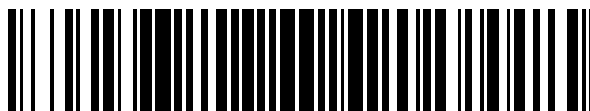


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 912**

51 Int. Cl.:
A61L 31/16 (2006.01)
A61L 31/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05821172 .3**
96 Fecha de presentación: **08.04.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1735027**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.12.2006**

54 Título: **Implantes de neurotoxina biodegradables estabilizados**

30 Prioridad:
15.04.2004 US 826441

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.11.2012

73 Titular/es:
ALLERGAN, INC. (100.0%)
2525 DUPONT DRIVE
IRVINE, CALIFORNIA 92612, US

72 Inventor/es:
HUGHES, PATRICK y
OLEJNIK, OREST

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 389 912 T3

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

DESCRIPCIÓN

Implantes de neurotoxina biodegradables estabilizados

La presente invención se refiere a implantes biodegradables. Más particularmente, la invención se refiere a implantes biodegradables que incluyen una neurotoxina que es eficaz para proporcionar un efecto terapéutico a un paciente humano o animal.

La toxina botulínica tipo A es el agente biológico natural más letal conocido por el hombre. La toxina botulínica tipo A es una neurotoxina polipeptídica producida por la bacteria anaerobia, gram positiva *Clostridium botulinum* y produce una enfermedad neuromuscular en los seres humanos y en los animales denominada botulismo. Aproximadamente 50 picogramos de una toxina botulínica tipo A comercialmente disponible (disponible de Allergan, Inc., Irvine, Calif. con la marca de fábrica BOTOX® (complejo de neurotoxina purificada) en viales de 100 unidades) es una LD₅₀ en los ratones (esto es, 1 unidad). Por lo tanto, una unidad de BOTOX contiene aproximadamente 50 picogramos (aproximadamente 56 atomoles) de complejo de toxina botulínica tipo A. Es interesante que, en una base molar, la toxina botulínica tipo A es aproximadamente 1,8 miles de millones de veces más letal que la difteria, aproximadamente 600 millones de veces más letal que el cianuro de sodio, aproximadamente 30 millones de veces más letal que la toxina de cobra y aproximadamente 12 millones de veces más letal que el cólera. Singh, *Critical Aspects of Bacterial Protein Toxins*, páginas 63-84 (capítulo 4) de *Natural Toxins II*, editado por B. R. Singh *et al.*, Plenum Press, New York (1996) (donde el enunciado de que la LD₅₀ de toxina botulínica tipo A de 0,3 ng equivale a 1 U se corrige por el hecho de que aproximadamente 0,05 ng de BOTOX equivale a 1 unidad). Una unidad (U) de toxina botulínica se define como la LD₅₀ en la inyección intraperitoneal en ratones Swiss Webster hembras con un peso de 18 a 20 gramos cada uno.

Los neurotransmisores se almacenan en vesículas sinápticas dentro del citoplasma de las neuronas y se transportan después a la membrana plasmática interna en la que las vesículas se acoplan y se fusionan con la membrana plasmática. Estudios de células nerviosas que emplean neurotoxinas clostridiales como sondas de la fusión de la membrana han revelado que la fusión de las vesículas sinápticas con la membrana celular en las células nerviosas depende de la presencia de proteínas específicas que están asociadas o con la vesícula o con la membrana diana. Estas proteínas han sido denominadas SNAREs. Una proteína denominada alternativamente sinaptobrevina o VAMP (proteína de la membrana asociada a la vesícula) es una SNARE asociada a la vesícula (v-SNARE). Hay al menos dos isoformas de sinaptobrevina; estas dos isoformas están diferencialmente expresadas en el sistema nervioso central del mamífero y se asocian selectivamente con las vesículas sinápticas en las neuronas y con las organelas secretoras en las células neuroendocrinas. Las SNAREs asociadas con la membrana diana (t-SNAREs) incluyen syntaxina y SNAP-25. Después del acoplamiento, la proteína VAMP forma un complejo central con syntaxina y SNAP-25; la formación del complejo central parece que es una etapa esencial para la fusión con la membrana. Véase Neimann *et al.*, *Trends in Cell Biol.* 4:179-185:1994.

Se han caracterizado siete neurotoxinas botulínicas en general inmunológicamente distintas, que son respectivamente los serotipos de neurotoxina botulínica A, B, C₁, D, E, F y G cada uno de los cuales se distingue por la neutralización con anticuerpos específicos del tipo. Los diferentes serotipos de toxina botulínica varían en las especies animales a las que afectan y en la duración de la parálisis que provocan. Por ejemplo, se ha determinado que la toxina botulínica tipo A es 500 veces más potente, medida como la proporción de parálisis producida en la rata, que lo es la toxina botulínica tipo B. Adicionalmente, se ha determinado que la toxina botulínica tipo B no es tóxica en los primates a una dosis de 480 U/kg que es aproximadamente 12 veces la LD₅₀ de la toxina botulínica tipo A en el primate. La toxina botulínica aparentemente se une con alta afinidad a las neuronas motoras colinérgicas, se desplaza a la neurona y bloquea la liberación de acetilcolina.

Cualquiera que sea el serotipo, el mecanismo molecular de intoxicación de la toxina parece que es similar e implica al menos tres etapas o estadios. En la primera etapa del proceso, la toxina se une a la membrana presináptica de la neurona diana a través de una interacción específica entre la cadena pesada, cadena H, y un receptor de la superficie de la célula; y se cree que el receptor es diferente para cada tipo de toxina botulínica y para la toxina tetánica. El segmento terminal carboxilo de la cadena H, H_C, parece que es importante para el acceso de la toxina a la superficie celular.

En la segunda etapa, la toxina cruza la membrana plasmática de la célula envenenada. En primer lugar la toxina es absorbida por la célula por medio de la endocitosis mediada por el receptor, y se forma un endosoma que contiene la toxina. Después la toxina escapa del endosoma hacia el citoplasma de la célula. Se cree que esta etapa está mediada por el segmento terminal amino de la cadena H, H_N, que desencadena un cambio de conformación de la toxina en respuesta a un pH de aproximadamente 5,5 o inferior. Es conocido que los endosomas tienen una bomba de protones que reduce el pH intra-endosómico. El desplazamiento conformacional expone los residuos hidrófobos de la toxina, lo que permite a la toxina incrustarse en la membrana endosómica. La toxina (o como mínimo la cadena ligera) se desplaza entonces a través de la membrana endosómica hacia el citoplasma.

La última etapa del mecanismo de la actividad de la toxina botulínica parece que implica la reducción del enlace disulfuro que une la cadena pesada, cadena H, y la cadena ligera, cadena L. Toda la actividad tóxica de las toxinas botulínica y tetánica está contenida en la cadena L de la holotoxina; la cadena L es una endopeptidasa de zinc (Zn^{++}) que escinde selectivamente las proteínas esenciales para el reconocimiento y acoplamiento de las vesículas que contienen los neurotransmisores con la superficie citoplásmica de la membrana plasmática, y la fusión de las vesículas con la membrana plasmática. La neurotoxina tetánica y las toxinas botulínicas B, D, F y G causan la degradación de la sinaptobrevina (llamada también proteína de membrana asociada a vesículas (VAMP)), una proteína de membrana sinaptosómica. La mayor parte de las VAMP presentes en la superficie citoplásmica de la vesícula sináptica se separan como resultado de cualquiera de estos sucesos de escisión. Los serotipos A y E escinden la SNAP-25. El serotipo C, se creyó en un principio que escindía la sintaxina, pero se ha encontrado que escinde la sintaxina y la SNAP-25. Cada toxina escinde específicamente un enlace diferente (excepto la tetánica y la tipo B que escinden el mismo enlace).

Las toxinas botulínicas han sido usadas en clínica para el tratamiento de trastornos neuromusculares caracterizados por la hiperactividad de los músculos esqueléticos. La toxina botulínica tipo A fue aprobada por la U.S. Food and Drug Administration en 1989 para el tratamiento del blefaroespasma, estrabismo y espasmo hemifacial. Los serotipos de toxina botulínica no tipo A tienen aparentemente una potencia menor y/o una duración más corta de la actividad en comparación con la toxina botulínica tipo A. Los efectos clínicos de la toxina botulínica tipo A intramuscular periférica se ven normalmente antes de una semana después de la inyección. La duración típica del alivio sintomático de una única inyección intramuscular de toxina botulínica tipo A es de una media de aproximadamente tres meses.

Aunque todos los serotipos de toxina botulínica inhiben aparentemente la liberación del neurotransmisor acetilcolina en la unión neuromuscular, lo hacen afectando a diferentes proteínas neurosecretoras y/o escindiendo estas proteínas en diferentes sitios. Por ejemplo, los tipos botulínicos A y E escinden ambos la proteína sinaptosómica asociada de 25 kiloDalton (kD) (SNAP-25), pero acceden a diferentes secuencias de aminoácidos dentro de esta proteína. Las toxinas botulínicas tipos B, D, F y G actúan sobre una proteína asociada a la vesícula (VAMP, llamada también sinaptobrevina), escindiendo cada serotipo la proteína en un sitio diferente. Finalmente, se ha demostrado que la toxina botulínica tipo C₁ escinde tanto la sintaxina como la SNAP-25. Estas diferencias en el mecanismo de acción pueden afectar a la potencia relativa y/o a la duración de acción de los diferentes serotipos de toxina botulínica. Aparentemente, se puede encontrar un sustrato para una toxina botulínica en una variedad de tipos diferentes de células. Véase por ejemplo, *Biochem, J* 1; 339 (pt 1): 159-65: 1999, y *Mov Disord*, 10(3):376: 1995 (las células B de islotes pancreáticos contienen al menos SNAP-25 y sinaptobrevina).

El peso molecular de la molécula de la proteína de toxina botulínica, para los siete serotipos conocidos de la toxina botulínica, es aproximadamente 150 kD. Es interesante que las toxinas botulínicas se liberan por las bacterias clostridiales como complejos que comprenden la molécula de la proteína de toxina botulínica de 150 kD junto con las proteínas no toxinas asociadas. Así, el complejo de toxina botulínica tipo A puede ser producido por las bacterias clostridiales como formas de 900 kD, 500 kD y 300 kD. Las toxinas botulínicas tipos B y C₁ son aparentemente producidas solamente como un complejo de 700 kD o de 500 kD. La toxina botulínica tipo D es producida como ambos complejos de 300 kD y de 500 kD. Finalmente, las toxinas botulínicas tipos E y F se producen solo como complejos de aproximadamente 300 kD. Los complejos (esto es, peso molecular mayor de aproximadamente 150 kD) se cree que contienen una proteína hemaglutinina no toxina y una proteína no hemaglutinina no toxina y no tóxica. Estas dos proteínas no toxinas (que junto con la molécula de toxina botulínica constituyen el complejo de neurotoxina de interés) pueden actuar para proporcionar estabilidad frente a la desnaturalización a la molécula de la toxina botulínica y protección frente a los ácidos digestivos cuando se ingiere la toxina. Adicionalmente, es posible que los complejos de toxina botulínica más grandes (mayores que aproximadamente 150 kD de peso molecular) puedan dar como resultado una velocidad de difusión más lenta de la toxina botulínica desde un sitio de inyección intramuscular de un complejo de toxina botulínica.

Los estudios *in vitro* han indicado que la toxina botulínica inhibe la liberación inducida por los cationes de potasio tanto de la acetilcolina como de la norepinefrina desde los cultivos de células primarias de tejido del tronco encefálico. Adicionalmente, se ha publicado que la toxina botulínica inhibe la liberación provocada de ambos glicina y glutamato en los cultivos primarios de las neuronas de la médula espinal y que en las preparaciones de sinaptosomas cerebrales la toxina botulínica inhibe la liberación de cada uno de los neurotransmisores acetilcolina, dopamina, norepinefrina (Habermann E., *et al.*, Tetanus Toxin and Botulinum A and C Neurotoxins Inhibit Noradrenaline Release From Cultured Mouse Brain, *J Neurochem* 51 (2):522-527:1988) CGRP, sustancia P y glutamato (Sanchez-Prieto, J., *et al.*, Botulinum Toxin A Blocks Glutamate Exocytosis From Guinea Pig Cerebral Cortical Synaptosomes, *Eur J. Biochem* 165:675-681 :1987). Así, cuando se utilizan concentraciones adecuadas, la liberación provocada por el estímulo de la mayor parte de los neurotransmisores es bloqueada por la toxina botulínica. Véase por ejemplo Pearce, L.B., Pharmacologic Characterization of Botulinum Toxin For Basic Science and Medicine, *Toxicon* 35(9); 1373-1412 a 1393 (1997); Bigalke H., *et al.*, Botulinum A Neurotoxin Inhibits Non-Cholinergic Synaptic Transmission in Mouse Spinal Cord Neurons in Culture, *Brain Research* 360:318-324:1985; Habermann E., Inhibition by Tetanus and Botulinum A Toxin of the Release of [³H]Noradrenaline and [³H]GABA From

Rat Brain Homogenate, *Experientia* 44:224-226: 1988, Bigalke H., *et al.*, Tetanus Toxin and Botulinum A Toxin Inhibit Release and Uptake of Various Transmitters, as Studied with Particulate Preparations From Rat Brain and Spinal Cord, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 316:244-251:1981, y; Jankovic J. *et al.*, Therapy With Botulinum Toxin, Marcel Dekker, Inc., (1994), página 5.

5 La toxina botulínica tipo A se puede obtener estableciendo y haciendo crecer cultivos de *Clostridium botulinum* en un fermentador y cosechando y purificando después la mezcla fermentada de acuerdo con procedimientos conocidos. Todos los serotipos de toxina botulínica se sintetizan inicialmente como proteínas inactivas de cadena única que pueden ser escindidas o melladas por proteasas para llegar a ser neuroactivas. Las cepas bacterianas que fabrican los serotipos A y G de toxina botulínica tienen proteasas endógenas y por tanto los serotipos A y G pueden ser recuperados de los cultivos bacterianos predominantemente en sus formas activas. Por contraste, los serotipos C₁, D y E de toxina botulínica se sintetizan por cepas no proteolíticas y están por tanto típicamente inactivados cuando se recuperan del cultivo. Los serotipos B y F son producidos tanto por cepas proteolíticas como por cepas no proteolíticas y por tanto se pueden recuperar en la forma activa o inactiva. Sin embargo, incluso las cepas proteolíticas que producen, por ejemplo, el serotipo de toxina botulínica tipo B escinden solamente una porción de la toxina producida. La proporción exacta de moléculas melladas a no melladas depende del tiempo de incubación y de la temperatura del cultivo. Por lo tanto, es probable que cierto porcentaje de cualquier preparación de, por ejemplo, la toxina botulínica tipo B sea inactivo, posiblemente explicando la potencia significativamente más baja de toxina botulínica tipo B en comparación con la toxina botulínica tipo A. La presencia de moléculas de toxina botulínica inactivas en una preparación clínica contribuirá a la carga global de proteínas de la preparación, que ha sido ligada a un aumento de la antigenicidad, sin contribuir a su eficacia clínica. Adicionalmente, es conocido que la toxina botulínica tipo B tiene, después de inyección intramuscular, una duración de actividad más corta y es también menos potente que la toxina botulínica tipo A al mismo nivel de dosis.

Se puede producir toxina botulínica tipo A cristalina de alta calidad a partir de la cepa Hall A de *Clostridium botulinum* con características de $\geq 3 \times 10^7$ U/mg, una A₂₆₀/A₂₇₈ de menos de 0,60 y un modelo definido de bandas en la electroforesis en gel. Se puede utilizar el conocido procedimiento de Shantz para obtener toxina botulínica tipo A cristalina, como se indica en Shantz, E. J., *et al*, Properties and Use of Botulinum Toxin and Other Microbial Neurotoxins in Medicine, *Microbiol Rev.* 56; 80-99:1992. Generalmente, se puede aislar y purificar el complejo de toxina botulínica tipo A a partir de una fermentación anaeróbica cultivando *Clostridium botulinum* tipo A en un medio adecuado. Se puede utilizar también el procedimiento conocido, por separación de las proteínas no toxinas, para obtener toxinas botulínicas puras, tales como por ejemplo: toxina botulínica tipo A purificada con un peso molecular de aproximadamente 150 kD con una potencia específica de $1-2 \times 10^8$ LD₅₀ U/mg o mayor; toxina botulínica tipo B purificada con un peso molecular de aproximadamente 156 kD con una potencia específica de $1-2 \times 10^8$ LD₅₀ U/mg o mayor, y; toxina botulínica tipo F purificada con un peso molecular de aproximadamente 155 kD con una potencia específica de $1-2 \times 10^7$ LD₅₀ U/mg o mayor.

35 Las toxinas botulínicas y/o los complejos de toxina botulínica se pueden obtener de varias fuentes, incluyendo List Biological Laboratories, Inc., Campbell, Calif.; the Centre for Applied Microbiology and Research, Porton Down, U.K.; Wako (Osaka, Japan), MetabioLogics (Madison, Wis.) así como de Sigma Chemicals de St. Louis, Mo.

La toxina botulínica pura es tan lábil que generalmente no se usa para preparar una composición farmacéutica. Además, los complejos de toxina botulínica, tales como el complejo de toxina tipo A son también sumamente susceptibles a la desnaturalización debido a la desnaturalización de la superficie, calor y condiciones alcalinas. La toxina inactivada forma proteínas toxoides que pueden ser inmunógenas. Los anticuerpos resultantes pueden hacer que un paciente se vuelva refractario a la inyección de toxina.

Lo mismo que con las enzimas, generalmente las actividades biológicas de las toxinas botulínicas (que son peptidasas intracelulares) son dependientes, al menos en parte, de su conformación tridimensional. Así, la toxina botulínica tipo A se detoxifica por el calor, estiramiento de la superficie por diferentes compuestos químicos y secado de la superficie. Adicionalmente, es sabido que la dilución del complejo de la toxina obtenido por el conocido cultivo, fermentación y purificación hasta las concentraciones de toxina muchísimo más bajas usadas para la formulación de la composición farmacéutica produce una rápida detoxificación de la toxina a menos que esté presente un agente estabilizante adecuado. La dilución de la toxina desde cantidades en miligramos hasta una solución que contiene nanogramos por mililitro presenta dificultades importantes debido a la rápida pérdida de toxicidad específica después de una dilución tan grande. Adicionalmente, la toxina se puede usar durante meses o años después de que haya sido formulada la composición farmacéutica que contiene la toxina. Significativamente, es sabido que la toxina se puede estabilizar durante los procedimientos de fabricación y de composición así como durante el almacenamiento mediante el uso de un agente estabilizante tal como albúmina y gelatina.

55 La toxina botulínica comercialmente disponible, comercializada con la marca de fábrica BOTOX (disponible de Allergan, Inc., de Irvine, Calif.) consiste en un complejo de toxina botulínica tipo A, albúmina y cloruro de sodio, purificado y liofilizado, envasado en una forma estéril, secada a vacío. La toxina botulínica tipo A se prepara a partir de un cultivo de la cepa Hall de *Clostridium botulinum* cultivado en un medio que contiene amina N-Z y extracto de levadura. El complejo de toxina botulínica tipo A se purifica a partir de la solución de cultivo por una serie de

precipitaciones con ácido hasta un complejo cristalino que consiste en la proteína de toxina activa de alto peso molecular y una proteína hemaglutinina asociada. El complejo cristalino se vuelve a disolver en una solución que contiene solución salina y albúmina y que se ha sometido a filtración estéril (0,2 micras) antes del secado a vacío. El producto secado a vacío se conserva en un congelador a -5 °C o por debajo. El BOTOX se puede reconstituir con solución salina estéril, sin conservantes antes de la inyección intramuscular. Cada vial de BOTOX contiene aproximadamente 100 unidades (U) de complejo de neurotoxina purificado de toxina de *Clostridium botulinum* tipo A, 0,5 miligramos de seroalbúmina humana y 0,9 miligramos de cloruro de sodio, en una forma estéril, secada a vacío, sin conservantes.

Para reconstituir el BOTOX secado a vacío, se utiliza solución salina normal estéril sin conservantes (cloruro de sodio al 0,9 % inyectable) tomando la cantidad apropiada de diluyente en una jeringa de tamaño apropiado. Puesto que el BOTOX puede ser desnaturalizado por burbujeo o una agitación violenta similar, el diluyente se inyecta suavemente en el vial. Por razones de esterilidad preferiblemente se administra el BOTOX antes de cuatro horas desde que el vial se saca del congelador y se reconstituye. Durante estas cuatro horas, el BOTOX reconstituido se puede conservar en un refrigerador de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 8 °C. El BOTOX reconstituido o refrigerado, conserva su potencia durante al menos dos semanas. *Neurology*, 48:249-53:1997.

Se ha publicado que la toxina botulínica tipo A ha sido usada en diferentes entornos clínicos, incluyendo los siguientes:

(1) aproximadamente 75-125 unidades de BOTOX por inyección intramuscular (múltiples músculos) para tratar la distonía cervical;

(2) 5-10 unidades de BOTOX por inyección intramuscular para tratar las líneas glabellares (arrugas de la frente) (5 unidades inyectadas intramuscularmente en el músculo prócero y 10 unidades inyectadas intramuscularmente en cada músculo corrugador superciliar);

(3) aproximadamente 30-80 unidades de BOTOX para tratar el estreñimiento por inyección intraesfínter del músculo puborrectal;

(4) aproximadamente 1-5 unidades por músculo de BOTOX inyectado por vía intramuscular para tratar el blefaroespasma inyectando en el músculo ocular orbicular pretarsal lateral del párpado superior y el ocular orbicular pretarsal lateral del párpado inferior;

(5) para tratar el estrabismo, se ha inyectado en los músculos extraoculares por vía intramuscular entre aproximadamente 1-5 unidades de BOTOX, variando la cantidad inyectada en base tanto al tamaño del músculo a ser inyectado como al grado de parálisis muscular deseado (es decir, la cantidad de corrección de dioptrías deseada);

(6) para tratar la espasticidad de una extremidad superior después de un ictus por inyecciones intramusculares de BOTOX en cinco músculos flexores diferentes de la extremidad superior, del siguiente modo:

(a) flexor *digitorum profundus*: 7,5 U a 30 U

(b) flexor *digitorum sublimis*: 7,5 U a 30 U

(c) flexor *carpi ulnaris*: 10 U a 40 U

(d) flexor *carpi radialis*: 15 U a 60 U

(e) *biceps brachii*: 50 U a 200 U.

Cada uno de los cinco músculos indicados ha sido inyectado en la misma sesión de tratamiento, de modo que el paciente recibe de 90 U a 360 U de BOTOX en el músculo flexor de la extremidad superior por inyección intramuscular en cada sesión de tratamiento;

(7) para tratar la migraña, la inyección pericraneal (inyectada simétricamente en los músculos glabellar, frontal y temporal) de 25 U de BOTOX ha mostrado un beneficio significativo como tratamiento profiláctico de la migraña en comparación con el vehículo, medido por la reducción de las medidas de la frecuencia de la migraña, la gravedad máxima, los vómitos asociados y el uso de medicación aguda durante el periodo de tres meses después de la inyección de 25 U.

Es sabido que la toxina botulínica tipo A puede tener una eficacia de hasta 12 meses (*European J. Neurology* 6 (Supp 4): S111-S1150:1999), y en algunas circunstancias durante tanto tiempo como 27 meses, (*The Laryngoscope* 109: 1344-1346:1999). Sin embargo, la duración usual del efecto paralítico de una inyección intramuscular de BOTOX es típicamente de aproximadamente 3 a 4 meses.

El éxito de la toxina botulínica tipo A para tratar una variedad de condiciones clínicas ha llevado a interesarse en otros serotipos de la toxina botulínica. Se ha realizado un estudio de dos preparaciones de toxina botulínica tipo A comercialmente disponibles (BOTOX y DYSPORT®) y de preparaciones de las toxinas botulínicas tipo B y F (obtenidas ambas de Wako Chemicals, Japan) para determinar la eficacia de debilitamiento local del músculo, la seguridad y el potencial antigénico. Las preparaciones de toxina botulínica se inyectaron en la cabeza del músculo gastrocnemio derecho (0,5 a 200,0 unidades/kg) y se evaluó la debilidad del músculo usando el ensayo de puntuación de abducción digital del ratón (DAS). Se calcularon los valores ED₅₀ a partir de curvas dosis-respuesta. Se pusieron inyecciones intramusculares a ratones adicionales para determinar las dosis LD₅₀. El índice terapéutico se calculó como LD₅₀/ED₅₀. Grupos separados de ratones recibieron en los miembros traseros inyecciones de BOTOX (5,0 a 10,0 unidades/kg) o de toxina botulínica tipo B (50,0 a 400,0 unidades/kg), y se les hicieron pruebas

para evaluar la debilidad muscular y el aumento del consumo de agua, siendo este último un modelo supuesto de la sequedad bucal. El potencial antigénico se evaluó mediante inyecciones intramusculares mensuales en conejos (1,5 ó 6,5 ng/kg para la toxina botulínica tipo B o 0,15 ng/kg para BOTOX). Los picos de debilidad muscular y la duración de la misma estuvieron relacionados con la dosis en todos los serotipos. Los valores ED50 (unidades/kg) de DAS fueron los siguientes: BOTOX: 6,7, DYSPORT: 24,7, toxina botulínica tipo B: 27,0 a 244,0, toxina botulínica tipo F: 4,3. BOTOX tuvo una duración de acción mayor que la toxina botulínica tipo B o la toxina botulínica tipo F. Los valores del índice terapéutico fueron los siguientes: BOTOX: 10,5, DYSPORT 6,3, toxina botulínica tipo B: 3,2. El consumo de agua fue superior en los ratones inyectados con toxina botulínica tipo B que con BOTOX, aunque la toxina botulínica tipo B fue menos eficaz para debilitar los músculos. Después de cuatro meses de inyecciones, 2 de 4 conejos (cuando se trataron con 1,5 ng/kg) y 4 de 4 conejos (cuando se trataron con 6,5 ng/kg) desarrollaron anticuerpos contra la toxina botulínica tipo B. En un estudio separado, 0 de 9 conejos tratados con BOTOX demostraron anticuerpos contra la toxina botulínica tipo A. Los resultados de DAS indican que los picos de las potencias relativas de la toxina botulínica tipo A son iguales a los de la toxina botulínica tipo F, y la toxina botulínica tipo F es mayor que la toxina botulínica tipo B. Con respecto a la duración del efecto, la de la toxina botulínica tipo A fue mayor que la de la toxina botulínica tipo B, y la duración del efecto de la toxina botulínica tipo B fue mayor que la de la toxina botulínica tipo F. Como demuestran los valores de índice terapéutico, las dos preparaciones comerciales de toxina botulínica tipo A (BOTOX y DYSPORT) son diferentes. El comportamiento de aumento del consumo de agua observado tras la inyección en los miembros posteriores de toxina botulínica tipo B indica que cantidades clínicamente significativas de este serotipo entraron en el sistema circulatorio del ratón. Los resultados indican también que para alcanzar una eficacia comparable a la de la toxina botulínica tipo A, es necesario aumentar las dosis de los otros serotipos examinados. El aumento de la dosis puede comprometer la seguridad. Además, en los conejos, el tipo B fue más antigénico que BOTOX, posiblemente debido a la mayor carga de proteína inyectada para lograr una dosis eficaz de toxina botulínica tipo B. Eur J Neurol 1999 Nov; 6 (Suppl 4): S3-S10.

Además de tener acciones farmacológicas en un lugar periférico, una toxina botulínica también puede presentar un efecto de denervación en el sistema nervioso central. Wiegand *et al.*, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1976; 292, 161-165, y Habermann, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol, 1974; 281, 47-56 informaron que la toxina botulínica puede ascender al área espinal por transporte retrógrado. Así, una toxina botulínica inyectada en un lugar periférico, por ejemplo por vía intramuscular, potencialmente puede llegar por transporte retrógrado a la médula espinal.

La patente de Estados Unidos Nº 5.989.545 describe que una neurotoxina clostridial modificada o un fragmento de ella, preferentemente una toxina botulínica, conjugada químicamente o fusionada de manera recombinante con un resto diana particular se puede usar para tratar el dolor mediante administración del agente a la médula espinal.

Típicamente, el uso terapéutico de una toxina botulínica es por inyección subcutánea o intramuscular de una solución acuosa de una toxina botulínica tipo A o B. Se puede administrar una inyección repetida cada 2-4 meses para mantener una eficacia terapéutica de la toxina (esto es una reducción del espasmo muscular en el sitio de la inyección o en sus proximidades). Cada administración de una dosis de una toxina botulínica a un paciente requiere por tanto que el propio paciente visite a su médico a intervalos regulares. Desafortunadamente, los pacientes pueden olvidar o ser incapaces de cumplir las citas y los programas del médico pueden hacer que el cuidado periódico regular durante muchos años, sea difícil de mantener de manera consistente. Adicionalmente, el requerimiento de 3-6 inyecciones de toxina al año sobre una base continua aumenta el riesgo de infección o de inexactitudes en la prescripción al paciente.

La administración sostenida, pulsátil o multifásica de compuestos farmacéuticamente activos a partir de sistemas de administración de fármacos bioerosionables es conocida. La cinética de liberación de los agentes terapéuticos en dichos sistemas de administración de fármacos se puede controlar por difusión del agente terapéuticamente activo dentro de una matriz polimérica y subsiguiente difusión en sentido contrario de agua, mediante degradación química del sistema de administración, o activación química o activación por disolvente. Un estímulo externo puede controlar también la liberación de dichos agentes terapéuticos. Ejemplos de tales estímulos incluyen la corriente eléctrica, ultrasonidos, luz, o factores térmicos.

Los polímeros bioerosionables se pueden utilizar para formar implantes y micropartículas monolíticos homogéneos o heterogéneos, implantes o micropartículas controlados por membrana, sistemas de administración en multietapas o combinaciones de estos. Los polímeros de tales implantes pueden ser naturales o sintéticos y pueden incluir poliésteres, poli (orto ésteres) o polianhídridos. Los polímeros específicos incluyen ácido poli-láctico (PLA), poli (lactida-co-glicolida) (PLGA), ácido poli-L-láctico (PLLA), policaprolactona y poli (orto acetato).

Los implantes de PLGA y PLA se degradan por hidrólisis de sus enlaces éster. Estos poliésteres se degradan por erosión y requieren una difusión inicial de agua en el polímero antes de la hidrólisis. Las variables del polímero que afectan a la degradación incluyen las proporciones de los monómeros poli (lactida-co-glicolida), el grado de cristalinidad, la composición enantiomérica del polímero, el grado de hidrofobicidad del implante, el peso molecular del polímero, el porcentaje de grupos terminales libres de ácido carboxílico y la presencia de catalizadores. El mecanismo de hidrólisis implica la hidratación, seguida por escisión aleatoria de la cadena sin pérdida de peso

molecular y finalmente degradación hasta los monómeros de ácido láctico y ácido glicólico una vez que el peso molecular del polímero se aproxima al veinte por ciento de su valor original. Las cubiertas terminales libres de ácido carboxílico del polímero que se degrada pueden reducir ligeramente el pH del microentorno del polímero. Sin embargo, la velocidad de aumento de la acidez del microentorno es variable debido a la naturaleza no homogénea y aleatoria de la escisión de la cadena inicial. La degradación completa hace que el pH del sistema polimérico baje hasta 3 a 4.

5

Los excipientes ácidos y básicos han sido incorporados en PLGA, poli (orto éster) y otros polímeros de poliéster para catalizar la degradación del polímero. Desafortunadamente, estos excipientes tienden a difundirse fuera de los implantes poliméricos y causar problemas de tolerancia.

10 Las proteínas deben mantener estructuras terciarias y cuaternarias altamente organizadas para mantener su actividad biológica. Se requiere difusión en contra de agua, en grados variables, para la liberación de fármacos desde los implantes poliméricos más bioerosionables. La hidratación de proteínas y péptidos durante períodos prolongados de tiempo a temperatura fisiológica como ocurre con la liberación sostenida o prolongada a partir de implantes biodegradables puede causar la desnaturalización o la degradación de la proteína.

15 Se sabe que la toxina botulínica es inestable en condiciones neutras y alcalinas. Las proteínas toxoides procedentes de la toxina inactivada no solamente son no terapéuticas sino que pueden provocar una respuesta inmune que hace que un paciente sea refractario a la terapia con toxina.

20 La patente de Estados Unidos N° 6.440.460 describe una composición farmacéutica para la liberación controlada de agentes terapéuticos a partir de polímeros de orto éster de ácido carboxílico. La composición contiene una sal farmacéuticamente aceptable de un ácido, que junto con el ácido R1-COOH liberado de la descomposición del polímero de orto éster forma un sistema tampón en un intervalo de pH fisiológicamente aceptable. Por lo tanto, esta patente describe una composición que es eficaz para mantener un pH fisiológico para mejorar la tolerancia al implante.

25 La patente de Estados Unidos N° 6.281.015 enseña la administración de péptidos bioactivos con células trasplantadas mediante el uso de sistemas de administración en micropartículas bioerosionables y el documento US 2004/0033241 A1 describe un sistema de toxina botulínica que comprende: (a) un vehículo y; (b) una toxina botulínica asociada con el vehículo, formando así un sistema de toxina botulínica, en el que la toxina botulínica puede ser liberada del vehículo después de la implantación del sistema de toxina botulínica en un paciente humano.

30 La patente de Estados Unidos N° 6.506.399 describe un sistema de liberación controlada para la liberación multifásica, *in vivo* de cantidades terapéuticas de toxina botulínica en un paciente humano durante un periodo de tiempo prolongado. El sistema de liberación controlada puede contener una pluralidad de toxina botulínica que incorpora microesferas poliméricas.

Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de sistemas de administración de fármacos, tales como los implantes, que sean capaces de mantener una neurotoxina en una forma estabilizada ya que el implante se degrada.

35 **Sumario de la invención**

Se han descubierto nuevas composiciones y métodos para tratar a pacientes. Las presentes composiciones incluyen una o más neurotoxinas incorporadas en un implante biodegradable. Las neurotoxinas se mantienen en una forma estabilizada de manera que se pueda mantener la actividad biológica de las neurotoxinas durante extensos períodos de tiempo para alcanzar uno o más efectos terapéuticos. Los beneficios asociados con los implantes que contienen una neurotoxina con actividad biológica sostenida se deberían manifestar como un mejor seguimiento por parte del paciente, un aumento de la calidad de vida, un mejor resultado terapéutico y una reducción de la incidencia de efectos secundarios y de complicaciones.

40

45 En una realización amplia, un implante de neurotoxina biodegradable comprende un componente de neurotoxina, un componente polimérico biodegradable, y un componente regulador de la acidez. El componente de neurotoxina se asocia con el componente polimérico biodegradable. Por ejemplo, el componente de neurotoxina se puede mezclar, amasar, homogeneizar con el componente polimérico biodegradable o se puede dispersar en el mismo. El componente polimérico biodegradable es eficaz para controlar la liberación de la neurotoxina desde el implante cuando el implante está localizado en el cuerpo de un paciente. El componente regulador de la acidez es eficaz para establecer *in vivo* un pH en la proximidad del componente de neurotoxina asociado con el implante de menos de aproximadamente 7. Por ejemplo, el componente regulador de la acidez se puede proporcionar en una cantidad eficaz para mantener el pH del implante en un valor inferior a aproximadamente 7 cuando el implante está localizado en el cuerpo de un paciente.

50

El componente de neurotoxina puede comprender una o más neurotoxinas. En ciertas realizaciones, el componente de neurotoxina comprende una toxina botulínica, tal como una toxina botulínica seleccionada de un grupo que

consiste en toxinas botulínicas tipos A, B, C₁, D, E, F, y G. El componente de neurotoxina puede comprender también derivados terapéuticamente activos de una neurotoxina.

5 El componente polimérico biodegradable puede incluir uno o más polímeros biodegradables. Algunos ejemplos de polímeros biodegradables adecuados incluyen poliésteres, poli (orto ésteres), y polianhídridos, y mezclas de los mismos.

10 El componente regulador de la acidez puede incluir al menos uno de los monómeros y oligómeros biodegradables. En ciertas realizaciones, los monómeros son sustancialmente idénticos a las unidades monoméricas de los oligómeros. En otras realizaciones, los monómeros y las unidades monoméricas de los oligómeros son sustancialmente idénticos a las unidades monoméricas del polímero biodegradable del componente polimérico biodegradable. En otras realizaciones, los monómeros y las unidades monoméricas son diferentes unos de otros.

15 En una realización, un implante de neurotoxina biodegradable comprende un componente de neurotoxina que comprende una toxina botulínica tipo A; un componente polimérico biodegradable que incluye al menos un polímero biodegradable eficaz para regular la liberación de la toxina botulínica tipo A desde el implante; y un componente regulador de la acidez que incluye (i) monómeros de los que se deriva un polímero biodegradable, y (ii) oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a los monómeros.

Estos y otros aspectos y ventajas de la presente invención son evidentes en la siguiente descripción detallada, ejemplos y reivindicaciones.

Descripción detallada

Las siguientes definiciones se aplican en la presente memoria.

20 "Aproximadamente" significa más o menos diez por ciento del valor así calificado.

"Biocompatible" significa que hay una respuesta inflamatoria insignificante o clínicamente aceptable en el sitio de implantación derivada del uso del implante.

25 "Cantidad eficaz" aplicada a un compuesto biológicamente activo, tal como un agente terapéutico, significa aquella cantidad del compuesto que es generalmente suficiente para producir un cambio deseado en el sujeto. Por ejemplo, cuando el efecto deseado es la parálisis muscular flácida, una cantidad eficaz del compuesto, tal como una neurotoxina, es aquella cantidad que produce al menos una parálisis sustancial de los músculos deseados sin provocar una parálisis sustancial del músculo adyacente del que no se desea la parálisis, y sin producir una reacción de toxicidad sistémica significativa.

30 "Cantidad eficaz" aplicada a un ingrediente no activo constituyente de un implante (tal como un polímero usado para formar una matriz o una composición de recubrimiento) se refiere a aquella cantidad del ingrediente no activo constituyente que es suficiente para influir positivamente en la liberación de un agente biológicamente activo o agente terapéutico a la velocidad deseada durante un período de tiempo deseado. Por ejemplo, cuando el efecto deseado es la parálisis muscular usando un único implante, la "cantidad eficaz" es la cantidad que puede facilitar la extensión de la liberación durante un período de entre aproximadamente 60 días y 6 años. Esta "cantidad eficaz" se puede determinar basándose en las enseñanzas de esta memoria descriptiva y en el conocimiento general de la técnica.

35 "Implante" significa una composición o sistema de administración de liberación controlada (por ejemplo, pulsátil o continua) de un fármaco. El implante se puede inyectar, insertar o implantar en el cuerpo humano.

40 "Administración local" significa la administración directa de un agente terapéutico, tal como una neurotoxina a un tejido por una vía no sistémica. La administración local incluye por tanto la administración subcutánea, intramuscular, intraespinal (es decir, intratecal y epidural), intracraneal e intraglandular. La administración local excluye una vía sistémica de administración tal como la administración oral o intravenosa.

"Asociado con" significa mezclado con, combinado con, amasado con, homogeneizado con, dispersado dentro de, acoplado con, o disuelto en.

45 "Establecer" un pH se define como provocar la aparición de un pH de menos de aproximadamente 7 y/o mantener un pH de menos de aproximadamente 7 durante un período de tiempo, tal como (a) entre 1 día y 1 año, o (b) mantener un pH suficiente para evitar la formación de una cantidad de toxoide de neurotoxina (por ejemplo, una neurotoxina desnaturalizada) capaz de producir una respuesta inmune en el receptor del implante.

50 "Neurotoxina" significa un agente que puede interrumpir la transmisión de impulsos nerviosos a través de una unión neuromuscular o neuroglandular, bloquear o reducir la exocitosis neuronal de un neurotransmisor o alterar el potencial de acción en un puerto de voltaje de un canal de sodio de una neurona. Los ejemplos de neurotoxinas

- 5 incluyen las toxinas botulínicas, toxinas tetánicas, saxitoxinas, y tetrodotoxina. Las neurotoxinas de acuerdo con la presente descripción son preferiblemente no citotóxicas, por ejemplo, la administración de las neurotoxinas no mata ni destruye directamente las células a las que afectan las neurotoxinas. Las neurotoxinas excluyen específicamente los toxoides, tales como un toxoide botulínico, que se puede usar como un antígeno con el fin de conferir inmunidad a la neurotoxina mediante el desarrollo de anticuerpos (respuesta inmunitaria) debido a la inmunogenicidad del toxoide.
- “Tratamiento” significa cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, e incluye: (i) prevenir la aparición de la enfermedad o (ii) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; (iii) aliviar la enfermedad, es decir, reducir la incidencia de los síntomas o producir una regresión de la enfermedad.
- 10 La presente invención incluye implantes biodegradables que contienen neurotoxina que proporcionan tratamiento a un paciente humano o animal. De acuerdo con esta descripción, se indica que los implantes son eficaces para mantener la estabilidad de la neurotoxina *in vivo* cuando el implante se degrada. De este modo, los implantes proporcionan períodos prolongados de actividad terapéutica a un paciente humano o animal al que se administran tales implantes.
- 15 En general, los presentes implantes comprenden un componente de neurotoxina, un componente polimérico biodegradable, y un componente regulador de la acidez. El componente polimérico biodegradable típicamente es eficaz para controlar la liberación de la neurotoxina desde el implante cuando el implante está localizado en el cuerpo de un paciente. El componente regulador de la acidez es eficaz para establecer *in vivo* un pH en la proximidad del componente de neurotoxina asociado con el implante de menos de aproximadamente 7. El pH puede ser el pH del interior del implante, o de una región alrededor de un implante en degradación, tal como una región que engloba una distancia de menos de aproximadamente 10 mm alrededor del implante. En ciertas realizaciones, el componente regulador de la acidez se proporciona en una cantidad eficaz para mantener el pH del implante en un valor menor de aproximadamente 7, tal como menos de 7,4, cuando el implante está localizado en el cuerpo de un paciente.
- 20 El implante se puede proporcionar en una variedad de formas. En una realización, el implante incluye una matriz del componente de neurotoxina, el componente polimérico biodegradable, y el componente regulador de la acidez. En otra realización, el implante puede incluir regiones discretas, tales como una porción externa y una porción central, con diferentes cantidades de uno o más de los componentes del implante. En otra realización más, el implante puede incluir una pluralidad de poros que se extienden a través de cualquier otro material sólido, siendo los poros eficaces para facilitar la degradación del implante cuando el implante está localizado en el cuerpo de un paciente. O el componente de neurotoxina está sustancialmente uniformemente distribuido en el componente polimérico biodegradable, o el componente regulador de la acidez está sustancialmente uniformemente distribuido en el componente polimérico biodegradable, o bien ambos el componente de neurotoxina y el componente regulador de la acidez están sustancialmente distribuidos uniformemente en el componente polimérico biodegradable.
- 25 Como se describe en esta memoria, el componente de neurotoxina puede incluir o comprender un único tipo de neurotoxina, o el componente de neurotoxina puede incluir una combinación de dos o más tipos de neurotoxinas. La neurotoxina o neurotoxinas del componente de neurotoxina pueden ser naturales o sintéticas (por ejemplo, se pueden producir usando tecnologías recombinantes). El componente de neurotoxina puede incluir derivados terapéuticamente activos de una neurotoxina. Los derivados incluyen fragmentos de neurotoxina terapéuticamente activos. Los derivados de neurotoxina incluyen agentes tipo neurotoxina que son estructural o funcionalmente similares a una neurotoxina. Los derivados de neurotoxina se pueden identificar utilizando métodos rutinarios conocidos por los expertos en la técnica, tales como los métodos que evalúan la potencia o letalidad de una toxina botulínica, tal como una toxina botulínica tipo A.
- 30 En ciertas realizaciones, el componente de neurotoxina incluye una neurotoxina clostridial, tal como una neurotoxina sintetizada por una o más de las siguientes bacterias: *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum*, y *Clostridium beratti*. En una realización, una neurotoxina del componente de neurotoxina es una toxina botulínica. Más específicamente, el componente de neurotoxina puede incluir una o más toxinas botulínicas seleccionadas del grupo que consiste en toxinas botulínicas tipos A, B, C₁, D, E, F, y G. En una realización específica, el implante incluye una toxina botulínica tipo A. Las toxinas botulínicas pueden ser naturales o fabricadas sintéticamente, tales como las toxinas botulínicas recombinantes. En adición, las toxinas botulínicas se pueden proporcionar en el implante como un complejo, o como preparaciones aisladas de toxina. Por lo tanto, el componente de neurotoxina del implante puede consistir esencialmente en una toxina botulínica tipo A, o un derivado biológicamente activo de la misma, o el componente de neurotoxina puede consistir esencialmente en una toxina botulínica tipo A, y una o más toxinas botulínicas tipo B, C₁, D, E, F, o G.
- 35 La cantidad de neurotoxina que se puede proporcionar en el implante es suficiente para alcanzar el efecto terapéutico deseado en un paciente, por ejemplo, un cantidad eficaz. La cantidad de neurotoxina se puede ajustar dependiendo de la afección a tratar, del tipo de neurotoxina a ser utilizado, de la duración del tratamiento, y del número de diferentes neurotoxinas presentes en el implante, entre otras cosas. Por ejemplo, en algunas

realizaciones, el implante puede comprender una cantidad de una toxina botulínica entre aproximadamente 1 unidad y aproximadamente 500.000 unidades. En una realización más específica, el implante comprende una cantidad de toxina botulínica tipo A entre aproximadamente 10 unidades y aproximadamente 2000 unidades. La cantidad de una toxina botulínica requerida para la eficacia terapéutica puede variar según la potencia clínica conocida de los diferentes serotipos de toxina botulínica. Por ejemplo, se requieren típicamente varios órdenes de magnitud de más unidades de una toxina botulínica tipo B para alcanzar un efecto fisiológico comparable al alcanzado en el uso de una toxina botulínica tipo A.

El componente polimérico biodegradable del implante puede incluir o comprender un único polímero biodegradable, o el componente polimérico biodegradable puede incluir una combinación de dos o más polímeros diferentes biodegradables. El componente polimérico biodegradable incluye uno o más polímeros que se degradan con el tiempo en condiciones fisiológicas de diferentes entornos en el cuerpo de un paciente.

En ciertas realizaciones, los polímeros se degradan preferiblemente a un pH sustancialmente neutro, tal como un pH de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 7,4. En otras realizaciones, los polímeros pueden tener una velocidad de degradación aumentada o reducida en condiciones relativamente más ácidas. Los polímeros son preferiblemente biocompatibles y no generan un efecto adverso en el paciente al que se coloca el implante.

En algunas realizaciones, el componente polimérico biodegradable incluye al menos un polímero seleccionado de un grupo de polímeros que consiste en poliésteres, poli (orto ésteres), y polianhídridos. Por ejemplo, el componente polimérico biodegradable puede comprender una mezcla de un poliéster y un polianhídrido. Más específicamente, algunos implantes pueden incluir un componente polimérico biodegradable que comprende al menos un polímero seleccionado del grupo que consiste en ácido poli-láctico (PLA), poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), ácido poli-L-láctico (PLLA), policaprolactona, y poli (orto acetato). En una realización, el componente polimérico biodegradable del implante comprende una pluralidad de diferentes polímeros biodegradables.

Otros polímeros biodegradables adecuados para el implante pueden incluir polímeros de colágenos, ácidos poli(glicólicos), policarbonatos, poliésteramidas, poli(aminoácidos), policianoacrilatos, poli(p-dioxanona), poli(alquileo oxalatos), poliuretanos biodegradables, mezclas y copolímeros de los mismos.

Los polímeros PLGA biodegradables han sido usados para formar suturas reabsorbibles y placas para huesos y en varias formulaciones de micropartículas comerciales. Los PLGA se pueden degradar para producir ácido láctico y ácido glicólico y están comercialmente disponibles en una variedad de grupos de peso molecular y grupos terminales de polímeros (por ejemplo alcohol láurico o ácido libre). Los polianhídridos son otro grupo de polímeros que han sido aprobados para uso en los seres humanos, y han sido utilizados para administrar proteínas y antígenos. A diferencia de los PLGA, los polianhídridos se degradan por erosión superficial, liberando la neurotoxina atrapada en la superficie del vehículo.

En algunas realizaciones, el componente polimérico biodegradable del implante incluye un polímero que incluye al menos un enlace éster. La biodegradación de dicho polímero tiene lugar por hidrólisis del al menos un enlace éster.

El componente regulador de la acidez de los implantes descritos aquí es eficaz para mantener un entorno sustancialmente ácido en la proximidad o en la vecindad del implante. Por ejemplo, el componente regulador de la acidez puede mantener un pH de un microentorno del implante, tal como una o más porciones interiores del implante, en un valor menor de aproximadamente 7, tal como menor de 7,4. En algunas realizaciones, el componente regulador de la acidez es eficaz para mantener el pH del implante en un intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 7. En realizaciones adicionales, el componente regulador de la acidez es eficaz para mantener el pH del implante en un intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 6. Mantener el pH del implante en un valor menor de aproximadamente 7 es eficaz para estabilizar la neurotoxina ya que el implante se degrada en el paciente. Por lo tanto, la actividad terapéutica de la neurotoxina, tal como la toxina botulínica, se mantiene durante períodos de tiempo prolongados, tal como la vida del implante. Los efectos obtenidos con el componente regulador de la acidez pueden ser muy destacados en la porción interior del implante. Sin embargo, los efectos se pueden ver en regiones alrededor del exterior del implante, tal como dentro de una distancia de aproximadamente 10 mm de una superficie del implante.

En ciertas realizaciones, la estabilidad de la neurotoxina se mantiene durante al menos el ochenta por ciento de la vida del implante, y más preferiblemente, al menos el noventa por ciento de la vida del implante. En al menos una realización, el componente regulador de la acidez es eficaz para establecer el pH del implante, tal como un microentorno del implante, por debajo de aproximadamente 7 durante la vida del implante.

El componente regulador de la acidez puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, monómeros biodegradables, u oligómeros, o ambos. Los monómeros adecuados incluyen dímeros, tales como dímeros cíclicos que pueden generar rápidamente monómeros *in-situ*, tales como lactida cíclica o dímeros cíclicos de glicolida. Más específicamente, los monómeros del componente regulador de la acidez pueden ser monómeros de los que se deriva un polímero biodegradable. Por ejemplo, los monómeros pueden ser sustancialmente similares a las unidades

monoméricas del polímero biodegradable del componente polimérico biodegradable. Similarmente, los oligómeros del componente regulador de la acidez pueden incluir unidades monoméricas sustancialmente idénticas a los monómeros de los que se deriva un polímero biodegradable.

5 En ciertas realizaciones, los oligómeros del componente regulador de la acidez incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a los monómeros del componente regulador de la acidez.

En ciertas realizaciones, el polímero biodegradable del componente polimérico biodegradable y los oligómeros del componente regulador de la acidez incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a los monómeros del componente regulador de la acidez.

10 En otras realizaciones, las unidades monoméricas o del polímero biodegradable o de los oligómeros, o de ambos pueden ser diferentes de los monómeros del componente regulador de la acidez. Una característica que comparten los monómeros, oligómeros, y polímeros es la de que todos son biodegradables. Los monómeros y oligómeros se degradan típicamente a una velocidad relativamente más rápida que los polímeros o generan funcionalidades ácidas a una velocidad más rápida, y de este modo, son eficaces para mantener un entorno o microentorno ácido del implante. Los monómeros y oligómeros permanecen como elementos discretos dentro del implante.

15 En ciertas realizaciones, el componente regulador de la acidez incluye solamente monómeros de los que se puede derivar un polímero biodegradable. En otras realizaciones, el componente regulador de la acidez incluye solamente oligómeros que incluyen unidades monoméricas que son sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas de un polímero biodegradable. En realizaciones adicionales, el componente regulador de la acidez incluye una combinación de monómeros y oligómeros.

20 Así, en una realización, un implante comprende un componente regulador de la acidez que incluye al menos un monómero del que se deriva un polímero biodegradable, y un oligómero que incluye unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas incluidas en el polímero biodegradable. El polímero biodegradable puede ser el mismo o diferente del polímero biodegradable del componente polimérico biodegradable.

25 Por ejemplo, en una realización de un implante, el implante incluye un componente polimérico biodegradable que incluye un primer polímero biodegradable, y el componente regulador de la acidez del implante incluye al menos uno de los monómeros de los que se deriva el primer polímero biodegradable, y los oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas incluidas en el primer polímero biodegradable. En esta realización, el primer polímero biodegradable y los oligómeros incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a los monómeros del componente regulador de la acidez.

30 En otra realización, el implante incluye un componente polimérico biodegradable que incluye un primer polímero biodegradable, y un componente regulador de la acidez que incluye al menos uno de los monómeros de los que se deriva un segundo polímero biodegradable, y los oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas incluidas en el segundo polímero biodegradable. En esta realización, los monómeros y las unidades monoméricas de los oligómeros del componente regulador de la acidez son sustancialmente diferentes de las unidades monoméricas del primer biopolímero.

35 En otra realización más, el componente polimérico biodegradable del implante incluye un primer polímero biodegradable, y el componente regulador de la acidez incluye al menos uno de los monómeros de los cuales se deriva un segundo polímero biodegradable, y los oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas incluidas en un tercer polímero biodegradable. En esta realización, los monómeros del componente regulador de la acidez, las unidades monoméricas de los oligómeros del componente regulador de la acidez, y las unidades monoméricas del polímero biodegradable del componente polimérico biodegradable son sustancialmente diferentes unos de otros. Un implante de este tipo se puede entender que incluye un componente regulador de la acidez que incluye al menos uno de un primer monómero, y un oligómero derivado de un segundo monómero diferente del primer monómero. Un polímero biodegradable del componente polimérico biodegradable del implante se puede derivar de un tercer monómero que es diferente de ambos monómeros el primero y el segundo.

40 En otra realización, el componente regulador de la acidez comprende una combinación de monómeros y oligómeros, en los que los oligómeros incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a los monómeros (por ejemplo, los oligómeros del componente regulador de la acidez se derivan o se forman a partir de los monómeros del componente regulador de la acidez). El polímero biodegradable de tales implantes se puede seleccionar del grupo que consiste en poliésteres, poli (orto ésteres), polianhídridos, y mezclas de los mismos. En ciertas realizaciones, el polímero biodegradable del implante se selecciona del grupo que consiste en ácido poli-láctico (PLA), poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), ácido poli-L-láctico (PLLA), policaprolactona, poli(orto acetato), y mezclas de los mismos.

55 El implante descrito aquí puede incluir también un excipiente farmacéuticamente aceptable como se entiende por los expertos en la técnica. Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen almidón, celulosa, talco, glucosa,

lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, creta, gel de sílice, estearato de magnesio, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, cloruro de sodio y leche desnatada en polvo.

5 El implante descrito aquí puede incluir también un componente regulador de la acidez que no solamente incluye los monómeros de los que se deriva un polímero biodegradable, sino que también puede incluir las sales de tales monómeros.

10 Como se describe aquí, el componente de neurotoxina del implante puede incluir una toxina botulínica. En una realización, el componente de neurotoxina comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, una toxina botulínica tipo A neurotoxina. La toxina botulínica tipo A está públicamente disponible con el nombre de fábrica, BOTOX (Allergan, Inc., U.S.) o con el nombre de fábrica DYSPORT (Ipsen Pharmaceuticals, UK). En otra
15 realización, el componente de neurotoxina comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, una toxina botulínica tipo B neurotoxina. La toxina botulínica tipo B está públicamente disponible con el nombre de fábrica MYOBLOC (Elan Pharmaceuticals). El componente polimérico biodegradable puede incluir uno o más polímeros biodegradables. Los polímeros biodegradables útiles en el componente polimérico biodegradable están públicamente disponibles y se pueden preparar utilizando procedimientos químicos convencionales que son de rutina para los expertos en la técnica. Similarmente, los monómeros y los oligómeros del componente regulador de la acidez están públicamente disponibles y se pueden sintetizar utilizando procedimientos químicos convencionales de rutina conocidos por los expertos en la técnica.

20 En una realización, los diferentes componentes del implante, tales como el componente de neurotoxina, el componente polimérico biodegradable, y el componente regulador de la acidez, se amasan juntos para formar el implante. Los componentes se pueden amasar en un líquido para formar una composición líquida que se procesa entonces para formar un implante adecuado para administración a un paciente. Una forma de procesar los materiales amasados es extruir la composición líquida para formar implantes biodegradables. Adicionalmente, los componentes se pueden amasar como polvos y extruir directamente en implantes. O los componentes se pueden
25 amasar juntos en una forma no líquida, tal como una forma seca, para formar una composición no líquida que puede ser procesada entonces para formar un implante adecuado para administración.

30 Se puede entender que el implante incluye una matriz que comprende el componente de neurotoxina, el componente polimérico biodegradable, y el componente regulador de la acidez. Los fluidos, tales como líquidos acuosos, pueden permear la matriz para degradar los materiales biodegradables del implante. Como se describe aquí, el componente regulador de la acidez incluye típicamente uno o más elementos que se degradan relativamente más rápido que el componente polimérico biodegradable, y de este modo, se puede mantener eficazmente un pH local del implante.

35 En otra realización, el implante puede incluir una cubierta externa de un polímero biodegradable. En tal realización, el componente de neurotoxina y el componente regulador de la acidez pueden estar localizados en una cubierta del polímero biodegradable. En otras palabras, el implante de neurotoxina se puede entender que incluye una porción externa y una porción central localizada en la porción externa. La porción central incluye un componente de neurotoxina, un componente polimérico biodegradable, y al menos un monómero del cual se deriva un polímero biodegradable, y un oligómero que incluye unidades monoméricas sustancialmente idénticas al monómero. La porción externa incluye un componente polimérico biodegradable, y puede incluir o no un componente de neurotoxina, o un componente regulador de la acidez, como se describe aquí. La porción central incluye también un microentorno del implante, tal como el interior del implante. El al menos un monómero y el oligómero son eficaces para controlar el pH del microentorno. Como se indica aquí, el implante puede incluir también combinaciones de diferentes monómeros y oligómeros.

45 En ciertas realizaciones del implante descrito aquí, los monómeros y los oligómeros del componente regulador de la acidez se proporcionan en un intervalo de aproximadamente 0,1 % (p/p) a aproximadamente 30 % (p/p). En otras realizaciones, los monómeros y los oligómeros se proporcionan en un intervalo de aproximadamente 1 % (p/p) a aproximadamente 20 % (p/p), y en otras realizaciones adicionales, los monómeros y los oligómeros se proporcionan en un intervalo de aproximadamente 5 % (p/p) a aproximadamente 10 % (p/p). En adición, los monómeros y los oligómeros se pueden proporcionar en diferentes proporciones. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el componente regulador de la acidez puede comprender aproximadamente 95 % de monómeros y aproximadamente 5 % de oligómeros. En otras realizaciones, los oligómeros pueden constituir aproximadamente el 95 % del componente regulador de la acidez y los monómeros pueden constituir aproximadamente el 5 % del componente regulador de la acidez. En otra realización, los monómeros y los oligómeros se proporcionan en una relación 1:1. En una realización, el componente regulador de la acidez consta de aproximadamente 5-45 % de monómeros y aproximadamente 95-55 % de oligómeros. En otra realización, el componente regulador de la acidez consta de aproximadamente 55-95 % de monómeros y aproximadamente 5-45 % de oligómeros. Las realizaciones dentro del alcance de esta invención incluyen el componente regulador de la acidez que está constituido por dímeros o por el 100 % de monómeros en lugar de algunos oligómeros, así como el componente regulador de la acidez que comprende el 100 % de oligómeros.

De acuerdo con esta descripción, se pueden proporcionar en un implante oligómeros y monómeros de polímeros biodegradables tales como poliésteres, polianhídridos, o poli (orto ésteres) para reducir y mantener el pH en el implante, tal como en un microentorno del implante. Estableciendo un pH local ácido, las neurotoxinas que se proporcionan en el implante se pueden estabilizar para proporcionar un efecto terapéutico durante extensos períodos de tiempo. El componente de neurotoxina puede incluir neurotoxinas de tipo natural o recombinantes, así como derivados terapéuticamente activos de tales neurotoxinas.

Se cree que aunque los monómeros y oligómeros localizados en la superficie de un implante polimérico se pueden difundir fuera del implante cuando el implante se coloca en el cuerpo de un paciente, los monómeros y oligómeros localizados en el núcleo del implante se hidrolizarán y se mantendrán a un pH relativamente bajo en el implante cuando se degrada. Como se indica aquí, un entorno ácido puede ser útil para mantener *in vivo* la estabilidad de las proteínas y/o péptidos, tales como neurotoxinas, localizadas en el implante.

El implante descrito aquí proporciona una liberación controlada y extendida de una neurotoxina, tal como una toxina botulínica tipo A, y complejos de la misma, a partir de un polímero biodegradable, tal como poliésteres, polianhídridos, y poli (orto ésteres). El implante libera una cantidad terapéuticamente eficaz de la neurotoxina durante un período que varía de aproximadamente un mes a aproximadamente dos años, sin degradación sustancial de la neurotoxina. La liberación de la neurotoxina puede ser continua o en fases, tal como pulsátil, como se describe en la patente de Estados Unidos N° 6.506.399.

Los implantes descritos aquí se pueden usar colocando los implantes o administrando los implantes a un paciente. Por ejemplo, se pueden administrar los implantes a un paciente inyectando al paciente con una aguja y administrando una suspensión que contiene el implante al paciente. Alternativamente, los implantes se pueden poner en una o más localizaciones utilizando un procedimiento quirúrgico para acceder a un sitio diana deseado. El implante se puede implantar subcutáneamente, intramuscularmente, intracranealmente, intraglandularmente, etc, en un sitio en el que la entrada sistémica de la toxina no es estimulada. El implante puede proporcionar una cantidad o cantidades terapéuticamente eficaces de neurotoxina biológicamente activa durante períodos de tiempo prolongados.

Así, se puede administrar un implante a un ser humano, o a otro animal, por cualquier medio no sistémico de administración, tal como por implantación (por ejemplo subcutáneamente, intramuscularmente, intracranealmente, intravaginalmente e intradérmicamente), para proporcionar la dosis deseada de neurotoxina basada en los parámetros conocidos para el tratamiento con neurotoxina de diferentes condiciones médicas, como se ha indicado previamente. Los métodos para determinar la vía apropiada de administración y la dosis generalmente se determinan caso a caso por el médico asistente. Tales determinaciones son rutinarias para los expertos en la técnica (véase por ejemplo, Harrison's Principles of Internal Medicine (1998), editado por Anthony Fauci *et al.*, 14th edición, publicado por McGraw Hill).

La dosificación específica mediante un implante apropiado para administración se determina fácilmente por los expertos en la técnica de acuerdo con los factores discutidos antes. La dosificación puede depender también del tamaño de la masa del tejido a ser tratado o denervado, y de la preparación comercial de la toxina. Adicionalmente, los estimados de dosis apropiadas en los seres humanos se pueden extrapolar de determinaciones de las cantidades de botulina requeridas para la denervación eficaz de otros tejidos. Por lo tanto, la cantidad de botulina A a inyectar es proporcional a la masa y al nivel de actividad del tejido a ser tratado. Generalmente, entre aproximadamente 0,01 unidades por kilogramo a aproximadamente 35 unidades por kg de peso del paciente de una toxina botulínica, tal como toxina botulínica tipo A, se pueden liberar por el presente implante por período de tiempo unitario (esto es a lo largo de un período de 2-4 meses o una vez cada 2-4 meses) para alcanzar eficazmente la parálisis del músculo deseada. Menos de aproximadamente 0,01 U/kg de una toxina botulínica pueden no tener un efecto terapéutico significativo sobre un músculo, mientras que más de aproximadamente 35 U/kg de una toxina botulínica pueden aproximarse a una dosis tóxica de una neurotoxina, tal como una toxina botulínica tipo A.

La preparación y colocación cuidadosa del implante evita que cantidades significativas de una toxina botulínica aparezcan sistémicamente. Un intervalo de dosis más preferido va desde aproximadamente 0,01 U/kg hasta aproximadamente 25 U/kg de una toxina botulínica, tal como la formulada como BOTOX®. La cantidad real de U/kg de una toxina botulínica a ser administrada depende de factores tales como la extensión (masa) y el nivel de actividad del tejido a ser tratado y la vía de administración elegida.

Los implantes pueden ser eficaces para tratar cualquier condición que pueda ser susceptible a la terapia con neurotoxina. Por ejemplo, los implantes de la presente invención proporcionan una liberación extendida de pequeñas cantidades de una neurotoxina estabilizada, tal como toxina botulínica estabilizada a partir del implante para inhibir de este modo la excitación *in vivo* y con ello alcanzar un efecto terapéutico deseado, tal como la reducción del espasmo muscular o tono muscular, evitando que un músculo se contraiga o reducir una secreción excesiva (esto es una secreción de sudor) desde una célula o glándula secretora influenciada colinérgicamente. El implante puede ser eficaz para tratar trastornos agudos o crónicos, tales como los trastornos de movimiento. En adición, los implantes

pueden ser eficaces para proporcionar beneficios cosméticos, tales como una reducción de arrugas, a pacientes durante extensos períodos de tiempo.

Ejemplos

5 Los siguientes ejemplos ilustran realizaciones y aspectos de la presente invención y no se pretende que limiten el alcance de la presente invención.

Ejemplo 1

Método para preparar un implante de comprimido de toxina botulínica estabilizada

10 Se prepara un implante biodegradable que comprende una toxina botulínica estabilizada combinando una toxina botulínica, un material polimérico biodegradable, y monómeros y oligómeros biodegradables. La toxina botulínica se obtiene de Allergan, Inc. con el nombre de fábrica, BOTOX. La poli(D,L-lactida-co-glicolida) (PLGA) se obtiene de Boehringer Ingelheim, Inc. Los monómeros y oligómeros de PLGA se preparan hidrolizando la PLGA.

15 La toxina botulínica liofilizada (BOTOX, Allergan, Inc.), la PLGA micronizada 48:52 a 52:48 con terminales hidrófobos, y los monómeros y oligómeros obtenidos de la PLGA se pesan y se ponen en un vaso de mezcla. Se sella el vaso, se coloca en un mezclador y se mezcla a una intensidad prescrita, por ejemplo, 96 rpm, y un tiempo prescrito, por ejemplo, 15 minutos. La masa de polvo resultante se carga en una dosis unitaria cada vez en una máquina de comprimir de una cavidad única. Se activa la máquina de comprimir a una presión pre-fijada, por ejemplo, 1,72 bar (25 psi), y duración pre-fijada, por ejemplo, 6 segundos, y se forma el comprimido y se expulsa de la máquina de comprimir a temperatura ambiente. El implante contiene aproximadamente 100 unidades de BOTOX, y una relación de 60:40 de los monómeros a los oligómeros. Los monómeros y los oligómeros constituyen el 25 % p/p del implante.

Ejemplo 2

Método para preparar un implante extruido de toxina botulínica estabilizada

25 Se pesan y se ponen en un vaso de mezcla BOTOX, PLGA no micronizada, y los monómeros y oligómeros obtenidos de la PLGA. Se sella el vaso, se coloca en un mezclador y se mezcla a una intensidad prescrita, por ejemplo, 96 rpm, y un tiempo prescrito, por ejemplo, 10-15 minutos. La composición de PLGA no micronizada comprende una mezcla 30/10 p/p de PLGA con terminal hidrófilo (Boehringer Ingelheim, Wallingford, Conn.) y PLGA con terminal hidrófobo (Boehringer Ingelheim, Wallingford, Conn.). La masa de polvo resultante se carga en un extrusor, tal como un DACA Microcompounder-Extruder (DACA, Goleta, Calif.), y se somete a una temperatura pre-fijada. Para reducir la desnaturalización del BOTOX, la temperatura es típicamente menor que 37 °C. La velocidad del tornillo del extrusor es aproximadamente 12 rpm. El filamento se extruye en un mecanismo guiado y se corta en longitudes que corresponden al peso diseñado del implante. Los implantes extruidos contienen aproximadamente 500 unidades de BOTOX, y aproximadamente 20 % p/p de monómeros y oligómeros de PLGA. La relación de monómeros a oligómeros es 70:30.

Ejemplo 3

35 Método para preparar un implante extruido de toxina botulínica estabilizada con polímeros de polilactida

Se prepara un implante extruido como se describe en el Ejemplo 2, excepto que la PLGA es reemplazada con un polímero de polilactida. El implante contiene 100 unidades de BOTOX, y aproximadamente 15 % p/p de los monómeros y oligómeros de PLGA. La relación de monómeros a oligómeros es 10:90.

Ejemplo 4

40 Método para preparar un implante extruido de toxina botulínica estabilizada con polímeros de poli-L-lactida

Se prepara un implante como se describe en el Ejemplo 2, excepto que la PLGA es reemplazada con un polímero de poli-L-lactida (PLLA). Los implantes se cortan para tener entre 100 y 2000 unidades de BOTOX, y aproximadamente 0,1 % p/p de los monómeros y oligómeros de PLGA. La relación de monómeros a oligómeros es 80:20.

Ejemplo 5

45 Método para insertar un implante en el cuerpo vítreo

Se implanta quirúrgicamente un implante en el segmento posterior de un ojo humano mediante una incisión en la *pars plana* inferotemporal. Se puede insertar 5 mm por medio de esclerotomía, un trocar estéril, precargado con un implante ocular de 5 unidades o 10 unidades de toxina botulínica, y después se retrae con el *push wire* colocado, llevando el implante al segmento posterior. Se pueden cerrar entonces la esclerótica y la conjuntiva utilizando una

5 sutura Vicryl 7-0. Después del cierre, el nudo de sutura no puede ser enterrado y se usan profilácticamente antibióticos subconjuntivales y tópicos. Este implante intravítreo se puede usar para tratar una variedad de trastornos oculares tales como edema macular, uveitis, degeneración macular, desprendimiento de retina, tumores oculares, infecciones oculares fúngicas o víricas, coroiditis multifocal, retinopatía diabética, vitreoretinopatía proliferativa, oftalmia simpática, síndrome de Vogt Koyanagi-Harada, histoplasmosis, difusión uveal, y oclusión vascular ocular. El implante incluye una combinación de monómeros y oligómeros biodegradables que son eficaces para establecer un entorno ácido alrededor del implante. La toxina botulínica es eficaz durante al menos cuatro meses, hasta que el implante es sustancialmente completamente degradado.

Ejemplo 6

10 Tratamiento del dolor subsiguiente a la lesión de un miembro mediante un implante

15 Un paciente, de 35 años de edad, que experimenta dolor subsiguiente a una lesión en sus manos, brazos, pies o piernas se trata colocando un implante extruido como se describe en los Ejemplos 2-4 en una región muscular cerca del sitio de la lesión. El implante incluye entre 20 unidades y 500 unidades de toxina botulínica tipo A. El tamaño particular del implante, la dosis y el sitio diana dependen de una variedad de factores dentro de la experiencia del médico que le trata. Antes de 1-7 días después de la administración, el dolor del paciente se ve sustancialmente aliviado. La duración de la reducción del dolor es de aproximadamente 6 meses a 1 año.

Ejemplo 7

Tratamiento de osteoma osteoide con un implante de toxina botulínica

20 Una mujer de 24 años presenta una historia de cuatro meses de dolor en la nalga derecha que irradia al aspecto lateral de su muslo y pierna. El dolor es de naturaleza punzante y la mantiene despierta por la noche. Se agrava por el ejercicio y se alivia parcialmente con aspirina. El examen revela un intervalo completo de movilidad de cadera. Los valores rutinarios de laboratorio (hematocrito, WBC, etc.) y el contenido en CSF eran normales. Los rayos X pélvicos revelaron una pequeña lesión oval en la base del cuello femoral derecho. Se hizo un diagnóstico de osteoma osteoide. Por medio de guía radiográfica se coloca un implante como se ha descrito antes adyacente al tumor. Antes de 1 a 7 días se había aliviado el dolor en aproximadamente un 60 %. La radiografía y la biopsia por aspiración ósea a los 6 meses, 12 meses, y 24 meses, después de la inyección no revelaron ninguna evidencia de neoplasmo.

Ejemplo 8

Tratamiento de defectos cosméticos con un implante de toxina botulínica

30 Cualquiera de los implantes de los Ejemplos 1-4 se usan para tratar defectos cosméticos. Cuando los defectos cosméticos están localizados en la cara de una persona, los implantes se producen para proporcionar una dosis de toxina botulínica tipo A de aproximadamente 20 unidades a aproximadamente 500 unidades durante un período de tiempo prolongado. Los implantes son pequeños para que puedan ser colocados subdérmicamente cerca de una región muscular que causa los defectos cosméticos sin que sea visualmente detectable para otras personas. Los implantes proporcionan una liberación prolongada de toxina botulínica en cantidades terapéuticamente eficaces para tratar el defecto cosmético. Por lo tanto los implantes son eficaces para tratar las arrugas faciales, arrugas de la frente, patas de gallo, estrabismo, comisuras de los labios caídas, pliegues nasolabiales, líneas en los labios, y similares.

REIVINDICACIONES

1. Un implante de neurotoxina biodegradable, que comprende:
 un componente de neurotoxina;
 un componente polimérico biodegradable; y
 5 un componente regulador de la acidez que incluye al menos uno de (i) los monómeros de los que se deriva un polímero biodegradable y de (ii) los oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a los monómeros de los que se deriva un polímero biodegradable.
2. El implante de la reivindicación 1, en el que los monómeros y los oligómeros se proporcionan en un intervalo de 0,1 % (p/p) a 30 % (p/p) del implante.
- 10 3. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente regulador de la acidez comprende una combinación de monómeros de los que se deriva un polímero biodegradable y de oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas incluidas en el polímero biodegradable.
4. El implante de la reivindicación 2, en el que el polímero biodegradable se selecciona del grupo que consiste en poliésteres, poli (orto ésteres), y polianhídridos, y mezclas de los mismos.
- 15 5. El implante de la reivindicación 2, en el que el polímero biodegradable se selecciona del grupo que consiste en ácido poli-láctico (PLA), ácido poli (lactida-co-glicolida) (PLGA), ácido poli-L-láctico (PLLA), policaprolactona, poli (orto acetato), y mezclas de los mismos.
6. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente polimérico biodegradable incluye un primer polímero biodegradable, y el componente regulador de la acidez incluye al menos uno de (i) los monómeros de los que se deriva un primer polímero biodegradable, y de (ii) los oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas incluidas en el primer polímero biodegradable.
- 20 7. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente polimérico biodegradable incluye un primer polímero biodegradable, y el componente regulador de la acidez incluye al menos uno de (i) los monómeros de los que se deriva un segundo polímero biodegradable, y de (ii) los oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas incluidas en el segundo polímero biodegradable.
- 25 8. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente polimérico biodegradable incluye un primer polímero biodegradable, y el componente regulador de la acidez incluye al menos uno de (i) los monómeros de los que se deriva un segundo polímero biodegradable, y de (ii) los oligómeros que incluyen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas incluidas en un tercer polímero biodegradable.
- 30 9. El implante de la reivindicación 1, que comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.
10. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente regulador de la acidez comprende monómeros de los cuales se deriva un polímero biodegradable, y el implante comprende además sales de los monómeros.
11. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente de neurotoxina comprende una neurotoxina clostridial.
- 35 12. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente de neurotoxina comprende una toxina botulínica.
13. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente de neurotoxina comprende una toxina botulínica seleccionada del grupo que consiste en toxinas botulínicas tipos A, B, C₁, D, E, F, y G, y mezclas de las mismas.
14. El implante de la reivindicación 1, en el que el implante comprende una cantidad de una toxina botulínica entre 1 unidad y 500.000 unidades.
- 40 15. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente de neurotoxina comprende una toxina botulínica tipo A.
16. El implante de la reivindicación 15, en el que la cantidad de toxina botulínica tipo A está entre 10 unidades y 2000 unidades.
- 45 17. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente polimérico biodegradable incluye un primer polímero biodegradable que tiene unidades monoméricas, y los oligómeros del componente regulador de la acidez tienen unidades monoméricas sustancialmente idénticas a las unidades monoméricas del primer polímero biodegradable

18. El implante de la reivindicación 1, en el que el componente regulador de la acidez incluye al menos uno de (i) un primer monómero y de (ii) un oligómero derivado de un segundo monómero diferente del primer monómero, y el polímero biodegradable se deriva de un tercer monómero diferente de ambos, el primero y el segundo monómeros.
- 5 19. El implante de la reivindicación 15, en el que el componente polimérico biodegradable incluye una pluralidad de diferentes polímeros biodegradables.
20. El implante de la reivindicación 15, en el que el componente regulador de la acidez incluye monómeros de los que se deriva un polímero biodegradable del componente polimérico biodegradable.
- 10 21. Un método para preparar el implante de la reivindicación 15, que comprende una etapa de amasado del componente de neurotoxina, el componente polimérico biodegradable, y el componente regulador de la acidez juntos.