosa en el sentido de que utiliza proteínas osteogénicas como

10 agentes activos, que pueden producirse mediante tecnología de ADN recombinante, y por lo tanto son un suministro potencialmente ilimitado. Los métodos y composiciones de la presente invención son también ventajosas en que la regeneración del tejido óseo incrementa la masa/densidad ósea, incrementa la resistencia del hueso, y de este modo reduce la gravedad de la osteoporosis o la

15 incidencia de lesiones osteoporóticas, y en última estancia disminuye la incidencia de fracturas óseas.

En otras realizaciones, el agente activo también comprende, además de una o más proteínas de la superfamilia de las proteínas TGF- β , una o más proteínas auxiliares, tales como Hedgehog, Noggin, Chordin, Frazzled, Cerberus y

20 Follistatin, receptores BMP solubles, u otra proteína o agente, como se describe adicionalmente en este documento.

La presente invención también proporciona un método para incrementar la masa y calidad óseas, y para minimizar o reducir la incidencia y gravedad de las fracturas relacionadas con la osteoporosis, mediante administración de una

25 composición inyectable con forma de bastoncillo que comprende al menos una proteína osteogénica y una segunda composición que comprende una cantidad eficaz de un inhibidor de la resorción ósea. La segunda composición que comprende el inhibidor de la resorción ósea puede administrarse antes, después, o sustancialmente de manera simultánea con la composición osteogénica.

30 Además de la curación de huesos osteoporóticos, las composiciones de la presente invención pueden ser útiles para formulaciones de BMP para usos tales como inyección en articulaciones para tratar y reparar defectos óseos, defectos del

cartilago, inhibición de la degradación del cartilago y para promover la reparación del cartilago. Las formulaciones también pueden inyectarse en tendones, ligamentos y/o sus sitios de anclaje con el hueso. Las formulaciones inyectables de BMP también pueden encontrar aplicación en otros sitios óseos tales como quistes óseos, implantes en huesos, fracturas cerradas o abiertas y osteogénesis por distracción.

En una realización particular, las composiciones de la presente invención se preparan mediante un proceso que comprende las etapas de mezcla de una proteína osteogénica y un derivado de ácido hialurónico para formar una mezcla osteogénica. Entonces se forma la mezcla osteogénica, por ejemplo mediante extrusión de la mezcla osteogénica en aire o en un no disolvente tal como etanol, y secado. Las composiciones de la invención pueden también comprender un inhibidor de la resorción ósea y/o un excipiente, se puede incluir cualquiera de ellos o los dos en la etapa de mezcla.

El derivado de ácido hialurónico puede ser un ácido hialurónico natural o sintético, o una modificación del mismo. El ácido hialurónico es un polisacárido de origen natural que contiene unidades de monosacáridos alternativos de N-acetil-D-glucosamina y ácido D-glucurónico unidas las unidades de monosacárido con enlaces beta 1-4 y las unidades de disacárido unidas con enlaces beta 1-3 glicosido. Se encuentra normalmente en forma de sal sódica y tiene un intervalo de peso molecular de aproximadamente 50.000 a 8×10^6 . El inhibidor de resorción ósea puede ser un bisfosfonato, tal como alendronato, cimadronato, clodronato, EB-1053, etidronato, ibandronato, neridronato, opadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529, zoledronato, y sales, ésteres, y mezclas de los mismos farmacéuticamente aceptables. El excipiente puede ser un agente que estabilice y/o module la liberación del ingrediente(s) activo(s), tal como una sal, un polisacárido, un péptido, una proteína, un aminoácido, un polímero sintético, polímeros naturales, y/o un tensioactivo farmacéuticamente aceptables. La proteína osteogénica puede estar en forma sólida o líquida, y el derivado de ácido hialurónico y el excipiente(s) pueden estar en forma sólida. El moldeado se puede llevar a cabo mediante extrusión de la mezcla osteogénica en aire o en un no disolvente tal como etanol; el secado se puede llevar a cabo mediante secado por

aire o liofilización. La preparación de liberación sostenida puede también comprender un inhibidor de resorción ósea tal como un bisfosfonato.

La presente invención también proporciona un método para preparar una preparación de liberación sostenida que comprende las etapas de mezclar una proteína osteogénica con un ácido hialurónico o un material basado en hialuronano para formar una mezcla, comprimir la mezcla para formar una mezcla osteogénica densa, después de formar la mezcla osteogénica densa en un bastoncillo cilíndrico sólido apropiado para inyectar o implantar en un cuerpo. La etapa de formación se puede llevar a cabo mediante extrusión, presión, moldeo, perforación y/o corte para formar un bastoncillo cilíndrico. La preparación de liberación sostenida puede también comprender un inhibidor de resorción ósea, tal como un bisfosfonato, y uno o más excipientes, tales como aquellos descritos anteriormente.

Las composiciones inyectables, sólidas, osteoinductivas de la presente invención pueden tener un diámetro comprendido entre aproximadamente 0,1 a 3,0 mm, y preferiblemente entre aproximadamente 0,5 a 1,5 mm. La longitud de las composiciones sólidas con forma de bastoncillo puede estar entre aproximadamente 1 mm y aproximadamente 10 cm, y particularmente entre aproximadamente 2 cm y aproximadamente 5 cm. Las composiciones de la presente invención pueden tener una relación entre la altura y el diámetro en el intervalo de aproximadamente 1000:1 a 1:1. Esta relación puede ser de aproximadamente 1000:1, 500:1, 250:1, 100:1, 50:1, 25:1, 10:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 o 1:1. Las composiciones osteoinductivas de la presente invención son rígidas (pero no quebradizas) para resistir su carga en una aguja o jeringuilla convencional, y la inyección en un sitio intraóseo. Las composiciones osteoinductivas tienen una densidad comprendida aproximadamente entre el 0,5 y el 100 por ciento de material, y preferiblemente entre aproximadamente el 50 y el 90 por ciento de material. Las composiciones tienen una baja macroporosidad y un bajo contenido de agua, entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10,0 por ciento de agua, y particularmente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 5 por ciento de agua. La proporción entre el ingrediente activo y el vehículo puede estar entre aproximadamente 0,01-0,90 gramos de ingrediente activo para aproximadamente

1 gramo de vehículo. El derivado de ácido hialurónico puede ser un éster parcial o total que comprende entre aproximadamente el 50 y aproximadamente el 100 por ciento de esterificación del ácido hialurónico.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 5 La Figura 1 es un gráfico que muestra los tiempos de retención local de BMP-2 para varias composiciones de ácido hialurónico/rhBMP-2 en el modelo de fémur distal (intraóseo) de conejo.

DESCRIPCIÓN DE LAS REALIZACIONES

- De acuerdo con la presente invención, los métodos y las composiciones se proporcionan para el tratamiento de pacientes que muestran signos de osteoporosis, o enfermedades osteopénicas, incluyendo lesiones óseas osteoporóticas. La identificación de tales pacientes puede llevarse a cabo mediante procedimientos que son bien conocidos en la técnica. Estos procedimientos incluyen la medición de la masa/densidad ósea usando
- 10 absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA), Kilgus et al., J. Bone & Joint Surgery, 75-B:279-287 (1992); Marcel et al., Acta Orthop. Scand. 61:487-498 (1990); y tomografía computada cuantitativa (QCT), Laval-Jeantet et al., J. Comput. Assist. Tomogr., 17:915-921 (1993); Marcel, Calcio. Tissue Int. 49:427-432 (1991); absorciometría de fotón único, Marcel et al. Calcio. Tissue Int. 48:392-
- 15 399 (1991); velocidad de transmisión de ultrasonidos (UTV); Heaney et al., JAMA 261:2986-2990 (1989); Langton et al., Clin. Physiol. Meas. 11:243-249 (1990); y valoración radiográfica, Gluer et al., J. Bone Min. Res. 9:671-677 (1994). Otros métodos de identificación de pacientes con riesgo de fractura ósea incluyen la evaluación de factores relacionados con la edad, tales como el conocimiento, así
- 20 como la aparición anterior de fracturas relacionadas con la osteoporosis. Porter et al., BMJ 301:638-641 (1990); Hui et al., J. Clin. Invest. 81:1804-1809 (1988). Las anteriores publicaciones están incorporadas por la presente como referencia en este documento.

- Los métodos comprenden la inyección en el sitio osteoporótico u
- 30 osteopénico de una composición sólida con forma de bastoncillo que comprende una o más proteínas osteogénicas purificadas, que es eficaz para inducir la formación y/o mantenimiento del hueso, y un ácido hialurónico como vehículo.

Aunque existen formulaciones inyectables, la composición osteogénica de la presente invención se administra en forma sólida, evitando de ese modo las deficiencias inherentes en formulaciones líquidas o viscosas. Por ejemplo, usando formulaciones líquidas o en forma de gel, el agente osteoinductivo puede diluirse prematuramente mediante los fluidos corporales antes de que pueda llevar a cabo el efecto promotor óseo. La presente invención evita el efecto de dilución mediante el empleo de un vehículo sólido que se degrada lentamente in vivo, de ese modo proporciona una liberación retardada, sostenida del ingrediente(s) activo(s). Además, aunque las formulaciones líquidas o viscosas pueden migrar desde el sitio de administración, las composiciones sólidas de la presente invención llegan a meterse y persistir en el sitio de crecimiento óseo deseado para lograr la actividad promotora del crecimiento óseo. Típicamente, la composición debe persistir en el sitio durante un periodo de aproximadamente siete días a aproximadamente seis meses. Si la composición se dispersa prematuramente, bien no ocurrirá el efecto promotor del crecimiento óseo deseado o bien el hueso formado no tendrá la longitud deseada. Finalmente, aunque la composición osteogénica de la presente invención se administra como un sólido, se forma como un bastoncillo cilíndrico, de ese modo es útil tanto para inyección como implantación en el cuerpo. Además, la complicación quirúrgica bien conocida de inducción de una embolia durante un procedimiento de inyección intraósea se mitiga considerablemente mediante el uso de bastoncillos sólidos (vs. formas líquidas o de gel). Se reduce el desplazamiento potencial de fragmentos de hueso intraóseos, la grasa o una embolia causados por una inyección presurizada de un volumen importante de vehículo de forma líquida/gel ya que el volumen inyectado de vehículo sólido con forma de bastoncillo altamente concentrado es mucho menor que el que se requiere si se administra una dosis similar en una forma líquida o de gel. La composición se puede aplicar al sitio de crecimiento óseo deseado de cualquier manera conveniente, incluyendo mediante la introducción a través de una aguja o jeringuilla hipodérmica convencional.

Las composiciones de la presente invención se preparan mezclando la proteína osteogénica, el vehículo de ácido hialurónico y excipientes opcionales para formar, dependiendo del material de partida del ácido hialurónico, un

líquido/gel viscoso o una pasta. Entonces la masa resultante se da forma en bastoncillos cilíndricos y se secan. El proceso de dar forma puede llevarse a cabo usando cualquiera de varias técnicas conocidas, por ejemplo mediante moldeo, presión, perforación y/o corte. En una realización preferida, la mezcla osteogénica
5 se empaqueta en y se extruye a través del extremo acampanado de una jeringuilla hipodérmica. El material se extruye como bastoncillos con forma cilíndrica continuos, se seca a temperatura ambiente y se secciona en bastoncillos pequeños, inyectables.

Si el material de inicio del ácido hialurónico es un sólido hidrófobo, tal como Hyaff-11®, el ácido hialurónico primero se solubiliza en un disolvente orgánico para formar una solución. El disolvente orgánico puede ser cualquier disolvente aceptable farmacéuticamente, tales como N-metilpirrolidona (NMP) o dimetilsulfóxido (DMSO), preferiblemente NMP. La solución puede comprender entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50% (p/v) de ácido hialurónico,
15 preferiblemente entre aproximadamente 5 y 20% (p/v), y más preferiblemente aproximadamente 10% (p/v) de ácido hialurónico. La proteína osteogénica en polvo seco se dispersa en la solución de ácido hialurónico a una concentración de aproximadamente 1 y aproximadamente 50% (p/p), preferiblemente aproximadamente 20% (p/p), y se añaden excipientes opcionales (por ejemplo,
20 aminoácidos, azúcares, tensioactivos, polímeros, etc.) a una concentración comprendida entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50% (p/p), preferiblemente entre aproximadamente 20 y aproximadamente 40% (p/p). Las composiciones de la invención también pueden comprender un inhibidor de la resorción ósea, que puede incluirse en la etapa de mezcla en forma de polvo seco
25 o soluble, individualmente o en combinación con el componente de proteína osteogénica.

Si el material de inicio del ácido hialurónico es una forma hidrófila, tal como Hyaff-11p65®, el ácido hialurónico puede mezclarse con un tampón acuoso que comprende excipientes opcionales hasta que la masa adopta una consistencia tipo
30 pasta. La sustancia tipo pasta puede comprender entre aproximadamente 1 y 40% (p/v), preferiblemente entre aproximadamente 5 y 30% (p/v), y más preferiblemente entre aproximadamente 15 y aproximadamente 20% (p/v) de

ácido hialurónico. En una realización ejemplificada, la sustancia tipo pasta comprende 18,75% (p/v) de ácido hialurónico. Entonces se mezcla la proteína osteogénica en polvo seco en la pasta de ácido hialurónico antes del proceso de dar forma. Como alternativa, en lugar de mezclarse con un tampón acuoso que
5 comprende excipientes opcionales, el material de inicio del ácido hialurónico puede mezclarse con un tampón que comprende una proteína osteogénica soluble con excipientes opcionales hasta que la masa adopta una consistencia tipo pasta o una apariencia de líquido viscoso o gel. Las composiciones también pueden comprender un inhibidor de la resorción ósea, que puede incluirse en la etapa de
10 mezcla en forma de polvo seco o soluble, individualmente o en combinación con el componente de proteína osteogénica.

Una vez que se han combinado y mezclado los componentes en una pasta o en líquido o gel viscosos, el material osteogénico se compacta en un molde cilíndrico, en una tubería permeable a gas o aire (por ejemplo, silastic o
15 Teflon®/FEP), o en una máquina de tipo extrusora, tal como una jeringuilla. Si se usa una jeringuilla para la etapa de formación, se inserta el émbolo de la jeringuilla y se aplica una cantidad suficiente de presión para extruir una longitud continua de pasta en una superficie seca, en el caso de ácido hialurónico soluble en agua. En el caso de ácido hialurónico insoluble en agua, se extruye una longitud continua de
20 gel en un baño no disolvente que posibilita la precipitación del material. Entonces se cortan las secciones usando una herramienta de corte tal como una cuchilla, escalpelo, cuchillo o similares, para formar composiciones con forma de bastoncillo, inyectables. Tras la sección, se secan las composiciones con forma de bastoncillo, por ejemplo por secado con aire o liofilización.

25 La presente invención también proporciona un método para preparar una preparación de liberación sostenida inyectable que comprende las etapas de mezcla de una proteína osteogénica, un ácido hialurónico o material basado en hialuronano, y excipientes opcionales para formar una mezcla osteogénica densa, después de formación de la mezcla osteogénica densa en un bastoncillo cilíndrico
30 apropiado para inyectar o implantar en un cuerpo.

El agente activo se puede seleccionar entre la familia de proteínas conocida como superfamilia de proteínas de factores transformantes del crecimiento beta

(TGF- β), que incluye las activinas, inhibinas y proteínas morfogenéticas óseas (BMP). Particularmente, el agente activo incluye al menos una proteína seleccionada entre la subclase de proteínas conocidas generalmente como BMP, que tienen actividades osteogénicas descritas, y otras actividades de tipo

5 crecimiento y diferenciación. Estas BMP incluyen las proteínas BMP llamadas BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6 y BMP-7, descritas por ejemplo en las Patentes de Estados Unidos 5.108.922; 5.013.649; 5.116.738; 5.106.748; 5.178.076; y 5.141.905; BMP-8, descrita en la publicación PCT WO91/18098; y BMP-9, descrita en la publicación PCT WO93/00432, BMP-10, descrita en la

10 solicitud PTC WO94/26893; BMP-11, descrita en la solicitud PCT WO94/26892, o BMP-12 o BMP-13, descritas en la solicitud PCT WO94/16035; BMP-15, descrita en la Patente de Estados Unidos 5.635.372; o BMP-16, descrita en la Patente de Estados Unidos 6.331.612. Otras proteínas TGF- β que pueden ser útiles como agente activo en la presente invención incluyen Vgr-2, Jones et al., Mol.

15 Endocrinol. 6:1961-1968 (1992), y cualquiera de los factores de crecimiento y diferenciación (GDF), incluyendo aquellos descritos en las solicitudes PCT WO94/15965; WO94/15949; WO95/01801; WO95/01802; WO94/21681; WO94/15966; WO95/10539; WO96/01845; WO96/02559 y otras. También puede ser útil en la presente invención BIP, descrita en el documento WO94/01557;

20 HP00269, descrita en la Publicación JP número: 7-250688; y MP52, descrita en la solicitud PCT WO93/16099. Las descripciones de todas las solicitudes anteriores están incorporadas por la presente como referencia. Un subconjunto de BMP que son actualmente preferidas para el uso en la presente invención incluye BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-10, BMP-12 y BMP-13. En una realización

25 ilustrativa, el agente activo es BMP-2, cuya secuencia se describe en la Patente de Estados Unidos 5.013.649, la descripción de la cual se incorpora por la presente como referencia. También se pueden usar otras BMP y proteínas TGF- β conocidas en la técnica.

El agente activo puede estar producido de manera recombinante, o

30 purificado a partir de una composición de proteínas. El agente activo puede ser homodimérico si es un TGF- β tal como una BMP, u otra proteína dimérica, o puede ser heterodimérica con otras BMP (por ejemplo, un heterodímero

compuesto por un monómero de BMP-2 y otro de BMP-6) o con otros miembros de la superfamilia de TGF- β , tales como activinas, inhibinas y TGF- β 1 (por ejemplo, un heterodímero compuesto por un monómero de una BMP y otro de un miembro relacionado de la superfamilia de TGF- β). Ejemplos de tales proteínas heterodiméricas se describen por ejemplo en la Solicitud de Patente PCT Publicada WO93/09229, cuya memoria descriptiva se incorpora por la presente en este documento como referencia.

El agente activo también puede comprender agentes adicionales tales como las proteínas Hedgehog, Frazzled, Chordin, Noggin, Cerberus y Folistatina. Estas familias de proteínas se describen en líneas generales en Sacia et al., Cell, 79: 779-790 (1994) (Chordin); la Publicación de Patente PCT WO94/05800 (Noggin); y Fukui et al., Dev. Biol. 159:131-139 (1993) (Folistatina). Las proteínas Hedgehog se describen en los documentos WO96/16668; WO96/17924; y WO95/18856. La familia de las proteínas Frazzled es una familia de proteínas relativamente descubierta recientemente con alta homología al dominio de unión extracelular de la familia de proteínas receptoras conocida como Frizzled. La familia Frizzled de genes y proteínas está descrita en Wang et al., J. Biol. Chem. 271:4468-4476 (1996). El agente activo también puede incluir otros receptores solubles, tales como los receptores solubles truncados descritos en la publicación de patente PCT WO95/07982. A partir de la enseñanza del documento WO95/07982, un especialista en la técnica reconocerá que los receptores solubles truncados pueden prepararse para otras proteínas receptoras numerosas. Esto también se puede lograr en la presente invención. Las publicaciones anteriores están incorporadas por la presente mediante referencia en este documento.

La cantidad de agente activo útil en este documento es esa cantidad eficaz para estimular el incremento de la actividad osteogénica de ese momento o para infiltrar células progenitoras u otras células, y dependerá del tamaño y naturaleza del defecto que se trata. Generalmente, la cantidad de proteína para administrarse está en un intervalo comprendido entre aproximadamente 0,1 a aproximadamente 500 mg, particularmente aproximadamente 10 a aproximadamente 300 mg, y más particularmente aproximadamente 150 a aproximadamente 250 mg por centímetro cúbico de material requerido.

Los materiales que pueden ser útiles como vehículo en la práctica de la presente invención incluyen materiales farmacéuticamente aceptables que tienen una rigidez de tal modo que, cuando se mezcla y seca con una proteína morfogenética ósea, forma una composición que tiene las características de manejo apropiadas para su aplicación inyectable o implantable al sitio del hueso osteoporótico u osteopénico. La incorporación de la proteína morfogenética ósea en un vehículo sólido permite a la proteína permanecer en el sitio enfermo o lesionado durante un tiempo suficiente para permitir que la proteína incremente, por otra parte, la velocidad natural de la actividad osteogénica regenerativa de las células progenitoras de mamífero y otras células, infiltradas, y para formar un espacio en el que el nuevo tejido pueda crecer y permitir el crecimiento de las células hacia el interior. El vehículo también puede permitir a la proteína morfogenética ósea que se libere desde el sitio enfermo o lesionado durante un intervalo apropiado de tiempo para un incremento óptimo de la velocidad de la actividad osteogénica regenerativa de la células progenitoras. El vehículo también puede proporcionar una estructura sobre la que inducir la nueva formación en huesos gravemente osteoporóticos.

En realizaciones ilustrativas, la familia de vehículos comprende ésteres de ácido hialurónico o materiales basados en hialuronano. Como se usa en este documento, los términos "ácido hialurónico", "material basado en hialuronano", y "derivados de ácido hialurónico" se usan de manera intercambiable para decir ácido hialurónico (como se define a continuación) y su sales tales como sales sódicas, potásicas, de magnesio, calcio y similares. Tras el moldeo y el secado, los vehículos de ácido hialurónico están en una forma apropiada para inyección o implantación, tal como un bastoncillo cilíndrico, descrito con detalle a continuación. Tales bastoncillos son suficientemente rígidos para resistir su carga en una aguja o jeringuilla hipodérmica convencional, así como su inyección en un espacio intraóseo. Aunque son rígidos, los materiales de vehículos basados en ácido hialurónico tienen alta fuerza de tensión y baja fragilidad. Las composiciones de bastoncillo sólido de la invención preferiblemente tienen una densidad relativamente alta de material (30-100%), baja macroporosidad, y bajo contenido de agua.

El ácido hialurónico se encuentra de manera natural en varios tejidos, incluyendo el líquido sinovial, el humor vítreo, el cordón umbilical humano y las crestas de los gallos. Es el principal componente de la matriz intracelular de los tejidos conectivos tales como la piel, tendones, músculos y cartílagos. Además de proporcionar soporte mecánico a las células de estos tejidos, el ácido hialurónico también facilita otras funciones biológicamente importantes, incluyendo hidratación, lubricación, migración celular y diferenciación (véase, por ejemplo, Balazs et al., *Cosmetics & Toiletries* 5(84):8-17). El ácido hialurónico se puede extraer de tejidos naturales, tales como las crestas de los gallos, o se puede producir mediante métodos recombinantes. El peso molecular del ácido hialurónico obtenido mediante extracción generalmente está en un intervalo comprendido entre 8 y 13 millones. El polisacárido es lábil y se degrada fácilmente por varios agentes físicos (mecánicos, radiación) y químicos. Como resultado, los procedimientos de purificación ordinarios generalmente producen fracciones hidrolizadas de ácidos hialurónicos de bajo peso molecular.

Como se usa en este texto, el término "ácido hialurónico" se refiere a un polisacárido ácido que comprende ácido D-glucurónico y residuos de N-acetil-D-glucosamina, sin reparar en el peso molecular, incluyendo mezclas de fracciones de varios pesos moleculares y derivados de los mismos. Los derivados de ácido hialurónico incluyen, por ejemplo, ácido hialurónico que se ha modificado químicamente por esterificación, reticulación, sulfatación, etc. El ácido hialurónico puede ser un éster, tal como un éster de metilo de un ácido hialurónico como se describe, por ejemplo, en Jeanloz et al., *J. Biol. Chem.* 186:495-511 (1950); Pager et al., *J. Bacteriology* 1065-1067; *Biochem. J.* 167:711-716 (1977); Jeanloz et al., *J. Biol. Chem.* 194:141-150 (1952) o Jeanloz et al., *Helvetica Chimica Acta* 35:262-271 (1952).

En una realización ilustrativa, el ácido hialurónico es un éster de ácido hialurónico con alcoholes alifáticos, aromáticos, aroalifáticos, cicloalifáticos o heterocíclicos, en el que todos o una parte de los grupos carboxílicos del ácido están esterificados, tal como los derivados de ácido hialurónico descritos en la Patente de EEUU Nº 5.336.767, que se incorpora por la presente como referencia en su totalidad en este documento. Los materiales de partida del ácido hialurónico

pueden ser como se describe en la solicitud de EEUU en trámite junto con la presente Número de Serie 09/687.283, presentada el 13 de Octubre, 2000, que se incorpora por la presente como referencia en su totalidad en este documento. Particularmente, los materiales de partida basados en hialuronano son sólidos
5 tales como rellenos, fieltros, láminas, polvos, esponjas, y microesferas no tejidos que se venden bajo el nombre comercial Hyaff® por Fidia Advanced Biopolymers, Abano Terme, Italia. Los materiales Hyaff® se describen, por ejemplo, en las Patentes de EEUU N° 4.851.521; N° 4.965.353; y N° 5.202.431; y el documento EP 0 216 453, todos los cuales se incorporan por la presente como referencia en
10 su totalidad en este documento. Los materiales Hyaff® son ésteres de ácido hialurónico que tienen uno o una combinación de restos de éster (por ejemplo, bencilo, etilo, propilo, pentilo, o moléculas más largas tales como hidrocortisona o prednisona de metilo), así como varios grados de esterificación (es decir, ésteres parciales y ésteres completos). Los ésteres parciales de materiales Hyaff® se
15 denominan mediante el porcentaje de esterificación con un intervalo del 50-99% (por ejemplo, Hyaff-11p65® y Hyaff-11p80®), mientras que los ésteres completos son ésteres 100% de ácido hialurónico (por ejemplo, Hyaff®). Además de proporcionar las características de manejo deseadas de las composiciones de la presente invención, los materiales Hyaff® también proporcionan un medio para
20 manipular la biodisponibilidad y la cinética de absorción del ingrediente(s) activo(s) [véase, por ejemplo, las Patente de EEUU N° 6.339.074; N° 6.232.303; y N° 6.066.340, todas las cuales se incorporan como referencia en su totalidad en este documento].

En otra realización ilustrativa, los materiales de partida basados en
25 hialuronano son tejidos no tejidos que comprenden mezclas de fibras de ésteres de ácido hialurónico y polímeros naturales, derivados semisintéticos de polímeros naturales, y/o polímeros sintéticos. La mezcla puede comprender entre aproximadamente el 1 a aproximadamente el 100% de ácido hialurónico. Los polímeros naturales útiles en la presente invención incluyen, sin limitación,
30 colágeno, o coprecipitados de colágeno y glicosaminoglicanos; celulosa; polisacáridos tales como quitina, quitosano, pectina o ácido péctico, agar, agarosa, goma de xantano, gelano, ácido algínico o alginatos, polimanano o poliglicanos,

almidones, y gomas naturales. Los derivados semisintéticos de polímeros naturales útiles en la presente invención incluyen, por ejemplo, polímeros naturales tales como colágeno reticulado con agentes como aldehídos o precursores de aldehído, ácidos dicarboxílicos o haluros de los mismos, diaminas, derivados de celulosa, ácido alginico, almidón, ácido hialurónico, quitina o quitosano, gelano, xantano, pectina, o ácido péctico, poliglicanos, polimananos, agar, agarosa, gomas naturales, y glicosaminoglicanos. Los polímeros sintéticos incluyen, por ejemplo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, polidioxanos, polifosfacenos, resinas de polisulfona, resinas de poliuretano, y copolímeros o derivados de los mismos. Materiales de tejidos no tejidos ejemplares útiles en la presente invención, que incluyen métodos de fabricación de estos materiales, se describen en la Patente de EEUU Nº 5.520.916, emitido el 28 de Mayo, 1996, que se incorpora por la presente como referencia en su totalidad en este documento.

Aunque se sabe mucho acerca del potencial osteogénico de las proteínas TGF- β , informes recientes muestran que la administración local de ciertos agentes osteoinductivos, tales como BMP-2, estimula la actividad osteoclástica transitoria en el sitio de administración. Esta reacción, que desarrolla la formación de hueso nuevo inducida por la BMP, se ha denominado "fenómeno de resorción transitoria".

Los agentes conocidos para inhibir la resorción ósea pueden jugar un papel importante en retardar o reducir la resorción ósea inicial asociada a la administración local de BMP, sin mostrar la consiguiente formación ósea. Clínicamente, la terapia con bisfosfonato ha mostrado reducir radicalmente los índices de renovación ósea, incrementar la densidad mineral ósea y, en mujeres osteopénicas, reducir el riesgo de fractura de cadera y columna (véase, por ejemplo, Fleisch, H., Bisphosphonates In Bone Disease, From The Laboratory To The Patient, 3a Ed., Partenón Publishing (1997), que se incorpora como referencia en su totalidad en este documento). De esta manera, en una realización, un inhibidor de la resorción ósea tal como un bisfosfonato se coadministra con el agente osteoinductivo para prevenir o minimizar la resorción ósea inicial asociada con la liberación intraósea de BMP. La coadministración de bisfosfonato bloquea la fase de resorción no deseable, permitiendo que suceda el efecto de aumento

óseo.

A pesar de sus beneficios terapéuticos, los bisfosfonatos se absorben mal en el tracto gastrointestinal cuando se toman por vía oral. Para superar esta cuestión de biodisponibilidad pobre, se ha usado la administración intravenosa; sin embargo, esta modalidad se ve que es costosa e inconveniente debido a la duración y frecuencia de la dosificación. La presente invención supera esta deficiencia mediante la incorporación del bisfosfonato en un vehículo, y administrándolo localmente y directamente al sitio de acción deseado.

En una realización de la invención, el inhibidor de la resorción ósea se incorpora en la composición osteoinductiva inyectable como un segundo ingrediente activo. El inhibidor de la resorción ósea puede mezclarse con la proteína osteogénica, el vehículo de ácido hialurónico, y/o el excipiente(s) opcionales(s) antes de las etapas de moldeo y secado. La mezcla final entonces se moldea, por ejemplo mediante extrusión en un no disolvente o en aire.

En otra realización de la invención, el inhibidor de la resorción ósea se administra secuencial o simultáneamente con la composición osteogénica. De acuerdo con esta realización, la composición osteogénica se puede administrar localmente en un área específica que necesita crecimiento óseo o reparación, con la administración bien simultánea o bien secuencial del inhibidor de la resorción ósea en un vehículo de administración diferente. De esta manera, el inhibidor de la resorción ósea se puede inyectar o implantar directamente en el sitio a ser tratado, por ejemplo, mediante inyección o implantación quirúrgica en un vehículo de liberación sostenida. El vehículo puede ser cualquier vehículo aceptable farmacéuticamente, una amplia variedad de los cuales son bien conocidos y fácilmente disponibles en la técnica (véase, por ejemplo, Martin, E. W., Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., edición actual), que se incorpora por la presente como referencia en su totalidad en este documento). Preferiblemente el vehículo es un vehículo de liberación sostenida, más preferiblemente los ésteres de ácido hialurónico o materiales basados en hialuronano descritos anteriormente. Actualmente los vehículos preferidos están formados en bastoncillos sólidos, como se describe en otra parte en este documento.

Como se usa en este documento, el término "inhibición de la resorción ósea" se refiere a la prevención de la pérdida ósea, especialmente la inhibición de la eliminación del hueso existente a través de la alteración directa o indirecta de la formación de osteoclastos o su actividad. De esta manera, el término "inhibidor de la resorción ósea" como se usa en este documento se refiere a agentes que previenen o inhiben la pérdida ósea mediante alteración directa o indirecta de la formación de osteoclastos o su actividad.

Como se usa en este documento, el término "bisfosfonato" se refiere a los ácidos y sales bisfosfónicas relacionados, y varias formas cristalinas y amorfas de bisfosfonato. En una realización particular, el bisfosfonato se selecciona entre el grupo compuesto por alendronato, cimadronato, clodronato, EB-1053, etidronatos, ibandronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529, zolendronato, y sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, ácidos, y mezclas de los mismos.

La cantidad de inhibidor de la resorción ósea útil en este documento es esa cantidad eficaz para prevenir o inhibir la pérdida ósea inicial, típicamente asociada con la administración local de BMP, mediante la alteración directa o indirecta de la formación de osteoclastos o su actividad. La dosis precisa necesaria dependerá del tamaño y naturaleza del defecto a tratar, así como la cantidad de agente osteogénico a administrar. Generalmente, la cantidad de fosfonato a administrar está en un intervalo comprendido entre aproximadamente 1 a aproximadamente 3000 mg, particularmente aproximadamente 10 a aproximadamente 1000 mg, a modo ilustrativo aproximadamente 100 a aproximadamente 500 mg por centímetro cúbico de material. El sitio de aplicación es preferiblemente local (intraóseo), pero pueden ser otros sitios parenterales tales como intramusculares o subcutáneos para la administración sistémica.

Los aditivos o excipientes adicionales que pueden ser útiles en las composiciones de la presente invención incluyen, sin limitación, sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y/o tensioactivos. Tales excipientes se conocen bien en la técnica de la formulación para estabilizar y/o modular la liberación del ingrediente(s) activo(s). Los polímeros útiles incluyen, por ejemplo,

aquellos descritos en la Patente de EEUU N° 5.171.579, cuya descripción completa se incorpora en este documento como referencia. Los polímeros sintéticos o tensioactivos incluyen, sin limitación, los plurónicos, tales como el gel Poloxamer 407, que son una clase de copolímeros de bloque tensioactivos de tipo ABA solubles en agua que muestran la única propiedad de gelificación térmica inversa. Otros polímeros sintéticos útiles incluyen polilactidas y polietilenglicoles que incluyen poli(lactida)/poli(etilenglicol), polivinilpirrolidona (PVP), poli(etilenglicol), óxido de polioxietileno, polímero de carboxivinilo y poli(vinilalcohol). Los polímeros naturales incluyen, sin limitación, alginato sódico, quitosano, colágeno, gelatina, hialuronano, y materiales celulósicos, tales como hidroxiceululosas. Otros excipientes útiles incluyen péptidos, proteínas, y aminoácidos.

En una realización de la presente invención, el excipiente se presenta en forma de polvo, que entonces se mezcla con el agente(s) activo(s) en Hyaff-11® solubilizado en un disolvente orgánico, y se extruye en etanol (no disolvente) para formar bastoncillos, que entonces se lavan y secan. La composición final puede contener uno o una combinación de excipientes, preferiblemente una sal, azúcar (por ejemplo, sacarosa) y/o aminoácido (por ejemplo, glicina y/o ácido glutámico). Las composiciones de la presente invención pueden comprender aproximadamente del 1 a aproximadamente el 60% (p/p) de aminoácido, aproximadamente del 1 a aproximadamente el 60% (p/p) de un azúcar, y aproximadamente del 1 a aproximadamente el 60% (p/p) de polímero sintético. En otra realización de la invención, la formulación comprende aproximadamente el 20-50% (p/p) de aminoácido, y/o aproximadamente el 5-50% (p/p) de azúcar, y/o aproximadamente el 20-50% (p/p) de polímero sintético.

Las composiciones inyectables de la presente invención pueden administrarse de cualquier manera de inyección aceptable clínicamente. Pueden ser adecuadas numerosas jeringuillas disponibles comercialmente para su uso en la presente invención, y para la administración de las composiciones de la presente invención. Por ejemplo, las jeringuillas adecuadas que están disponibles son la jeringuilla Calasept® [JS Dental Manufacturing, Ridgefield CT] que comprende una pasta de hidróxido cálcico estéril en solución salina isotónica, en

una jeringuilla de cartucho de no aspiración o de aspiración modificada; la jeringuilla de aspiración Henke-Ject® y las jeringuillas/aguja dentales Hypo® [Smith & Nephew MPL, Franklin Park, IL]; las agujas intraóseas de MPL, Inc., Chicago IL; y las jeringuillas Luer-Lok® [Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ],
5 todas pueden ser jeringuillas apropiadas para el uso en la presente invención. Es apropiado el uso de cualquier jeringuilla capaz de contener y liberar un bastoncillo inyectable y/o posibilitar la extrusión con un obturador.

En una realización de la invención, las composiciones con forma de bastoncillo se liberan de manera intraósea usando una aguja hipodérmica de
10 tamaño y tipo apropiado de manera percutánea o quirúrgica presituada en un lugar anatómico seleccionado. El emplazamiento percutáneo de la aguja hipodérmica se puede llevar a cabo usando palpación manual de puntos de referencia anatómicos conocidos, con o sin el uso de fluoroscopia para visualizar el emplazamiento. La fluoroscopia también se puede usar junto con la implantación quirúrgica antes y/o
15 simultáneamente con el emplazamiento de la aguja hipodérmica.

En una realización ilustrativa, primero se inserta de manera percutánea un alambre de guía (habitualmente calificado como "alambre-k") en el lugar anatómico deseado para servir como guía para la aguja hipodérmica. La aguja hipodérmica se inserta sobre el alambre de guía, que se retira posteriormente
20 quedando sólo la aguja hipodérmica en su lugar. Entonces se inserta la composición con forma de bastoncillo en el extremo acampanado de la aguja hipodérmica. Después de cargar la composición, se inserta un segundo alambre de guía en la aguja, que se usa para hacer avanzar la composición sólida hacia la punta de la aguja. Entonces la aguja se retira dejando el alambre de guía para
25 anclar la composición en el hueso en el lugar deseado. Finalmente, el alambre de guía se retira dejando la composición sólida en su lugar. En otra realización, la composición sólida con forma de bastoncillo de la invención se presitúa en el cilindro de la aguja. Tras el emplazamiento en el sitio anatómico deseado, se hace avanzar el émbolo en el cilindro de la aguja mientras se retira el dispositivo,
30 dejando la composición con forma de bastoncillo en el lugar deseado.

En una realización de la presente invención, las proteínas morfogenéticas se usan como un agente osteoinductivo para tratar la osteoporosis. Los pacientes

que podrían beneficiarse de tal tratamiento pueden identificarse usando cualquiera de varios procedimientos convencionales o más de uno, incluyendo la medición de la masa/densidad ósea usando absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA), tomografía computada cuantitativa (QCT), absorciometría de fotón único, 5 velocidad de transmisión de ultrasonidos, y/o valoración radiográfica. Tales procedimientos proporcionan la información de la localización y gravedad de las lesiones óseas osteoporóticas u osteopénicas. Además de localizar la lesión(es) a tratar, se puede usar esta información para seleccionar el modo de administración apropiado y la dosis del agente osteoinductivo para el paciente.

10 En otra realización de la presente invención, las proteínas morfogenéticas óseas se usan como una agente osteoinductivo en el proceso conocido como osteogénesis por distracción. Este proceso es una alternativa para la regeneración de segmentos óseos en respuesta a agentes osteoinductivos implantados. En la reparación tradicional de huesos segmentados, se coloca el agente osteoinductivo 15 y el vehículo en la deficiencia creada entre los extremos óseos precursores. Para que suceda la formación ósea, el agente osteoinductivo tiene que tener un tiempo de residencia suficiente en la deficiencia para estimular la diferenciación de cantidades suficientes de células formadoras de hueso para mantener la formación de hueso nuevo. El proceso de osteogénesis por distracción crea una 20 construcción regenerada entre los extremos óseos precursores distraídos que es altamente vascular y contiene una población numerosa de células madre mesenquimatosas destinadas a llegar a ser células formadoras de hueso. Como resultado, la construcción regenerada representa un ambiente mucho más ideal para los factores de crecimiento y diferenciación celular tales como rhBMP-2 para 25 estimular una inducción rápida relativa a la inducción ósea en un defecto segmentado.

El proceso de osteogénesis por distracción comienza con un periodo de latencia inicial que permite una conexión de fibras que se forma entre los extremos óseos a distraer. Después de este periodo de latencia, se distraen los extremos 30 óseos lentamente a una velocidad controlada de hasta 1 mm por día en los casos clínicos humanos. Una vez se ha formado el regenerado y los extremos óseos se han distraído a la longitud apropiada, se requiere un periodo de consolidación

prolongado para permitir al regenerado formar el hueso. Este periodo de consolidación prolongado que puede ser del orden de 4 a 6 meses, está asociado con una considerable morbilidad. Una complicación frecuente es la existencia de infecciones en la trayectoria del clavo que es el resultado del tiempo tan prolongado que debe permanecer en el lugar el fijador externo que se usa para generar la distracción. Además, hay efectos psicológicos considerables y alteraciones en el estilo de vida asociados con el uso del fijador externo durante periodos prolongados de tiempo. Además de las complicaciones asociadas con el fijador externo, hay numerosos pacientes en los que el regenerado no se forma adecuadamente y sucede una unión retardada o no sucede la unión. Ya que el regenerado contiene una población celular sensible y está altamente vascularizada justo después de la fase de distracción inicial, el uso de proteínas morfogenéticas puede acelerar rápidamente la velocidad de formación ósea durante la fase de consolidación prolongada de la osteogénesis por distracción. La aceleración de la fase de distracción está limitada por el estiramiento de los tejidos blandos asociados al hueso. Las células creadas usando la osteogénesis por distracción pueden recolectarse para proporcionar una fuente de células que son primordiales para la osteogénesis. Estas células pueden cultivarse para preparar líneas celulares inmortales. Si se desea, estas células también pueden hacerse inmunotolerantes usando agentes tales como receptores CTLA4 [Patente de EEUU 5.434.131] o ligandos CTLA4 o anticuerpos monoclonales B7 [Documento WO 96/40915]. Los métodos y materiales para hacer inmunotolerantes se describen en las anteriores referencias, e incluyen cotransfección o tratamiento con estos factores. Las descripciones de estas referencias se incorporan en este documento como referencia.

Además del tratamiento de la osteoporosis y fracturas cerradas, las composiciones con forma de bastoncillo de la presente invención pueden encontrar aplicación también para otros sitios óseos tales como defectos y quistes óseos. Las composiciones sólidas inyectables pueden también administrarse a sitios no óseos, por ejemplo, en tendones, tejido cartilaginoso dañado, ligamentos, y/o sus sitios de unión al hueso.

Aunque el análisis precedente se refiere a la administración de una única

composición osteoinductiva, la presente invención contempla expresamente la coadministración de múltiples ingredientes activos en formulaciones separadas, por ejemplo, las composiciones bisfosfonato descritas anteriormente. Los múltiples ingredientes activos se pueden administrar de manera simultánea o secuencial en
5 vehículos de administración separados, e individualmente o en combinación.

El régimen de dosificación se determinará mediante la indicación clínica dirigida, así como mediante varias variables del paciente (por ejemplo, peso, edad, sexo) y la presentación clínica (por ejemplo, alcance de la lesión, sitio de la lesión, etc.).

10 Las composiciones de la presente invención permiten administrar cantidades eficaces de la proteína osteoinductiva al sitio de la lesión donde se desea la formación de cartílago y/o hueso. Las formulaciones se pueden usar como un sustituto para injertos óseos autólogos en fracturas recientes y que aún no se han unido, fusiones vertebrales, y reparación de defectos óseos en el campo
15 ortopédico; en reconstrucciones craneo/maxilofaciales; en osteomielitis para la regeneración ósea; y en el campo dental para el aumento del borde alveolar en defectos periodontales y extracción de dientes del alveolo. Cuando se usa para tratar la osteomielitis o para la reparación ósea con una infección mínima, la proteína osteogénica puede usarse en combinación con antibióticos. El antibiótico
20 se selecciona por su capacidad para disminuir la infección al tiempo que tiene efectos adversos mínimos en la formación ósea. Los antibióticos preferidos para su uso en las composiciones de la presente invención incluyen vancomicina y gentamicina. El antibiótico puede estar en una forma aceptable farmacéuticamente, tal como la HCl vancomicina o el sulfato de gentamicina. El
25 antibiótico está preferiblemente presente en una concentración comprendida entre aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 10,0 mg/ml. La preparación tradicional de formulaciones en una forma aceptable farmacéuticamente (es decir, libre de pirógenos, apropiado pH e isotonicidad, esterilidad, etc.) está bien para los especialistas en la técnica y es aplicable a las formulaciones de la invención.

30 Las composiciones con forma de bastoncillo de la presente invención pueden utilizarse en combinación con otros fármacos, factores de crecimiento, péptidos, proteínas, citoquinas, oligonucleótidos, oligonucleótidos antisentido, ADN

y polímeros. Estos compuestos pueden añadirse mezclándolos con el vehículo de ácido hialurónico o mediante unión a los vehículos. Las composiciones de ácido hialurónico pueden usarse también con ADN que codifica BMP y células transducidas o transfectadas con genes que codifican proteínas BMP.

- 5 Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la presente invención y no limitan de ninguna manera. Las modificaciones, variaciones y mejoras se contemplan y están en la presente invención.

Ejemplo 1: Formulación de Bastoncillos Hyaff-11

- Las composiciones con forma de bastoncillo de Hyaff-11 inyectables 100% esterificadas (1 mm de diámetro) se prepararon y evaluaron para la retención de la proteína-2 morfogenética ósea humana recombinante (rhBMP-2) y la eficacia de la formación ósea. Las composiciones con forma de bastoncillo comprendían material basado en hialuronano Hyaff-11® como vehículo, dos dosis de rhBMP-2 (véase Tabla 1) como ingrediente activo, y varias cantidades de excipientes para la modulación de la cinética de liberación. Los excipientes usados en este ejemplo consistían en formas de polvo secas bien de ácido glutámico o bien de sales tampón. Las sales de tampón contenían 0,5% de sacarosa, 2,5% de glicina, 5 mM de ácido L-glutámico, 5 mM de NaCl, y 0,1% de polisorbato 80. Las composiciones basadas en Hyaff-11® se formaron en formas de bastoncillo usando un proceso de inversión de fase. Brevemente, se mezclaron rhBMP-2 y los excipientes (glutamato y sales tampón) en partículas de Hyaff-11® presolubilizados (10% p/v) en un disolvente orgánico N-metilpirrolidona (NMP), se extruyeron en un exceso de etanol (no disolvente) usando una jeringuilla y un catéter (por ejemplo, calibre-16), se invirtió la fase durante 1 hora, se lavó, y se secó. La etapa de secado consistió en un secado por aire de 24 horas seguido de una etapa de liofilización de 24 horas. La extrusión se llevó a cabo usando una bomba de jeringa medidora, preferiblemente a una velocidad de inyección de 0,2 ml/min. Las siguientes composiciones basadas en Hyaff-11® se prepararon: Hyaff-11®, 20% (p/p) de rhBMP-2, y 40% (p/p) de glutamato (es decir, 40/40/20 (p/p) Hyaff-11®/glutamato/rhBMP-2); Hyaff-11®, 60% (p/p) de rhBMP-2/sales tampón (es decir, 40/60 (p/p) Hyaff-11®/rhBMP-2); y Hyaff-11®, 20% (p/p) de rehBMP-2, y 20% (p/p) de sales tampón (es decir, 60/20/20 (p/p) Hyaff-11®/sales

- tampón/rhBMP-2). Se obtuvieron altas dosis de rhBMP-2 mediante destilación de la formulación de proteína antes de la combinación con el Hyaff-11. Se cortaron bastoncillos secos típicamente en segmentos de 1 o 2 cm para una evaluación adicional. Las dosis teóricas de los bastoncillos están enumeradas en la Tabla 1.
- 5 El modo preferido de administración es una aguja hipodérmica de calibre-16 equipada con un obturador para inyectar los bastoncillos sólidos en el sitio intraóseo.

Tabla 1
Dosis de rhBMP-2 para Formulaciones Inyectables de Bastoncillos Hyaff®
Dosis teórica

<u>Formulación</u>	<u>µg BMP-2/mg</u> <u>bastoncillo)</u>	<u>Mg BMP-2/cm</u> <u>bastoncillo)</u>
40/40/20 (p/p) Hyaff-11®/Glutamato/rhBMP-2	200	1,5
40/60 (p/p) Hyaff-11®/rhBMP-2	71	0,5
60/20/20 (p/p) Hyaff-11®/sales tampón/rhBMP-2	200	1,3
80/20 (p/p) Hyaff-11p65®/rhBMP-2	200	1,2
60/40 (p/p) Hyaff-11p65®/rhBMP-2	400	2,4

10 **Ejemplo 2: Formulación de Bastoncillos Hyaff-11p65®**

- Las composiciones con forma de bastoncillo de Hyaff-11p65 inyectables 65% esterificadas (1 mm de diámetro) se prepararon y evaluaron para la retención de rhBMP-2 y la eficacia de la formación ósea. Las composiciones con forma de bastoncillo comprendían material basado en hialuronano Hyaff-11p65® como
- 15 vehículo, dos dosis de rhBMP-2 (véase Tabla 1) como ingrediente activo. Las composiciones basadas en Hyaff-11p65® que comprenden 20% (p/p) de rhBMP-2 (es decir, 80/20 (p/p) Hyaff-11p65®/rhBMP-2) o 40% (p/p) de rhBMP-2 (es decir, 60/40 (p/p) Hyaff-11p65®/rhBMP-2) se prepararon mezclando rhBMP-2 desalado y un relleno no tejidos de Hyaff-11p65® en formas secas, seguido de hidratación
- 20 del 18,75% (p/v) del peso del relleno no tejido, mezcla en una consistencia tipo pasta blanca, transferencia a una jeringuilla, extrusión a través de un catéter (por ejemplo de calibre-16), y secado. Una variación de este método consiste en extruir

la pasta a través de un catéter para una forma de bastoncillo, congelar el bastoncillo (en nitrógeno líquido a -80°C), insertarlo en una tubería de diámetro ligeramente más grande (por ejemplo, un catéter de calibre-14) y secarlo. La etapa de secado consistió en un secado por aire de 24 horas seguido de una etapa de liofilización de 24 horas. Métodos alternativos de preparación de bastoncillos incluyen el moldeo de la pasta de Hyaff-11p65® en una tubería de diámetro interior de 1,5 mm de silastic o Teflón®/FeP seguido del secado. El modo preferido de administración es una aguja hipodérmica de calibre-16 equipada con un obturador para forzar los bastoncillos sólidos en el sitio intraóseo.

10

Ejemplo 3: Caracterización In Vitro

Todas las composiciones con forma de bastoncillo eran rígidas, rectas, manejables, e inyectables a través de una aguja de calibre-16. Las micrografías electrónicas de rastreo (SEM) de las composiciones de bastoncillos de Hyaff-11® eran típicamente sólidas, densas, y lisas, mientras que aquellas composiciones de bastoncillos de Hyaff-11p65R se compactaban de manera densa con segmentos fibrilares cortos de las fibras no tejidas nativas. La bioactividad de rhBMP-2 en las composiciones con forma de bastoncillo se obtuvo tras la extracción de rhBMP-2 a partir de las composiciones y el ensayo de su capacidad de inducir la expresión de fosfatasa alcalina (un marcador óseo) en células estromáticas W-20-17 de ratón. Las rhBMP-2 de composiciones en bastoncillo de Hyaff-11® y Hyaff-11p65® eran bioactivas.

20

Ejemplo 4: Biodistribución Local In Vivo

Se obtuvieron perfiles de retención de rhBMP-2 in vivo usando composiciones en bastoncillo de Hyaff-11® y Hyaff-11p65®. Los tiempos de retención de rhBMP-2 en composiciones con forma de bastoncillo de 1 cm (preparadas como se describió en el Ejemplo 1 y 2) se evaluaron en un modelo intraóseo de fémur distal de conejo usando ^{125}I -rhBMP-2 y escintigrafía gamma (Figura 1). Las formulaciones que comprenden Hyaff-11® (no Hyaff-11p65®) proporcionaron una liberación sostenida y lenta de rhBMP-2, independientemente de la dosis de BMP-2 o los excipientes. La esterilización del excipiente glutamato mediante óxido de etileno proporcionó una liberación ligeramente más brusca durante el periodo de 3 días inicial comparado con el glutamato esterilizado por

25

30

radiación gamma. La composición 80/20 (p/p) Hyaff-11p65®/rhBMP-2 proporcionó la cinética de liberación de rhBMP-2 más rápida.

Ejemplo 5: Eficacia y Biocompatibilidad

Las composiciones basadas en Hyaff-11® (no Hyaff-11p65), preparadas
5 como se describió anteriormente, se evaluaron para la biocompatibilidad y el efecto en la formación ósea dos semanas después de la administración subcutánea (tórax ventral) e intraósea (fémur distal) en ratas. Las composiciones eran de 2 mm y 10 mm de longitud para la administración intraósea y subcutánea, respectivamente. Los análisis radiográficos e histológicos de los sitios
10 subcutáneos de administración mostraron una formación ósea adyacente a las composiciones con forma de bastoncillo que contienen rhBMP-2, que sugiere que los bastoncillos rhBMP-2/Hyaff-11® eran osteoinductivos (datos no mostrados). Ambos sitios de administración subcutánea e intraósea mostraron respuestas inflamatorias mínimas, que sugiere buena biocompatibilidad de las composiciones
15 de ácido hialurónico/BMP-2. Las composiciones de bastoncillos de Hyaff-11® y Hyaff-11p65® se inyectaron adicionalmente en fémur distales de conejos y tras 7 semanas, se observó una formación ósea de novo considerable en el espacio intraóseo mediante histología (datos no mostrados) y particularmente en las formulaciones 80/20 (p/p) Hyaff-11p65®/rhBMP-2 y 40/40/20 (p/p) Hyaff-
20 11®/glutamato/rhBMP-2. La inyección de la formulación de bastoncillo 80/20 (p/p) Hyaff-11p65®/rhBMP-2 en radios distales de babuinos sometidos a ovariectomía dio como resultado un 30% de incremento relativo de volumen óseo trabecular comparado con controles no tratados histológicamente (datos no mostrados).

REIVINDICACIONES

1. Una composición para la administración de proteínas osteogénicas que comprende una proteína osteogénica y un éster de ácido hialurónico, estando
5 dicha composición en forma de un bastoncillo cilíndrico apropiada para inyección o implantación en estado sólido en un cuerpo.
2. La composición de la reivindicación 1, donde la proteína osteogénica se
10 selecciona entre el grupo compuesto por los miembros de la familia de las proteínas morfogénicas óseas (BMP).
3. La composición de la reivindicación 2, donde la proteína osteogénica se
selecciona entre el grupo compuesto por BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7,
BMP-10, BMP-12 y BMP-13.
- 15 4. La composición de la reivindicación 2, donde la proteína osteogénica es BMP-2 o BMP-6.
5. La composición de la reivindicación 1, que también comprende un inhibidor
20 de la resorción ósea.
6. La composición de la reivindicación 5, donde el inhibidor de la resorción
ósea es un bisfosfonato.
- 25 7. La composición de la reivindicación 6, donde el bisfosfonato se selecciona entre el grupo formado por alendronato, cimadronato, clodronato, EB-1053, etidronatos, ibandronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529, zolendronato, y sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, ácidos, y mezclas de los mismos.
- 30 8. La composición de la reivindicación 1, donde el éster de ácido hialurónico comprende entre aproximadamente el 50 por ciento a aproximadamente el 100 por

ciento de esterificación del ácido hialurónico.

9. La composición de la reivindicación 1, donde el éster de ácido hialurónico es un ácido hialurónico reticulado.

5

10. La composición de la reivindicación 1, que también comprende un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.

10

11. La composición de la reivindicación 1, que también comprende un inhibidor de la resorción ósea y un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.

15

12. La composición de la reivindicación 1, donde el diámetro de dicho bastoncillo cilíndrico está entre aproximadamente 0,5 a 1,5 mm.

13. La composición de la reivindicación 1, donde la longitud de dicho bastoncillo cilíndrico está entre aproximadamente 2 cm y aproximadamente 5 cm.

20

14. Una composición para tratar un hueso osteoporótico que comprende una proteína osteogénica y un ácido hialurónico, que se prepara mediante un proceso que comprende las etapas de:

25

(a) mezcla de la proteína osteogénica y el éster de ácido hialurónico para formar una mezcla osteogénica; y

(b) formación y secado de la mezcla osteogénica en un bastoncillo cilíndrico apropiado para inyectarlo o implantarlo en estado sólido en un cuerpo.

30

15. La composición de la reivindicación 14, donde la etapa de mezcla comprende mezclar la proteína osteogénica y el éster de ácido hialurónico con un bisfosfonato.

16. La composición de la reivindicación 14, donde la etapa de mezcla comprende mezclar la proteína osteogénica y el éster de ácido hialurónico con un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.

17. La composición de la reivindicación 14, donde la etapa de mezcla comprende mezclar la proteína osteogénica y el éster de ácido hialurónico con un bisfosfonato y un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.

18. La composición de la reivindicación 14, donde el éster de ácido hialurónico se prepara mediante hidratación y solubilización de partículas, películas, fibras, rellenos no tejidos, o esponjas insolubles o parcialmente solubles de ésteres benzílicos de ácido hialurónico en agua, un disolvente orgánico o un tampón acuoso.

19. La composición de la reivindicación 14, donde la etapa de mezcla comprende mezclar la proteína osteogénica y el éster de ácido hialurónico con un bisfosfonato y un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.

20. La composición de la reivindicación 14, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por los miembros de la familia de las proteínas morfogénicas óseas (BMP).

21. La composición de la reivindicación 14, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-10, BMP-12 y BMP-13.

22. La composición de la reivindicación 14, donde la proteína osteogénica es BMP-2 o BMP-6.

5 23. La composición de la reivindicación 15, donde el bisfosfonato se selecciona entre el grupo formado por alendronato, cimadronato, clodronato, EB-1053, etidronatos, ibandronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529, zolendronato, y sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, ácidos, y mezclas de los mismos.

10

24. La composición de la reivindicación 14, donde la etapa de mezcla comprende mezclar la proteína osteogénica y el éster de ácido hialurónico con un disolvente; y donde la etapa de formación y secado de la mezcla osteogénica en un bastoncillo cilíndrico comprende la extrusión de la mezcla osteogénica en un no
15 disolvente.

25. La composición de la reivindicación 18, donde en la etapa de formación y secado de la mezcla osteogénica comprende

- 20 (i) extruir la mezcla osteogénica en un no disolvente, o
(ii) extruir la mezcla osteogénica en aire y secar.

26. La composición de la reivindicación 25, donde el no disolvente es etanol o agua.

25 27. La composición de la reivindicación 14, donde el diámetro de dicho bastoncillo cilíndrico está entre aproximadamente 0,5 a 1,5 mm.

28. La composición de la reivindicación 14, donde la longitud de dicho bastoncillo cilíndrico está entre aproximadamente 2 cm a aproximadamente 5 cm.

30

29. Un método para preparar una preparación de liberación sostenida, con forma de bastoncillo, inyectable, que comprende una proteína osteogénica y un

éster de ácido hialurónico que comprende:

(a) mezclar la proteína osteogénica con el éster de ácido hialurónico y un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos para producir una mezcla osteogénica que comprende el éster de ácido hialurónico en una cantidad comprendida entre aproximadamente 1 a aproximadamente 50 (p/v) por ciento;

(b) moldear la mezcla osteogénica para formar un producto con forma de bastoncillo; y

(c) secar el producto con forma de bastoncillo de la etapa (b).

30. El método de la reivindicación 29, donde la etapa (a) incluye la solubilización del éster de ácido hialurónico en un disolvente orgánico.

31. El método de la reivindicación 29, donde la etapa (a) incluye la hidratación del éster de ácido hialurónico en un tampón acuoso.

32. El método de la reivindicación 29, donde el éster de ácido hialurónico en la etapa (a) está entre aproximadamente 10 a aproximadamente 25 (p/v) por ciento.

33. El método de la reivindicación 29, donde dicho moldeo en la etapa (b) comprende

- (i) extruir la mezcla osteogénica en un no disolvente, o
- (ii) extruir la mezcla osteogénica en aire y secar.

34. El método de la reivindicación 29, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por los miembros de la familia de las proteínas morfogénicas óseas (BMP).

35. El método de la reivindicación 32, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-10, BMP-12 y BMP-13.

36. El método de la reivindicación 32, donde la proteína osteogénica es BMP-2 o BMP-6.
- 5 37. El método de la reivindicación 29, donde la mezcla en la etapa (b) también comprende mezclar la proteína osteogénica, el éster de ácido hialurónico y el excipiente con un bisfosfonato.
38. El método de la reivindicación 35, donde el bisfosfonato se selecciona entre
10 el grupo formado por alendronato, cimadronato, clodronato, EB-1053, etidronatos, ibandronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529, zolendronato, y sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, ácidos, y mezclas de los mismos.
- 15 39. El método de la reivindicación 29, donde el éster de ácido hialurónico comprende aproximadamente del 50 por ciento a aproximadamente el 100 por ciento de esterificación del ácido hialurónico.
40. Un método para preparar una preparación de liberación sostenida
20 inyectable que comprende una proteína osteogénica y un material basado en hialuronano, que comprende:
- (a) mezclar la proteína osteogénica con un material basado en hialuronano para formar una mezcla;
- (b) comprimir la mezcla de la etapa (a) para formar una mezcla osteogénica
25 densa; y
- (c) formar la mezcla osteogénica densa de la etapa (b) en un bastoncillo cilíndrico sólido apropiado para inyectarlo o implantarlo en un cuerpo.
41. El método de la reivindicación 38, donde dicha etapa de formación en la
30 etapa (c) consiste en extruir, prensar, moldear, perforar y cortar para formar un bastoncillo cilíndrico con un diámetro comprendido entre 0,5 a aproximadamente 1,5 mm.

42. El método de la reivindicación 38, donde la mezcla en la etapa (a) comprende mezclar la proteína osteogénica y el material basado en hialuronano con un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.
43. El método de la reivindicación 38, donde la mezcla en la etapa (a) comprende mezclar la proteína osteogénica y el material basado en hialuronano con un bisfosfonato.
44. El método de la reivindicación 39, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por los miembros de la familia de las proteínas morfogénicas óseas (BMP).
45. El método de la reivindicación 38, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-10, BMP-12 y BMP-13.
46. El método de la reivindicación 38, donde la proteína osteogénica es BMP-2 o BMP-6.
47. El método de la reivindicación 41, donde el bisfosfonato se selecciona entre el grupo formado por alendronato, cimadronato, clodronato, EB-1053, etidronatos, ibandronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529, zolendronato, y sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, ácidos, y mezclas de los mismos.
48. El método de la reivindicación 38, donde el material basado en hialuronano comprende aproximadamente del 50 por ciento a aproximadamente el 100 por ciento de esterificación del ácido hialurónico.

49. Un método para tratar un mamífero que tiene un defecto óseo que comprende administrar al sitio del defecto óseo una cantidad eficaz de una composición osteogénica, donde la composición osteogénica comprende una proteína osteogénica y un éster de ácido hialurónico, estando dicha composición en forma de un bastoncillo cilíndrico.
50. El método de la reivindicación 47, donde el defecto óseo es un hueso osteoporótico u osteopénico.
51. El método de la reivindicación 47, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por los miembros de la familia de las proteínas morfogénicas óseas (BMP).
52. El método de la reivindicación 49, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-10, BMP-12 y BMP-13.
53. El método de la reivindicación 49, donde la proteína osteogénica es BMP-2 o BMP-6.
54. El método de la reivindicación 47, que también comprende un inhibidor de la resorción ósea.
55. El método de la reivindicación 52, donde el inhibidor de la resorción ósea es un bisfosfonato.
56. El método de la reivindicación 53, donde el bisfosfonato se selecciona entre el grupo formado por alendronato, cimadronato, clodronato, EB-1053, etidronatos, ibandronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529, zolendronato, y sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, ácidos, y mezclas de los mismos.

57. El método de la reivindicación 47, donde el éster de ácido hialurónico comprende entre aproximadamente el 50 por ciento a aproximadamente el 100 por ciento de esterificación del ácido hialurónico.
- 5 58. El método de la reivindicación 47, que también comprende un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.
- 10 59. El método de la reivindicación 47, que también comprende un inhibidor de la resorción ósea y un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.
- 15 60. Un método para tratar un mamífero que tiene in defecto óseo, donde el método comprende:
- (a) administrar al sitio del defecto óseo una cantidad eficaz de una composición osteogénica, donde la composición osteogénica comprende una proteína osteogénica y un éster de ácido hialurónico, dicha composición está en la
- 20 forma de un bastoncillo cilíndrico; y
- (b) administrar al sitio del defecto óseo una cantidad eficaz de un inhibidor de la resorción ósea.
61. El método de la reivindicación 58, donde el defecto óseo es un hueso osteoporótico u osteopénico.
- 25 62. El método de la reivindicación 58, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por los miembros de la familia de las proteínas morfogénicas óseas (BMP).
- 30 63. El método de la reivindicación 58, donde la proteína osteogénica se selecciona entre el grupo compuesto por BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7,

BMP-10, BMP-12 y BMP-13.

64. El método de la reivindicación 58, donde la proteína osteogénica es BMP-2 o BMP-6.

5

65. El método de la reivindicación 58, donde el inhibidor de la resorción ósea es un bisfosfonato.

66. El método de la reivindicación 63, donde el bisfosfonato se selecciona entre el grupo formado por alendronato, cimadronato, clodronato, EB-1053, etidronatos, ibandronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529, zolendronato, y sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, ácidos, y mezclas de los mismos.

67. El método de la reivindicación 58, donde el éster de ácido hialurónico comprende entre aproximadamente el 50 por ciento a aproximadamente el 100 por ciento de esterificación del ácido hialurónico.

68. El método de la reivindicación 58, que también comprende un excipiente seleccionado entre el grupo compuesto por sales farmacéuticamente aceptables, polisacáridos, péptidos, proteínas, aminoácidos, polímeros sintéticos, polímeros naturales, y tensioactivos.

69. El método de la reivindicación 58, donde la etapa (a) se realiza antes que la etapa (b).

70. El método de la reivindicación 58, donde la etapa (b) se realiza antes que la etapa (a).

71. El método de la reivindicación 58, donde la etapa (a) se realiza sustancialmente de manera simultánea con la etapa (b).

RESUMEN

Se describe una formulación inyectable o implantable con forma de bastoncillo para administración de proteínas osteogénicas. La formulación comprende derivados de ácido hialurónico y proteínas osteogénicas, y excipientes opcionales e ingredientes activos tales como un inhibidor de resorción ósea. También se describen métodos de preparación de composiciones farmacéuticas inyectables con forma de bastoncillo y métodos de uso de las composiciones osteogénicas para tratar hueso osteoporótico y/o osteopénico.

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 04122933 00000000

Folios: 50

Fecha (AMD): 2004-12-07 14:03:15

Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL
TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓	()	() ✓
Indicacion de que se solicita la concesion de una patente.	()	() ✓
Datos de identificacion del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	() ✓
Descripcion de la invencion.	()	() ✓
Dibujos de ser estos pertinentes. ✓	()	() ✓
Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	() ✓
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
Indicacion de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
Datos de identificacion del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
Representacion grafica o fotografica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseno.	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
Indicacion de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
Datos de identificacion del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
Representacion grafica del esquema de trazado	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable: Claudia M Neiva

Fecha:

2020

Bogotá D C

Doctor(a) A
HUMBERTO RUBIO CAMACHO
Apoderado(a)
WYETH

11582

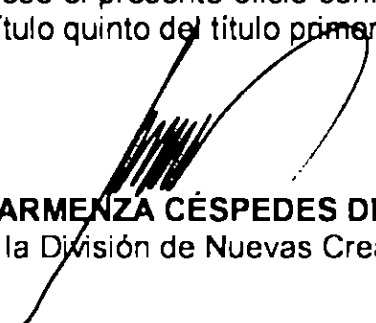
REFERENCIA:	Radicación N°	04-122903
	Solicitud internacional	PCT/US03/14609
	Fecha inicio fase nacional	2004-12-17
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- La solicitud no contiene copia del documento en que consta la cesión del derecho de patente del inventor al solicitante o a su causante (Art. 26-k Decisión 486).
- La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando éste fuere una persona jurídica.
- Si el examen preliminar Internacional contiene anexos estos deben ser anexados junto con su traducción. (Art. 36.2.b) del tratado PCT).

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior, requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha,
24 DIC 2004
202063