

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 308**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/00** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2009 E 09792085 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2015 EP 2331075**

54 Título: **Formulaciones peptídicas de liberación controlada**

30 Prioridad:

**29.08.2008 US 93258 P**

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

**06.11.2015**

73 Titular/es:

**GENZYME CORPORATION (100.0%)  
153 Second Avenue  
Waltham, MA 02451, US**

72 Inventor/es:

**BURTON, KEVIN;  
WOEHR, TORSTEN;  
TICE, THOMAS, R. y  
AYOUB, MIMOUN**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 550 308 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 peptídicas de liberación controlada

**5 Campo**

La invención se refiere a formulaciones peptídicas, y más específicamente a métodos y composiciones para modificar las características de liberación y/o carga farmacológica de dichas formulaciones.

**10 Antecedentes de la invención**

La importancia de los polímeros biocompatibles y/o biodegradables como vehículos de agentes terapéuticos activos está bien establecida. Los polímeros biocompatibles biodegradables y relativamente inertes tales como la poli(lactida) (PL) o poli(lactida-co-glicólido) (PLGA) que contienen un agente bioactivo se utilizan comúnmente en sistemas de administración de liberación controlada (para una revisión, véase M. Chasin, Biodegradable polymers for controlled drug delivery. En: J. O. Hollinger, Editor, Biomedical Applications of Synthetic Biodegradable Polymers CRC, Boca Raton, Fla. (1995), págs. 1-15; T. Hayashi, Biodegradable polymers for biomedical uses. Prog. Polym. Sci. 19 4 (1994), págs. 663-700; y Harjit Tamber, Pal Johansen, Hans P. Merkle y Bruno Gander, Formulation aspects of biodegradable polymeric microspheres for antigen delivery, Advanced Drug Delivery Reviews, Volumen 57, Artículo 3, 10 de enero de 2005, Páginas 357-376).

Con respecto a la administración de péptidos terapéuticos en particular, sin embargo, aún existen muchos retos para el diseño de sistemas de administración de liberación controlada eficaces basados polímeros. Un requisito básico para dichos sistemas de administración es el control adecuado de la liberación del agente activo encapsulado, un objetivo que se complica por variaciones en la cinética de liberación de los sistemas poliméricos. Generalmente, una fase inicial de difusión o liberación explosiva a partir del sistema polimérico intacto va seguida de una fase retardada más lenta que da lugar a una fase de liberación erosiva a medida que el sistema comienza a degradarse. Es importante mantener la concentración de la molécula peptídica dentro de una ventana terapéutica eficaz a lo largo de ambas fases principales de liberación del péptido e impedir las concentraciones excesivas, y particularmente una explosión inicial durante la fase de liberación de difusión, que puede dar lugar a efectos secundarios adversos o resultados desfavorables. A este respecto, sin embargo, una amplia variación del tamaño, carga y conformación de distintas moléculas peptídicas ha impedido, por tanto, un enfoque más uniforme para su encapsulación eficaz.

La técnica anterior describe diversas estrategias para mejorar la administración por liberación controlada a partir de sistemas de administración basados en polímeros que incluyen el uso de nuevos materiales poliméricos y nuevas mezclas poliméricas y/o la incorporación de aditivos en dichos sistemas para ayudar a facilitar la liberación de fármacos. La patente de EE.UU. N° 7.326.425, por ejemplo, describe un sistema de administración basado en polímeros mezclados que tiene un primer polímero capaz de formar enlaces de hidrógeno con un agente bioactivo deseado para impedir explosiones y un segundo polímero, cuyos productos de degradación desencadenan la liberación del agente activo a partir del primer polímero. Como alternativa, la solicitud de Patente de EE.UU. 2007/0092574 describe la adición de determinados iones orgánicos a sistemas de administración basados en polímeros que encapsulan agentes activos hidrosolubles para reducir la liberación explosiva y la degradación del agente bioactivo, en el que el ion orgánico se selecciona para neutralizar la carga total de un agente bioactivo particular.

El documento US 5.538.739 describe un octreótido encapsulado en micropartículas de poli(lactida-co-glicólido) en las que puede modificarse el octetreótido.

En cada uno de estos ejemplos, sin embargo, y en la técnica anterior en general, el foco principal de dichas estrategias está en la manipulación del sistema de administración basado en polímeros para adaptarse a los requisitos de un agente bioactivo particular, en oposición a la manipulación o adaptación del agente bioactivo en sí mismo.

**Sumario de la invención**

La invención proporciona una formulación farmacéutica de liberación controlada tal como se define en la reivindicación 1.

En contravención con la metodología de formulación convencional de manipular el sistema de administración basado en polímeros para adaptarse al agente encapsulado, la presente divulgación proporciona métodos y composiciones para modular las características de liberación y/o carga farmacológica de un agente bioactivo encapsulado a través de la modificación directa de los agentes bioactivos en sí mismos. Tal como se demuestra en el presente documento, la modificación del punto isoeléctrico de un agente bioactivo, tal como una molécula peptídica, por ejemplo, la alteración de la carga total del péptido, puede modificar de un modo predecible las características de liberación y/o carga de los sistemas de administración basados en polímeros de modos clínicamente significativos que incluyen, por ejemplo, reducir o potenciar la liberación difusiva inicial del péptido del sistema de administración basado en polímeros, modular la velocidad de liberación erosiva de los sistemas biodegradables y/o aumentar la

eficacia de encapsulación de dichos péptidos.

5 En un aspecto, se divulgan métodos para aumentar la eficacia de carga del agente bioactivo en sistemas de administración basados en polímeros, que comprenden la modificación del punto isoeléctrico del agente antes de la encapsulación en un sistema de administración basado en polímeros. En un aspecto de la divulgación, el punto isoeléctrico del agente se modifica de tal modo que este porta una carga más positiva en comparación con la molécula parental en el entorno del sistema de administración basado en polímeros deseado.

10 En un aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para aumentar la eficacia de carga del agente bioactivo en sistemas de administración basados en polímeros, que comprenden añadir una carga positiva adicional a una molécula parental.

15 En un aspecto, se divulgan métodos para modular la velocidad de liberación erosiva de un agente bioactivo a partir de un sistema de administración basado en polímeros biodegradables, que comprenden la modificación de la carga del agente antes de la encapsulación en el sistema de administración basado en polímeros. En una realización, el punto isoeléctrico de un agente aumenta o disminuye cuantitativamente de tal modo que este porta una carga neta positiva o negativa mayor, respectivamente, en comparación con la molécula parental en el entorno del sistema de administración basado en polímeros deseado.

20 En una realización, se divulgan métodos para aumentar la velocidad de liberación erosiva de un agente bioactivo a partir de un sistema de administración basado en polímeros biodegradables, que comprenden añadir carga positiva o negativa adicional a una molécula parental para producir un aumento o una disminución estequiométrica, respectivamente, en la carga neta con respecto a la molécula parental. En un aspecto de la divulgación, se añade carga positiva adicional a una molécula parental neutra o catiónica para aumentar la velocidad de liberación erosiva.  
25 En otro aspecto de la divulgación, se añade carga negativa adicional a una molécula parental neutra o catiónica para aumentar la velocidad de liberación erosiva. En un aspecto de la divulgación, se emplean sistemas de administración basados en polímeros terminados en ácidos para un efecto potenciado.

30 Sorprendentemente, los presentes inventores han determinado que un aumento en la carga neta positiva de un agente bioactivo con respecto a una molécula parental catiónica puede funcionar igual de bien, y en algunos casos incluso mejor que, una reducción de o una neutralización de la carga neta para aumentar la velocidad de liberación erosiva de dicho agente a partir de un sistema de administración basado en polímeros biodegradables. De un modo significativo, tal como se demuestra también por primera vez en el presente documento, la creación de una densidad de carga mayor en un agente bioactivo cargado con respecto a una molécula parental proporciona un efecto mayor.

35 En un aspecto, se divulgan también métodos para modular la velocidad de liberación difusiva inicial de un agente bioactivo a partir de un sistema de administración basado en polímeros, que comprenden la modificación del punto isoeléctrico del agente antes de la encapsulación en el sistema de administración basado en polímeros. En un aspecto de la divulgación, el punto isoeléctrico del agente aumenta o disminuye de tal modo que porta una carga neta positiva o negativa mayor, respectivamente, con respecto a la molécula parental en el entorno del sistema de administración basado en polímeros deseado.

40 En un aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para aumentar la liberación difusiva inicial de un agente bioactivo a partir de un sistema de administración basado en polímeros, que comprenden añadir carga positiva adicional a la molécula parental para producir un aumento estequiométrico de la carga neta con respecto a la molécula parental. En un aspecto preferido de la divulgación, se emplean sistemas de administración basados en polímeros terminados en ésteres para un efecto potenciado.

50 En un aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para disminuir la liberación difusiva inicial de un agente bioactivo a partir de un sistema de administración basado en polímeros, que comprenden añadir carga negativa adicional a la molécula parental para producir una disminución estequiométrica de la carga neta con respecto a la molécula parental. En un aspecto preferido de la divulgación, se emplean sistemas de administración basados en polímeros terminados ésteres para un efecto potenciado.

55 Puede emplearse cualquier medio adecuado para modificar el punto isoeléctrico de un agente bioactivo en conjunción con los métodos objeto que incluyen, por ejemplo, modificación química, sustitución de aminoácidos, conjugación de moléculas accesorias cargadas positivamente o negativamente, y más preferentemente, moléculas accesorias escindibles y similares. La carga positiva o negativa adicional puede distribuirse de un modo uniforme o no uniforme a lo largo del agente bioactivo, y se implementa preferentemente a una localización distal con respecto a el/los sitio(s) de acción de la molécula parental, por ejemplo el sitio de unión, etc.  
60

La modificación del punto isoeléctrico tal como se divulga en el presente documento también puede emplearse junto con más técnicas convencionales tales como la conversión a sales de adición insolubles en agua (por ejemplo, patente de EE.UU. N° 5.776.886, pegilación (patente de EE.UU. N° 6.706.289) y similares, para modular adicionalmente la cinética de liberación y/o eficacia de carga. En un aspecto adicional, se divulgan composiciones farmacéuticas de liberación controlada mejoradas que comprenden agentes bioactivos modificados de acuerdo con los métodos anteriores y encapsulados en sistemas de administración basados en polímeros.  
65

5 En un aspecto de la divulgación, la composición farmacéutica de liberación controlada comprende un agente bioactivo modificado encapsulado por un polímero, en el que el punto isoeléctrico del agente bioactivo modificado ha aumentado con respecto a la molécula parental para aumentar la eficacia de carga farmacológica y/o para aumentar la velocidad de liberación erosiva del agente bioactivo modificado, preferentemente a partir de un sistema polimérico terminado con un ácido, y/o para aumentar la velocidad de liberación difusiva del agente bioactivo modificado, preferentemente a partir de un sistema polimérico terminado en éster. En uno de dichos aspectos de la divulgación, la molécula parental es neutra o catiónica.

10 En otro aspecto de la divulgación, la composición farmacéutica de liberación controlada comprende un agente bioactivo modificado encapsulado por un polímero biodegradable, en el que el punto isoeléctrico del agente bioactivo modificado ha aumentado con respecto a la molécula parental para aumentar la velocidad de liberación erosiva del agente bioactivo modificado, preferentemente a partir de un sistema polimérico terminado con un ácido, y/o para disminuir la velocidad de liberación difusiva del agente bioactivo modificado, preferentemente a partir de un sistema polimérico terminado con un éster, con respecto a la molécula parental. En uno de dichos aspectos de la divulgación, la molécula parental es neutra o aniónica.

15 Las composiciones de la presente invención comprenden un sistema de administración basado en polímeros biodegradables, por ejemplo, un sistema polimérico que comprende un polímero biodegradable. El polímero biodegradable se selecciona del grupo que consiste en polilactida (PL), poli(glicólido) (PG), poli(lactida-co-glicólido) (PLG), policaprolactona, poli(lactida-co-caprolactona), poli(lactida-co-glicólido-co-caprolactona), poli(glicólido-co-caprolactona), y mezclas de los mismos.

#### 25 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un ejemplo esquemático de una liberación farmacológica trifásica hipotética a partir de una matriz biodegradable.

30 La Figura 2 muestra la carga real (eje-y) de cinco péptidos (DP1, DP2, DP3, DP4, y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) (eje-x). A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

35 La Figura 3 muestra el porcentaje teórico de la eficacia de carga (eje-y) de cinco péptidos (DP1, DP2, DP3, DP4, y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) (eje-x). A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

40 La Figura 4 muestra el tamaño de partícula medio ( $\mu\text{M}$ ) de cinco péptidos (DP1, DP2, DP3, DP4, y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) (eje-x). A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

45 La Figura 5 muestra la velocidad de liberación como porcentaje de liberación (eje-y) de cinco péptidos (DP1, DP2, DP3, DP4, y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) a lo largo de 35 días (eje-x) a partir de una formulación de micropartículas basada en polímeros que contiene un poli(lactida-co-glicólido) terminado en ácido 50:50 con una v.i. aproximada de 0,2 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C. A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

50 La Figura 6 muestra la velocidad de liberación como porcentaje de liberación (eje-y) de cinco péptidos (DP1, DP2, DP3, DP4, y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) a lo largo de 14 días (eje-x) a partir de una formulación de micropartículas basada en polímeros que contiene un poli(lactida-co-glicólido) terminado en ácido 50:50 con una v.i. aproximada de 0,2 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C. A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

55 La Figura 7 muestra la velocidad de liberación como porcentaje de liberación (eje-y) de cuatro péptidos (DP1, DP2, DP3, y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) a lo largo de 17 días (eje x) a partir de una formulación de micropartículas basada en polímeros que contiene un poli(lactida-co-glicólido) terminado en éster 50:50 con una v.i. aproximada de 0,2 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C. A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

60 La Figura 8 muestra la velocidad de liberación como porcentaje de liberación (eje-y) de cinco péptidos (DP1, DP2, DP3, DP4 y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) a lo largo de 29 días (eje-x) a partir de una formulación de micropartículas basada en polímeros que contiene poli(lactida-co-glicólido) terminado en ácido 85:15 con una v.i. aproximada de 0,25 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C. A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

La Figura 9 muestra la velocidad de liberación como porcentaje de liberación (eje-y) de cinco péptidos (DP1, DP2, DP3, DP4, y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) a lo largo de 65 días (eje x) a partir de una formulación de micropartículas basada en polímeros que contiene un poli(lactida-co-glicólido) terminado en éster 85:15 con un v.i. aproximado de 0,25 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl at 30 °C. A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

La Figura 10 muestra la velocidad de liberación como porcentaje de liberación (eje-y) de cinco péptidos (DP1, DP2, DP3, DP4, y DP5) con una carga total neutra, positiva (+) o negativa (-) a lo largo de 15 días (eje x) a partir de una formulación de micropartículas basada en polímeros que contiene un poli(lactida-co-glicólido) terminado en éster 85:15 con una v.i. aproximada de 0,25 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl at 30 °C. A menos que se indique lo contrario, cada molécula peptídica se cargó en el polímero como una sal de acetato.

## Descripción detallada

Se proporcionan métodos y formulaciones para la liberación controlada de agentes bioactivos (tal como se definen en el presente documento) a partir de sistemas de administración basados en polímeros (tal como se definen en el presente documento) a través de la modificación directa del agente bioactivo. Tal como se describe en el presente documento, el punto isoeléctrico del agente bioactivo modificado puede cambiar con respecto a una molécula parental y/o puede cambiarse la carga neta del agente bioactivo modificado con respecto a una molécula parental, etc. Las formulaciones encapsuladas que comprenden dichos agentes bioactivos modificados tienen propiedades de liberación controlada potenciadas, por ejemplo, una liberación difusiva o explosiva inicial más baja, una velocidad de liberación erosiva aumentada, eficacia de encapsulación mejorada, etc., en comparación con las formulaciones que comprenden formulaciones de la molécula parental encapsuladas de un modo similar.

La liberación de un agente bioactivo a partir de un polímero, por ejemplo, un polímero biodegradable tal como una micropartícula de PLG, generalmente sigue un perfil de liberación trifásico tal como se ejemplifica en la Figura 1. La Fase 1 puede caracterizarse generalmente como un efecto de liberación difusiva o "explosiva", durante el cual la velocidad de liberación inicial de la molécula peptídica modificada puede ser rápida, y puede depender de la hidratación del polímero (que sucede en minutos), el hinchado de la matriz (horas), la disolución de la molécula peptídica modificada (minutos) y la difusión a partir de la matriz (horas).

La segunda fase de liberación (Fase 2, Figura 1) puede citarse como la fase de inducción o retardada y puede caracterizarse por un periodo con liberación más lenta o sin ella. La fase 2 puede asociarse con el tiempo necesario para que se formen poros o canales o el tiempo para que el agua rellene dichos poros o canales de la matriz polimérica permitiendo de ese modo el acceso a la molécula peptídica modificada atrapada dentro de la matriz polimérica.

Cuando se usa un sistema de administración basado en polímeros biodegradables, y continúa la degradación del polímero biodegradable, pueden formarse pistas de difusión a través de la matriz erosionada, lo que puede permitir que la molécula peptídica modificada se desplace a través de un gradiente de concentración y escape de la matriz. Esta liberación erosiva corresponde a la tercera fase de liberación tal como se demuestra en la Figura 1.

La liberación del agente bioactivo a partir del polímero no-biodegradable generalmente sigue un perfil de liberación bifásico, en el que la fase 1 corresponde a una liberación difusiva del péptido bioactivo y la fase 2 corresponde a una fase retardada. Por consiguiente, los expertos en la materia, generalmente, estarán familiarizados con las velocidades de liberación típicas de los agentes bioactivos a partir de dichos sistemas de administración basados en polímeros.

En una realización, se divulgan composiciones y métodos de liberación controlada en los que el punto isoeléctrico de una molécula parental se aumenta para producir un agente bioactivo modificado que tenga una carga neta y/o densidad de carga más positiva, que tal como se demuestra en el presente documento puede aumentar la eficacia de carga farmacológica, aumentar la velocidad de liberación erosiva del agente bioactivo modificado, y particularmente a partir de sistemas basados en polímeros terminados en ácidos, y/o aumentar la velocidad de liberación difusiva del agente bioactivo modificado, y particularmente a partir de sistemas basados en polímeros terminados en ésteres, con respecto a la molécula parental. En una de dichas realizaciones, la molécula parental es neutra o catiónica.

En otra realización, se divulgan composiciones de liberación controlada y métodos en los que el punto isoeléctrico de una molécula parental se reduce para producir un agente bioactivo modificado que tenga una carga neta y/o densidad de carga más negativa, que tal como se demuestra en el presente documento puede aumentar la velocidad de liberación erosiva del agente bioactivo modificado, y particularmente a partir de sistemas basados en polímeros determinados en ácidos, y/o disminuir la velocidad de liberación difusiva del agente bioactivo modificado, y particularmente a partir de sistemas basados en polímeros terminados en ésteres, con respecto a la molécula parental. En una de dichas realizaciones, la molécula parental es neutra o aniónica.

"Agente bioactivo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier proteína terapéutica, anticuerpo terapéutico, ácido nucleico, péptido, polipéptido, oligonucleótido, aptámero u otro compuesto biológicamente activo para su administración a un sujeto. Los agentes bioactivos usados en la formulación de la presente invención se seleccionan entre las SEC ID N°: 3, 4, 6 y 7, que se definen más adelante.

5 Por "molécula peptídica", tal como se usa en el presente documento, se entiende una molécula polimérica que comprende al menos dos aminoácidos covalentemente unidos mediante un enlace peptídico e incluye una proteína, un polipéptido, un oligopéptido y un péptido. Una molécula peptídica puede estar constituida por aminoácidos de origen natural y enlaces peptídicos o estructuras pseudomiméticas sintéticas, es decir, "análogos" tales como peptoides (véase Simon *et al.*, 1992, Proc Natl Acad Sci EE.UU. 89:209367; incorporada por referencia).

10 Por "aminoácido" e "identidad de aminoácidos", tal como se usa en el presente documento, se entiende uno de los veinte aminoácidos de origen natural o cualquiera de los análogos no naturales que pueden estar presentes en una posición específica definida. Por lo tanto, "aminoácido" o "resto peptídico", tal como se usa en el presente documento significa tanto los aminoácidos de origen natural como los aminoácidos sintéticos (incluyendo los análogos de aminoácidos de origen natural).

15 "Aminoácido" también incluye los restos de aminoácidos tales como prolina e hidroxiprolina. La cadena lateral puede estar bien en la configuración (R) o en la configuración (S), y pueden ser isómeros D o L. En la realización preferida, los aminoácidos están en la configuración (S) o L, aunque pueden usarse isómeros D para mejorar la estabilidad en suero. Si se usan cadenas laterales de origen no natural, pueden usarse sustituyentes no aminoacídicos, por ejemplo, para impedir o retrasar la degradación *in vivo*.

20 "Molécula parental" tal como se usa en el presente documento se refiere a un agente bioactivo que se modifica posteriormente de acuerdo con las enseñanzas de la invención para generar un "agente bioactivo modificado".

25 Tal como se describe en el presente documento, la encapsulación y liberación a partir de los polímeros puede manipularse mediante la modificación de la molécula parental, por ejemplo, modificación del punto isoeléctrico, carga neta, solubilidad etc. de la molécula parental.

30 De un modo similar, por "molécula peptídica parental", "polipéptido parental", "proteína parental" y similares tal como se usan en el presente documento, se entiende un polipéptido, proteína y similar que se modifica posteriormente para generar una "molécula peptídica modificada". Las moléculas peptídicas modificadas usadas en la formulación de la presente invención se seleccionan entre las SEC ID N°: 3, 4, 6 y 7, que se definen más adelante.

35 Por "punto isoeléctrico", "pI", o similares tal como se usa en el presente documento se entiende el pH al cual una molécula peptídica no porta carga eléctrica neta. El punto isoeléctrico puede modificarse usando métodos bien conocidos, por ejemplo, mediante isoelectroenfoque. En el caso de moléculas peptídicas más pequeñas también puede calcularse el pI adecuado. En general, el pI de una molécula peptídica depende de los valores de pKa de sus grupos básicos y ácidos, por ejemplo, en el caso de un péptido formado solamente por aminoácidos codificados, la amina primaria del extremo N-terminal o la cadena lateral de lisina, el grupo guanidina de la cadena lateral de arginina; el sistema de anillo de imidazol de la histidina y los grupos carboxílicos del extremo C-terminal, la cadena lateral del ácido aspártico y la cadena lateral del ácido glutámico.

40 La modificación del pI de una molécula peptídica parental puede ocurrir mediante, por ejemplo, modificación química. Los ejemplos no limitantes de dichas modificaciones tal como se han descrito en el presente documento incluyen acilación, alquilación u otra modificación química del grupo amina del extremo N-terminal; amidación, esterificación u otra modificación química del grupo carboxílico del extremo C-terminal; sustitución de un resto de aminoácido no-ionizable para una lisina, histidina, arginina, ácido glutámico, ácido aspártico u otros aminoácidos no codificados con grupos de cadena ácida o básica; acilación, alquilación u otra modificación química de los grupos laterales de lisina, histidina, arginina o funciones básicas de otros aminoácidos no codificados; amidación, esterificación u otra modificación química de los grupos carboxílicos de la cadena lateral, conjugación con moléculas accesorias para desplazar el pI, etc. En el caso de los péptidos ionizados, el pI de la forma salina también depende del pK<sub>a</sub> del contraión.

45 Tal como se usa en el presente documento, la "carga neta" de una molécula peptídica parental depende de su pI y del pH de la solución peptídica. La carga neta de una molécula peptídica parental puede modificarse tal como se describe en el presente documento mediante cualquiera de los siguientes ejemplos no limitantes: acilación, alquilación u otra modificación química del grupo amina del extremo N-terminal; amidación, esterificación u otra modificación química del grupo carboxílico del extremo C-terminal; sustitución de un resto de aminoácido no ionizable por una lisina, histidina, arginina, ácido glutámico, ácido aspártico u otros aminoácidos no codificados con grupos de cadena ácida o básica; modificación del punto isoeléctrico del péptido parental; conjugación con moléculas accesorias cargadas positivamente o negativamente y similares.

50 Tal como se divulga en el presente documento, también puede considerarse la modificación de la distribución y/o densidad de carga con respecto a la modulación de la encapsulación del polímero y propiedades de liberación del péptido parental. La densidad de carga añadida puede distribuirse de modo uniforme o no uniforme a lo largo de la

molécula peptídica modificada. En una realización, una distribución no uniforme de la carga negativa o positiva adicional comprende agrupar la carga negativa o positiva adicional, respectivamente, en una o más posiciones dentro de la cadena peptídica. El grupo (o los grupos) de carga negativa o positiva adicional puede estar en cualquier parte a lo largo del péptido, por ejemplo, cerca o al final del péptido, cerca o en el centro del péptido, etc., pero se sitúa preferentemente en la parte distal del sitio activo del péptido, que puede determinarse fácilmente mediante referencia a las características conocidas de la molécula parental. Como alternativa, la carga negativa o positiva adicional puede distribuirse de modo uniforme a lo largo del polímero.

Tal como se describe en el presente documento, una molécula peptídica modificada puede comprender una carga negativa o positiva adicional con respecto a su molécula peptídica parental, por ejemplo, por medio de la sustitución de aminoácidos adecuados. Tal como se describe en el presente documento, la adición de carga positiva se lleva a cabo mediante la sustitución de aminoácidos negativos y/o no ionizables en la molécula peptídica parental por lisina, arginina, histidina o análogos de los mismos. Tal como se describe en el presente documento, la adición de carga negativa se lleva a cabo mediante la sustitución de aminoácidos positivos y/o no ionizables en la molécula peptídica parental por glicina, ácido aspártico, ácido glutámico o análogos de los mismos (por ejemplo, cualquier ácido alfa o beta aminoalcanodiólico (por ejemplo, ácido aminosubérico).

Tal como se describe en el presente documento, una molécula peptídica modificada puede comprender una carga relativa negativa o positiva adicional con respecto a su molécula peptídica parental, por ejemplo, por medio de la conjugación con una o más moléculas accesorias cargadas negativamente o moléculas accesorias cargadas positivamente, respectivamente. "Conjugación" tal como se usa en el presente documento, se refiere a la unión covalente de dos moléculas en contraposición con la mera formación de complejos u otra asociación física estrecha. Las moléculas accesorias cargadas negativamente ejemplares incluyen conjugaciones de, en general, cualquier funcionalidad química de un péptido tal como el grupo hidroxipropilo de las cadenas laterales de tiroxina, treonina y serina, el grupo tiol de la cadena lateral de cisteína o el grupo amino del extremo N-terminal o los grupos aminos de las cadenas laterales de arginina y lisina por fosfolípidos (enlace fosfamida), mono-, di- y/o trifosfatos, sulfatos, citratos, ácidos tartáricos, poliaspártico, poliglutámico y diácidos (por ejemplo ácidos oxálicos, ácidos malónicos, ácidos succínicos, etc.). Las estructuras cargadas negativamente ejemplares también incluyen, pero sin limitación, ácido poli(glutámico), lípidos aniónicos, ácido poli(aspártico) y alginatos. En algunos casos la funcionalidad química del péptido también puede inducirse o introducirse con el fin de facilitar la conjugación (por ejemplo, la formación de tioésteres, aldehídos, hidroxilaminas, bromuros de alquilo, maleimidas, etc). Las moléculas accesorias cargadas positivamente ejemplares incluyen, polilisina, poliarginina, polihistidina, poli(alilamina), poli(etilimina), quitosano o estructuras lipídicas cargadas positivamente.

Las moléculas accesorias también pueden comprender una "cola" de aminoácidos positivos o negativos y pueden conjugarse con el agente bioactivo mediante un resto enlazador más neutro, por ejemplo, polietilenglicol (PEG), poli-CH<sub>2</sub>, y similares.

Las moléculas peptídicas modificadas pueden incluir además contraiones farmacéuticamente aceptables, ejemplos representativos de las cuales se exponen en la Tabla 1 más adelante.

Tabla 1: Contraiones Potenciales

Clase de Sal	Ejemplos
ácidos inorgánicos,	clorhidrato, sulfato, nitrato, fosfato
ácidos sulfónicos,	tosilato, mesilato, esilato, isetionato
ácidos carboxílicos	acetato, proprionato, maleato, benzoato, salicilato, fumarato
hidroxiácidos	citrato, lactato, succinato, tartrato, glicolato
aminoácidos aniónicos,	glutamato, aspartato
ácidos grasos;	estearato, hexanoato, octanoato, decanoato, oleato

La modificación de la solubilidad en agua y/o disolventes orgánicos así como alteración de la hidrofiliidad de una molécula peptídica parental también pueden emplearse en conjunción con los métodos sujetos para modular adicionalmente las características de encapsulación y liberación de un péptido en un sistema de administración basado en polímeros. La solubilidad y/o hidrofiliidad de un péptido terapéutico puede modificarse cambiando su forma en sal o mediante pegilación tal como se describe en, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. N° 5.776.885 y N° 6.706.289, cuyas divulgaciones de ambas se han incorporado expresamente al presente documento por referencia.

Tal como se usa en el presente documento "en relación a una molécula parental" se refiere a un cambio (por ejemplo, un aumento o una disminución) de una característica cuantificable, por ejemplo, el punto isoeléctrico, carga neta, etc., por un péptido modificado en comparación con la molécula peptídica parental (por ejemplo, la molécula peptídica se modificó posteriormente para generar la molécula peptídica modificada) cuando las cantidades de molécula peptídica modificada y molécula peptídica parental son esencialmente las mismas en el mismo ensayo.

En el presente documento se describen métodos y composiciones para modular las características de liberación y/o carga farmacológica de las moléculas peptídicas modificadas en sistemas de administración basados en polímeros a través de la modificación directa de las moléculas peptídicas en sí mismas. Los sistemas de administración basados en polímeros que se describen en el presente documento son generalmente sistemas de administración basados en polímeros biocompatibles. Los sistemas de administración basados en polímeros biocompatibles que se describen en el presente documento pueden comprender un polímero biodegradable o no biodegradable, mezclas o copolímeros de los mismos. Un sistema de administración basado en polímeros, o un polímero, es biocompatible si el polímero y cualquiera de los productos de degradación del polímero, no son tóxicos para el receptor y tampoco presentan efectos significativos nocivos o desfavorables en el organismo del receptor.

También pueden usarse polímeros biodegradables para encapsular los agentes bioactivos (por ejemplo, moléculas peptídicas) por ejemplo, para formulaciones de liberación controlada. En una realización, se usan polímeros biodegradables para los cuales los productos de degradación son conocidos por ser inocuos o biocompatibles. Por consiguiente, dichos polímeros biodegradables no necesitan retirarse quirúrgicamente al final de un tratamiento. Los polímeros biodegradables, que se han investigado para las moléculas peptídicas de liberación controlada, usadas en la formulación de la presente invención, se seleccionan de polilactida (PL), poliglicólido (PG), poli(lactida-co-glicólido) (PLG), policaprolactona, poli(lactida-co-caprolactona), poli(lactida-co-glicólido-co-caprolactona), poli (glicólido-co-caprolactona) o una mezcla de los mismos.

Tal como se describe en el presente documento, los sistemas de administración poliméricos pueden ser micropartículas que incluyen, pero sin limitación, microesferas, microcápsulas, nanoesferas y nanopartículas que comprenden excipientes poliméricos biodegradables, excipientes poliméricos no biodegradables o mezclas de excipientes poliméricos de los mismos, o los sistemas de administración poliméricos pueden ser, pero sin limitación, varillas u otros implantes de formas diversas, obleas, fibras, películas, formadores de bolos *in situ* y similares que comprenden excipientes poliméricos biodegradables, excipientes poliméricos no biodegradables o mezclas de los mismos. Estos sistemas pueden estar hechos a partir de un solo excipiente polimérico o una mezcla o combinación de dos o más excipientes poliméricos.

El término "micropartícula" se usa en el presente documento para incluir nanopartículas, microesferas, nanoesferas, microcápsulas, nanocápsulas y partículas, en general. Como tal, el término micropartícula se refiere a partículas que tienen una variedad de estructuras y organizaciones internas que incluyen matrices homogéneas tales como microesferas (y nanoesferas) o matrices heterogéneas de núcleo-corteza (tales como las microcápsulas (y nanocápsulas)), partículas porosas, partículas de múltiples capas, entre otras. Las micropartículas son partículas que tienen tamaños en el intervalo de aproximadamente 10 nanómetros a aproximadamente 1000 micrómetros (micras).

Puede usarse una variedad de técnicas conocidas en la materia para formar micropartículas que incluyen, por ejemplo, etapas de emulsión sencilla o doble seguidas de la retirada del disolvente. La retirada del disolvente puede llevarse a cabo mediante la extracción, evaporación o secado por pulverización, entre otros métodos.

En el método de extracción de disolvente, el polímero se disuelve en un disolvente orgánico que es al menos parcialmente soluble en el disolvente de extracción tal como el agua. El agente bioactivo modificado, bien en forma soluble o dispersada como partículas finas, se añade entonces a la solución polimérica y se dispersa la mezcla en una fase acuosa que contiene un agente tensioactivo tal como alcohol poli(vinílico). La emulsión resultante se añade a un mayor volumen de agua en la que se retira el disolvente orgánico del agente polimérico/bioactivo para formar micropartículas endurecidas.

En el método de evaporación del disolvente, el polímero se disuelve en un disolvente orgánico volátil. El agente bioactivo, bien en forma soluble o dispersada como partículas finas, se añade entonces a la solución polimérica y se suspende la mezcla en una fase acuosa que contiene un agente tensioactivo tal como alcohol poli(vinílico). La emulsión resultante se agita hasta que la mayor parte del disolvente orgánico se evapora, dejando internamente, micropartículas sólidas.

En el método de desecación por rociado, el polímero se disuelve en un disolvente adecuado, tal como cloruro de metileno (por ejemplo, 0,04 g/ml). Entonces se suspende una cantidad conocida del agente bioactivo modificado (si es insoluble) o se co-disuelve (si es soluble) en la solución polimérica. La solución o la dispersión se deseca entonces por rociado. Pueden obtenerse micropartículas que varían de un diámetro entre una y diez micras con una morfología que depende de la selección de polímero.

Otros métodos conocidos, tales como la separación de fases y la coacervación y variaciones de los anteriores, son conocidos en la técnica y también pueden emplearse en la presente invención.

En otro aspecto, el sistema de administración basado en polímeros comprende un polímero biodegradable, en el que el péptido está integrado el polímero del sistema de administración. En las formulaciones de la presente invención, el péptido está encapsulado en un sistema de administración compuesto de poli(lactida-co-glicólido), poli(lactida), poli(glicólido), policaprolactona, poli(lactida-co-caprolactona), poli(lactida-co-glicólido-co-caprolactona), poli(glicólido-co-caprolactona), o una mezcla de los mismos. Los polímeros de lactida/glicólido para formulaciones de

administración de fármacos se producen típicamente mediante polimerización por fusión mediante de la apertura del anillo de los monómeros de lactida y glicólido. Hay disponibles algunos polímeros con o sin grupos terminales de ácido carboxílico. Hay disponibles algunos polímeros con un bloque de polietilenglicol (PEG). Cuando el grupo terminal del poli(lactida-co-glicólido), poli(lactida), o poli(glicólido) no es un ácido carboxílico, por ejemplo, un éster, entonces el polímero resultante se cita en el presente documento como bloqueado o cubierto. El polímero desbloqueado, por el contrario, tiene un grupo carboxílico terminal.

En un aspecto, se usan polímeros lineales de lactida/glicólido; sin embargo también pueden usarse polímeros ramificados. En determinados aspectos, pueden usarse polímeros de alto peso molecular (por ejemplo, v.i. > 1 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C) para dispositivos de uso médico, por ejemplo, para satisfacer los requisitos de fuerza. En otros aspectos, pueden usarse polímeros de bajo peso molecular por ejemplo, v.i. > 1 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C) para productos de administración de fármacos y de administración de vacunas en los que el tiempo de reabsorción, y la fuerza no material, es más importante. La porción del lactida del polímero tiene un carbono asimétrico. Hay polímeros DL-, L-, y D- racémicos comercialmente disponibles. Los polímeros L son más cristalinos y se reabsorben más despacio que los polímeros DL-. Además de copolímeros que comprenden glicólido y DL-lactida o L-lactida, hay disponibles copolímeros de L-lactida y DL-lactida. Adicionalmente, hay disponibles homopolímeros de lactida o glicólido. También, el monómero de lactida también puede contener grupos alquilo.

En el caso en el que el polímero biodegradable es poli(lactida-co-glicólido), poli(lactida) o poli(glicólido), la cantidad del lactida y glicólido en el polímero puede variar. En un aspecto, el polímero biodegradable contiene del 0 al 100 % de los moles, del 40 al 100 % de los moles, del 50 al 100 % de los moles, del 60 al 100 % de los moles, del 70 al 100 % de los moles, o del 80 a 100 % de los moles de lactida y del 0 al 100 % de los moles, del 0 al 60 % de los moles, del 10 al 40 % de los moles, del 20 al 40 % de los moles, o del 30 al 40 % de los moles de glicólido, en el que la cantidad de lactida y glicólido es del 100 % de moles. En un aspecto, el polímero biodegradable puede ser poli(lactida), poli(lactida-co-glicólido) 85:15, poli(lactida-co-glicólido) 75:15 o poli(lactida-co-glicólido) 65:35 en el que las relaciones son relaciones molares.

En un aspecto, en el que el polímero biodegradable es poli(lactida-co-glicólido), poli(lactida) o poli(glicólido), el polímero tiene una viscosidad intrínseca de desde 0,15 a 1,5 dl/g, de 0,25 a 1,5 dl/g, de 0,25 a 1,0 dl/g, de 0,25 a 0,8 dl/g, de 0,25 a 0,6 dl/g, o 0,25 a 0,4 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C.

#### *Composiciones Farmacéuticas*

En una realización adicional de la presente invención, los péptidos modificados y los sistemas de administración basados en polímeros de acuerdo con la invención objeto se mezclan con un vehículo farmacéutico apropiado adecuado para la administración en primates, especialmente en seres humanos, para proporcionar composiciones farmacéuticas.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden emplearse en las presentes composiciones farmacéuticas pueden ser cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, agentes isotónicos y similares. Excepto en la misma medida en que cualquier medio convencional, agente, diluyente o vehículo sea perjudicial para el receptor o la eficacia terapéutica del sistema de administración basado en polímeros o péptido terapéutico u otro agente bioactivo encapsulado en el mismo, es adecuado su uso en las composiciones farmacéuticas de la presente invención.

El vehículo puede ser un vehículo líquido, semisólido, por ejemplo, pastas o vehículos sólidos. Los ejemplos de vehículos incluyen aceites, agua, soluciones salinas, alcohol, azúcar, gel, lípidos, liposomas, resinas, matrices porosas, aglutinantes, cargas, recubrimientos, conservantes y similares o combinaciones de los mismos.

En una realización adicional de la presente invención, los péptidos modificados y los sistemas de administración basados en polímeros de acuerdo con la invención objeto pueden administrarse como un polvo sin un vehículo.

#### Usos médicos

En un aspecto adicional de la presente divulgación, se proporcionan métodos para tratar una enfermedad en un vertebrado, preferentemente un mamífero, preferentemente un primate, siendo los sujetos humanos una realización especialmente preferida, administrando una formulación peptídica de la invención deseable para tratar dicha enfermedad.

#### **Experimentación**

Ejemplo 1: Formulación de Modelos Peptídicos

Proceso de Fabricación:

Las Figuras 5 y 6 demuestran el efecto de la carga del péptido en la liberación a partir de una formulación en

partículas que contiene poli(lactida-glicólido) terminado en ácido 50:50 con una v.i. aproximada de 0,2 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C. Los péptidos cargados se liberan a una velocidad consistentemente más rápida cuando se comparan con el péptido neutro. Debería observarse que los péptidos con una densidad de carga más alta (DP3, DP4, DP5 frente a DP2) se liberaron más rápido. También cabe destacar no se observó ninguna "explosión" a partir de este sistema de administración basado en polímeros.

La Figura 7 muestra los perfiles de liberación a partir de una formulación de micropartículas basada en polímeros similar, un poli(lactida-co-glicólido) terminado en éster 50:50 con una v.i. aproximada de 0,2 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C. Mientras que el péptido neutro y el cargado negativamente mostraron muy poca liberación a lo largo del periodo estudiado, el péptido cargado positivamente mostró una explosión significativa de la formulación. Además, a mayor carga positiva (mayor densidad de carga) más significativo es el efecto sobre la velocidad de liberación.

La figura 8 muestra la liberación de los péptidos a partir de una formulación de micropartículas que contiene un poli(lactida-co-glicólido) terminado en ácido 85:15 con una v.i. aproximada de 0,25 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C. A lo largo del periodo estudiado, no se observó liberación del péptido a partir de ninguna formulación de micropartículas.

La figura 9 muestra la liberación de los péptidos a partir de una formulación de micropartículas que contiene un poli(lactida-co-glicólido) terminado en éster 85:15 con una v.i. aproximada de 0,25 dl/g según se mide en cloroformo a una concentración de 0,5 g/dl a 30 °C. Mientras que el péptido neutro y el cargado negativamente mostraron muy poca liberación a lo largo del periodo estudiado, el péptido cargado positivamente mostró una liberación más significativa a partir de la formulación de micropartículas. A mayor carga positiva (mayor densidad de carga) más significativo es el efecto sobre la velocidad de liberación.

Ejemplo 2: Modificaciones ejemplares de péptidos parentales

#### *Calcitonina*

La Calcitonina es una hormona usada en el tratamiento de la osteoporosis. La secuencia de aminoácidos de la Calcitonina humana es: Cys-Gly-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys-Met-Leu-Gly-Thr-Tyr-Thr-Gln-Asp-Phe-Asn-Lys-Phe-His-Thr-Phe-Pro-Gln-Thr-Ala-Ile-Gly-Val-Gly-Ala-Pro (expuesta como SEC ID N°: 1).

El pl de la Calcitonina se modifica para potenciar su uso en una formulación de liberación controlada añadiendo un resto de trilisina en el extremo N-terminal para aumentar su eficacia de encapsulación (expuesta como SEC ID N°: 2)\*. Como alternativa, para aumentar su explosión inicial se reemplazan los restos de glicina de un poliéster terminado en éster por lisinas (expuesta como SEC ID N°: 3). Para aumentar la liberación erosiva a partir de un poliéster terminado en ácido, se reemplazan los restos de glicina por ácidos aspárticos (expuesta como SEC ID N°: 4). (\*No es parte de la presente invención).

#### *Leuprolida*

La leuprolida es un agonista de la hormona liberadora de gonadotropina que puede usarse en el tratamiento del cáncer de próstata o de la endometriosis. La secuencia de aminoácidos del Leuprolide es Glu-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH<sub>2</sub> (expuesta como SEC ID N°: 5).

El pl de la leuprolida se modifica para aumentar su uso en una formulación de liberación controlada reemplazando el ácido glutámico por glutamina (expuesta como SEC ID N°: 6) para aumentar su liberación difusiva a partir de un poliéster terminado en éster y/o reemplazando la arginina por ácido aspártico (expuesta como SEC ID N°: 7) para disminuir la liberación difusiva a partir de un poliéster terminado en éster.

#### *Octreótido*

El octreótido es un octapéptido que puede usarse como un inhibidor de la hormona del crecimiento y/o en el tratamiento de la acromegalia. La secuencia de aminoácidos del octreótido es Glu-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH<sub>2</sub> (expuesta como SEC ID N°: 8).

La treonina se reemplaza por lisina (expuesta como SEC ID N°: 9)\* para modificar el pl del Octreótido para potenciar su uso en una formulación de liberación controlada, por ejemplo, para aumentar la eficacia de encapsulación y la carga farmacológica del Octreótido. (\*No es parte de la presente invención).

#### LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Burton, Kevin Woehr, Torsten Tice, Thomas Ayoub, Mimoun

<120> Formulaciones peptídicas de liberación controlada

<130> 188188/PCT

<150> US 61/093,258

<151> 29-08-2009

<160> 9

5 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 32

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<400> 1

Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe  
 1 5 10 15

Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro  
 20 25 30

15 <210> 2

<211> 35

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

20 <400> 2

Lys Lys Lys Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr  
 1 5 10 15

Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val  
 20 25 30

Gly Ala Pro  
 35

25 <210> 3

<211> 32

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 3

Cys Lys Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Lys Thr Tyr Thr Gln Asp Phe  
 1 5 10 15

30 Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Lys Val Lys Ala Pro  
 20 25 30

<210> 4

<211> 32

<212> PRT

35 <213> *Homo sapiens*

<400> 4

Cys Asp Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Asp Thr Tyr Thr Gln Asp Phe  
 1 5 10 15

Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Asp Val Asp Ala Pro  
 20 25 30

40 <210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

45 <220>

<221> MISC\_FEATURE

ES 2 550 308 T3

<222> (6)..(6)  
 <223> D aminoácido

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..(9)  
 <223> NH<sub>2</sub>t

10 <400> 5  
 Glu His Trp Ser Tyr Leu Leu Arg Pro  
 1 5

15 <210> 6  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> D aminoácido

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..(9)  
 < 223> NH<sub>2</sub>t

<400> 6  
 Gln His Trp Ser Tyr Leu Leu Arg Pro  
 1 5

30 <210> 7  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> D aminoácido

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..(9)  
 < 223> NH<sub>2</sub>t

45 <400> 7  
 Glu His Trp Ser Tyr Leu Leu Asp Pro  
 1 5

50 <210> 8  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> D aminoácido

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> D aminoácido

ES 2 550 308 T3

<400> 8

Phe Cys Phe Trp Lys Thr Cys Thr  
1 5

5

<210> 9  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(1)  
<223> D aminoácido

15

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (4)..(4)  
<223> D aminoácido

20

<400> 9

Phe Cys Phe Trp Lys Lys Cys Lys  
1 5

25

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una formulación farmacéutica de liberación controlada que comprende un agente bioactivo modificado encapsulado por un polímero seleccionado entre poli(lactida-co-glicólido), poli(lactida) poli(glicólido), policaprolactona, poli(lactida-co-caprolactona), poli(lactida-co-glicólido-co-caprolactona), poli(glicólido-co-caprolactona) o una mezcla de los mismos, en la que dicho agente bioactivo modificado es un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID N°: 3, SEC ID N°: 4, SEC ID N°: 6 y SEC ID N°: 7; en la que:
- 10 (a) cuando el péptido tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID N°: 3, SEC ID N°: 6 y SEC ID N°: 7, el polímero es un polímero terminado en éster; y  
(b) cuando el péptido tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4, el polímero es un polímero terminado en ácido;
- 15 2. La formulación farmacéutica de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho polímero es poli(lactida-co-glicólido).
- 20 3. La formulación farmacéutica de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que dicho agente bioactivo modificado es un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID N°: 3.
4. La formulación farmacéutica de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que dicho agente bioactivo modificado es un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID N°: 4.
- 25 5. La formulación farmacéutica de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que dicho agente bioactivo modificado es un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID N°: 6.
6. La formulación farmacéutica de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que dicho agente bioactivo modificado es un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID N°: 7.

**Liberación Trifásica a partir de la Matriz Degradable**

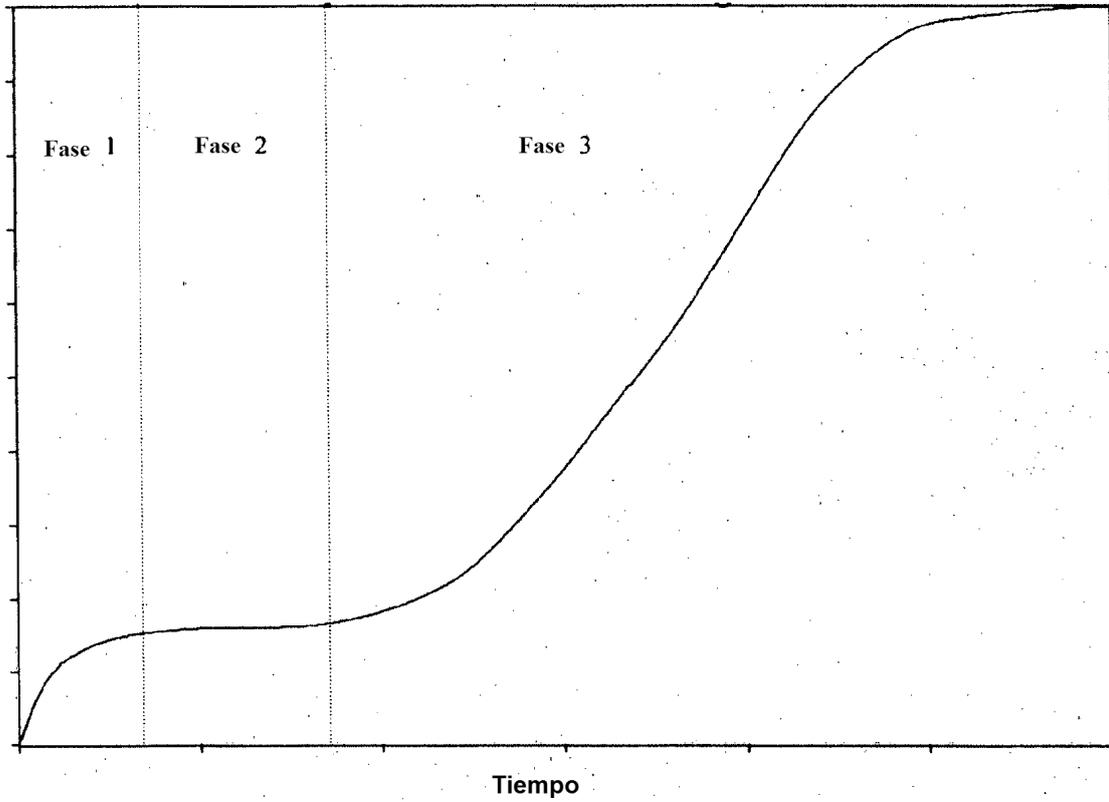


FIG. 1

Figura 2. Carga Farmacológica

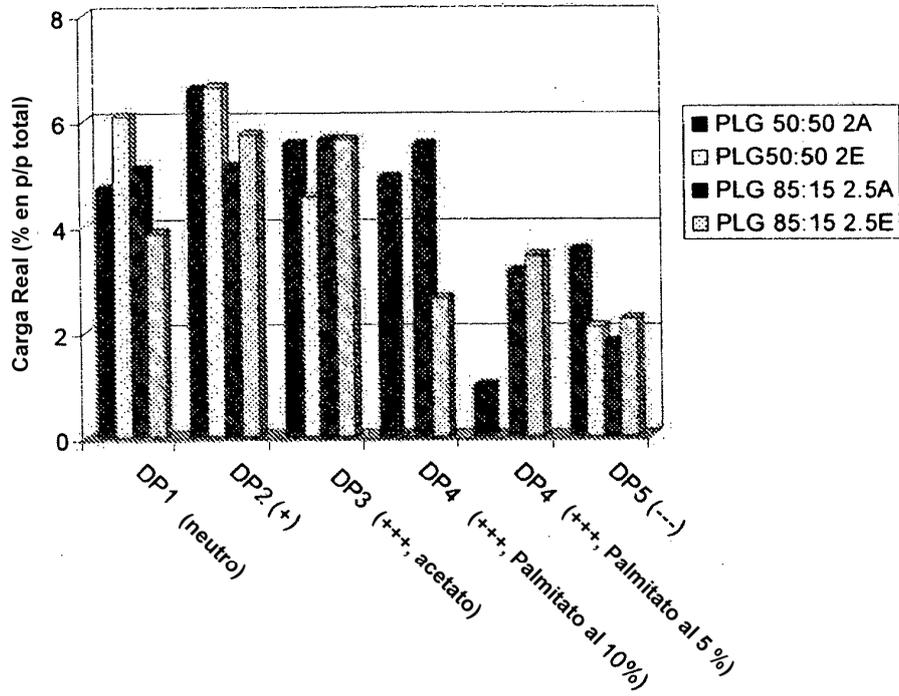


Figura 3: Eficacia de Carga

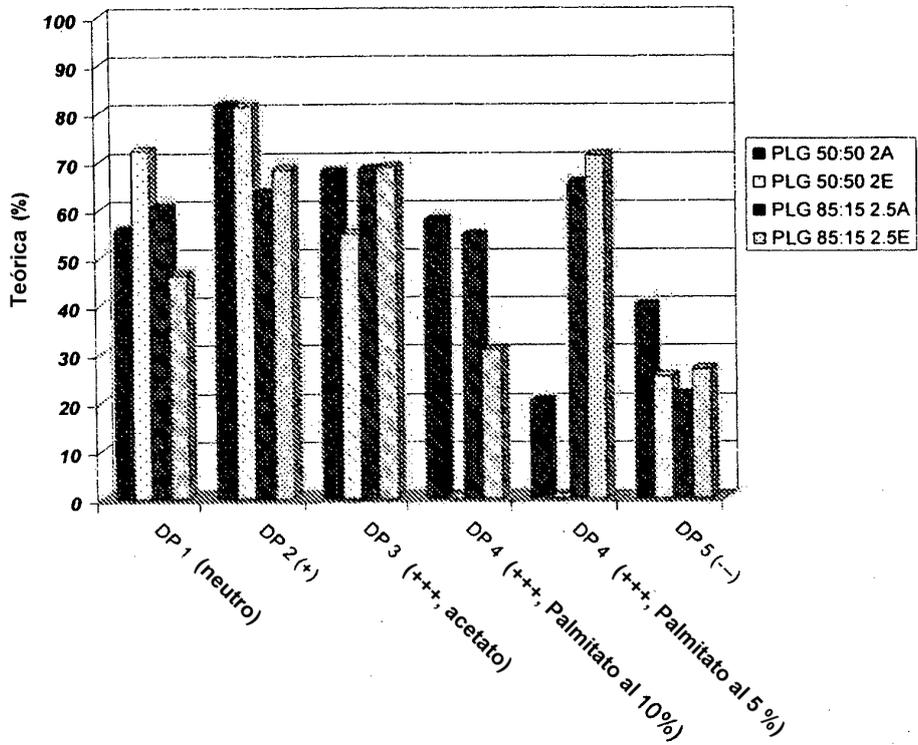
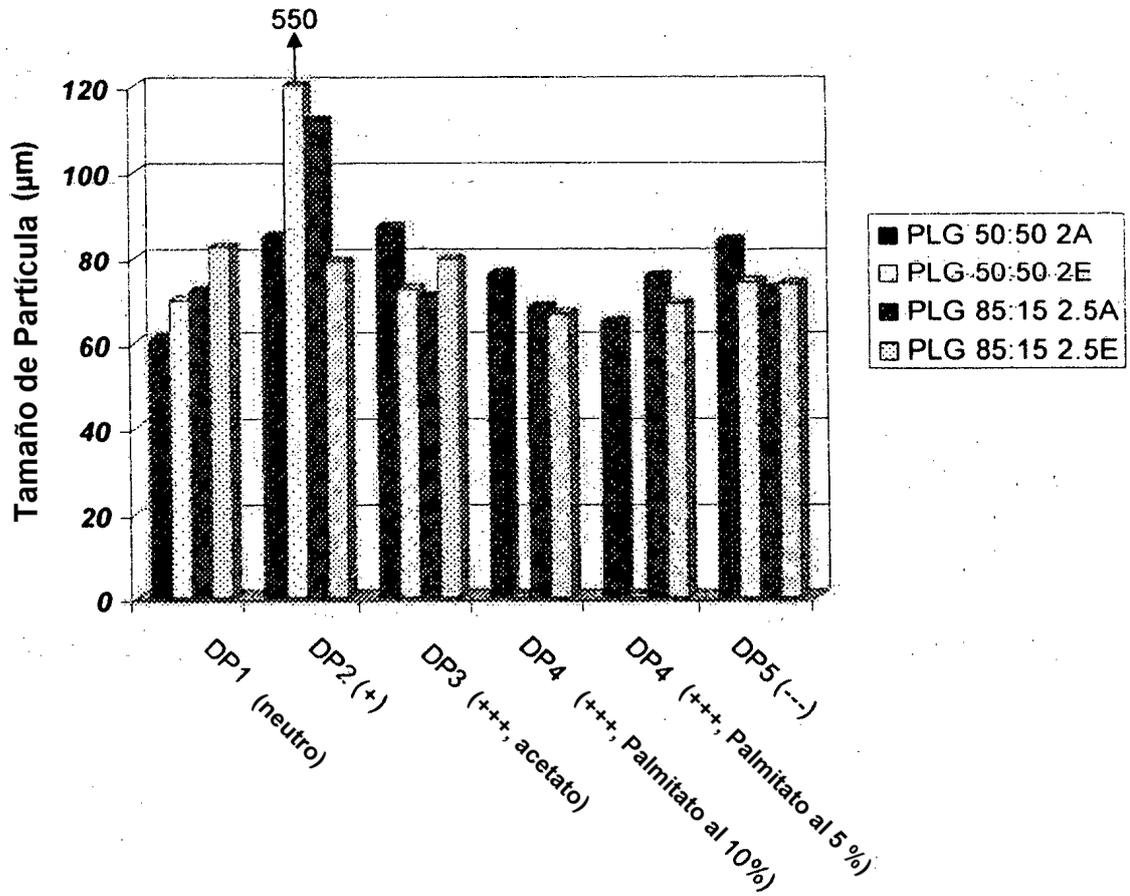


Figura 4: Tamaño de Partícula



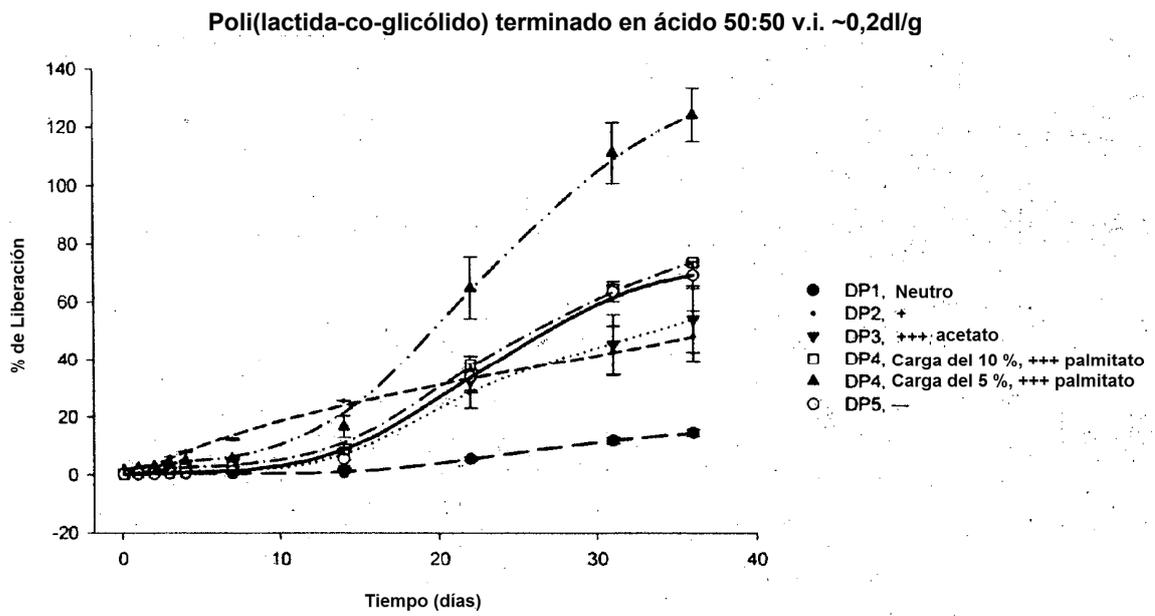


Figura 5. Velocidad de liberación *In vitro*, PLG 50:50 2A

Poli(láctido-co-glucólido) Terminado en Ácido 50:50, v.i. ~ 0,2 dl/g

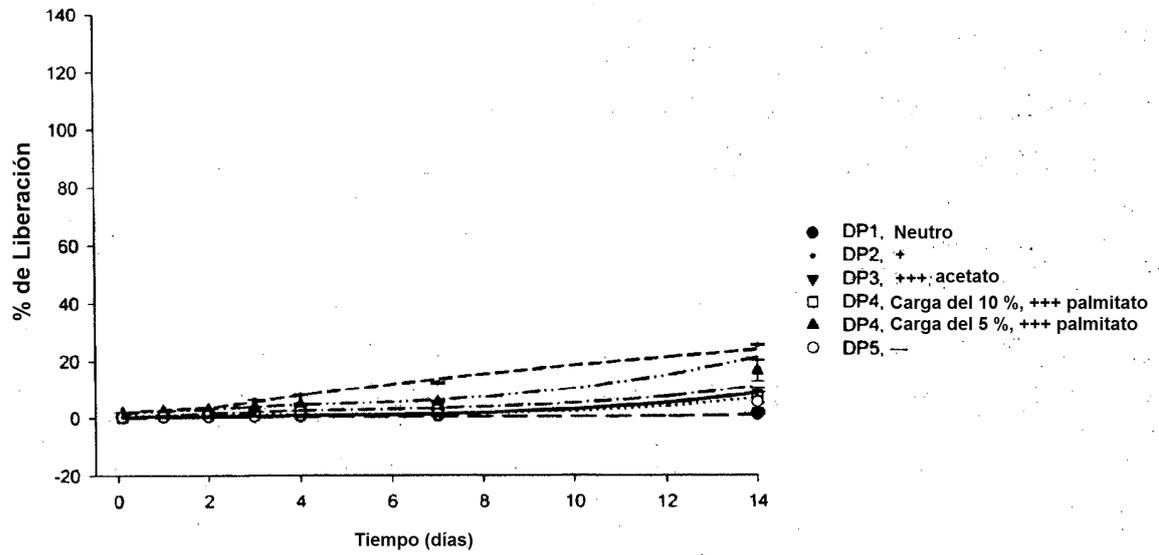


Figura 6: Velocidad de liberación *In vitro*, PLG 50:50 2A , a lo largo de 14 días

**Poli(lactida-co-glicólido) terminado en ester, v.i. ~ 0,2 dl/g**

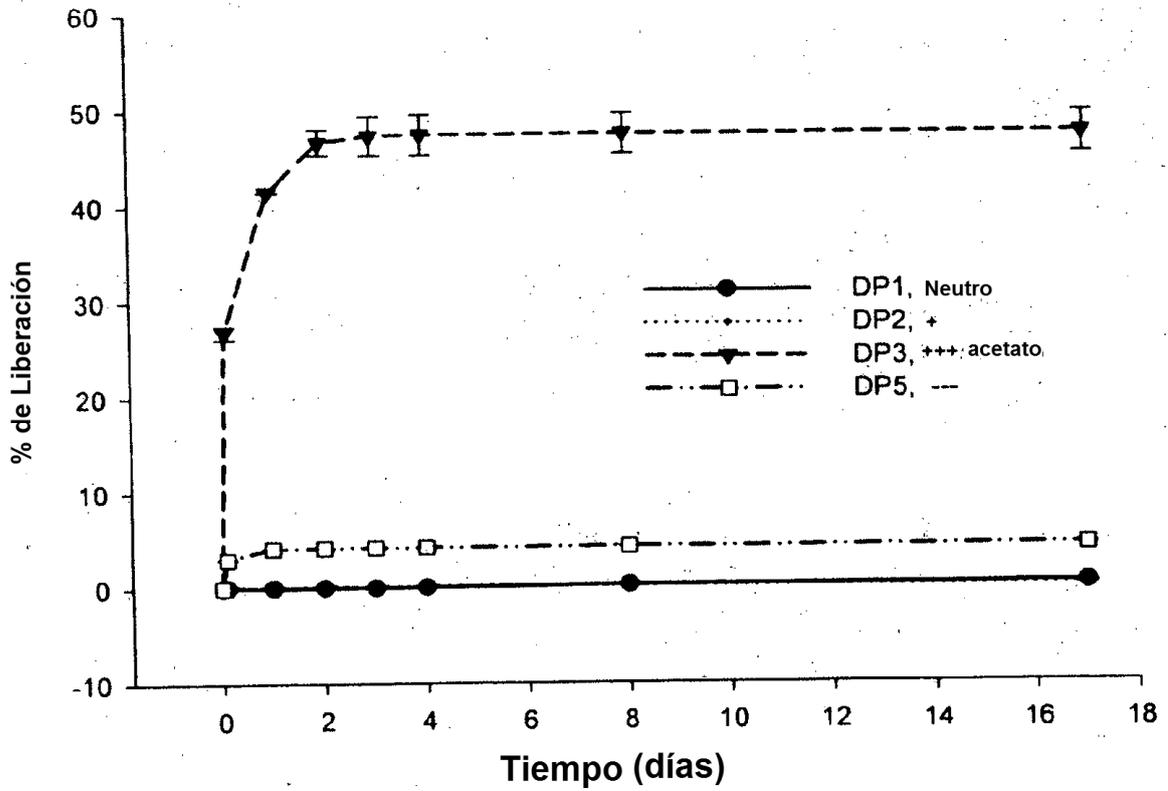
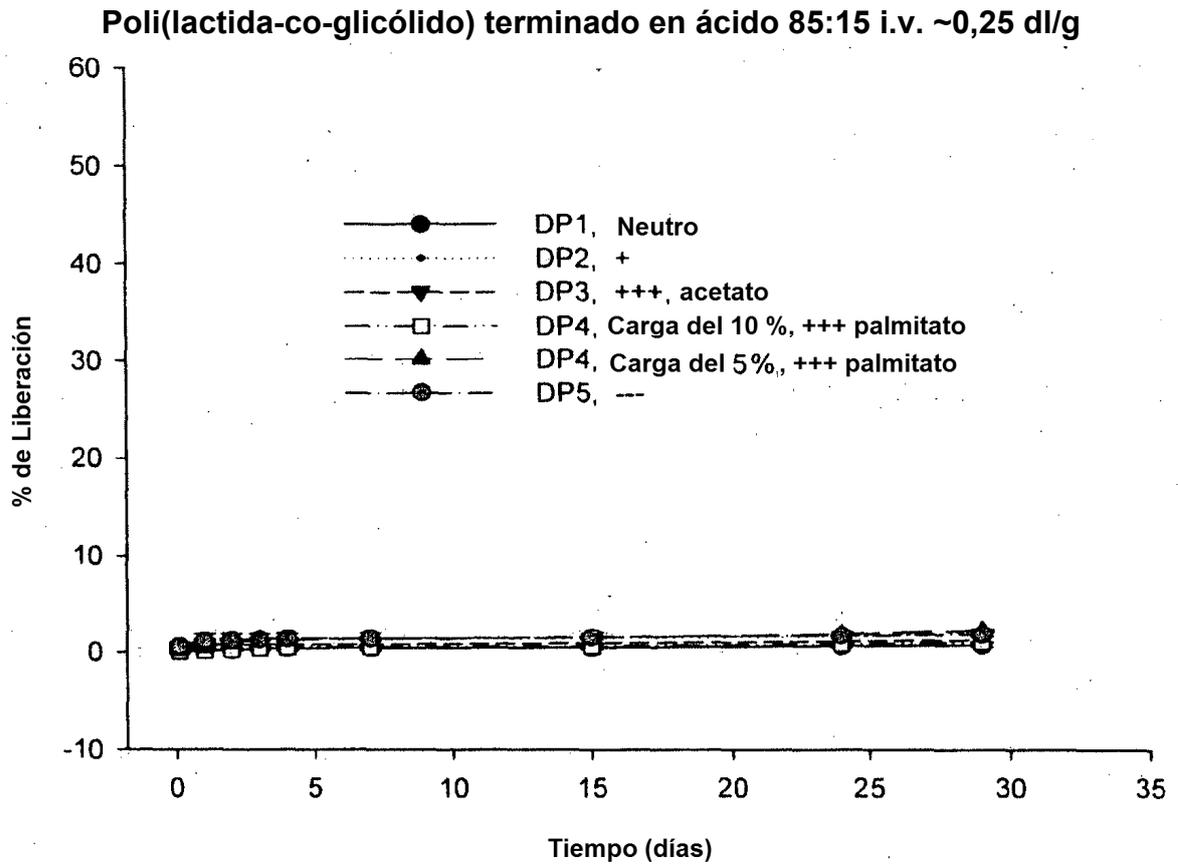


Figura 7: Velocidad de liberación *In vitro*, PLG 50:50 2E



**Figura 8: Velocidad de Liberación *In vitro*, PLG 85:15 2E**

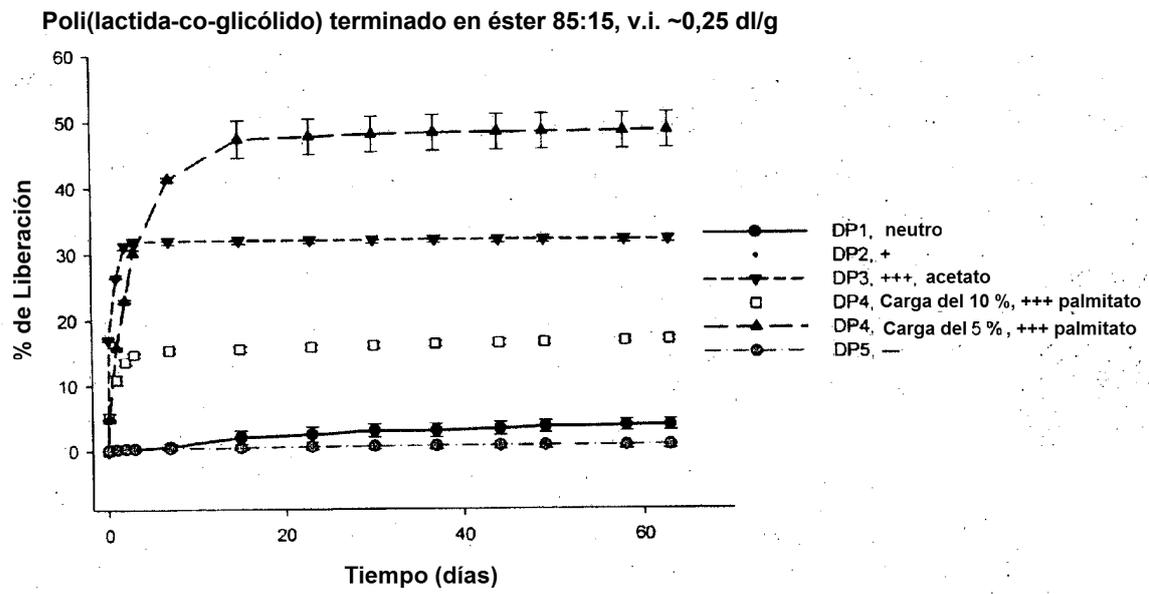


Figura 9: Velocidad de Liberación *In vitro*, PLG 85:15 2E

Poli(lactida-co-glicólido) terminado en éster 85:15, v.i. ~0,25 dl/g

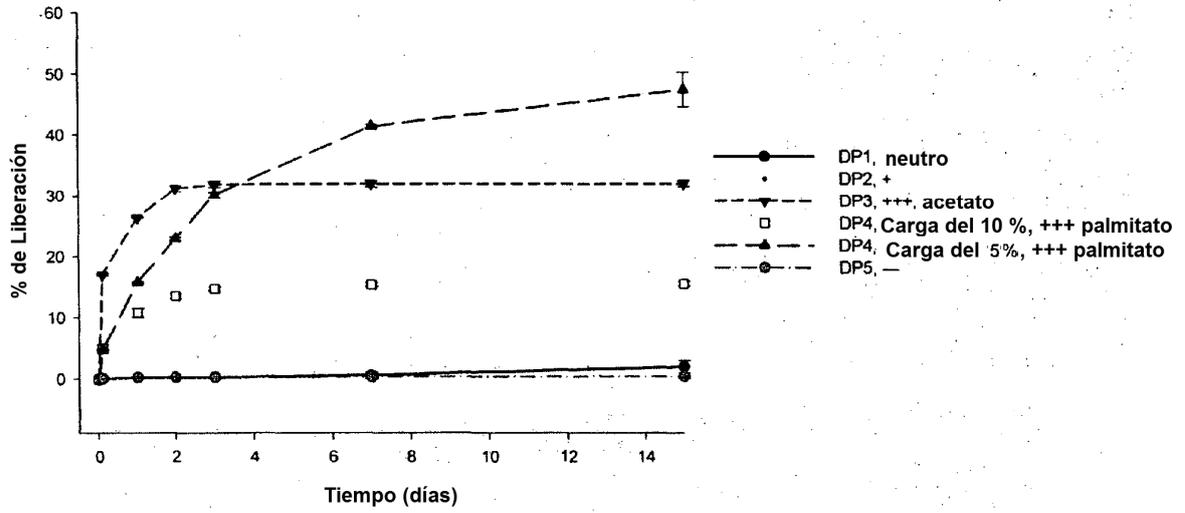


Figura 10: Velocidad de liberación *In vitro*, PLG 85:15 2E a lo largo de 15 días