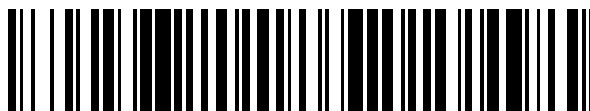


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 409**

51 Int. Cl.:

A61K 9/10 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 9/12 (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61K 38/31 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2008 E 08253447 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.12.2014 EP 2052716**

54 Título: **Formulaciones de liberación controlada**

30 Prioridad:

24.10.2007 EP 07254221

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

10.02.2015

73 Titular/es:

**CAMURUS AB (100.0%)
IDEON, GAMMA 1 SOLVEGATAN 41
223 70 LUND, SE**

72 Inventor/es:

**JOHNSON, MARKUS;
TIBERG, FREDRIK y
NISTOR, CATALIN**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 528 409 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

Formulaciones de liberación controlada

5 La presente invención se refiere a una composición lipídica de liberación controlada, y a sus precursores (pre-formulaciones). En particular, la invención se refiere a formulaciones de lípidos para la generación in situ de composiciones de liberación controlada. Tales formulaciones son mezclas de baja viscosidad (tales como soluciones moleculares) de componentes anfífilicos para solubilizar y liberar al menos un agente bioactivo. Más específicamente, la invención se refiere a formulaciones que sufren al menos una fase de transición con la exposición a fluidos acuosos, tales como fluidos corporales, formando así una matriz de liberación controlada que opcionalmente es bioadhesiva.

10 Muchos agentes bioactivos incluyendo productos farmacéuticos, nutrientes, vitaminas y demás tienen una "ventana funcional". Es decir que hay un intervalo de concentraciones durante el cual se observa que estos agentes pueden proporcionar un cierto efecto biológico. Cuando la concentración en la parte apropiada del cuerpo (por ejemplo, localmente o como se demuestra por la concentración en suero) cae por debajo de un cierto nivel, no se puede atribuir ningún efecto beneficioso al agente. Del mismo modo, hay generalmente un nivel de concentración superior
15 por encima del cual no se deriva ningún beneficio adicional aumentando la concentración. En algunos casos el aumento de la concentración por encima de un determinado nivel ocasiona efectos indeseables o incluso peligrosos.

20 Algunos agentes bioactivos tienen una semivida biológica larga y/o una ventana funcional ancha y por lo tanto pueden administrarse ocasionalmente, manteniendo una concentración biológica funcional durante un período sustancial de tiempo (por ejemplo, de 6 horas a varios días). En otros casos la velocidad de aclaramiento es alta y/o la ventana funcional es estrecha y por lo tanto para mantener una concentración biológica dentro de esta ventana se requieren dosis regulares (o incluso continuas) de pequeña cantidad. Esto puede ser especialmente difícil cuando son deseables vías no orales de administración (por ejemplo, administración parenteral). Además, en algunas circunstancias, tales como en la colocación de implantes (por ejemplo, reemplazos de articulaciones o implantes orales) la zona de acción deseada puede no permanecer accesible para la administración repetida. En tales casos,
25 una única administración debe proporcionar el agente activo a un nivel terapéutico durante todo el período durante el cual se necesita su actividad.

Varios métodos han sido utilizados y propuestos para la liberación sostenida de agentes biológicamente activos. Tales métodos incluyen de liberación lenta, composiciones administradas por vía oral, tales como comprimidos recubiertos, formulaciones diseñadas para la absorción gradual, tales como parches transdérmicos, y los implantes de liberación lenta tales como "varillas" implantadas debajo de la piel.
30

Un método por el cual se ha propuesto la liberación gradual de un agente bioactivo es una llamada inyección "depot". En este método, un agente bioactivo se formula con vehículos que proporciona una liberación gradual de agente activo durante un período de un número de horas o días. Estos se basan a menudo en una matriz que se degrada que gradualmente se dispersa en el cuerpo para liberar el agente activo.

35 El más común de los métodos establecidos de inyección depot se basa en un sistema de depósito polimérico. Este es típicamente un polímero biodegradable, tal como poli (ácido láctico) (PLA) y/o poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y puede estar en la forma de una solución en un disolvente orgánico, un pre-polímero mezclado con un iniciador, partículas de polímero encapsuladas o microesferas poliméricas. El polímero o partículas de polímero atrapan el agente activo y se degradan gradualmente liberando el agente mediante difusión lenta y/o a medida que la matriz se absorbe. Ejemplos de tales sistemas incluyen los descritos en los documentos de patente de Estados Unidos N° US 4938763, US 5480656 y US 6113943 y puede resultar en el suministro de agentes activos durante un período de hasta varios meses. Estos sistemas, sin embargo, tienen una serie de limitaciones incluyendo la complejidad de la fabricación y la dificultad en la esterilización (especialmente de las microesferas). La irritación local causada por el ácido láctico y/o ácido glicólico que se libera en el lugar de la inyección es también una desventaja
40 notable. También hay a menudo un procedimiento bastante complejo para preparar la dosis de la inyección a partir del precursor en polvo, y este procedimiento debe llevarse a cabo en el punto de atención justo antes de la administración.

Desde un punto de vista de suministro de medicamento, las composiciones depot de polímeros también tienen la desventaja de aceptar sólo cargas relativamente bajas de fármacos y de tener un perfil de liberación de "explosión/retraso" ("burst/lag"). La naturaleza de la matriz polimérica, especialmente cuando se aplica como una solución o pre-polímero, provoca una explosión inicial de liberación del fármaco cuando se administra inicialmente la composición. Esto es seguido por un período de baja liberación, mientras que la degradación de la matriz comienza, seguido finalmente por un aumento en la velocidad de liberación sostenida hasta el perfil deseado. Este perfil de liberación de explosión/retraso puede causar que estalle la concentración in vivo de agente activo por encima de la ventana funcional inmediatamente después de la administración, y que después caiga de nuevo por debajo de la parte inferior de la ventana funcional durante el período de retraso antes de alcanzar una concentración funcional sostenida. Evidentemente, desde un punto de vista funcional y toxicológico este perfil de liberación de
50
55

explosión/retraso no es deseable y puede ser peligroso. También puede limitar la concentración de equilibrio que pueda proporcionarse debido al peligro de efectos adversos en el punto de "pico".

5 Un sistema de depósito no polimérico altamente eficaz se describe en el documento de patente internacional WO2005/117830, en el que una combinación de un lípido de diacilo o tocoferol, un fosfolípido y un disolvente orgánico que contiene oxígeno se combinan para proporcionar una matriz de liberación controlada. Tal sistema tiene ventajas considerables, incluyendo una transición de baja viscosidad a alta viscosidad tras la exposición a un ambiente acuoso, y la facilidad para proporcionar una liberación gradual de agente activo durante un largo período a partir de una composición biocompatible y biodegradable. La divulgación de este documento se incorpora aquí como referencia.

10 Una limitación de las formulaciones lipídicas de liberación controlada previamente conocidas es que la solubilidad de ciertos agentes activos, tales como péptidos y compuestos basados en péptidos es menor de lo deseable. Aunque muchos péptidos, proteínas y otros agentes bioactivos se pueden estabilizar de manera efectiva en las matrices lipídicas, en donde la solubilidad de estos es baja, después esto puede ser el factor limitante en el control de la duración en la que se libera el agente activo. Esto se debe a que sólo un cierto volumen de la composición se puede administrar eficazmente sin causar una incomodidad inaceptable a un paciente (por ejemplo, 5 ml es el volumen máximo deseable típico para una inyección sub-cutánea). Si la ventana terapéutica para el agente activo requiere una alta concentración, y/o el activo tiene una semivida corta en el sistema, entonces la cantidad máxima de activo que se puede estabilizar en el volumen de administración controlará la duración máxima durante la cual dicho agente puede ser liberado.

20 Los presentes inventores han establecido ahora que mediante la formulación de matrices lipídicas de liberación controlada con un componente de polihidroxi (por ejemplo, un azúcar), el nivel de agente activo que puede ser estabilizado en la formulación de lípidos está considerablemente aumentado.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona así una formulación (especialmente una formulación farmacéutica) que comprende:

- 25 i) una matriz de liberación controlada basada en lípidos
 ii) un componente de polihidroxi
 iii) un agente bioactivo.

30 Es preferible que los componentes (especialmente la matriz de liberación controlada a base de lípidos) se elijan de modo que al entrar en contacto con un medio acuoso, la formulación de la invención se ensamble en una estructura de fase ordenada (por ejemplo, no laminar), tal como una fase cristalina líquida, fase L₂ (micelar inversa), fase L₃ (de esponja), o mezclas de las mismas.

35 Generalmente, el fluido acuoso será un fluido corporal tal como el fluido de una superficie de mucosa, lágrimas, sudor, saliva, fluido gastrointestinal, fluido extravascular, fluido extracelular, fluido intersticial o plasma, y la formulación de la invención formará una estructura de fase ordenada cuando entra en contacto con una superficie corporal, área o cavidad (por ejemplo, in vivo) al entrar en contacto con el fluido corporal acuoso.

En las formulaciones de la presente invención, la matriz de liberación controlada a base de lípidos comprenderá típicamente un lípido adecuado, disolvente y componentes tensioactivos a fin de generar el comportamiento de fase deseado.

Un componente adecuado de la matriz de liberación controlada (i) comprende una mezcla de baja viscosidad de:

- 40 a) al menos un lípido neutro de diacilo y/o un tocoferol;
 b) al menos un fosfolípido;
 c) opcionalmente y preferiblemente al menos un disolvente orgánico biocompatible (preferiblemente que contenga oxígeno);
 d) opcionalmente y preferiblemente al menos un agente de fragmentación.

45 En la formulación de la invención, el agente bioactivo (iii) y el componente de polihidroxi (ii) preferentemente se disuelven o dispersan en el componente de la matriz lipídica (i) para formar una mezcla de baja viscosidad.

En el conocimiento del inventor, nunca ha sido previamente conocido que la co-formulación de un agente bioactivo con un compuesto de polihidroxi pudiera aumentar significativamente la solubilidad del agente bioactivo en una matriz lipídicas.

5 En un segundo aspecto, la presente invención por lo tanto proporciona el uso de un componente de polihidroxi para aumentar la solubilidad de un agente bioactivo en una formulación de liberación controlada a base de lípidos. Se proporciona además, como un tercer aspecto de la invención, un método para aumentar la solubilidad de un agente bioactivo en una matriz de liberación controlada a base de lípidos, dicho método comprende la adición de un componente de polihidroxi al agente bioactivo y/o a la matriz de liberación controlada a base de lípidos.

También se proporciona un método de administración de un agente bioactivo a un cuerpo de un ser humano o no humano (preferiblemente un mamífero), este método comprende la administración (preferiblemente por vía parenteral) de una formulación que comprende:

- i) Una matriz de liberación controlada a base de lípidos
- 10 ii) Un componente de polihidroxi
- iii) Un agente bioactivo.

15 El método de administración adecuado para el método anterior de la invención será un método apropiado para el trastorno a tratar y el agente bioactivo utilizado. Se formará de esta modo un depósito parenteral con la administración parenteral (por ejemplo subcutánea o intramuscular), mientras que se puede formar una composición de depósito bioadhesiva no parenteral (por ejemplo, tópica) con la administración a la superficie de la piel, membranas mucosas y/o clavos, a superficies oftalmológicas, nasales, orales o internas o a cavidades tales como la cavidad nasal, rectal, vaginal o bucal, la bolsa periodontal o cavidades formadas después de la extracción de una estructura natural o implantada o antes de la inserción de un implante (por ejemplo, una articulación, cánula, implante cosmético, diente, relleno de diente u otro implante).

20 En todavía un aspecto adicional la presente invención proporciona un procedimiento para la formación de una formulación adecuada para la administración de un agente bioactivo a un sujeto (preferiblemente un mamífero), comprendiendo dicho procedimiento la disolución de una mezcla de un agente bioactivo en una matriz de liberación controlada a base de lípidos, en donde al menos uno de dicho agente bioactivo y/o dicha matriz de liberación controlada a base de lípidos está en mezcla con un componente de polihidroxi.

25 En todavía otro aspecto adicional la presente invención proporciona el uso de una formulación que comprende:

- i) Una matriz de liberación controlada a base de lípidos
- ii) Un componente de polihidroxi
- iii) Un agente bioactivo.

para la fabricación de una pre-formulación para uso en la administración sostenida de dicho agente bioactivo.

30 En todos los aspectos de la presente invención, las formulaciones son preferentemente mezclas de viscosidad baja antes de la administración. En el presente documento, el término "mezcla de baja viscosidad" se utiliza para indicar una mezcla que puede administrarse fácilmente a un sujeto y, en particular administrarse fácilmente por medio de una disposición de jeringa y aguja estándar. Esto puede ser indicado, por ejemplo, por la capacidad de dispensarlas con una jeringa desechable de 1 ml a través de una aguja de 22 awg (o de calibre 23) con presión manual. En una realización particularmente preferida, la mezcla de baja viscosidad debería ser una mezcla capaz de pasar a través de una membrana de filtración estéril estándar tal como un filtro de jeringa de 0,22 µm. En otras realizaciones preferidas, una definición funcional similar de una viscosidad adecuada se puede definir como la viscosidad de una pre-formulación que puede ser pulverizada usando una bomba de compresión o dispositivo de pulverización a presión utilizando un equipo de pulverización convencional. Un intervalo típico de viscosidad adecuada sería, por ejemplo, de 0,1 a 5000 mPas, preferiblemente de 1 a 1000 mPas a 20° C.

Se ha observado que mediante la adición de pequeñas cantidades de disolvente de baja viscosidad, como se indica en el presente documento, se puede proporcionar un cambio muy significativo en la viscosidad. Por ejemplo, en algunas formulaciones, la adición de sólo un 5% de un disolvente adecuado puede reducir la viscosidad 100 veces y la adición de un 10% puede reducir la viscosidad hasta 10.000 veces.

45 Ejemplos particularmente preferidos de mezclas de baja viscosidad son soluciones moleculares y/o fases isotrópicas tales como las fases L2 y/o L3. Como se ha descrito anteriormente, la fase L3 es una fase no laminar de láminas interconectadas que tiene cierta estructura de fase pero carece del orden de largo alcance de una fase cristalina líquida. A diferencia de fases cristalinas líquidas, que son generalmente muy viscosas, las fases L3 son de viscosidad más baja. Obviamente, las mezclas de la fase L3 y una solución molecular y/o de partículas de la fase L3 en suspensión en una solución molecular voluminosa de uno o más componentes son también adecuadas. La fase L2 es la fase llamada "micelar invertida" o de microemulsión. La mayoría de las mezclas de baja viscosidad

preferidas son las soluciones moleculares, fases L3 y mezclas de las mismas. Las fases L2 son menos preferidas, excepto en el caso de fases L₂ hinchadas como se describe a continuación.

Después de la exposición a un ambiente acuoso, es preferible que las formulaciones de todos los aspectos de la invención generen fases voluminosas o fases de partículas ordenadas. Dichas fases se describen generalmente en este documento como "no laminares". La formación de regiones no laminares en los diagramas de fases anfífilo/agua, anfífilo/aceite y anfífilo/aceite/agua es un fenómeno bien conocido. Tales fases incluyen fases líquidas cristalinas tales como las fases P cúbica, D cúbica, G cúbica, y fases hexagonales que son fluidas al nivel molecular pero que muestran orden de largo alcance significativo, y la fase L3 que comprende una red bi-continua interconectada multiplicativamente de láminas bicapa que no son laminares, pero que carecen del orden de largo alcance de las fases cristalinas líquidas. Dependiendo de la curvatura de las láminas anfífilas, estas fases pueden ser descritas como normales (promedio de la curvatura hacia la región apolar) o invertidas (promedio de la curvatura hacia la región polar).

Las fases cristalinas líquidas no laminares y fases L3 son sistemas termodinámicamente estables. Es decir, no son simplemente un estado meta-estable que se separará y/o se reformará en capas, fases laminares o similares, sino que son la forma termodinámica estable de la mezcla de lípido/disolvente. Las fases cristalinas líquidas voluminosas son muy viscosas y son ventajosas para la formación de composiciones depot en donde se desea la liberación controlada durante un período prolongado, especialmente después de la administración parenteral. Las fases L₃ y L₂, y las partículas dispersas de las fases no laminares son típicamente de viscosidad más baja y más adecuadas para la liberación controlada durante períodos de tiempo más cortos, así como para la liberación tópica en las superficies del cuerpo, tanto internas como externas.

En una realización particularmente preferida de todos los aspectos de la presente invención, un componente adecuado de matriz de liberación controlada (i) comprende una mezcla de baja viscosidad de:

- a) al menos un lípido neutro de diacilo y/o un tocoferol;
- b) al menos un fosfolípido;
- 25 c) opcionalmente y preferiblemente al menos un disolvente orgánico biocompatible (preferiblemente que contenga oxígeno).
- d) opcionalmente y preferiblemente al menos un agente de fragmentación.

Tales sistemas adecuados se describen en detalle en, por ejemplo, el documento de patente internacional WO2005/117830 y se demuestran en los ejemplos incluidos en esa publicación, que se incorpora aquí como referencia. En particular, los detalles y las proporciones de los componentes a), b) y c) se corresponden con los descritos a continuación y en las páginas 9 a 17 de dicho texto.

En esta matriz de liberación controlada preferida basada en lípidos, las relaciones en peso de los componentes a:b pueden ser cualquier cosa desde 5:95 hasta 95:5. Las relaciones preferidas serían generalmente de 90:10 a 20:80 y más preferiblemente de 85:15 a 30:70. Las relaciones más preferidas de a:b son cerca de la paridad, especialmente 35:65 a 65:35, más preferiblemente de 42:58 a 58:42.

Se prefiere que la matriz de liberación controlada basada en lípidos forme fases voluminosas o fases en partículas ordenadas como se describe en el presente documento.

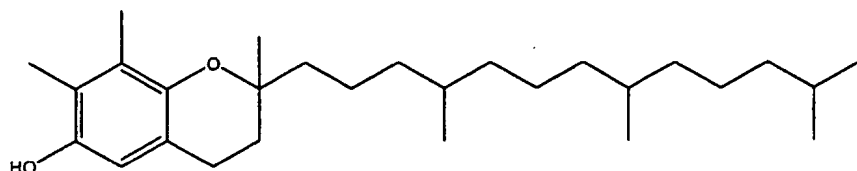
El componente "a" como se indica en este documento es un componente lípido neutro que comprende un grupo polar "de cabeza" y también grupos no polares "de cola". Generalmente las partes de cabeza y de cola del lípido se unirán por un resto éster pero esta unión puede ser por medio de un éter, una amida, un enlace carbono-carbono u otras uniones. Los grupos de cabeza polares preferidos son no iónicos e incluyen polioles tales como glicerol, diglicerol y restos de azúcares (tales como restos basados en inositol y glucosilo); y ésteres de polioles, tales como ésteres de acetato o succinato. Los grupos polares preferidos son el glicerol y diglicerol, especialmente el glicerol.

En un aspecto preferido, el componente a es un lípido de diacilo ya que tiene dos grupos no polares "de cola". Esto es generalmente preferible a la utilización de lípidos mono-acilo ("liso") debido a que estos lípidos son típicamente peor tolerados in vivo. Los dos grupos no polares pueden tener el mismo o un número diferente de átomos de carbono y pueden ser cada uno independientemente saturado o insaturado. Los ejemplos de grupos no polares incluyen grupos alquilo y alquenoilo C₆-C₃₂, que están típicamente presentes como los ésteres de ácidos carboxílicos de cadena larga. Estos se describen a menudo por referencia al número de átomos de carbono y el número de insaturaciones en la cadena de carbono. Por lo tanto, CX:Z indica una cadena de hidrocarburo que tiene X átomos de carbono y Z insaturaciones. Ejemplos incluyen particularmente los grupos caproilo (C6:0), capriilo (C8:0), capriilo (C10:0), lauroilo (C12:0), miristoilo (C14:0), palmitoilo (C16:0), fitanolilo (C16:0), palmitoleoililo (C16:1), estearoilo (C18:0), oleoililo (C18:1), elaidoilo (C18:1), linoleoililo (C18:2), linoleoililo (C18:3), araquidonoilo (C20:4), behenoilo (C22:0) y lignoceroilo (C24:9). Por lo tanto, las cadenas no polares típicas están basadas en los ácidos

grasos de los lípidos de éster naturales, incluyendo el ácido caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, fitánico, palmitólico, esteárico, oleico, elaídico, linoleico, linolénico, araquidónico, behénico o lignocérico, o los alcoholes correspondientes. Preferibles cadenas no polares son el ácido palmítico, esteárico, y los ácidos oleico y linoleico, particularmente el ácido oleico.

- 5 El lípido de diacilo, cuando se usa como la totalidad o parte del componente "a", puede ser sintético o puede derivarse de fuentes naturales purificadas y/o modificadas químicamente tales como aceites vegetales. Las mezclas de cualquier número de lípidos de diacilo se pueden usar como componente a. Lo más preferiblemente, este componente incluirá al menos una porción de diacilglicerol (DAG), especialmente de dioleato de glicerol (GDO). En una realización favorecida, el componente a consiste en DAGs. Estos pueden ser un solo DAG o una mezcla de DAGs. Un ejemplo muy preferido es el DAG que comprende al menos 50%, preferiblemente al menos 80% e incluso sustancialmente 100% de GDO.

Una clase alternativa o adicional muy preferida de compuestos para su uso como todo o parte del componente a son los tocoferoles. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "un tocoferol" se utiliza para indicar el tocoferol lípido no iónico, a menudo conocido como vitamina E, y/o cualquier sal y/o análogos del mismo adecuados. Análogos adecuados serán aquellos que proporcionen el comportamiento de fase, falta de toxicidad y cambio de fase tras exposición a fluidos acuosos, que caracterizan a las composiciones de la presente invención. Tales análogos generalmente no formarán estructuras de fase cristalina líquida como un compuesto puro en agua. El más preferido de los tocoferoles es el tocoferol en sí mismo, que tiene la estructura siguiente. Evidentemente, en particular cuando este se purifica a partir de una fuente natural, puede haber una pequeña proporción de "contaminante" que no es un tocoferol, pero esto no será suficiente para alterar el comportamiento de fase ventajoso o la falta de toxicidad. Típicamente, un tocoferol contendrá no más de 10% de compuestos análogos que no son tocoferol, preferiblemente no más de 5% y lo más preferiblemente no más de 2% en peso.



Tocopherol

- 25 En una forma de realización ventajosa adicional de la invención, el componente a) consiste esencialmente en tocoferoles, en particular, tocoferol como se muestra anteriormente.

Una combinación preferida de constituyentes para el componente a) es una mezcla de al menos un DAG (por ejemplo, GDO) con al menos un tocoferol. Tales mezclas incluyen de 2:98 a 98:2 en peso de tocoferol:GDO, por ejemplo 10:90 a 90:10 de tocoferol:GDO y especialmente de 20:80 a 80:20 de estos compuestos. Mezclas similares de tocoferol con otros DAGs son también adecuadas.

El componente "b" en la presente invención es al menos un fosfolípido. Como con el componente a, este componente comprende un grupo de cabeza polar y al menos un grupo de cola no polar. La diferencia entre los componentes a y b se encuentra principalmente en el grupo polar. Las porciones no polares pueden por lo tanto ser adecuadamente derivadas de los ácidos grasos o alcoholes correspondientes considerados anteriormente para el componente a. Por lo general será el caso que el fosfolípido contendrá dos grupos no polares, aunque uno o más constituyentes de este componente pueden tener un resto no polar. Cuando más de un grupo no polar está presente, éstos pueden ser iguales o diferentes.

Los grupos preferidos "de cabeza" de fosfolípidos polares incluyen la fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol. El más preferido es la fosfatidilcolina (PC). En una realización preferida, el componente b) por lo tanto consiste en al menos 50% de PC, preferiblemente al menos 70% de PC y más preferiblemente al menos 80% de PC. El componente b) puede consistir esencialmente en PC.

La porción de fosfolípido, incluso más adecuadamente que cualquier porción lipídica de diacilo, se puede derivar de una fuente natural. Las fuentes adecuadas de fosfolípidos incluyen el huevo, corazón (por ejemplo, bovino), cerebro, hígado (por ejemplo, bovino) y fuentes vegetales incluyendo la soja. Estas fuentes pueden proporcionar uno o más constituyentes del componente b, que puede comprender cualquier mezcla de fosfolípidos.

Dado que las formulaciones de la invención se administran a un sujeto para la liberación controlada de un agente activo, es preferible que los componentes a y b sean biocompatibles. En este sentido, es preferible utilizar, por ejemplo, lípidos y fosfolípidos de diacilo en lugar de compuestos mono-acilo (liso). Una notable excepción a esto es el tocoferol, como se describió anteriormente. A pesar de tener sólo una cadena alquilo, éste no es un "liso" lípido en

el sentido convencional. La naturaleza del tocoferol como una vitamina esencial bien tolerada evidentemente le hace muy biocompatible.

5 Dos combinaciones particularmente preferidas de los componentes a y b son GDO con PC y tocoferol con PC, especialmente en la región de 30-90% en peso de GDO/tocoferol, 10-60% en peso de PC y 1-30% de disolvente (especialmente etanol, n-metil-pirrolidona (NMP) y/o isopropanol).

10 Además de los componentes anfífilos a y b, las pre-formulaciones de la invención también pueden contener componentes anfífilos adicionales en niveles relativamente bajos. En una realización de la invención, la pre-formulación contiene hasta 10% (en peso de los componentes a y b) de un anfífilo con carga, particularmente un anfífilo aniónico tal como un ácido graso. Los ácidos grasos preferidos para este propósito incluyen los ácidos caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, fitánico, palmitólico, esteárico, oleico, elaídico, linoleico, linolénico, araquidónico, behénico o lignocérico, o los correspondientes alcoholes. Ácidos grasos preferidos son el palmítico, esteárico, y los ácidos oleico y linoleico, particularmente el ácido oleico. Es particularmente ventajoso que este componente pueda utilizarse en combinación con un agente activo péptido catiónico (ver a continuación). Se cree que la combinación de un lípido aniónico y un péptido catiónico proporciona una composición de liberación sostenida de un valor particular. Esto puede deberse en parte a una mayor protección del péptido de las enzimas degradantes presentes in vivo.

15 Un componente "c" de la matriz de liberación controlada a base de lípidos opcional pero preferible es un disolvente orgánico que contiene oxígeno. Dado que las formulaciones son para su uso en contacto con un fluido acuoso, y en particular un fluido corporal (por ejemplo, in vivo), es deseable que este disolvente sea tolerable para el sujeto y sea capaz de mezclarse con el fluido acuoso, y/o difundirse o disolverse hacia fuera de la pre-formulación en el fluido acuoso. Por lo tanto se prefieren los disolventes que tienen una solubilidad en agua al menos moderada.

20 Disolventes típicos adecuados para uso como componente c incluyen al menos un disolvente seleccionado entre alcoholes, cetonas, ésteres (incluyendo las lactonas), éteres, amidas y sulfóxidos. Ejemplos de alcoholes adecuados incluyen el etanol, isopropanol, alcohol bencílico y glicerol formal. Los monooles son preferibles a los dioles y polioles. Cuando se usan dioles o polioles, es preferiblemente en combinación con una cantidad al menos igual de monool u otro disolvente preferido. Ejemplos de cetonas incluyen la acetona, y carbonato de propileno. Éteres adecuados incluyen el éter dietílico, glicofurol, dietilenglicol monoetil éter, dimetilisobarbida, y polietilenglicoles. Ésteres adecuados incluyen el acetato de etilo, benzoato de bencilo y acetato de isopropilo, y el sulfuro de dimetilo se usa como disolvente de sulfuro adecuado. Amidas adecuadas incluyen NMP, 2-pirrolidona, y dimetilacetamida (DMA), y los sulfóxidos incluyen dimetilsulfóxido (DMSO). Disolventes menos preferidos incluyen la dimetil isosorbida, alcohol tetrahidrofurfúrico, diglima y lactato de etilo.

25 El componente de disolvente c será generalmente al menos parcialmente perdido tras la formación in vivo de la composición depot, se evaporará o será diluido por la absorción del agua del aire y/o tejido circundante. Es preferible, por tanto, que el componente c sea al menos en cierta medida miscible en agua o dispersable, y por lo menos no debe repeler el agua en la medida en que se impida la absorción de agua. A este respecto también, los disolventes que contienen oxígeno con un número relativamente pequeño de átomos de carbono (por ejemplo, hasta 10 átomos de carbono, preferentemente hasta 8 átomos de carbono) son los preferidos. Obviamente, cuanto más oxígeno tenga más tenderá el disolvente a permanecer soluble en agua a pesar de un mayor número de átomos de carbono. La relación de carbono a heteroátomo (por ejemplo, N, O, preferiblemente oxígeno) será por lo tanto a menudo de alrededor de 1:1 a 6:1, preferentemente de 2:1 a 4:1. Cuando se utiliza un disolvente con una relación fuera de uno de estos intervalos preferidos, entonces este estará preferiblemente en no más de 75%, preferiblemente no más de 50%, en la combinación con un disolvente preferido (tal como etanol). Esto se puede utilizar, por ejemplo para disminuir la velocidad de evaporación del disolvente de la pre-formulación con el fin de controlar la tasa de formación de depósito de cristalino líquido.

35 La cantidad de componente c, cuando está presente en las formulaciones de la invención y en la matriz de liberación controlada a base de lípidos será al menos suficiente para proporcionar una mezcla de baja viscosidad (o sea, una solución molecular, véase anteriormente) de todos los ingredientes, y se determinará fácilmente para cualquier combinación particular de componentes mediante métodos estándar. El comportamiento de fase en sí mismo puede ser analizado mediante las técnicas tales como la observación visual en combinación con microscopía de luz polarizada, resonancia magnética nuclear, y microscopía electrónica de criotransmisión (crio-TEM) para buscar soluciones, fases L2 o L3, o fases cristalinas líquidas. La viscosidad puede medirse directamente por medios estándares. Como se describió anteriormente, una viscosidad práctica apropiada es la que efectivamente permite usar una jeringa y en particular filtrar de forma estéril. Esto se evaluará fácilmente como se indica en el presente documento. La máxima cantidad de componente c a incluir dependerá de la aplicación exacta de la formulación, pero en general las propiedades deseadas serán proporcionadas por cualquier cantidad que forme una mezcla de baja viscosidad (por ejemplo, una solución molecular, véase anteriormente) y/o una solución de viscosidad suficientemente baja. Puesto que la administración de innecesariamente grandes cantidades de disolvente a un sujeto es generalmente indeseable la cantidad de componente c típicamente estará limitada a no más de diez veces

(por ejemplo, tres veces) la cantidad mínima requerida para formar una mezcla de baja viscosidad, preferiblemente no más de cinco veces y más preferiblemente no más de dos veces esta cantidad. La composición de la presente invención puede, sin embargo, contener una mayor cantidad de disolvente de lo que sería aceptable en una composición de dosificación inmediata. Esto es debido a que el proceso por el cual los agentes activos se liberan lentamente (por ejemplo, formación de conchas de fase cristalina líquida descrita en el presente documento) también sirve para retardar el paso del disolvente de la composición. Como resultado, el disolvente se libera durante algún tiempo (por ejemplo, minutos u horas) en lugar de de forma instantánea y así puede ser mejor tolerado por el cuerpo.

Dado que la viscosidad es un factor muy significativo en la administración de las composiciones de inyección o pulverización, se prefiere que el disolvente sea en sí de muy baja viscosidad. La viscosidad del componente de disolvente c (disolvente único o mezcla) de "baja viscosidad" por lo general no debe ser mayor de 18 mPas a 20° C. Esto es, preferiblemente de no más de 15 mPas, más preferiblemente de no más de 10 mPas y lo más preferiblemente de no más de 7 mPas a 20° C. Además, el disolvente debe ser adecuado para la reducción de la viscosidad de la mezcla de la matriz, compuesto de polihidroxi y agente activo, ya que el compuesto de polihidroxi tiende a aumentar la viscosidad inherente de la matriz basada en lípidos. El etanol es particularmente preferido como adecuado en todos estos aspectos. Mayores proporciones de disolvente también se pueden utilizar para aplicaciones no parenterales (por ejemplo, tópica), especialmente a las superficies corporales, en donde el disolvente se perderá por evaporación más que ser absorbido por el cuerpo. Para tales aplicaciones se puede utilizar hasta 100 veces la cantidad mínima de disolvente (por ejemplo, hasta 95% en peso de la composición, preferiblemente hasta 80% en peso y más preferiblemente hasta 50% en peso), especialmente cuando se desee una capa muy delgada del depósito no parenteral resultante.

Como una guía general, el peso del componente c será típicamente alrededor de 0,5 a 50% del peso total de la solución de a-b-c (y d si está presente). Esta proporción es preferiblemente (especialmente para depósitos inyectables) de 2 a 30% y más preferiblemente de 5 a 20% en peso.

Las pre-formulaciones de la presente invención típicamente no contienen cantidades significativas de agua. Puesto que es esencialmente imposible eliminar toda traza de agua de una composición lipídica, esto es para ser tomado como una indicación de que habrá sólo dicha traza mínima de agua tal que no pueda ser fácilmente eliminada. Dicha cantidad será generalmente de menos de 1% en peso, preferiblemente menos de 0,5% en el peso de la pre-formulación. En un aspecto preferido, las pre-formulaciones de la invención no contienen glicerol, etilenglicol o propilenglicol y contienen no más de una traza de agua, como se acaba de describir.

Como componente d) opcional, pero preferible, de agente de fragmentación puede funcionar cualquier anfililo capaz de servir como un agente de fragmentación con los componentes seleccionados a) y b) (y c) si está presente. Un agente de fragmentación es un agente (puro o mezclado), que permite que la composición que comprende los componentes a) y b) forme (por auto-dispersión o por la entrada de energía, tal como por cizallamiento o sonicación) partículas estructuradas, como se describe en el presente documento. Partículas particularmente adecuadas son, por ejemplo no laminares, especialmente cristalinas líquidas, L₂ o L₃.

Hay un número de diferentes clases moleculares que son adecuadas como agentes de fragmentación en la presente invención. Estas incluyen:

1) Agentes poliméricos: Poloxámeros (preferiblemente Pluronic® F127, Pluronic® F68, Pluronic® F108 Pluronic® L44), polímeros de co-bloque de 2-metacrililoiloxietil fosforilcolina n-butil metacrilato (tales como PUREBRIGHT MB-37-50T y PUREBRIGHT MB-37-100T de NOF Corp.), ésteres de ácidos grasos de sorbitán pegilados (polisorbatos, en particular Polisorbato 80), tensioactivos PEGilados (por ejemplo Solutol HS 15 de BASF), derivados de aceite de ricino pegilado (por ejemplo, Cremophor EL, Cremophor RH40), ácidos grasos pegilados (por ejemplo, PEG-oleato), fosfolípidos pegilados (incluyendo DOPE-PEG (2.000), DOPE-PEG (5.000) y DSPE-PEG (5.000)), poliglicerina(PG).fosfolípidos (tales como DSPE-PG, por ejemplo, SUNBRIGHT DSPE-PG8G de NOF Corp., DOPE-PG), oligoalquilsorbitoles pegilados (tal como PEG-60 Sorbitoltetraoleato, por ejemplo, GO-460V de Nikko Chemicals), ésteres de ácidos grasos de glicerilo pegilado (por ejemplo TMGO-15 (Nikko Chemicals)), tocoferoles pegilados tales como d-alfa tocoferil polietilenglicol 1000 succinato (Vitamina E TPGS (Eastman)) y éteres de alquilo pegilados;

2) Tensioactivos de polioli: ésteres de alquilo derivados de azúcares (tales como el laurato de sacarosa y oleato de sacarosa), éteres de alquilo derivados de azúcares (por ejemplo, el octil glucósido);

3) Proteínas: incluyendo caseína, caseinato de sodio, lisozimas;

4) Tensioactivos aniónicos: carboxilatos de ácidos grasos (especialmente oleato de sodio, palmitato de sodio, estearato de sodio, miristato de sodio), sulfatos de alquilo (tales como dodecil sulfato de sodio (SDS)); y

5) Tensioactivos catiónicos: sales de alquilamonio (incluyendo bromuro de dodecil trimetil amonio (DTAB), bromuro de cetil trimetil amonio (CTAB) y cloruro de oleilamonio).

Generalmente, en la presente invención, los agentes de fragmentación de las proteínas, tales como los descritos en 3) anteriormente son menos preferidos.

5 La mayoría de los componentes d) forman fases (L1) micelares normales en contacto con exceso de agua. Sin embargo, los componentes no necesitan formar micelas para funcionar como agentes de fragmentación. El funcionamiento efectivo de un agente de fragmentación será fácilmente probado por un experto en la materia mediante la preparación de composiciones apropiadas y la realización de pruebas simples como se ilustra en los Ejemplos de este documento, y también por referencia al documento de patente internacional WO2006/013369 (en particular los Ejemplos), la descripción del cual se incorpora en el presente documento como referencia.

10 Cuando el componente d) está presente, los componentes a), b) y d) estarán presentes típicamente en las siguientes proporciones (donde a, b y d son los pesos de los componentes a), b) y d), respectivamente); $d/(a+b+d)$ es de entre 0,01 y 0,3. Las composiciones dentro de este intervalo tienen una gran tendencia a la auto-dispersión o a la formación de partículas estables después de la dispersión con o sin aporte de energía. Se prefiere, especialmente cuando se desea proporcionar auto-dispersión y mayor control del tamaño de partícula que las proporciones de a), b) y d) sean tales que $a/(a+d)$ esté entre 0,25 (por ejemplo 0,35) y 0,80 (por ejemplo, 0,75), más preferiblemente entre 0,35 (por ejemplo 0,4) y 0,75 (por ejemplo 0,65) y $d/(a+b+d)$ esté entre 0,03 y 0,25 (por ejemplo 0,2) (donde a, b y d son los pesos de los componentes a), b) y d), respectivamente).

15 Evidentemente, puede no haber necesidad de tensioactivos de poliol del tipo 2) anterior puesto que hay un compuesto de polihidroxi como componente ii). En una realización, por lo tanto, el tensioactivo es uno de los tipos 1, 3, 4 o 5, más preferiblemente un tensioactivo de polímero.

Igual que todos los componentes opcionales indicados en el presente documento, el componente d) puede estar ausente.

25 Un aspecto clave de la presente invención es que los inventores han establecido un modo en el que una mayor proporción de agente activo se puede incorporar en una matriz de liberación controlada a base de lípidos de lo que sería posible con las formulaciones anteriores. Ellos han establecido que la inclusión de un componente de polihidroxi (ii) puede aumentar dramáticamente la cantidad de agente bioactivo que se puede estabilizar con éxito en la matriz lipídica.

30 La naturaleza del componente de polihidroxi es principalmente que se compone de al menos una molécula orgánica pequeña (por ejemplo, peso molecular 100 a 1000 u.m.a., preferiblemente 150 a 700 u.m.a., más preferiblemente 160 a 360 u.m.a.) con al menos 4 grupos hidroxilo. Preferiblemente, los compuestos polihidroxilados tendrán de 4 a 40 grupos hidroxilo, preferiblemente de 5 a 20 grupos hidroxilo, y más preferiblemente de 5 a 15 grupos hidroxilo. Grupos polihidroxilados preferidos son los azúcares o derivados de azúcar, y los mono, di y tri-sacáridos (especialmente los disacáridos) son particularmente preferidos. Los ejemplos más preferidos son la trehalosa y sacarosa.

35 La cantidad de componente de polihidroxi requerido en la formulación o la idoneidad de cualquier compuesto de polihidroxi en particular o de la mezcla dependerá de la naturaleza del componente lipídico i), la naturaleza del agente bioactivo iii), la solubilidad inherente del agente bioactivo en la parte de los lípidos, y la concentración que se requiera con el fin de conseguir una carga suficiente del agente activo en el volumen de administración. En cualquier caso particular, la idoneidad y/o cantidad requerida puede ser fácilmente establecida por la formulación de la composición, usando los componentes requeridos (i) y (iii), tanto solos como con un aumento de las proporciones de componente de polihidroxi ii) y observando si el agente activo forma una formulación estable. Procedimientos adecuados se describen en detalle en los Ejemplos adjuntos.

Como guía, relaciones en peso típicas de componente de polihidroxi a agente bioactivo (es decir, componentes ii) : iii)) serán de 50:1 a 1:5, más preferiblemente de 20:1 a 1:2, y lo más preferiblemente de 10:1 a 1:1.

45 Las formulaciones de la presente invención contienen un componente de agente bioactivo iii) (descrito de forma equivalente como "agentes activos" en el presente documento). Los agentes activos pueden ser cualquier compuesto que tiene un efecto biológico o fisiológico deseado, tal como una proteína, fármaco, antígeno, nutriente, cosmético, fragancia, aroma, agente de diagnóstico, agente farmacéutico, vitamina o agente de la dieta y se formularán en un nivel suficiente para proporcionar una concentración in situ a nivel funcional (incluyendo concentraciones locales para composiciones tóxicas). En algunas circunstancias uno o más de los componentes a, b y/o c también puede ser un agente activo, aunque se prefiere que el agente activo no deba ser uno de estos componentes. La mayoría de los agentes activos más preferidos son agentes farmacéuticos que incluyen fármacos, vacunas y agentes de diagnóstico.

Se ha observado en particular por los presentes inventores que las biomoléculas poliméricas tales como los péptidos y agentes activos a base de péptidos (por ejemplo, proteínas) logran una mejora considerable en su capacidad para ser incorporadas de forma estable en sistemas de matriz lipídica mediante la inclusión de un componente de polihidroxi según la presente invención. Los materiales activos biológicos favoritos comprenden por lo tanto los aminoácidos, oligo- y poli-péptidos, proteínas, oligonucleótidos, y vacunas, así como análogos, derivados y miméticos de los mismos.

Ejemplos de agentes activos basados en péptidos de especial idoneidad incluyen hormonas peptídicas (por ejemplo, hormonas derivadas de aminas, hormonas peptídicas, y hormonas polipeptídicas), enzimas (por ejemplo, oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, ligasas), proteínas (por ejemplo, albúminas, apoproteínas, proteínas de la sangre, proteínas citoesqueléticas, proteínas de unión a ADN, proteínas fetales, proteínas pungal, aprotinina, globulinas, proteínas de choque térmico, hemoproteínas, lectinas, proteínas sanguíneas, proteínas de membrana, metaloproteínas, proteínas mitocondriales, proteínas de neoplasia, proteínas del tejido nervioso, proteínas nucleares, nucleoproteínas, proteínas transportadoras, proteínas vegetales, proteínas recombinantes, escleroproteínas, serpinas, factores de transcripción, proteínas víricas, proteínas contráctiles), factores biológicos y productos biológicos (por ejemplo, antitoxinas, marcadores biológicos, marcadores quimiotácticos, coagulasa, toxinas, antitoxinas, sueros de inmunidad, vacunas), anticuerpos (por ejemplo, monoclonales, policlonales), fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, Fab, F(ab)₂, y scVF), antígenos (por ejemplo, antígenos víricos, alérgenos), y citoquinas (por ejemplo linfoquinas, inmunotoxinas).

Ejemplos específicos de materiales activos adecuados incluyen eritropoyetina (epoetina alfa, epoetina beta, darbepoetina alfa), G-CSF (Filgrastim), insulina (incluyendo análogos y derivados, miméticos), somatotropina (hGH), interferones (incluyendo el interferón alfa, interferón beta, y análogos), interleucinas (incluyendo IL-1, IL-2, IL-3, ... IL-33), glucagón, péptido-1 similar al glucagón (y agonistas de los receptores de tipo péptido-1 similar al glucagón), péptido-2 similar al glucagón (y agonistas de los receptores de tipo péptido-2 similar al glucagón), somatostatina y análogos de la somatostatina, hormonas estimulantes de melanocitos y sus péptidos relacionados, hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y sus fragmentos, angiotensina y sus péptidos relacionados, anticuerpos y sus fragmentos, antígenos y sus fragmentos, péptidos natriuréticos atriales, péptidos bioadhesivos, bradiquininas y sus péptidos relacionados, calcitoninas y sus péptidos relacionados, fragmentos de proteínas de receptores de la superficie celular, péptidos quimiotácticos, ciclosporinas, citoquinas, dinorfinas y sus péptidos relacionados, endorfinas y fragmentos de P-lidotropina, encefalina y sus proteínas relacionadas, inhibidores de enzimas, péptidos inmunoestimulantes y poliaminoácidos, fragmentos de fibronectina y sus péptidos relacionados, péptidos gastrointestinales, agonistas y antagonistas de la hormona liberadora de la gonadotropina (GnRH), péptidos liberadores de la hormona de crecimiento, péptidos inmunoestimulantes, hormonas que liberan la hormona luteinizante (LHRH) y sus péptidos relacionados, péptidos relacionados con la señal de localización nuclear, neurotensinas y sus péptidos relacionados, péptidos neurotransmisores, péptidos opiáceos, oxitocinas, vasopresinas y sus péptidos relacionados, hormona paratiroidea y sus fragmentos, proteínas quinasas y sus péptidos relacionados, sustancia P y sus péptidos relacionados, factores de crecimiento transformadores (TGF) y sus péptidos relacionados, fragmentos de factor de necrosis tumoral, toxinas y toxoides y péptidos funcionales, tales como péptidos contra el cáncer, incluyendo angioestatinas, péptidos antihipertensivos, péptidos de anticoagulación de la sangre, y péptidos antimicrobianos; seleccionados del grupo que consiste en proteínas tales como inmunoglobulinas, angiogeninas, proteínas morfogénicas óseas, quimiocinas, factores estimulantes de colonias (CSF), citoquinas, factores de crecimiento, leptinas, factores inhibidores de la leucemia, factores de células madre y factores de crecimiento transformadores.

De particular idoneidad para las presentes invenciones son interferones (incluyendo análogos, tales como aglutinantes de complejos del receptor IFNAR), glucagón, agonistas de los receptores del péptido-1 similar a glucagón, receptores del péptido-2 similar a glucagón, somatostatina y análogos de la somatostatina.

Los interferones (IFN) son una familia de proteínas de origen natural, que tienen pesos moleculares que oscilan de 15.000 a 21.000 daltones, producidas por las células nucleadas, moléculas que tienen actividad antivírica, antiproliferativa, y de regulación de la respuesta inmune. Los interferones incluyen los tipos I, II y III, de los cuales el tipo I incluye todos los interferones alfa y beta (más omega, epsilon, y kappa) así como los análogos que incluyen todos los aglutinantes del complejo del receptor IFNAR. Algunos ejemplos de interferones terapéuticos adecuados y análogos (y productos correspondientes) incluyen; Alfa-2a (Roferon-A), Alfa-2b (Intron-A), Alfa-n3 (Alferon), Alfacon-1 (Infergen), Peginterferón alfa-2a (Pegasys), Peginterferon alfa-2b (Peg-Intron), Beta-1a (Rebif, Avonex), Beta-1b (Betaferon). Interferones conocidos de tipo II incluyen el interferón gamma, y el tipo III que consiste en interferón lambda. Interferones de todos los tipos son útiles en el tratamiento de las enfermedades neoplásicas, tal como el cáncer y la leucemia.

El péptido similar al glucagón (GLP)-1 es una hormona glucorreguladora potente que se libera de las células intestinales L en la circulación en respuesta a la ingestión de nutrientes y estímulos neuronales y endocrinos. Estructuralmente, el precursor de GLP-1 (precursor de las formas activas) es un péptido de 37 aminoácidos con un peso molecular de 4,2 kDa, que tiene una secuencia muy conservada entre diferentes especies. Después de la

escisión post-traducción de los primeros seis aminoácidos del precursor, se generan dos formas activas equipotentes de GLP-1 ((7-37) amida y (7-36) amida). GLP-1 está implicada en la modificación de la homeostasis de la glucosa a través de acciones que incluyen la potenciación de la secreción de insulina estimulada por la glucosa y la biosíntesis y la supresión de la secreción de glucagón, el vaciamiento gástrico y la ingesta de alimentos. El potencial terapéutico del GLP-1 nativo está limitado por su semivida plasmática muy corta (menos de 2 minutos). Esto se debe tanto a la rápida inactivación por la enzima proteolítica dipeptidilpeptidasa (DPP)-IV como al aclaramiento renal. Por consiguiente, se han desarrollado para uso clínico análogos de GLP-1 de acción prolongada resistentes a DPP-IV, que incluyen exenatida (Byetta, Amylin Lilly), liraglutida (Novo Nordisk), CJC-1131 (ConjuChem), AVE010 (Zealand Farma Sanofi-Aventis), LY548806 (Lilly), TH-0318 (TheraTechnologies), y BIM 51077 (Ipsen-Roche). Todos estos son productos de administración de una vez o dos veces al día; un producto de liberación controlada (una semana) exenatida (exenatida LAR-Alkermes Amylin-Lilly) está actualmente en investigación clínica. Estos miméticos de GLP-1 se unen a los receptores de GLP-1 con una afinidad similar o superior y producen acciones biológicas idénticas a las del GLP-1 nativo, pero son resistentes a la inactivación mediada por DPP-IV y al aclaramiento renal.

Las estructuras y las secuencias de las dos formas de origen natural equipotentes de GLP-1 y algunos análogos conocidos se muestran a continuación. Un sistema simple se utiliza para describir fragmentos y análogos de GLP-1. Por ejemplo, Arg34-GLP-1 (7-37) designa un análogo de GLP-1 formalmente derivado del precursor de GLP-1 mediante la eliminación de los residuos de los aminoácidos números 1 a 6 y sustituyendo el residuo de aminoácido de origen natural en la posición 34 (Lys) por Arg.

GLP-1(7-37) nativo (humano)

His7-Ala-Glu-Gly10-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp15-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu20-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala25-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala30-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Gly37

Nativo (humano)

GLP-1(7-36)amida

Otros agonistas del receptor de GLP-1 adecuados se describen en, por ejemplo Knudsen et al. J. Med. Chem. 2000, 43, 1664-1669; Knudsen J. Med. Chem. 2004, 47, 4128-4134; Hui et al. Diabetes Metab. Res. Rev. 2005, 21, 313-331 y Holz y Chepurny Curr. Med. Chem. 2003, 10, 2471-2483. Estas citas se incorporan aquí como referencias en su totalidad, y aunque pasajes específicos se mencionan en el presente documento, todas las secuencias de análogos de GLP-1 y todos los agonistas del receptor GLP-1 mencionados en cualquiera de estos documentos son adecuados para usar en la presente invención. Los agonistas del receptor de GLP-1 como se refieren en el presente documento incluyen todos los análogos de GLP-1 como se describieron anteriormente y en las referencias citadas anteriormente.

Dado que GLP-1 es una hormona peptídica, los análogos y agonistas del receptor de GLP-1 típicos serán péptidos, especialmente de alrededor de 30 aminoácidos, por ejemplo, de 20 a 45, especialmente de 25 a 38. Preferiblemente, dichos péptidos estarán estructuralmente relacionados con GLP-1 y/o uno o más de los análogos conocidos, incluidos los enumerados en el presente documento. Los péptidos pueden contener sólo aminoácidos seleccionados de los 20 α -aminoácidos indicados en el código genético, o más preferiblemente pueden contener sus isómeros y otros aminoácidos naturales y no naturales, (generalmente α , β , o γ amino ácidos) y sus análogos y derivados.

Los derivados de aminoácidos son especialmente útiles en los extremos de los péptidos, en donde el amino terminal o el grupo carboxilato puede estar sustituido por o con cualquier otro grupo funcional tal como hidroxilo, alcoxi, carboxi, éster, amida, tio, amido, amino, alquilamino di- o tri-alquilamino, alquilo (por el cual se entiende, en el presente documento a lo largo de la cadena alquilo C1-C12, preferiblemente alquilo C1-C6, por ejemplo metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-, sec- o t-butilo, etc.), arilo (por ejemplo fenilo, bencilo, naftilo, etc.) u otros grupos funcionales, preferiblemente con al menos un heteroátomo y que tienen preferiblemente no más de 10 átomos en total, más preferiblemente no más de 6.

Por "análogo de GLP-1", como se usa en este documento se indica cualquier agonista del receptor de GLP-1 (o menos preferiblemente antagonista), incluyendo las formas de origen natural de GLP-1, ya sea humano o de cualquier otra especie. Estos análogos son preferiblemente péptidos, derivados de péptidos o miméticos de péptidos. Agonistas de GLP-1 derivados de péptidos son los más preferidos, tales como los indicados anteriormente y, especialmente, GLP-1(7-37), GLP-1(7-36) amida, Liraglutida, AVE-010 (ZP10), TH0318 y Exenatida.

Los agonistas del receptor del péptido 2 similar a glucagón corresponden en la naturaleza a los agentes activos descritos anteriormente para los agonistas del receptor de GLP-1, pero son activos frente al receptor de GLP-2.

Todos los agonistas del receptor de GLP-1 y del receptor de GLP-2 son útiles en el tratamiento de la diabetes, especialmente la diabetes de tipo II, y tratamiento terapéutico y cosmético (no terapéutico) para la pérdida de peso o la obesidad.

5 En un aspecto, el agente activo no es el GLP-1. En un aspecto relacionado, el agente activo no es un análogo de GLP-1 o agonista del receptor de GLP-1. Estos se describieron en detalle anteriormente.

10 La somatostatina es una hormona peptídica cíclica de 14 residuos que tiene la secuencia Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys, donde los dos residuos de cistina están conectados por un puente disulfuro para generar una vuelta β tipo II en la secuencia de unión clave de Phe-Trp-Lys-Thr. La somatostatina es una hormona peptídica natural también conocida como factor de inhibición de la liberación de la hormona de crecimiento y tiene un papel como antagonista de la insulina, glucógeno y ciertas otras hormonas en la liberación de somatotropina (hormona de crecimiento humano). La semivida biológica de la somatostatina natural es muy corta (1-3 minutos) y por ello es difícil generar una formulación terapéutica viable usando este activo, pero un número creciente de análogos de la somatostatina se están haciendo disponibles con actividades más altas y/o tiempo de aclaramiento mayor in vivo.

15 Análogos de la somatostatina, tal como la octreotida, lanreotida, vapreotida y péptidos relacionados, se utilizan o son indicados en el tratamiento de una variedad de condiciones donde se administran típicamente durante un período prolongado. Análogos de la somatostatina preferidos son análogos de péptidos, incluyendo aquellos que comprenden aminoácidos modificados, tales como los descritos anteriormente en relación con otras sustancias activas.

20 Todas las somatostatinas y análogos son útiles en el tratamiento de la diabetes, especialmente la diabetes de tipo II, y en el tratamiento terapéutico y cosmético (no terapéutico) para la pérdida de peso o la obesidad.

25 La cantidad de agente bioactivo a formular con las preformulaciones de la presente invención dependerá de la dosis funcional y del periodo durante el cual la composición depot formada después de la administración tiene que proporcionar liberación sostenida. Típicamente, la dosis formulada para un agente particular será aproximadamente equivalente a la dosis diaria normal, multiplicado por el número de días que la formulación va a proporcionar la liberación. Aunque la tasa de liberación de una matriz de liberación controlada a base de lípidos puede ser muy lineal, la mayor concentración será generalmente poco después de la administración y será necesario que la dosis sea adaptada para tener en cuenta los efectos adversos de una dosis relativamente alta en el inicio del tratamiento. La cantidad precisa adecuada en cualquier caso será fácilmente determinada mediante la experimentación adecuada.

30 Como una guía de trabajo, un nivel de 1 mg a 200 mg de agente activo por 1 g de matriz de liberación controlada a base de lípidos es un nivel adecuado. Esto es más preferiblemente que sea de 2 a 100 mg de agente activo por gramo de matriz. Un volumen de administración de 0,05 a 10 ml, preferiblemente de 0,1 a 8 ml (especialmente 0,2 a 5 ml) es muy apropiado, especialmente para aplicación parenteral, para equilibrar la carga del fármaco, la facilidad de administración y la incomodidad para el sujeto.

35 En una realización, las pre-formulaciones de la presente invención generalmente se administran por vía parenteral. Esta administración en general no será por un método intravascular, sino que será preferiblemente subcutánea, intracavitaria, intravítrea o intramuscular. Típicamente, la administración será mediante inyección, término que se usa aquí para indicar cualquier método en el que se hace pasar la formulación a través de la piel u otra superficie del cuerpo, tal como por medio de una aguja, catéter o un inyector sin aguja.

La inyección subcutánea, intracavitaria, intravítrea o intramuscular mediante cualquier método adecuado serán por lo tanto apropiadas.

45 En una realización alternativa, las formulaciones de la presente invención pueden formar depósitos no parenterales, donde el agente activo se libera lentamente en una superficie del cuerpo. Es especialmente importante en esta realización que las pre-formulaciones de la invención y/o las composiciones depot cristalinas líquidas formadas de los mismos deban ser preferiblemente bioadhesivas. Es decir que las composiciones deben recubrir la superficie a la que se aplican y/o sobre la que se forman según proceda, y deben permanecer incluso cuando esta superficie está sujeta a un flujo de aire o líquido y/o a la frotación. Es particularmente preferible que las composiciones depot cristalinas líquidas formadas sean estables al lavado con agua. Por ejemplo, un pequeño volumen de precursor de depot puede ser aplicado a una superficie del cuerpo y ser expuesto a un flujo de quinientas veces su propio volumen de agua por minuto durante 5 minutos. Después de este tratamiento, la composición puede considerarse bioadhesiva si menos del 50% del agente bioactivo se ha perdido. Preferiblemente, este nivel de pérdida será igualado cuando el agua que equivale a 1.000 veces y más preferiblemente a 10 000 veces el volumen de la composición se hace fluir por minuto durante cinco, o, preferiblemente, 10, minutos.

Aunque las composiciones depot no parenterales de la presente invención pueden absorber parte o la totalidad del agua necesaria para formar una estructura de fase cristalina líquida desde las superficies biológicas con las que están en contacto, un poco de agua adicional también puede ser absorbida desde el aire circundante. En particular, cuando se forma una capa fina de gran área superficial entonces la afinidad de la composición por el agua puede ser suficiente para que se forme una estructura de fase cristalina líquida por contacto con el agua en el aire. El "fluido acuoso" al que se refiere el presente documento, es por tanto, al menos parcialmente, aire que contiene algo de humedad en esta realización.

Composiciones depot no parenterales típicamente se generarán por la aplicación de la pre-formulación tópicamente a una superficie corporal o a una cavidad corpórea natural o generada artificialmente y/o a la superficie de un implante. Esta aplicación puede ser mediante aplicación directa del líquido tal como por pulverización, inmersión, enjuague, aplicación de un rodillo de almohadilla o bola, inyección intra-cavidad (por ejemplo, para una cavidad abierta con o sin el uso de una aguja), pintura, dejándolo caer (especialmente en los ojos) y otros métodos similares. Un método muy eficaz es pulverización por aerosol o bomba y, evidentemente, esto requiere que la viscosidad de la pre-formulación sea tan baja como sea posible y es por lo tanto muy adecuado para las composiciones de la invención. Depósitos no parenterales pueden, sin embargo, ser usados para administrar agentes sistémicos, por ejemplo, por vía transmucosa o transdérmica.

Depots no parenterales también se pueden usar para la aplicación a superficies, en particular de implantes y materiales que estarán en contacto con el cuerpo o una parte del cuerpo o fluido corporal. Los dispositivos tales como implantes, catéteres, etc. pueden por lo tanto ser tratados, por ejemplo, por inmersión o pulverización con las pre-formulaciones de la invención, que formarán una capa robusta para reducir la introducción de la infección. Activos anti-infecciosos son especialmente adecuados para este aspecto.

Composiciones depot no parenterales son también de beneficio significativo en combinación con agentes activos no farmacéuticos, tales como activos cosméticos, fragancias, aceites esenciales, etc. Tales depósitos no farmacéuticos mantendrán los aspectos importantes de bioadhesión y de liberación sostenida para proporcionar efectos cosméticos prolongados, pero pueden ser fácilmente aplicados por pulverización o frotado. Esto, además, se aplica a los agentes que tienen tanto beneficios cosméticos como médicos (especialmente profilácticos), tales como agentes de protección solar. Dado que las composiciones depot tópicas proporcionan, barreras robustas resistentes al agua que pueden solubilizar niveles altos de sustancias activas, son especialmente adecuadas para los protectores solares y bloqueadores solares en combinación con absorbentes de la luz ultravioleta (UV, o sea, rayos UVA, UVB y/o UVC) y/o agentes de dispersión, en particular donde altos niveles de protección son deseables. Las composiciones son además altamente biocompatibles y pueden actuar para humectar y refrescar la piel durante la exposición al sol. Las composiciones de la invención que contienen agentes calmantes como el aloe vera también son muy adecuadas para la aplicación calmante y humectante después de la exposición a la luz solar, o a la piel que está seca, inflamada o dañada debido, por ejemplo, a irritación, quemado o abrasión.

Las formulaciones de la presente invención proporcionan preferentemente fases estructuradas, tales como composiciones depot cristalinas líquidas no laminares tras la exposición a fluidos acuosos, especialmente in vivo y en contacto con las superficies del cuerpo. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "no laminar" se usa para indicar una fase cristalina líquida normal o invertida (tal como una fase cúbica o hexagonal) o la fase L3 o cualquier combinación de las mismas. El término cristalino líquido indica todas las fases cristalinas líquidas hexagonales, y todas las fases cristalinas líquidas cúbicas y/o todas las mezclas de las mismas. Hexagonal como se utiliza en el presente documento indica hexagonal "normal" o "invertida" (preferiblemente invertida) y "cúbica" indica cualquier fase cristalina líquida cúbica a no ser que se especifique lo contrario. Mediante el uso de las pre-formulaciones de la presente invención, es posible generar cualquier estructura de fase presente en el diagrama de fase de los componentes a y b con agua. Esto es porque las pre-formulaciones se pueden generar con una gama más amplia de concentraciones relativas de los componentes que los sistemas depot de lípidos anteriores sin correr el riesgo de separación de fases o de que resulten en soluciones muy viscosas para inyección. En particular, la presente invención permite el uso de concentraciones de fosfolípidos por encima de 50% en relación con el contenido total del anfífilo. Esto permite el acceso a fases solamente vistas a concentraciones altas de fosfolípidos, particularmente las fases cristalinas líquidas hexagonales, y también es muy eficaz en la solubilización de los componentes polihidroxi/agente activo.

Una muy considerable ventaja de la presente invención es que las formulaciones que tienen una alta carga del agente bioactivo son estables en una forma adecuada para la administración directa. Es decir, las formulaciones no requieren ninguna preparación en el punto de atención, sino que pueden ser pre-generadas a gran escala y se distribuyen en forma lista para la administración. Esto se hace aún más beneficioso debido a que cada uno de los componentes es un componente líquido o soluble único que se puede esterilizar por filtración o por tratamiento térmico usando métodos rutinarios. Todas las formulaciones, en todos los aspectos de la invención están por lo tanto preferiblemente en una forma lista para su administración. Las formulaciones pueden por lo tanto ser distribuidas en paquetes estériles de una dosis única o en paquetes estériles de dosis múltiples listos para su uso inmediato. Tal distribución puede estar convenientemente en la forma de un dispositivo de administración precargado.

En un aspecto adicional, la invención proporciona por lo tanto un dispositivo de administración precargado que contiene una formulación como se describe en este documento. Preferiblemente, el dispositivo contendrá una o varias dosis de la formulación. Preferiblemente, el dispositivo y la formulación serán estériles y en un envase estéril. Preferiblemente, la formulación estará lista para su administración.

- 5 Del mismo modo, la invención proporciona en un aspecto adicional un kit que comprende uno o más dosis medidas de una formulación de la invención, como se describe en este documento, y al menos un dispositivo de administración.

Los dispositivos de administración adecuados dependerán de la naturaleza y el uso de la composición particular, pero pueden ser, por ejemplo jeringas (que pueden ser proporcionados con o sin agujas), inyectores sin aguja, pulverizaciones, aerosoles, plumas de inyección y así sucesivamente.

10 La invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitativos, y la figura adicionada, en la que:

La Figura 1. Muestra la concentración plasmática de somatostatina en la rata (n=6) después de la administración subcutánea de una formulación de somatostatina de la invención y una formulación de placebo. Las barras de errores denotan la desviación estándar.

Ejemplos

Abreviaturas utilizadas:

Nombre	Abreviatura	Suministrador
Fosfatidilcolina, soja	SPC	Lipoid, Alemania
Dioleoil fosfatidilcolina (sintética)	DOPC	Lipoid, Alemania
dioléato de glicerol	GDO	Danisco, Dinamarca
Etanol (99,5%)	EtOH	Kemetyl, Suecia
Trehalosa	TRE	Sigma-Aldrich, Suecia
Sucrosa	SUC	Sigma-Aldrich, Suecia
Manitol	MAN	Sigma-Aldrich, Suecia
Peroxidasa (rábano)	PER	Sigma-Aldrich, Suecia
Pepsina	PEP	Sigma-Aldrich, Suecia
Lisozima	LYS	Sigma-Aldrich, Suecia
Péptido 1 (7-36) amida similar al glucagón, sal de acetato	GLP-1	Polypeptide Laboratories Inc., CA, USA
Somatostatina, sal de acetato	SOM	Polypeptide Laboratories Inc., CA, USA

Ejemplo 1. Preparación de formulaciones lipídicas líquidas no acuosas de pepsina (PEP)

- 20 Se prepararon formulaciones lipídicas líquidas de SPC/GDO/EtOH o DOPC/GDO/EtOH pesando el componente respectivo en un vial de vidrio seguido por la rotación de extremo a extremo durante al menos 6 horas a temperatura ambiente. Las composiciones de lípidos utilizadas se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Composiciones lipídicas en % de peso (peso%)

Número de formulación lipídica	SPC	DOPC	GDO	EtOH
1	45	-	45	10
2	42,5	-	42,5	15
3	-	42,5	42,5	15

5 Las soluciones acuosas de PEP (Pm ca 35 kDa) se prepararon disolviendo PEP en una solución acuosa que contenía la cantidad requerida del componente de polihidroxi (TRE, SUC o MAN) en viales de vidrio. La concentración final de PEP fue de 10 mg/ml. Las soluciones resultantes se congelaron a -85° C durante 1 hora seguido de liofilización durante la noche. Los polvos resultantes que comprendían PEP/componente de polihidroxi en relaciones de peso de 2:1 a 1:3 fueron finamente molidos con una espátula antes de la adición a las formulaciones lipídicas.

10 Los polvos liofilizados se añadieron a las formulaciones lipídicas de modo que la concentración final de PEP en las formulaciones fue del 1% en peso, seguido por la rotación de extremo a extremo durante de 1-3 días. Las formulaciones resultantes se evaluaron visualmente en cuanto a su homogeneidad y transparencia, donde una muestra homogénea y transparente indica la disolución completa de PEP. Los resultados se exponen en la Tabla 2.

Tabla 2. Formulaciones de lípido/PEP/componente de polihidroxi (composición lipídica como en la tabla 1)

Número de formulación lipídica	PEP/TRE (peso:peso)	PEP/SUC (peso:peso)	PEP/MAN (peso:peso)	Formulación transparente y homogénea	concentración de PEP (peso%)
1	1:1	-	-	Si	1
1	1:2	-	-	Si	1
1	1:2,5	-	-	Si	1
1	1:3	-	-	Si	1
2	1:2,5	-	-	Si	1
3	1:2,5	-	-	Si	1
2	-	1:2,5	-	Si	1
1	-	-	1:2,5	No	1

15 Se desprende de los resultados de la Tabla 2 que TRE y SUC producen un alto efecto potenciador de la solubilidad en la matriz lipídica no acuosa mientras que MAN no es eficaz. Es importante que PEP puro no pudiese disolverse en ningún grado observable visualmente en cualquiera de las formulaciones lipídicas 1-3.

Ejemplo 2. Preparación de formulaciones lipídicas no acuosas líquidas de lisozima (LYS)

Se prepararon formulaciones lipídicas líquidas como se describió en el Ejemplo 1.

20 Polvos de LYS liofilizados (Pm ca 15 kDa) y componente de polihidroxi se prepararon en la misma forma que para el PEP en el Ejemplo 1.

25 Los polvos liofilizados fueron añadidos a las formulaciones lipídicas de forma que la concentración final de LYS en las formulaciones fue de 1-2% seguido de rotación de extremo a extremo durante 1-3 días. Las formulaciones resultantes fueron después visualmente examinadas en cuanto a homogeneidad y transparencia en donde una muestra homogénea y transparente indica la completa disolución de LYS. Los resultados se exponen en la Tabla 3

Tabla 3. Formulaciones de lípido/LYS/ componente de polihidroxi (composición de lípido como en la tabla 1)

Número de formulación lipídica	LYS/TRE (peso:peso)	LYS/MAN (peso:peso)	Formulación homogénea y transparente	Concentración de LYS (peso%)
1	1:2,5	-	Si	1
2	1:2,5	-	Si	1
3	1:2,5	-	Si	2
2	-	1:2,5	No	1

5 Se desprende de los resultados de la Tabla 3 que TRE produce un alto efecto potenciador de la solubilidad en la matriz lipídica no acuosa mientras que MAN no es efectivo. Es importante que LYS pura no pudiese disolverse en ningún grado observable visualmente en ninguna de las formulaciones lipídicas 1-3.

Ejemplo 3. Preparación de la formulación lipídica líquida no acuosa de peroxidasa (PER) de rábano picante

Se prepararon formulaciones lipídicas líquidas como se describió en el Ejemplo 1.

Se prepararon polvos liofilizados de PER (Pm ca 40 kDa) y componente de polihidroxi de la misma manera que para el PEP en el Ejemplo 1.

10 Los polvos liofilizados se añadieron a las formulaciones de lípidos tal que la concentración final de PER en las formulaciones fue del 1% en peso, seguido por la rotación de extremo a extremo durante 4 horas. Las formulaciones resultantes se evaluaron visualmente en cuanto a la homogeneidad y transparencia, donde una muestra homogénea y transparente indica disolución completa de PER. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Formulación de lípido/PER/componente de polihidroxi (composición lipídica como en la Tabla 1)

Número de formulación lipídica	PER/TRE (peso:peso)	Formulación homogénea y transparente	Concentración de PER (peso%)
2	1:2,5	Si	1

15 Es evidente a partir de los resultados en la Tabla 4 que TRE produce un alto efecto potenciador de la solubilidad en la matriz lipídica no acuosa. Es importante, que PER puro no pudiese disolverse en ningún grado visiblemente observable en la formulación lipídica número 2.

Ejemplo 4. Preparación de la formulación lipídica no acuosa líquida de somatostatina (SOM)

20 Se prepararon las formulaciones lipídicas líquidas como se describió en el Ejemplo 1.

Polvos liofilizados de SOM (Pm ca 1,6 kDa) y componente de polihidroxi se prepararon de la misma manera que para PEP en el Ejemplo 1.

25 Los polvos liofilizados se añadieron a las formulaciones lipídicas de manera que la concentración final de SOM (base libre) en las formulaciones fue de 1-2% en peso, seguido por la rotación de extremo a extremo durante 1-3 días. Las formulaciones resultantes se evaluaron visualmente en cuanto a homogeneidad y transparencia, donde una muestra homogénea y transparente indica disolución completa de SOM. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Formulación de lípido/SOM/componente de polihidroxi (composición del lípido como en la Tabla 1).

Número de formulación lipídica	SOM/TRE (peso:peso)	Formulación homogénea y transparente	Concentración (peso%) de SOM (base libre)
1	1:2,5	Si	1
2	1:2,5	Si	2
3	1:2,5	Si	2

5 Se desprende de los resultados en la Tabla 5 que TRE produce un alto efecto potenciador de la solubilidad en la matriz lipídica no acuosa que produce concentraciones de SOM (base libre) de al menos el 2% en peso. Es importante que, para SOM puro, una cantidad substancial de SOM no disuelto estaba presente en las muestras después del equilibrado de más de 3 días a temperatura ambiente.

Ejemplo 5. Preparación de la formulación lipídica líquida no acuosa de péptido-1 similar a glucagón (GLP-1)

Se prepararon formulaciones lipídicas líquidas como se describió en el Ejemplo 1.

10 Polvos liofilizados de GLP-1 (Pm ca 3,3 kDa) y componente de polihidroxi se prepararon de la misma manera que para el PEP en el Ejemplo 1, excepto que se incluyó ácido acético al 0,1% en peso en el medio acuoso antes de la liofilización.

15 Los polvos liofilizados se añadieron a las formulaciones lipídicas de manera que la concentración final de GLP-1 en las formulaciones fue de 1-1,5% en peso, seguido por la rotación de extremo a extremo durante 1-3 días. Las formulaciones resultantes se evaluaron visualmente en cuanto a su homogeneidad y transparencia, donde una muestra homogénea y transparente indica completa disolución de GLP-1. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Formulación de lípido/GLP-1/componente de polihidroxi (composición lipídica como en la tabla 1)

Número de formulación de lípido	GLP-1/TRE (peso:peso)	GLP-1/MAN (peso:peso)	Formulación homogénea y transparente	Concentración de GLP-1 (peso%)
1	1:1	-	Si	1
1	1:2	-	Si	1
1	1:2,5	-	Si	1
2	1:2,5	-	Si	1
2	-	1:2,5	No	1
3	1:2,5	-	Si	1,5

20 Se desprende de los resultados de la Tabla 6 que TRE produce un alto efecto potenciador de la solubilidad en la matriz lipídica no acuosa mientras que MAN no es eficaz. Es importante destacar que, para GLP-1 puro, una cantidad sustancial de GLP-1 no disuelta aún estaba presente en las muestras después de más de 3 días de equilibrado a temperatura ambiente.

Ejemplo 6. Medición de la actividad de peroxidasa residual en las formulaciones de lípido basadas en la peroxidasa de rábano picante (PER)

25 Se preparó una formulación lipídica líquida que comprendía PER 0,95% en peso (9,53 mg PER/g) y una composición lipídica de SPC/GDO/EtOH = 42,5/42,5/15% en peso como se describió en el Ejemplo 3.

La formulación homogénea y transparente resultante se ensayó para la actividad de peroxidasa de la siguiente manera:

La muestra de lípidos se pesó directamente en un matraz volumétrico de 2 ml y después se disolvió y se llenó hasta el volumen con una mezcla de metanol (MeOH) y dimetilsulfóxido (DMSO) a una proporción en volumen de 1:1.

- 5 Se disolvieron 5,70 mg de tetrametil bencidina (TMB) en 950 μ l de DMSO. Se mezcló 400 μ l de la solución resultante con 12 ml de tampón de citrato (50 mM, pH 5,5) que también contenía 13,5 μ l de H₂O₂ al 30% (mezcla de sustrato). Se dispensaron 50 μ l de muestras de estándares por duplicado en pocillos separados en una placa de microtitulación transparente, y se mezclaron con 150 μ l/pocillo de mezcla de sustrato. Después de la incubación durante 15 minutos a temperatura ambiente (en la oscuridad), la reacción se detuvo con 100 μ l/pocillo de HCl 2N. Se registró la absorbancia a 450 nm de cada pocillo.

La actividad de la peroxidasa (equivalentes PER, mg/g) en las tres réplicas de la formulación lipídica se presentan en la Tabla 7 a continuación.

Tabla 7. Actividad de peroxidasa en la formulación lipídica. Se hicieron medidas por triplicado

Réplicas	Equivalentes PER mg/g	CV, %	Recuperación,%
I	13,83	17,12	144,97
II	13,09	4,66	137,26
III	13,62	7,49	142,83
Promedio	13,52	2,81	141,69

- 15 El PER disuelto en la formulación lipídica está activo; el hecho de que la actividad de la proteína formulada sea mayor que el estándar de referencia (es decir, recuperación > 100%) puede ser debido a una "protección" de la enzima por los lípidos frente a los efectos negativos de los disolventes orgánicos utilizados para disolver la formulación y las muestras estándar.

- 20 Ejemplo 7. Preparación de formulaciones lipídicas líquidas no acuosas de pepsina (PEP) usando un polvo seco por pulverización de PEP/trehalosa

Se prepararon formulaciones lipídicas líquidas como se describió en el Ejemplo 1.

Las soluciones acuosas de PEP (Pm ca 35 kDa) se prepararon disolviendo PEP en una solución acuosa que contenía la cantidad requerida del componente de polihidroxi (TRE) en viales de vidrio. La concentración final de PEP fue de 10 mg/ml. La solución resultante se secó por pulverización usando un pulverizador secador BÜCHI Mini.

- 25 El polvo resultante que comprendía PEP/componente de polihidroxi con una relación en peso de 1:2,5 fue finamente molido con una espátula antes de la adición a las formulaciones lipídicas.

El polvo seco por pulverización se añadió a las formulaciones lipídicas de forma que la concentración de PEP final en las formulaciones fue del 1% en peso, esto fue seguido por la rotación de extremo a extremo durante 1 día. Las formulaciones resultantes se evaluaron visualmente en cuanto a su homogeneidad y transparencia, donde una muestra homogénea y transparente indica la disolución completa de PEP. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

- 30

Tabla 8. Formulaciones lípido/PEP/componente de polihidroxi (composición lipídica como en la Tabla 1)

Número de formulación lipídica	PEP/TRE (peso:peso)	Formulación homogénea y transparente	Concentración de PEP (peso%)
1	1:2,5	Si	1
2	1:2,5	Si	1
3	1:2,5	Si	1

Se desprende de los resultados de la Tabla 8 que el polvo de PEP/TRE secado por pulverizado exhibe una alta solubilidad en la matriz lipídica no acuosa. Es importante, que PEP puro no pudiese disolverse en ningún grado visiblemente observable en ninguna de las formulaciones lipídicas 1-3.

Ejemplo 8. Actuación in vivo de la formulación líquida lipídica no acuosa de somatostatina (SOM)

- 5 Se preparó una formulación lipídica líquida que comprendía SPC/GDO/EtOH = 44/44/12% en peso como se describió en el Ejemplo 1.

Se preparó un polvo liofilizado de SOM (Pm ca 1,6 kDa) y TRE de la misma manera que en el Ejemplo 4 dando una proporción de SOM (base libre)-a-TRE en peso de 1:2,5.

- 10 El polvo liofilizado se añadió a la formulación de lípidos de forma que la concentración final de SOM (base libre) en la formulación fue del 2% en peso (ca 20 mg/ml) esto fue seguido por la rotación de extremo a extremo durante 1 día. La formulación resultante fue homogénea y transparente, y se sometió a filtración a través de un filtro de membrana de 0,22 micras Millipore® PES. La formulación esterilizada por filtración final se inyectó por vía subcutánea a las ratas (macho Sprague-Dawley).

- 15 La liberación de SOM en el modelo de rata in vivo fue seguida durante 14 días. Las formulaciones se administraron por vía subcutánea entre las escápulas usando una jeringuilla (23 G, 0,6 mm x 25 mm). La concentración de SOM en el plasma de rata se cuantificó utilizando un kit comercial ELISA (S-1164, Bachem/Peninsula Laboratories, límite de cuantificación = 0,03 ng/ml). La dosis fue de 20 mg/kg y el volumen de dosis fue de 1 ml/kg correspondiente a una carga de fármaco de 2,0% en peso de SOM (base libre).

- 20 De la Figura 1 (n=6), queda claro que la formulación investigada proporciona un perfil de liberación sin un efecto de estallido, es decir, con una liberación inicial baja de SOM y con un $C_{max}/C_{14d} = 6,5$. Además, los niveles de SOM fueron más altos (por un factor de 2-9 en función del punto de tiempo) que los niveles endógenos de SOM en al menos 14 días como se puede deducir mediante la comparación con la formulación placebo. Es de destacar que a pesar de la semivida muy corta de SOM en el plasma de la rata (del orden de unos pocos minutos) la formulación de la invención todavía proporciona al menos 14 días de duración.

25

REIVINDICACIONES

1. Una formulación que comprende:
- 5 i) Una matriz de liberación controlada a base de lípidos
- ii) Un componente de polihidroxi seleccionado del grupo que consiste en trehalosa, sacarosa y mezclas de las mismas
- iii) Un agente bioactivo péptido o proteína que no es GLP-1
- en donde el agente bioactivo está presente a una concentración de 1 a 200 mg por gramo de (i).
2. La formulación de la reivindicación 1, en donde al entrar en contacto con un medio acuoso, la formulación se ensambla en una masa o partículas de al menos una estructura de fase ordenada.
- 10 3. La formulación de la reivindicación 2, en donde el fluido acuoso es un fluido corporal.
4. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la matriz de liberación controlada a base de lípidos i) comprende una mezcla de viscosidad baja de:
- a) al menos un lípido de diacilo neutro y/o un tocoferol;
- b) al menos un fosfolípido;
- 15 c) opcionalmente y preferiblemente al menos un disolvente orgánico biocompatible (preferiblemente que contenga oxígeno);
- d) opcionalmente y preferiblemente al menos un agente de fragmentación.
5. La formulación de la reivindicación 4, en donde los componentes a), b) y c) se seleccionan independientemente como sigue:
- 20 el componente a) es GDO, tocoferol o mezclas de ambos,
- el componente b) es la fosfatidil colina, y
- el componente c) comprende etanol.
6. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el agente bioactivo iii) se selecciona del grupo que consiste en los interferones, glucagón, agonistas de los receptores de tipo péptido-1 similar al glucagón que no son GLP-1, agonistas de los receptores de tipo péptido-2 similar al glucagón, somatostatina, análogos de la somatostatina y mezclas de los mismos.
- 25 7. Un procedimiento para la formación de una formulación adecuada para la administración de un agente bioactivo péptido o proteína que no es GLP-1 a un sujeto (preferiblemente un mamífero), dicho proceso comprende disolver una mezcla de dicho agente bioactivo en una matriz de liberación controlada a base de lípidos, en donde al menos uno de dicho agente bioactivo y/o dicha matriz de liberación controlada a base de lípidos está en mezcla con un componente de polihidroxi, en donde el componente de polihidroxi se selecciona del grupo que consiste en trehalosa, sacarosa y mezclas de las mismas, y en donde la formulación resultante está presente a una concentración de 1 a 200 mg por gramo de la matriz de liberación controlada a base de lípidos.
- 30 8. El procedimiento de la reivindicación 7, que comprende disolver una mezcla de dicho agente bioactivo y dicho componente de polihidroxi en una matriz de liberación controlada a base de lípidos.
- 35 9. El procedimiento de la reivindicación 7 o 8, en donde los componentes de la formulación son independientemente como se define en cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6.
10. El uso de un componente de polihidroxi para aumentar la solubilidad de un agente bioactivo péptido o proteína a de 1 a 200 mg por gramo en una matriz de liberación controlada a base de lípidos, en donde el componente de polihidroxi se selecciona del grupo que consiste en trehalosa, sacarosa y mezclas de las mismas.
- 40 11. El uso como se ha reivindicado en la reivindicación 10, en donde la matriz de liberación controlada a base de lípidos es como se define en la reivindicación 4, y, independientemente, el agente bioactivo se selecciona del grupo que consiste en los interferones, glucagón, agonistas de los receptores de tipo péptido-1 similar al glucagón, agonistas de los receptores de tipo péptido-2 similar al glucagón, somatostatina, análogos de la somatostatina y mezclas de los mismos.
- 45

12. El uso de una formulación que comprende:

- i) Una matriz de liberación controlada a base de lípidos
- ii) Un componente de polihidroxi seleccionado del grupo que consiste en trehalosa, sacarosa y mezclas de las mismas
- 5 iii) Un agente bioactivo péptido o proteína

en la fabricación de una pre-formulación para uso en la administración sostenida de dicho agente bioactivo, en donde el agente bioactivo está presente en una concentración de 1 a 200 mg por gramo de (i) en la pre-formulación.

13. El uso como se ha reivindicado en la reivindicación 12, en donde la formulación es como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el tratamiento de la diabetes.

10 14. Una formulación como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para uso en el tratamiento de la diabetes.

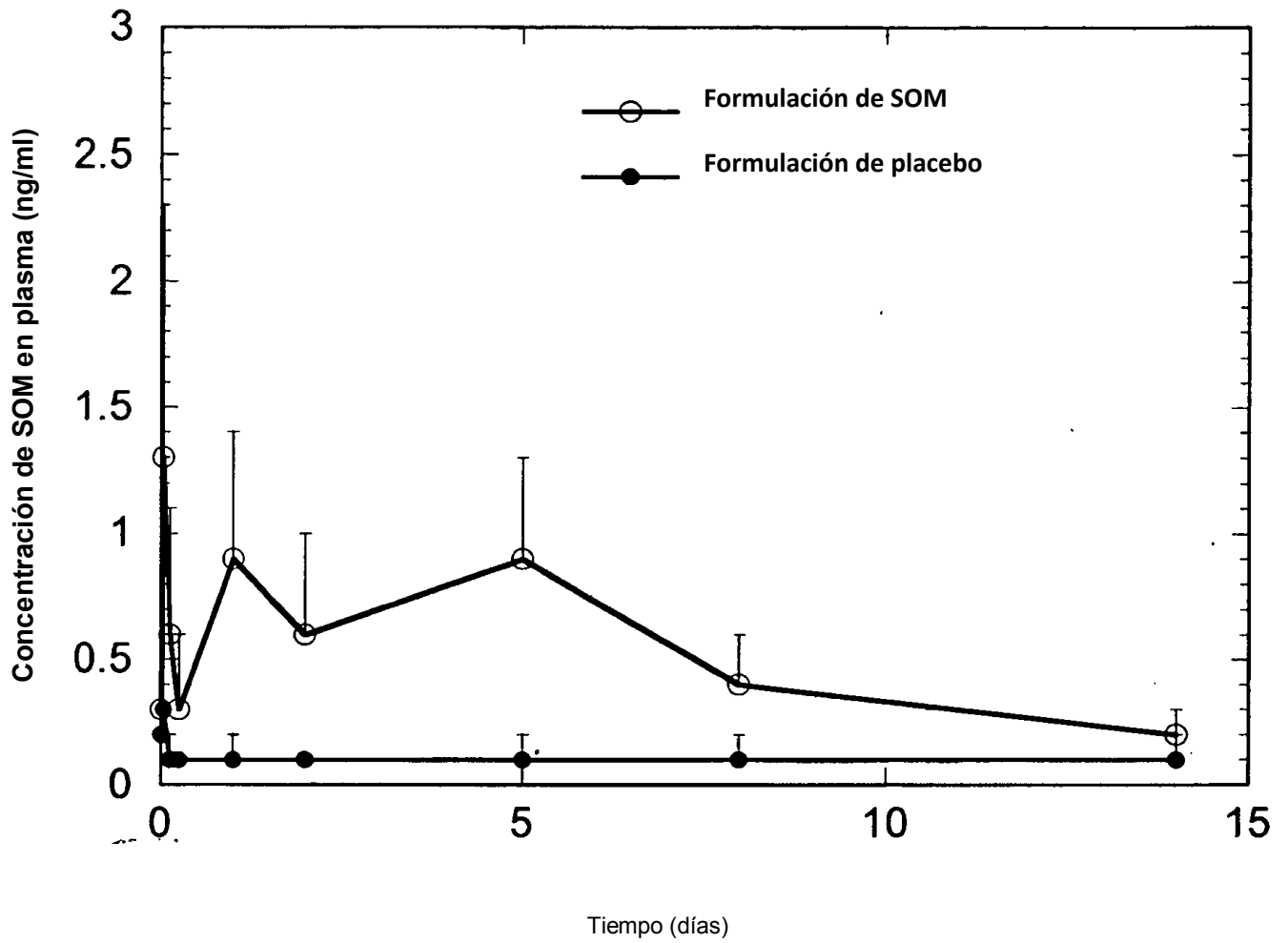


Figura 1 Concentración de SOM en plasma en rata (n=6) después de la administración subcutánea de la formulación de SOM de la invención.