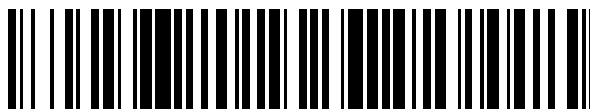


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 551 305**

51 Int. Cl.:

A61K 38/22 (2006.01)

A61K 38/29 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61K 31/716 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

B65B 31/00 (2006.01)

B65B 55/00 (2006.01)

A61M 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2006** **E 06849294 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.09.2015** **EP 1981547**

54 Título: **Formulaciones terapéuticas estables**

30 Prioridad:

28.12.2005 US 754948 P

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

17.11.2015

73 Titular/es:

ALZA CORPORATION (100.0%)
700 Eubanks Drive
Vacaville, CA 95688, US

72 Inventor/es:

AMERI, MAHMOUD;
CORMIER, MICHEL, J., N.;
SELLERS, SCOTT y
MAA, YUH-FUN

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 551 305 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 terapéuticas estables

La presente solicitud reivindica prioridad de la Solicitud Provisional de EE.UU. nº 60/754.948, presentada el 28 de diciembre de 2005.

5 Campo de la presente invención

La presente invención se refiere a métodos para fabricar y envasar dispositivos de suministro transdérmico que comprenden composiciones de agentes biológicamente activos físicamente estabilizados al minimizar la exposición de dichas composiciones de agentes biológicamente activos al oxígeno y el agua. La presente invención también se refiere a dispositivos de suministro transdérmico envasados, obtenibles mediante los métodos de la invención.

10 Antecedentes de la invención

En la técnica se conocen un gran número y una gran diversidad de agentes biológicamente activos que presentan beneficios terapéuticos cuando se suministran apropiadamente a un paciente que tiene un estado sobre el cual dichos agentes biológicamente activos pueden ejercer un efecto beneficioso. Estos agentes biológicamente activos comprenden varias clases amplias que incluyen, pero no se limitan a, péptidos o proteínas, tales como hormonas, proteínas, antígenos, agentes represores/activadores, enzimas e inmunoglobulinas entre otros. Las aplicaciones terapéuticas incluyen los tratamientos del cáncer, hipercalcemia, enfermedad de Paget, osteoporosis, diabetes, estados cardíacos, incluyendo insuficiencia cardíaca congestiva, trastornos del sueño, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD; del inglés, *chronic obstructive pulmonary disease*) y estados anabólicos, por nombrar unos pocos.

En la técnica ha resultado problemático el formular dichas formulaciones de agentes biológicamente activos de un modo terapéuticamente eficaz y comercialmente viable a causa, en parte, de la tendencia de muchos agentes biológicamente activos a deteriorarse en presencia de oxígeno y agua. Los agentes particularmente susceptibles a la oxidación incluyen los aminoácidos metionina y cisteína. El agua causa la degradación de un gran número de agentes biológicos. Esto afecta particularmente a péptidos y proteínas como resultado de la hidrólisis del enlace amida.

Se han publicado referencias en las que se discuten los efectos de la oxidación y la hidrólisis sobre agentes biológicamente activos durante la fabricación y el almacenamiento. Por ejemplo, M. J. Pikal, K. Dellerman y M. L. Roy, "Formulation and stability of freeze-dried proteins: effects of moisture and oxygen on the stability of freeze-dried formulations of human growth hormone", *Dev. Biol. Stand.* 1992, 74: 21-38; Mei C. Lai, Michael J. Hageman, Richard L. Schowen, Ronald T. Borchardt y Elizabeth M. Topp, "Chemical Stability of Peptides in Polymers. 1. Effect of Water on Peptide Deamidation in Poly(vinyl alcohol) and Poly(vinyl pyrrolidone) Matrixes", *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1999), 88 (10), 1073-1080, se centran en cómo agentes biológicos activos experimentan un deterioro debido a la oxidación o la hidrólisis cuando están expuestos al aire o el agua durante periodos prolongados de tiempo.

El deterioro de agentes biológicamente activos en formulaciones es particularmente problemático cuando los agentes biológicamente activos se administran mediante suministro transdérmico. La palabra "transdérmico", como se emplea en esta memoria, es un término genérico que se refiere al suministro de un agente activo (por ejemplo, un agente terapéutico, tal como un fármaco, producto farmacéutico, péptido, polipéptido o proteína) a través de la piel al tejido local o el sistema circulatorio sistémico sin corte ni penetración sustanciales de la piel, tal como el corte con un escalpelo o la perforación de la piel con una aguja hipodérmica. El suministro transdérmico de agentes incluye el suministro por medio de difusión pasiva así como el suministro basado en fuentes de energía externas, tales como la electricidad (por ejemplo, iontoforesis) y el ultrasonido (por ejemplo, fonoforesis).

Se han desarrollado numerosos sistemas y aparatos para suministro transdérmico de agentes en que se emplean diminutos elementos perforadores de la piel para potenciar el suministro transdérmico de los agentes. En las Patentes de EE.UU. números 5.879.326, 3.814.097, 5.250.023, 3.964.482, Reedición nº 25.637, y las Publicaciones PCT números WO 96/37155, WO 96/37256, WO 96/17648, WO 97/03718, WO 98/11937, WO 98/00193, WO 97/48440, WO 97/48441, WO 97/48442, WO 98/00193, WO 99/64580, WO 98/28037, WO 98/29298 y WO 98/29365 y las Publicaciones US números US2004/0062813, US2004/0265354, US2005/0090009, US2005/0106209, US2005/0123507, US2005/0226922, US2005/0256045 y US2005/0266011 se describen ejemplos de dichos sistemas y aparatos.

En los sistemas y aparatos descritos se emplean elementos perforadores de diversas formas y tamaños para perforar la capa más externa (es decir, el estrato córneo) de la piel y potenciar de este manera el flujo de agentes. En general, los elementos perforadores se extienden perpendicularmente desde un elemento delgado y liso, tal como una almohadilla o una lámina. Los elementos perforadores son típicamente muy pequeños, teniendo algunos

una longitud de microproyección de sólo aproximadamente 25-400 micrómetros y un espesor de microproyección de sólo aproximadamente 5-50 micrómetros. Estos diminutos elementos perforadores/cortantes producen microhendiduras/microcortes correspondientemente pequeños en el estrato córneo para un suministro transdérmico potenciado de agentes a través de éste. El agente activo que se va a suministrar se asocia con una o más de las microproyecciones, normalmente al revestir las microproyecciones con la formulación o mediante el uso de un depósito que se comunica con el estrato córneo una vez que se han formado las microhendiduras.

Sin embargo, los actuales procesos de fabricación y envasado son problemáticos, especialmente cuando se revisten las microproyecciones con la formulación mediante el secado de la formulación sobre las microproyecciones, como se describe en la Publicación nº 2002/0128599 de solicitud de patente de EE.UU. La formulación es normalmente una formulación acuosa. Durante el proceso de secado, todos los compuestos volátiles, incluyendo el agua, son en su mayor parte eliminados; sin embargo, el revestimiento sólido final aún contiene típicamente cerca de 3% de agua. La presencia de agua puede conducir al deterioro del agente biológicamente activo en la formulación a causa de una hidrólisis.

Los procesos de fabricación y envasado actuales son también problemáticos porque está presente oxígeno durante cada fase. Aunque la fase de fabricación es un periodo de tiempo relativamente corto, la fase de envasado y almacenamiento puede ser bastante prolongada. Es probable que los tiempos de almacenamiento de los sistemas de suministro transdérmico sean periodos prolongados de tiempo antes de que se empleen dichos sistemas (es decir, no es poco frecuente un tiempo de conservación prolongado de varios meses). Por lo tanto, los agentes biológicamente activos de los revestimientos están sujetos a oxidación y deterioro. Para los fines de esta solicitud, se entenderá que las referencias a los términos "envasado" y "envasar" también incluyen las referencias a "almacenamiento" y "almacenar".

En consecuencia, la estabilización física, especialmente la minimización de la exposición de las formulaciones de agentes biológicamente activos a la oxidación y la hidrólisis a lo largo del tiempo, es una operación importante a la hora de asegurar la eficacia de los agentes terapéuticos, particularmente cuando el modo de suministro del agente terapéutico es por medio de un dispositivo de suministro transdérmico que tiene una pluralidad de microproyecciones revestidas con un revestimiento biocompatible que contiene el agente.

Por lo tanto, sería deseable proporcionar composiciones de, y métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos que tuvieran una estabilidad física potenciada.

Además, sería deseable proporcionar composiciones de, y métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos, en los que el deterioro del agente biológicamente activo por el oxígeno y/o el agua estuviera minimizado y/o controlado.

Además, sería deseable proporcionar composiciones de, y métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos que presentaran tiempos de conservación máximos u óptimos.

Sumario de la invención

La descripción proporciona agentes biológicamente activos que presentan una estabilidad física potenciada, en donde los agentes biológicamente activos están revistiendo un dispositivo de suministro transdérmico que tiene una pluralidad de microproyecciones perforadoras de la piel que están adaptadas para suministrar el agente a través de la piel de un sujeto, y el dispositivo es fabricado y/o envasado en una atmósfera inerte seca y/o un vacío parcial.

Se ha hallado que la fabricación y/o el envasado de las formulaciones en una atmósfera inerte seca y/o un vacío parcial, sustancialmente exentos de oxígeno y agua, reduce sustancialmente o elimina el deterioro indeseable del agente biológicamente activo.

Se describen composiciones de, y métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos, en los que está minimizado y/o controlado el deterioro por el oxígeno y/o el agua nocivos.

Se describen composiciones de, y métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos que tienen tiempos de conservación máximos u óptimos.

La presente descripción proporciona además agentes biológicamente activos que presentan una estabilidad física potenciada, en donde los agentes biológicamente activos están contenidos en un revestimiento biocompatible que está dispuesto sobre un dispositivo de suministro transdérmico que tiene una pluralidad de microproyecciones perforadoras de la piel que están adaptadas para suministrar el agente a través de la piel de un sujeto.

La presente descripción también proporciona composiciones de, y métodos para formular y suministrar, formulaciones de agentes biológicamente activos, en donde las formulaciones son estabilizadas durante su fabricación y almacenamiento mediante la presencia de una atmósfera inerte seca y/o un vacío parcial,

sustancialmente exentos de oxígeno y/o agua.

Asimismo, la presente descripción proporciona métodos para utilizar una atmósfera inerte seca y/o un vacío parcial durante la fabricación y/o el envasado, para estabilizar formulaciones de agentes biológicamente activos.

5 Se proporcionan composiciones de, y métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos que presentan una estabilidad física mejorada u óptima, estabilidad física mejorada u óptima que potencia el tiempo de conservación de las formulaciones que contienen los agentes terapéuticos. Se describen composiciones de, y métodos para formular y suministrar, formulaciones de agentes biológicamente activos que se han incorporado a un revestimiento biocompatible que está revistiendo una pluralidad de microproyecciones perforadoras del estrato córneo de un dispositivo de suministro transdérmico, dispositivo de suministro que presenta una estabilidad física
10 mejorada u óptima.

Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, formulaciones de agentes biológicamente activos son adecuados para uso con una diversidad de medios de suministro (por ejemplo, los suministros sistémico y local), incluyendo los suministros oral (bolo), oral (liberación temporal o según patrón), por infusión, por inyección, por implante subcutáneo, pulmonar, mucoso (mucosas oral, ocular, nasal, rectal y vaginal), y transdérmico pasivo, activo
15 y balístico. También están dentro del alcance de la invención otros suministros locales, tales como los tratamientos de otitis y de infecciones fúngicas, bacterianas y víricas de la piel, el cuero cabelludo y las uñas.

Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos son particularmente adecuados para el suministro transdérmico usando un dispositivo de suministro por microproyecciones, en donde los agentes biológicamente activos están incluidos en un revestimiento biocompatible que está revistiendo al menos una microproyección perforadora del estrato córneo, preferiblemente una pluralidad de microproyecciones perforadoras del estrato córneo de un dispositivo de suministro por microproyecciones.
20

Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos son particularmente adecuados para el suministro transdérmico usando un dispositivo de suministro por microproyecciones, en donde los agentes biológicamente activos están incluidos en un revestimiento biocompatible que se fabrica y/o envasa en una atmósfera inerte seca, preferiblemente nitrógeno o argón.
25

Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos son particularmente adecuados para el suministro transdérmico usando un dispositivo de suministro por microproyecciones, en donde los agentes biológicamente activos están incluidos en un revestimiento biocompatible que está revistiendo al menos una microproyección perforadora del estrato córneo, preferiblemente una pluralidad de microproyecciones perforadoras del estrato córneo de un dispositivo de suministro por microproyecciones, y fabricado y/o envasado en una atmósfera inerte seca, preferiblemente nitrógeno y argón.
30

Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos son particularmente adecuados para el suministro transdérmico usando un dispositivo de suministro por microproyecciones, en donde los agentes biológicamente activos están incluidos en un revestimiento biocompatible que se fabrica y/o envasa en una atmósfera inerte seca, preferiblemente nitrógeno o argón, y en presencia de un agente desecante o un agente absorbente de oxígeno.
35

Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos son particularmente adecuados para el suministro transdérmico usando un dispositivo de suministro por microproyecciones, en donde los agentes biológicamente activos están incluidos en un revestimiento biocompatible que se fabrica y/o envasa en una cámara revestida de hoja metálica que tiene una atmósfera inerte seca, preferiblemente nitrógeno, y un agente desecante o un agente absorbente de oxígeno.
40

Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos son particularmente adecuados para el suministro transdérmico usando un dispositivo de suministro por microproyecciones, en donde los agentes biológicamente activos están incluidos en un revestimiento biocompatible que se fabrica y/o envasa en un vacío parcial.
45

Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos son particularmente adecuados para el suministro transdérmico usando un dispositivo de suministro por microproyecciones, en donde los agentes biológicamente activos están incluidos en un revestimiento biocompatible que se fabrica y/o envasa en una atmósfera inerte seca, preferiblemente nitrógeno, y un vacío parcial.

50 Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos son particularmente adecuados para el suministro transdérmico usando un dispositivo de suministro por microproyecciones, en donde los agentes biológicamente activos están incluidos en un revestimiento biocompatible que se fabrica y/o envasa en una cámara revestida de hoja metálica que tiene una atmósfera inerte seca, preferiblemente nitrógeno, un vacío parcial, y un agente desecante o un agente absorbente de oxígeno.

En los métodos y productos de la presente invención, el agente biológicamente activo comprende hPTH (1-34) y compuestos análogos al mismo.

La formulación resultante de agentes biológicamente activos estables se incorpora a un revestimiento biocompatible utilizado para revestir al menos una microproyección perforadora del estrato córneo, preferiblemente una pluralidad de microproyecciones perforadoras del estrato córneo, o un conjunto de las mismas, o un dispositivo de suministro. Típicamente, el proceso de revestimiento se lleva a cabo en una serie de operaciones de revestimiento, con una operación de secado entre cada operación de revestimiento, como se describe, por ejemplo, en la Publicación de Patente de EE.UU. n° 2002/0132054, concedida a Trautman et al. Las microproyecciones revestidas se envasan en una atmósfera inerte seca y/o un vacío parcial.

5 Específicamente, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un método para fabricar y envasar un dispositivo de suministro transdérmico que comprende un anillo; en donde el método comprende las operaciones siguientes: (i) proporcionar un elemento (5) de microproyección que tiene una pluralidad de microproyecciones (10); (ii) proporcionar una formulación (18) de revestimiento biocompatible que comprende un agente biológicamente activo que comprende hPTH (1-34) y compuestos análogos al mismo; (iii) revestir el elemento de microproyección con la formulación de revestimiento biocompatible para formar dicho dispositivo de suministro transdérmico; y (iv) 10 envasar dicho dispositivo de suministro transdérmico encerrando herméticamente mediante calor dicho dispositivo de suministro transdérmico en una bolsita de hoja metálica purgada con nitrógeno gaseoso, en donde dicho método comprende además presecar el anillo para eliminar eficazmente el oxígeno y/o la humedad desorbidos del anillo antes de la formación de la bolsita.

20 En un segundo aspecto, la presente invención proporciona un dispositivo de suministro transdérmico envasado, obtenible mediante el método de fabricación y envasado de la presente invención.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un dispositivo de suministro transdérmico que tiene microproyecciones perforadoras del estrato córneo revestidas con una formulación de hPTH (1-34), envasado con un anillo de retención presecado en una bolsita de hoja metálica herméticamente sellada y purgada con nitrógeno gaseoso.

Breve descripción de los dibujos

Otras características y ventajas resultarán evidentes a partir de la siguiente y más particular descripción de las realizaciones preferidas de la invención, como se ilustra en los dibujos adjuntos, en los que caracteres de referencia similares se refieren generalmente a las mismas partes o elementos de todas las vistas, y en los que:

30 La Figura 1 es una vista en perspectiva de una porción de un ejemplo de un conjunto de microproyecciones sobre el cual se puede depositar un revestimiento biocompatible que tiene una formulación de agente biológicamente activo.

La Figura 2 es una vista en perspectiva del conjunto de microproyecciones mostrado en la Figura 1, con un revestimiento biocompatible depositado sobre las microproyecciones.

35 La Figura 2A es una vista en corte transversal de una sola microproyección, tomada a lo largo de la línea 2A-2A de la Figura 1.

La Figura 3 es una ilustración esquemática de un lado más próximo a la piel de un conjunto de microproyecciones, que ilustra la división del conjunto de microproyecciones en varias porciones.

La Figura 4 es una vista en plano lateral de un lado más próximo a la piel de un conjunto de microproyecciones, que ilustra la división del conjunto de microproyecciones en diversas porciones.

40 La Figura 5 es una vista en corte lateral de un conjunto de microproyecciones, en donde se pueden aplicar diferentes revestimientos biocompatibles a diferentes microproyecciones.

La Figura 6 es una vista en perspectiva del conjunto de microproyecciones en un envase de hoja metálica con un agente desecante encerrado.

La Figura 7 muestra la estabilidad a largo plazo de PTH Macroflux® en diferentes condiciones de envasado.

45 La Figura 8 muestra el porcentaje de pureza de BNP por HPLC después de un tratamiento por haz de electrones (T = 0).

La Figura 9 muestra un perfil de degradación de BNP por HPLC a T = 0.

La Figura 10 muestra una comparación de perfiles de degradación mediante tratamiento por haz de electrones, procedentes de estudios previos y actuales.

La Figura 11 muestra datos de estabilidad en 1M después del tratamiento por haz de electrones.

La Figura 12 muestra un perfil de degradación después del tratamiento por haz de electrones.

La Figura 13 muestra el porcentaje de pureza total de hBNP por áreas de picos (T = 0).

La Figura 14 muestra un perfil de degradación por HPLC (T = 0).

5 La Figura 15 muestra el porcentaje de pureza total de hBNP por área de picos (T = 1M, 25 °C).

La Figura 16 muestra un perfil de degradación por HPLC (T = 1M, 25 °C).

Descripción detallada de la invención

10 Antes de la descripción de la presente invención con detalle, se ha de entender que esta invención no se limita a materiales, formulaciones, métodos ni estructuras particularmente ejemplificados ya que estos, por supuesto, pueden variar. De este modo, aunque en la práctica de la presente invención se pueden utilizar diversos materiales y métodos similares o equivalentes a los descritos en esta memoria, se describen en esta memoria los materiales y métodos preferidos.

Se ha de entender también que la terminología empleada en esta memoria tiene únicamente la finalidad de describir realizaciones particulares de la invención y no está destinada a ser restrictiva.

15 A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos empleados en esta memoria tienen los mismos significados que los comúnmente entendidos por quien tiene una experiencia normal en la técnica a la cual pertenece la invención.

20 Finalmente, como se utiliza en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales a menos que el contenido dicte claramente otra cosa. De esta manera, por ejemplo, la referencia a "un agente terapéutico" incluye dos o más de dichos agentes, la referencia a "una microproyección" incluye dos o más de dichas microproyecciones, etcétera.

Definiciones

El término "degradación", como se emplea en esta memoria, significa que la pureza del agente biológico disminuye desde un punto temporal inicial.

25 Las expresiones "agente desecante" y "agentes absorbentes de oxígeno" se usan indistintamente en esta memoria. A menos que resulte clara otra cosa del contexto, las expresiones indicadas se refieren a un agente que absorbe agua, normalmente un agente químico.

El término "transdérmico", como se emplea en esta memoria, significa el suministro de un agente a, y/o a través de, la piel para terapia local o sistémica.

30 El término "deteriorarse", como se emplea en esta memoria, significa que la calidad, el carácter o el valor del agente biológicamente activo resulta disminuido o dañado.

El término "minimizar", como se emplea en esta memoria, también significa reducir.

La expresión "flujo transdérmico", como se emplea en esta memoria, significa la velocidad de suministro transdérmico.

35 El término "estable", como se emplea en esta memoria para referirse a una formulación de agente, significa que la formulación de agente no está sujeta a un cambio químico o físico excesivo, incluyendo la descomposición, rotura o inactivación. "Estable", como se emplea en esta memoria para referirse a un revestimiento, también significa mecánicamente estable, es decir, no sujeto a un desplazamiento ni una pérdida excesivos de la superficie sobre la cual se deposita el revestimiento.

40 Las expresiones "agente terapéutico" y "agente", como se emplean en esta memoria, significan e incluyen un agente farmacéuticamente activo y/o una composición de materia o mezcla que contiene un agente activo, que es farmacéuticamente eficaz cuando se administra en una cantidad terapéutica eficaz. Un ejemplo específico de un agente activo biológicamente activo es hPTH. Se ha de entender que se pueden incorporar más de un "agente" a la(s) formulación(es) de agente terapéutico de la presente invención y que las expresiones "agente" y "agente terapéutico" no excluyen el uso de dos o más de dichos agentes.

45 Las expresiones "terapéutico eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz", como se emplean en esta memoria, se refieren a la cantidad del agente biológicamente activo necesaria para estimular o iniciar el resultado beneficioso

deseado. La cantidad del agente biológicamente activo empleada en los revestimientos de la invención será la cantidad necesaria para suministrar una cantidad del agente biológicamente activo necesaria para alcanzar el resultado deseado. En la práctica, esto variará ampliamente dependiendo del particular agente biológicamente activo que se suministra, el sitio de suministro, y las cinéticas de disolución y liberación para el suministro del agente biológicamente activo a tejidos de la piel.

La expresión "formulación de revestimiento", como se emplea en esta memoria, significa e incluye una composición o mezcla que fluye libremente, que se emplea para revestir una superficie de suministro, incluyendo una o más microproyecciones y/o conjuntos de las mismas.

La expresión "revestimiento biocompatible", como se emplea en esta memoria, significa e incluye un revestimiento formado a partir de una "formulación de revestimiento" que tiene suficientes características de adhesión y ninguna interacción negativa (o interacciones negativas mínimas) con el agente biológicamente activo.

El término "microproyecciones", como se emplea en esta memoria, se refiere a elementos perforadores que están adaptados para perforar o cortar el estrato córneo hasta la capa epidérmica subyacente, o capas epidérmicas y dérmicas, de la piel de un animal vivo, particularmente un mamífero y, más particularmente, un ser humano.

La expresión "elemento de microproyección", como se emplea en esta memoria, implica generalmente un conjunto de microproyecciones que comprende una pluralidad de microproyecciones dispuestas en un conjunto para perforar el estrato córneo. El elemento de microproyección puede ser formado grabando o estampando una pluralidad de microproyecciones a partir de una lámina delgada y plegando o curvando las microproyecciones fuera del plano de la lámina para formar una configuración. El elemento de microproyección puede ser también formado de otros modos conocidos, tal como formando una o más tiras que tienen microproyecciones a lo largo de un borde de cada una de las tiras, como se describe en la Patente de EE.UU. n° 6.050.988.

Los elementos de microproyección que pueden ser empleados con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, los elementos descritos en las Patentes de EE.UU. números 6.083.196, 6.050.988 y 6.091.975 y en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. n° 2002/0016562. Cómo será apreciado por quien tiene una experiencia normal en la técnica, cuando se emplea un conjunto de microproyecciones, la dosis del agente terapéutico que se suministra puede ser también variada o manipulada alterando el tamaño, la densidad, etc. del conjunto (o la zona) de microproyecciones.

Como se discutió anteriormente en la sección Antecedentes, los procesos de fabricación y envasado actuales para dispositivos de suministro que implican microproyecciones son problemáticos, especialmente cuando se revisten las microproyecciones con una formulación mediante el secado de la formulación sobre las microproyecciones, como se describe en la Publicación n° 2002/0128599 de solicitud de patente de EE.UU. La formulación es normalmente una formulación acuosa. Durante el proceso de secado, todos los compuestos volátiles, incluyendo el agua, son en su mayor parte eliminados; sin embargo, el revestimiento sólido final aún contiene típicamente cerca de 3% de agua. La presencia de agua puede conducir al deterioro del agente biológicamente activo en la formulación a causa de una hidrólisis.

Los procesos de fabricación y envasado actuales son también problemáticos porque está presente oxígeno durante cada fase. Aunque la fase de fabricación es un periodo de tiempo relativamente corto, la fase de envasado y almacenamiento puede ser bastante prolongada. Es probable que los tiempos de almacenamiento de los sistemas de suministro transdérmico sean periodos prolongados de tiempo antes de que se empleen dichos sistemas (es decir, no es poco frecuente un tiempo de conservación prolongado de varios meses). Por lo tanto, los agentes biológicamente activos de los revestimientos están sujetos a oxidación y deterioro.

Para los fines de esta solicitud, se entenderá que las referencias a los términos "envasado" y "envasar" también incluyen las referencias a "almacenamiento" y "almacenar". En consecuencia, la estabilización física, especialmente la minimización de la exposición de las formulaciones de agentes biológicamente activos a la oxidación y la hidrólisis a lo largo del tiempo, es una operación importante a la hora de asegurar la eficacia de los agentes terapéuticos, particularmente cuando el modo de suministro del agente terapéutico es por medio de un dispositivo de suministro transdérmico que tiene una pluralidad de microproyecciones revestidas con un revestimiento biocompatible que contiene el agente.

Sin embargo, en la publicación anteriormente indicada no se describe una formulación de, ni una técnica para, estabilizar físicamente formulaciones de agentes biológicamente activos sensibles al oxígeno, en particular, mitigar o eliminar la presencia de oxígeno durante el envasado de dispositivos de suministro transdérmico, y la resultante oxidación indeseada de los agentes biológicamente activos. En particular, en la publicación indicada no se describe una formulación de, ni una técnica para, estabilizar físicamente agentes biológicamente activos mediante la fabricación y/o envasado de los dispositivos de suministro transdérmico que contienen agentes biológicamente activos en una atmósfera inerte seca (con un contenido de agua esencialmente de cero), que imparten a la formulación una estabilidad frente a cambios indeseados a lo largo del tiempo a causa de una oxidación.

- En la publicación anteriormente indicada tampoco se describe una formulación de, ni una técnica para, estabilizar físicamente formulaciones de agentes biológicamente activos sensibles al agua, en particular, mitigar o eliminar la presencia de agua durante el envasado de dispositivos de suministro transdérmico, y la resultante hidrólisis indeseada de los agentes biológicamente activos. En particular, en la publicación indicada no se describe una
- 5 formulación de, ni una técnica para, estabilizar físicamente agentes biológicamente activos mediante la fabricación y/o envasado de los dispositivos de suministro transdérmico que contienen agentes biológicamente activos en un vacío parcial, que imparten a la formulación una estabilidad frente a cambios indeseados a lo largo del tiempo a causa de una hidrólisis.
- La estabilidad física mejorada de dichas formulaciones terapéuticas de agentes biológicamente activos no sólo proporciona el beneficio de un tiempo de almacenamiento o conservación aumentado para el propio agente terapéutico sino que potencia la eficacia ya que, una vez estabilizados, los agentes terapéuticos resultan útiles en una mayor diversidad de formulaciones posibles y con una mayor variedad de medios para el suministro de agentes terapéuticos.
- 10 Como se indicó anteriormente, composiciones de, y métodos para formular y suministrar, agentes biológicamente activos que tienen una estabilidad física potenciada, y en donde se minimiza y/o controla el deterioro por la presencia de oxígeno y/o agua. Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, formulaciones de agentes biológicamente activos permiten además la minimización y/o el control de impurezas y subproductos oxidativos para producir una composición consistente y predecible. Las composiciones de, y los métodos para formular y suministrar, formulaciones de agentes biológicamente activos facilitan además su incorporación a un
- 15 revestimiento biocompatible que puede ser empleado para revestir una microproyección perforadora del estrato córneo, o una pluralidad de microproyecciones perforadoras del estrato córneo de un dispositivo de suministro, para el suministro del revestimiento biocompatible a través de la piel de un sujeto, proporcionando de este modo un medio eficaz para el suministro de los agentes biológicamente activos.
- 20 Sin embargo, ni en la publicación anteriormente indicada ni en ninguna otra referencia conocida se describe una formulación de, ni una técnica para, estabilizar físicamente formulaciones de agentes biológicamente activos sensibles al oxígeno, en particular, mitigar o eliminar la presencia de oxígeno durante el envasado de dispositivos de suministro transdérmico, y la resultante oxidación indeseada de los agentes biológicamente activos. En particular, ni en la publicación indicada ni en ninguna otra referencia conocida se describe una formulación de, ni una técnica para, estabilizar físicamente agentes biológicamente activos mediante la fabricación y/o envasado de los dispositivos
- 25 de suministro transdérmico que contienen agentes biológicamente activos en una atmósfera inerte seca (con un contenido de agua esencialmente de cero), que imparten a la formulación una estabilidad frente a cambios indeseados a lo largo del tiempo a causa de una oxidación.
- Ni en la publicación anteriormente indicada ni en ninguna otra referencia conocida se describe una formulación de, ni una técnica para, estabilizar físicamente formulaciones de agentes biológicamente activos sensibles al agua, en particular, mitigar o eliminar la presencia de agua durante el envasado de dispositivos de suministro transdérmico, y la resultante hidrólisis indeseada de los agentes biológicamente activos. En particular, ni en la publicación indicada ni en ninguna otra referencia conocida se describe una formulación de, ni una técnica para, estabilizar físicamente agentes biológicamente activos mediante la fabricación y/o envasado de los dispositivos de suministro transdérmico que contienen agentes biológicamente activos en un vacío parcial, que imparten a la formulación una estabilidad
- 30 frente a cambios indeseados a lo largo del tiempo a causa de una hidrólisis.
- La estabilidad física mejorada de dichas formulaciones terapéuticas de agentes biológicamente activos no sólo proporciona el beneficio de un tiempo de almacenamiento o conservación aumentado para el propio agente terapéutico sino que los agentes terapéuticos resultan útiles en una mayor diversidad de formulaciones posibles y con una mayor variedad de medios para el suministro de agentes terapéuticos.
- 35 Hay una formulación de agente biológicamente activo en la que el deterioro por oxígeno y/o agua está minimizado y/o controlado mediante la fabricación y/o envasado de la formulación de agente biológicamente activo en una atmósfera inerte seca. Preferiblemente, el agente biológicamente activo está contenido en una atmósfera inerte seca en presencia de un agente desecante. Más preferiblemente, el agente biológicamente activo está contenido en una atmósfera inerte seca en presencia de un agente desecante en una cámara revestida de hoja metálica.
- 40 Hay una formulación de agente biológicamente activo en la que el deterioro por oxígeno y/o agua está minimizado y/o controlado mediante la fabricación y/o envasado de la formulación de agente biológicamente activo en un vacío parcial. Preferiblemente, el agente biológicamente activo está contenido en un vacío parcial en presencia de un agente desecante. Más preferiblemente, el agente biológicamente activo está contenido en un vacío parcial en presencia de un agente desecante en una cámara revestida de hoja metálica.
- 45 La presente descripción comprende una formulación de agente biológicamente activo en la que el deterioro por oxígeno y/o agua está minimizado y/o controlado mediante la fabricación y/o envasado de la formulación de agente

biológicamente activo en una atmósfera inerte seca y un vacío parcial. Preferiblemente, el agente biológicamente activo está contenido en una atmósfera inerte seca y un vacío parcial en presencia de un agente desecante. Más preferiblemente, el agente biológicamente activo está contenido en una atmósfera inerte seca y un vacío parcial en presencia de un agente desecante en una cámara revestida de hoja metálica.

- 5 En general, la atmósfera inerte seca es nitrógeno pero también puede ser cualquier otra atmósfera inerte conocida por quienes tienen experiencia en la técnica, tal como argón, helio, neón, kriptón o dióxido de carbono. Para una estabilidad mejorada del producto, la atmósfera inerte debería tener esencialmente un contenido de agua de cero. Por ejemplo, se puede preparar muy sencillamente nitrógeno gaseoso con un contenido de agua esencialmente de cero (nitrógeno gaseoso seco) mediante la ebullición eléctricamente controlada de nitrógeno líquido. También se
10 pueden emplear sistemas de purga para reducir el contenido de humedad u oxígeno.

El envasado bajo un vacío parcial es conocido por los expertos en la técnica. Un intervalo preferido para un vacío parcial es de aproximadamente 1013 a aproximadamente 30.398 Pa.

- 15 Como se discutió anteriormente, las formulaciones de agentes biológicamente activos se preparan generalmente como un revestimiento sólido mediante el secado de una formulación sobre la microproyección, como se describe en la Publicación n° 2002/0128599 de solicitud de patente de EE.UU. La formulación es normalmente una formulación acuosa. Durante un proceso de secado, todos los compuestos volátiles, incluyendo el agua, son en su mayor parte eliminados; sin embargo, el revestimiento sólido final aún contiene típicamente cerca de 3% de agua.

- 20 Los contenidos de oxígeno y/o agua son reducidos mediante el uso de una atmósfera inerte seca y/o un vacío parcial. En un revestimiento sólido sobre un conjunto de microproyecciones, el fármaco está típicamente presente en una cantidad inferior a aproximadamente 1 mg por dosis unitaria. Con la adición de excipientes, la masa total del revestimiento sólido es inferior a 3 mg por dosis unitaria. El conjunto está normalmente presente sobre un soporte adhesivo, que está fijado a un anillo de retención polimérico desechable. Este montaje es individualmente envasado en una bolsita o un alojamiento polimérico. Además del montaje, este envase contiene un volumen muerto que representa un volumen de al menos 3 ml. Este gran volumen (en comparación con el del revestimiento) actúa como
25 un sumidero parcial para el agua. Por ejemplo, a 20 °C, la cantidad de agua presente en una atmósfera de 3 ml como resultado de su presión de vapor sería aproximadamente 0,05 mg en saturación, que es típicamente la cantidad de agua residual que está presente en el revestimiento sólido después del secado. Por lo tanto, el almacenamiento en una atmósfera inerte seca y/o un vacío parcial reducirá más el contenido de agua del revestimiento para dar lugar a una estabilidad mejorada.

- 30 Además, se pueden incorporar agentes desecantes y agentes absorbentes de oxígeno al envase para reducir más el contenido de oxígeno y agua. El agente desecante o el agente absorbente de oxígeno puede ser cualquier agente conocido por los expertos en la técnica. Algunos agentes desecantes o agentes absorbentes de oxígeno comunes incluyen, pero no se limitan a, óxido de calcio, agente desecante de arcilla, sulfato de calcio y gel de sílice. El agente desecante o el agente absorbente de oxígeno es preferiblemente uno que se puede colocar con la formulación que
35 contiene agentes biológicamente activos en presencia de una atmósfera inerte en una cámara revestida de hoja metálica.

- La formulación de agente biológicamente activo es preferiblemente envasada en una cámara revestida de hoja metálica después de que se ha preparado la formulación de agente biológicamente activo y, preferiblemente, después de que el dispositivo de suministro por conjunto de microproyecciones ha sido revestido con la formulación
40 de agente biológicamente activo. El dispositivo de suministro revestido es colocado en una cámara revestida de hoja metálica del modo representado en la Figura 6 y como se discute más adelante con más detalle en la sección Ejemplos. Se fija un agente desecante o un agente absorbente de oxígeno a una tapa de hoja metálica y se purga la cámara con nitrógeno seco antes de que la cámara de hoja metálica que contiene el dispositivo de suministro de hoja metálica sea sellado por la tapa de hoja metálica.

45 Agentes terapéuticos

En la técnica se conocen un gran número y una gran diversidad de agentes biológicamente activos que producen un beneficio terapéutico cuando son apropiadamente suministrados a un paciente que presenta un estado sobre el cual dichos agentes terapéuticos pueden ejercer un efecto beneficioso.

- 50 Los agentes biológicamente activos adecuados incluyen agentes terapéuticos de todas las áreas terapéuticas principales, incluyendo, pero sin limitarse a: agentes antiinfectivos, tales como antibióticos y agentes antivirales; analgésicos, incluyendo fentanilo, sufentanilo, remifentanilo, buprenorfina y combinaciones de analgésicos; anestésicos; anorexígenos; antiartríticos; agentes antiasmáticos, tal como terbutalina; anticonvulsivos; antidepressivos; agentes antidiabéticos; antidiarreicos; antihistamínicos; agentes antiinflamatorios; preparaciones contra la migraña; preparaciones anticinetósicas tales como escopolamina y ondansetrón; antinauseosos;
55 antineoplásicos; fármacos antiparkinsonianos; antipruríticos; antipsicóticos; antipiréticos; antiespasmódicos, incluyendo gastrointestinales y urinarios; anticolinérgicos; simpatomiméticos; derivados de xantina; preparaciones

cardiovasculares, incluyendo agentes bloqueadores del canal de calcio tales como nifedipina; beta-bloqueadores; beta-agonistas tales como dobutamina y ritodrina; antiarrítmicos; antihipertensivos, tal como atenolol; inhibidores de la ACE, tal como ranitidina; diuréticos; vasodilatadores, incluyendo generales, coronarios, periféricos y cerebrales; estimulantes del sistema nervioso central; preparaciones contra la tos y el resfriado; descongestivos; agentes diagnósticos; hormonas, tal como la hormona paratiroidea; hipnóticos; inmunosupresores; relajantes musculares; parasimpáticos; parasimpatomiméticos; prostaglandinas; proteínas; péptidos; psicoestimulantes; sedantes; y tranquilizantes. Otros agentes adecuados incluyen vasoconstrictores, agentes anticicatrizantes y moduladores del aclaramiento de las aberturas formadas.

Otros ejemplos específicos de agentes incluyen, sin limitación, hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH; del inglés, *growth hormone release hormone*), factor liberador de la hormona del crecimiento (GHRF; del inglés, *growth hormone release factor*), insulina, insulínotropina, calcitonina, octreótida, endorfina, TRN, NT-36 (nombre químico: N-[[s)-4-oxo-2-azetidil]carbonil]-L-histidil-L-prolinamida), liprecina, hormonas pituitarias (por ejemplo, HGH, HMG, acetato de desmopresina, etc.), luteoides foliculares, aANF, factores de crecimiento tales como el factor liberador de factores de crecimiento (GFRF; del inglés, *growth factor releasing factor*), BMSH, GH, somatostatina, bradisinina, somatotropina, factor liberador del factor de crecimiento procedente de plaquetas, asparaginasa, sulfato de bleomicina, quimopapaína, colecistocina, gonadotropina coriónica, eritropoyetina, epoprostenol (inhibidor de la agregación de plaquetas), glucagón, HCG, Hirulog, hialuronidasa, interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, interleucinas, interleucina-10 (IL-10), eritropoyetina (EPO), factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF; del inglés, *granulocyte macrophage colony stimulating factor*), factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF; del inglés, *granulocyte colony stimulating factor*), glucagón, hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH; del inglés, *luteinizing hormone releasing hormone*), compuestos análogos a LHRH (tales como goserrelina, leuprolida, buserrelina, triptorrelina, gonadorelina y napfarrelina, menopausinas [urofolitropina (FSH) y LH], oxitocina, estreptocinasa, activador tisular del plasminógeno, urocinasa, vasopresina, desamino [Val4, D-Arg8]arginina-vasopresina, desmopresina, corticotropina (ACTH), compuestos análogos a ACTH tales como ACTH (1-24), ANP, inhibidores del aclaramiento de ANP, antagonistas de la angiotensina II, agonistas de la hormona antidiurética, antagonistas de bradisinina, Ceredase, CSI's, péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP; del inglés, *calcitonin gene related peptide*), encefalinas, fragmentos de FAB, supresores peptídicos de IgE, IGF-1, factores neurotróficos, factores estimuladores de colonias, agonistas de la hormona paratiroidea, antagonistas de la hormona paratiroidea, hormona paratiroidea (PTH; del inglés, *parathyroid hormone*), compuestos análogos a la PTH tales como PTH (1-34), antagonistas de prostaglandinas, pentigétida, proteína C, proteína S, inhibidores de renina, timosina alfa-1, trombolíticos, TNF, compuestos análogos a antagonistas de vasopresina, alfa-1-antitripsina (recombinante) y TGF-beta.

El agente biológicamente activo puede también comprender una vacuna, incluyendo virus y bacterias, vacunas basadas en proteínas, vacunas basadas en polisacáridos, vacunas basadas en ácidos nucleicos, y otros agentes antigénicos. Los agentes antigénicos adecuados incluyen, sin limitación, antígenos en forma de proteínas, productos de conjugación de polisacáridos, oligosacáridos, y lipoproteínas. Estas vacunas subunitarias incluyen *Bordetella pertussis* (vacuna de PT recombinante - acelular), *Clostridium tetani* (purificada, recombinante), *Corynebacterium diphtheriae* (purificada, recombinante), citomegalovirus (subunidad glicoproteica), estreptococos del Grupo A (subunidad glicoproteica, producto de glicoconjugación de polisacárido del Grupo A con toxoide tetánico, proteína M/péptidos ligados a portadores de subunidades toxínicas, proteína M, epítopos específicos de tipo multivalentes, cisteína proteasa, peptidasa C5a), virus de la hepatitis B (Pre-S1 recombinante, Pre-S2, S, proteína nuclear recombinante), virus de la hepatitis C (recombinante - epítopos y proteínas superficiales expresados), papilomavirus humano (proteína de la cápsida, proteínas TA-GN recombinantes L2 y E7 [de HPV-6], MEDI-501: VLP L1 recombinante de HPV-11, BLP L1 recombinante cuadrivalente [de HPV-6], HPV-11, HPV-16, y HPV-18, LAMP-E7 [de HPV-16]), *Legionella pneumophila* (proteína superficial bacteriana purificada), *Neisseria meningitidis* (producto de glicoconjugación con toxoide tetánico), *Pseudomonas aeruginosa* (péptidos sintéticos), virus de la rubéola (péptido sintético), *Streptococcus pneumoniae* (producto de glicoconjugación [1, 4, 5, 6B, 9N, 14, 18C, 19V, 23F] conjugado con OMP meningocócica B, producto de glicoconjugación [4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F] conjugado con CRM197, producto de glicoconjugación [1, 4, 5, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F] conjugado con CRM1970, *Treponema pallidum* (lipoproteínas superficiales), virus varicela-zóster (subunidad, glicoproteínas), y *Vibrio cholerae* (lipopolisacárido conjugado).

Los virus o bacterias completos incluyen, sin limitación, virus debilitados o muertos, tales como citomegalovirus, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, papilomavirus humano, virus de la rubéola y virus varicela-zóster, bacterias debilitadas o muertas, tales como *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, estreptococos del Grupo A, *Legionella pneumophila*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Treponema pallidum* y *Vibrio cholerae*, y mezclas de los mismos.

Vacunas comercialmente asequibles adicionales que contienen agentes antigénicos incluyen, sin limitación, vacunas para la gripe, vacuna para la enfermedad de Lyme, vacuna para la rabia, vacuna para el sarampión, vacuna para las paperas, vacuna para la varicela, vacuna para la viruela, vacuna para la hepatitis, vacuna para la tos ferina y vacuna para la difteria.

Las vacunas que comprenden ácidos nucleicos incluyen, sin limitación, ácidos nucleicos de cadena simple y cadena doble, tales como, por ejemplo, DNA plasmídico superenrollado; DNA plasmídico lineal; cósmidos; cromosomas bacterianos artificiales (BACs; del inglés, bacterial artificial chromosomes); cromosomas artificiales de levadura (YACs; del inglés, yeast artificial chromosomes); cromosomas artificiales de mamífero; y moléculas de RNA tales como, por ejemplo, mRNA. El tamaño del ácido nucleico puede ser de hasta miles de kilobases. Además, en ciertas realizaciones de la invención, el ácido nucleico puede ser copulado con un agente proteico o puede incluir una o más modificaciones químicas, tales como, por ejemplo, grupos fosforotioato. La secuencia codificadora del ácido nucleico comprende la secuencia del antígeno contra el que se desea la respuesta inmune. Además, en el caso de DNA, también se incorporan secuencias promotoras y de poliadenilación a la construcción de vacuna. El antígeno que puede ser codificado incluye todos los componentes antigénicos de enfermedades infecciosas, agentes patógenos y también antígenos cancerosos. De este modo, los ácidos nucleicos encuentran aplicación en, por ejemplo, los campos de enfermedades infecciosas, cánceres, alergias, enfermedades autoinmunes y enfermedades inflamatorias.

Los agentes adyuvantes aumentadores de la respuesta inmune adecuados que, junto con el antígeno de la vacuna, pueden comprender la vacuna incluyen gel de fosfato de aluminio; hidróxido de aluminio; glucano de algas: β -glucano; subunidad B de la toxina cólerica; CRL1005: polímero de bloques de ABA con valores medios de $x = 8$ e $y = 205$; gamma-inulina: β -D(2 $\rightarrow$ 1)-polifructofuranosil- α -D-glucosa lineal (no ramificada); agente adyuvante Gerbu: N-acetilglucosamina-(β 1-4)-N-acetilmuramil-L-alanil-D-glutamina (GMDP), cloruro de dimetil-dioctadecilamonio (DDA), complejo de sal de zinc y L-prolina (Zn-Pro-8); Imiquimod [1-(2-metilpropil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolein-4-amina]; ImmTherÔ: dipalmitato de N-acetilglucoaminil-N-acetilmuramil-L-Ala-D-isoGlu-L-Ala-glicerol; liposomas de MTP-PE: $C_{59}H_{108}N_6O_{19}PNa \cdot 3H_2O$ (MTP); Murametide: Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH₃; Pleuran: β -glucano; QS-21; S-28463: 4-amino- α , α -dimetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolein-1-etanol; péptido esclavo: VQGEESNDK·HCl (péptido IL-1 β 163-171); y treonil-MDP (TermurtideÔ): N-acetilmuramil-L-treonil-D-isoglutamina, e interleucina 18, IL-2, IL-12, IL-15. Los agentes adyuvantes también incluyen oligonucleótidos de DNA, tales como, por ejemplo, oligonucleótidos que contienen CpG. Además, se pueden emplear secuencias de ácido nucleico que codifican linfocinas inmunorreguladoras tales como IL-18, IL-2, IL-12, IL-15, IL-4, IL-10, interferón gamma, y proteínas de señalización reguladoras de NF kappa B.

Se añaden contraiones adecuados a la formulación para mejorar más la estabilidad de la formulación. Los ejemplos de contraiones adecuados para una formulación con agente biológicamente activo de carga neta positiva incluyen, pero no se limitan a, acetato, propionato, butirato, pentanoato, hexanoato, heptanoato, levulinato, cloruro, bromuro, citrato, succinato, maleato, glicolato, gluconato, glucuronato, 3-hidroxi-isobutirato, 2-hidroxi-isobutirato, lactato, malato, piruvato, fumarato, tartrato, tartronato, nitrato, fosfato, bencenosulfonato, metanosulfonato, sulfato y sulfonato. Preferiblemente, la mezcla de contraiones se añade a la formulación de agente biológicamente activo en una cantidad suficiente para neutralizar la carga neta del agente biológicamente activo. Sin embargo, se puede añadir un exceso de la mezcla de contraiones (como el ácido o como el ácido-base conjugado) al agente biológicamente activo.

El agente biológicamente activo posee una carga negativa neta, y la mezcla de contraiones posee preferiblemente una carga positiva neta en el pH de la disolución. Los ejemplos de agentes biológicamente activos negativamente cargados incluyen insulina en el intervalo de pHs de 6-14, VEGF en el intervalo de pHs de 6-14 e insulintropina en el intervalo de pHs de 6-14.

Los ejemplos de contraiones adecuados para una formulación con agentes biológicamente activos de carga neta negativa incluyen, pero no se limitan a, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, lisina, histidina, arginina, morfolina, metilglucamina y glucosamina. El contraión o la mezcla de contraiones se añaden preferiblemente a la formulación de agente biológicamente activo en una cantidad suficiente para neutralizar la carga neta del agente biológicamente activo. Sin embargo, se puede añadir un exceso de contraión o de mezcla de contraiones (como la base o como el ácido-base conjugado) al agente biológicamente activo.

El agente biológicamente activo comprende hPTH. Se prefiere particularmente estabilizar la formulación de hPTH en una atmósfera inerte, preferiblemente en nitrógeno.

El agente biológicamente activo y el contraión (o la mezcla de contraiones) se formulan como una disolución o suspensión en un disolvente apropiado. Los disolventes adecuados incluyen agua, DMSO, etanol, isopropanol, DMF, acetonitrilo, N-metil-2-pirrolidona y mezclas de los mismos. Además, el agente biológicamente activo puede estar en disolución o suspensión en un vehículo polimérico, tal como EVA o PLGA. Como se sabe en la técnica, pueden estar presentes en la formulación aditivos estabilizantes adicionales, tales como sacarosa y trehalosa.

También se pueden añadir a la formulación otros diferentes aditivos que faciliten el suministro, la estabilidad o la eficacia de los agentes biológicamente activos. De este modo, las composiciones y formulaciones pueden contener agentes adyuvantes, excipientes, disolventes, sales, agentes tensioactivos, agentes de tamponamiento y otros

componentes adecuados. En las Solicitudes de Patente de EE.UU. números 10/880.702 y 10/970.890 se pueden hallar ejemplos de tales aditivos.

Los agentes biológicamente activos, que han sido estabilizados minimizando o eliminando la exposición al oxígeno, son formulados como una disolución o suspensión y pueden ser luego secados, liofilizados, secados por pulverización o secados por pulverización-liofilización para estabilizarlos durante el almacenamiento.

Las formulaciones de agente biológicamente activo, que han sido estabilizadas minimizando o eliminando la exposición al oxígeno y el agua, se incluyen en formulaciones de revestimiento biocompatibles empleadas para revestir una microproyección perforadora del estrato córneo, o una pluralidad de microproyecciones perforadoras del estrato córneo, o un conjunto de las mismas, o un dispositivo de suministro, para el suministro del agente biológicamente activo a través de la piel de un paciente. En la Publicación nº 2002/0177839 de Solicitud de Patente de EE.UU. concedida a Cormier et al., la Publicación nº 2004/0062813 de Solicitud de Patente de EE.UU. concedida a Cormier et al. y la Publicación nº 2002/0132054 de Solicitud de Patente de EE.UU. concedida Trautman et al. se describen composiciones de, y métodos para formular, revestimientos biocompatibles.

Para formulaciones de agente biológicamente activo, particularmente aquellos agentes terapéuticos que comprenden o incluyen polipéptidos o proteínas de peso molecular relativamente grande, se prefiere formular el revestimiento biocompatible que contiene el agente terapéutico de modo que un polímero biocompatible soluble en agua esté fijado a, o asociado con, el polipéptido o la proteína. Un método particularmente preferido es formar un producto de conjugación del polímero con el polipéptido o la proteína. La fijación de un polímero, tal como PEG, a proteínas y polipéptidos da típicamente lugar a una solubilidad mejorada, unas estabilidades física y química mejoradas, una menor tendencia a la agregación y unas características de fluencia potenciadas. En la Solicitud de Patente de EE.UU. nº 10/972.231 se describen composiciones de, y métodos para formular, revestimientos biocompatibles que tienen productos de conjugación poliméricos de proteína y agentes polibiológicamente activos.

En la Solicitud de Patente de EE.UU. nº 60/585.276, presentada el 1 de julio de 2004, se describen otras composiciones de, y métodos para formular y suministrar, formulaciones de agente terapéutico de base proteica. En la solicitud indicada se describen composiciones de, y métodos para formular, agentes terapéuticos hormonales que tienen un perfil de suministro farmacocinético deseado, así como la formulación de revestimientos biocompatibles con dichos agentes.

Un método para suministrar formulaciones estables de agente biológicamente activo comprende las operaciones siguientes: (i) proporcionar un elemento de microproyección que tiene una pluralidad de microproyecciones, (ii) proporcionar una formulación estabilizada de agente biológicamente activo, (iii) formar una formulación de revestimiento biocompatible que incluye la formulación de agente biológicamente activo estabilizado, (iv) revestir el elemento de microproyección con la formulación de revestimiento biocompatible para formar un revestimiento biocompatible, (v) estabilizar el revestimiento biocompatible mediante secado, y (vi) aplicar el elemento de microproyección revestido a la piel de un sujeto.

En la Figura 1 se ilustra un conjunto de microproyecciones perforadoras del estrato córneo para uso con las composiciones y métodos para formulación y suministro. Como se muestra en la Figura 1, el conjunto 5 de microproyecciones incluye una pluralidad de microproyecciones 10. Las microproyecciones 10 se extienden sustancialmente en un ángulo de 90 grados desde una lámina 12 que tiene aberturas 14. Como se muestra en la Figura 5, la lámina 12 puede ser incorporada a una zona de suministro que incluye un soporte 15 para la lámina 12. El soporte 15 puede incluir además un adhesivo 16 para adherir el soporte 15 y el conjunto 5 de microproyecciones a la piel de un paciente. Las microproyecciones 10 se forman grabando o estampando una pluralidad de microproyecciones 10 fuera de un plano de la lámina 12.

El conjunto 5 de microproyecciones puede estar fabricado de metales, tales como acero inoxidable, titanio, aleaciones de níquel y titanio, o materiales biocompatibles similares tales como plásticos. El conjunto de microproyecciones está hecho de titanio. En la Patente de EE.UU. nº 6.038.196 concedida a Trautman et al., la Patente de EE.UU. nº 6.050.988 concedida a Zuck y la Patente de EE.UU. nº 6.091.975 concedida a Daddona et al. se describen elementos de microproyección metálicos.

Otros elementos de microproyección que se pueden emplear se forman grabando sobre silicio, utilizando técnicas de grabado de chips o moldeando plástico utilizando micromoldes grabados. En la Patente de EE.UU. nº 5.879.326 concedida a Godshall et al. se describen elementos de microproyección de silicio y plástico.

Con dichos dispositivos de microproyecciones es importante que el revestimiento biocompatible que tiene el agente biológicamente activo se aplique homogénea y uniformemente a las microproyecciones, limitado preferiblemente a las propias microproyecciones. Esto permite la disolución del agente biológicamente activo en el fluido intersticial una vez que se ha aplicado el dispositivo a la piel y se ha perforado el estrato córneo. Además, un revestimiento homogéneo proporciona una mayor estabilidad mecánica tanto durante el almacenamiento como durante la inserción en la piel. Es más probable que los revestimientos débiles y/o discontinuos se desprendan durante la

fabricación y el almacenamiento y se separen de la piel durante la aplicación.

Además, se alcanzan una estabilidad y un tiempo de conservación óptimos del agente mediante un revestimiento biocompatible que es sólido y sustancialmente seco. Sin embargo, las cinéticas de la disolución del revestimiento y la liberación del agente pueden variar apreciablemente dependiendo de diversos factores. Se apreciará en seguida que, además de ser estable en almacenamiento, el revestimiento biocompatible debería permitir la liberación deseada del agente terapéutico.

Dependiendo del perfil de la cinética de liberación, puede ser necesario mantener las microproyecciones revestidas en relación de perforación con la piel durante periodos prolongados de tiempo (por ejemplo, hasta aproximadamente 8 horas). Esto puede ser llevado a cabo anclando el elemento de microproyección a la piel usando adhesivos o usando microproyecciones ancladas, tal como se describe en la Patente de EE.UU. n° 6.230.051 concedida a Cormier et al.

En, por ejemplo, las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE.UU. números 2002/0128599, 2002/0177839 y 2004/0115167 se describen composiciones de, y métodos para formular, revestimientos biocompatibles.

Se emplea un proceso de revestimiento por inmersión para revestir las microproyecciones sumergiendo parcial o totalmente las microproyecciones en la disolución de revestimiento biocompatible que contiene la formulación estable de agente biológicamente activo. Alternativamente, se puede sumergir el dispositivo entero en la disolución de revestimiento biocompatible.

En muchos casos, el agente terapéutico estable del revestimiento puede ser muy costoso. Por lo tanto, puede ser preferible revestir sólo las puntas de las microproyecciones. En la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. n° 2002/0132054 concedida a Trautman et al. se describen aparatos y métodos para el revestimiento de puntas de microproyecciones. En la publicación indicada se describe un mecanismo de revestimiento por rodillo que limita el revestimiento a las puntas de la microproyección.

Como se describe en la publicación de Trautman et al., el dispositivo de revestimiento sólo aplica el revestimiento a las microproyecciones y no al sustrato/lámina desde el que se extienden las microproyecciones. Esto puede ser deseable en el caso en que el coste del agente activo (o beneficioso) sea relativamente elevado y, por lo tanto, el revestimiento que contiene el agente beneficioso sólo se debería disponer sobre partes del conjunto de microproyecciones que perforarán la capa de estrato córneo del paciente.

La técnica de revestimiento indicada tiene la ventaja añadida de formar naturalmente un revestimiento liso que no es fácilmente desplazado de las microproyecciones durante la perforación de la piel. En la Figura 2A se muestra más claramente el corte transversal liso del revestimiento de las puntas de las microproyecciones.

También se pueden emplear otras técnicas de revestimiento, tales como técnicas de pulverización o impresión por microfluidos, para depositar con precisión un revestimiento 18 sobre las puntas de las microproyecciones 10, como se muestra en la Figura 2.

Otros métodos de revestimiento que se pueden emplear en la práctica de la presente invención incluyen pulverizar la disolución de revestimiento sobre las microproyecciones. La pulverización puede abarcar la formación de un aerosol de la composición de revestimiento. Un aerosol que forma gotitas con un tamaño de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 picolitros es pulverizado sobre las microproyecciones y es luego secado.

Las microproyecciones 10 pueden incluir además un medio adaptado para recibir y/o aumentar el volumen del revestimiento 18, tales como aberturas (no mostradas), acanaladuras (no mostradas), irregularidades superficiales (no mostradas) o modificaciones similares, en donde el medio proporciona una superficie específica aumentada sobre la que se puede depositar una mayor cantidad de revestimiento.

En relación ahora con las Figuras 3 y 4, se muestra un conjunto 5 de microproyecciones alternativo. Como se muestra en la Figura 3, el conjunto 5 de microproyecciones puede ser dividido en las porciones ilustradas en 60-63, en donde se aplica un diferente revestimiento a cada porción, lo que permite que un solo conjunto de microproyecciones sea utilizado para suministrar más de un agente beneficioso durante su uso.

En relación ahora con la Figura 4, se muestra una vista en corte transversal del conjunto 5 de microproyecciones, en donde se ha aplicado un "revestimiento según patrón" al conjunto 5 de microproyecciones. Como se muestra en la figura, cada una de las microproyecciones 10 puede ser revestida con un revestimiento biocompatible diferente y/o un agente terapéutico diferente, como viene indicado por los números 61-64 de referencia. Es decir, se aplican distintos revestimientos a las microproyecciones 10 individuales. El revestimiento según patrón puede ser aplicado utilizando un sistema de dispensación para situar el líquido depositado sobre la superficie del conjunto de microproyecciones.

La cantidad del líquido depositado está preferiblemente en el intervalo de 0,1 a 20 nanolitros/microproyección. En las Patentes de EE.UU. números 5.916.524, 5.743.960, 5.741.554 y 5.738.728 se describen ejemplos de adecuados dispensadores de líquidos, calibrados con precisión.

5 También se pueden aplicar disoluciones de revestimiento para microproyecciones usando una tecnología de chorro de tinta en que se emplean dispensadores por válvula de solenoide, medios motrices opcionales de fluidos y medios de posicionamiento conocidos que son generalmente controlados mediante el uso de un campo eléctrico. Para aplicar el revestimiento según patrón de esta invención se puede utilizar otra tecnología de dispensación de líquidos procedente de la industria de la impresión o una tecnología de dispensación de líquidos similar conocida en la técnica.

10 El proceso de aplicación de un revestimiento biocompatible que contiene un agente biológicamente activo a al menos una microproyección perforadora del estrato córneo de un elemento de microproyección, más preferiblemente a una pluralidad de dichas microproyecciones perforadoras del estrato córneo, incluye la operación de estabilizar más el revestimiento biocompatible mediante secado. La operación de secado puede tener lugar a temperaturas y condiciones ambientales o se pueden emplear temperaturas en el intervalo de 4 a 50 °C.

15 En la Solicitud de Patente de EE.UU. nº 60/572.861, presentada el 19 de mayo de 2004, se describen métodos y aparatos de secado adecuados.

Se puede someter una multitud de agentes activos biológicamente activos al proceso y los métodos de formulación para obtener formulaciones biológicamente activas muy estables. El agente terapéutico comprende hPTH o un compuesto análogo al mismo.

20 Ejemplos

Los estudios y ejemplos siguientes ilustran las formulaciones, métodos y procesos de la invención. Los ejemplos tienen sólo fines ilustrativos y no están destinados a limitar el alcance de la invención en modo alguno.

Ejemplo 1

25 En este estudio se demuestra cómo un entorno inerte seco permite mantener la estabilidad de hPTH (1-34). Se preparó un dispositivo de suministro que tenía microproyecciones perforadoras del estrato córneo revestidas con una formulación de hPTH (1-34). El envase primario para todas las dosis de los sistemas fue una bolsita de hoja metálica térmicamente sellada, purgada con nitrógeno gaseoso.

30 Se evaluó el entorno de almacenamiento dentro de las bolsitas de hoja metálica selladas llevando a cabo un análisis del gas del espacio de cabeza, mediante el cual se obtiene una muestra de gas del espacio de cabeza y se somete a un análisis por espectroscopía de masas con cuadrupolo para la identificación y cuantificación de compuestos volátiles de bajo peso molecular, incluyendo humedad, oxígeno, nitrógeno y argón.

35 Además, se evaluaron de la misma manera tres bolsitas de hoja metálica envasadas con sistemas totalmente montados (sin agente desecante). Los resultados indican que el nivel de humedad dentro de la bolsita es bastante variable de bolsita a bolsita, de 26% a 45% de humedad relativa (a 22 °C, en la Tabla 1), que corresponden a unos contenidos de agua de 3,5% y 7%, respectivamente. Resulta notable que todas las muestras alcanzaron una humedad relativa (RH; del inglés, *relative humidity*) de 100% si se almacenaban a 5 °C. Dicha humedad se considera elevada y puede ser perjudicial para la estabilidad de la hPTH. Por lo tanto, es necesario reducir la humedad del espacio de cabeza.

40 En un proceso, se presecaron los anillos de retención (anillos secados *in vacuo* a 60 °C durante al menos 48 horas antes del montaje) o se envasó sin anillo de retención ni adhesivo (Tabla 2). Los niveles de humedad y oxígeno se redujeron sustancialmente – 2,2% de RH en la muestra envasada con un anillo de retención presecado. En el sistema sin adhesivo ni anillo, el nivel de humedad también se redujo a 9% de RH. Por lo tanto, los resultados indican que el anillo de retención es una fuente de humedad y oxígeno; el anillo contiene una cantidad sustancial de agua y oxígeno adsorbidos que se desorbe en el gas del espacio de cabeza una vez que la bolsita ha sido purgada y sellada. Esto ilustra que presecar el anillo elimina eficazmente el oxígeno y la humedad desorbidos del anillo antes de la formación de la bolsita.

45 En un proceso diferente, se añadió directamente agente desecante a la bolsita usando un agente desecante de tamiz molecular de 0,4 nm con dos tamaños y configuraciones diferentes: 1) 3,5 g de tamices moleculares Minipax envasados en saquitos de Tyvek, y 2) 125 mg de etiquetas adhesivas Desimax fijadas a las paredes internas de la bolsita de hoja metálica. Los resultados del espacio de cabeza (Tabla 3) indican que los 3,5 g de tamices moleculares de 0,4 nm son eficaces en cuanto a reducir la humedad de la bolsita, mientras que las más pequeñas etiquetas desecantes (0,25 g) funcionan mal. Los agentes desecantes se insertaron manualmente y se manipularon en aire ambiental antes de la formación de la bolsita, y las más pequeñas etiquetas desecantes pudieron haber

alcanzado casi la saturación de humedad incluso antes del envasado.

Puesto que el anillo de retención es una fuente de humedad y se necesita una cantidad suficiente de agente desecante, se evaluó el nivel de vapor interno de 12 sistemas Macroflux® en la condición de envasado presente, es decir, conjunto revestido, bolsita de Tyvek, 0,3 nm, saquito de 3,5 g de agente desecante, bolsita de hoja metálica y purga de N₂. Como se resume en la Tabla 4, el porcentaje de RH es sumamente pequeño, < 1%, en las 12 muestras, lo que indica que el agente desecante está funcionando consistentemente para mantener el espacio de cabeza interno muy seco aunque el anillo de retención pueda liberar cantidades variables de humedad durante el almacenamiento.

Se encerraron herméticamente sistemas de PTH Macroflux® en bolsitas de hoja metálica en una de las tres configuraciones de envasado: 1) el conjunto revestido, sólo con purga de N₂; 2) el sistema totalmente montado (conjunto revestido + adhesivo + anillo de retención) con purga de N₂; y 3) el sistema totalmente montado + un saquito de 3,5 g de agente desecante, con purga de N₂. Todos los sistemas se almacenaron a 25 °C durante 12 meses. Se extrajeron muestras a los 3, 6, 9 y 12 meses para un análisis por cromatografía de alta eficacia en estado líquido y fase inversa (RP-HPLC; del inglés, reversed-phase high performance liquid chromatography).

En la Figura 7 se resume el porcentaje de cambio de pureza de la PTH con el tiempo. Los sistemas totalmente envasados que contenían agente desecante fueron los que mejor funcionaron. Los sistemas que solo contenían el conjunto revestido funcionaron bien y eran muy comparables a los sistemas totalmente envasados que contenían agente desecante. De acuerdo con el análisis del espacio de cabeza anteriormente mencionado, el porcentaje de RH ambiental en el sistema con agente desecante es < 1% mientras que, en el sistema sin agente desecante, puede ser tan alto como 50%. El sistema sólo con conjunto revestido también presenta un entorno seco, < 10% de RH (Tabla 2), ya que carece del anillo de retención que es la principal fuente de humedad.

Se sabe que el agua (o la humedad) es capaz de afectar negativamente a la estabilidad de péptidos/proteínas en la formulación en estado sólido. El entorno húmedo potencia la adsorción de humedad por el revestimiento amorfo higroscópico y puede aumentar la cantidad de vapor de agua residual disponible para que se hidrolice y/o plastifique la matriz amorfa, reduciendo por ello la temperatura de transición vítrea y aumentando la movilidad molecular así como la velocidad de todas las reacciones químicas en el sólido. Como ilustra el ejemplo precedente, se describe un medio eficaz para proporcionar un entorno seco.

Tabla 1: Análisis del espacio para condiciones de envasado estándares (sin agente desecante)

ANÁLISIS DE GASES RESIDUALES	CONDICIONES DE ENVASADO ESTÁNDARES			Media	s.d.	CV
	1	2	3			
PRESIÓN EN BOLSITA, Pa	91.193	78.127	99.858	89.726	10.932	12,2%
NITRÓGENO, ppm	987.275	987.352	984.972	986.533	1.352	0,1%
OXÍGENO, ppm	3.259	3.289	2.434	2.994	485	16,2%
ARGÓN, ppm	169	158	133	153	18	12,0%
CO ₂ , ppm	119	124	134	126	8	6,1%
HUMEDAD, ppm	9.052	8.960	12.223	10.078	1.858	18,4%
HIDRÓGENO, ppm	126	116	104	115	11	9,6%
HELIO, ppm	ND	ND	ND	ND	ND	ND
FLUOROCARBUIROS, ppm	ND	ND	ND	ND	ND	ND
RH calculada a 22 °C	31%	26%	45%	34%	10%	29%
RH calculada a 5 °C	100%	98%	100%	100%		

*RH calculada a una temperatura de 22 °C; muestras analizadas a temperatura ambiental.

Tabla 2: Efecto de los componentes del montaje sobre el espacio de cabeza de la bolsita

ANÁLISIS DE GASES RESIDUALES	+ anillo presecado	Sólo conjunto
PRESIÓN EN BOLSITA, Pa	86.793	97.325
NITRÓGENO, ppm	998.805	997.396
OXÍGENO, ppm	514	246
ARGÓN, ppm	53	44
CO ₂ , ppm	60	37
HUMEDAD*, ppm	514	2.212
HIDRÓGENO, ppm	54	65
HELIO, ppm	ND	ND
FLUOROCARBUIROS, ppm	ND	ND
*RH calculada a 22 °C	2,2%	9,0%

Tabla 3: Efecto del agente desecante añadido sobre el espacio de cabeza de la bolsita

ANÁLISIS DE GASES RESIDUALES	+ agente desecante (2x etiquetas de 125 mg)	+ agente desecante (saquito de 3,5 g)
PRESIÓN EN BOLSITA, Pa	98.125	83.193
NITRÓGENO, ppm	977.856	982.666
OXÍGENO, ppm	7.463	15.335
ARGÓN, ppm	367	617
CO ₂ , ppm	207	1.237
HUMEDAD*, ppm	14.012	41
HIDRÓGENO, ppm	95	47
HELIO, ppm	ND	ND
FLUOROCARBUIROS, ppm	ND	ND
*RH calculada a 22 °C	51%	0,12%

5 Tabla 4: Análisis del espacio de cabeza interno en sistemas de PTH Macroflux® en la presente configuración de envasado (conjunto revestido, bolsita de Tyvek, 0,3 nm, saquito de 3,5 g de agente desecante, bolsita de hoja metálica y purga de N₂)

ANÁLISIS DE GASES RESIDUALES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PRESIÓN EN BOLSITA, Pa	25.331	23.998	25.331	24.931	25.331	25.331	25.465	25.465	25.465	24.931	24.931	25.465
NITRÓGENO, %	98,1	98,1	98,9	98,9	98,4	98,4	97,3	97,3	97,9	97,9	98,2	98,2
OXÍGENO, %	1,79	1,77	1,00	1,00	1,54	1,54	2,52	2,52	2,04	2,02	1,67	1,68
ARGÓN, ppm	784	785	431	435	688	666	1.112	1.102	888	899	739	741
CO ₂ , ppm	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
HUMEDAD*, ppm	< 100	< 100	< 100	< 100	162	258	< 100	< 100	< 100	< 100	352	275
HIDRÓGENO, ppm	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
*RH calculada a 22 °C	< 1%	< 1%	< 1%	< 1%	< 1%	< 1%	< 1%	< 1%	< 1%	< 1%	< 2%	< 1%

Ejemplo 2

En este ejemplo se aplica un dispositivo de suministro que tiene microproyecciones perforadoras del estrato córneo revestidas con una formulación de hBNP (1-32) (péptido natriurético de tipo B humano; del inglés, human B-type natriuretic peptide). En la Tabla 5 se esboza el diseño del estudio experimental de estabilidad para este ejemplo. Se evaluó el efecto de reducir la humedad y el oxígeno dentro de la bolsita sellada mediante la adición de agente desecante o agentes absorbentes de oxígeno o mediante el presecado de los componentes del sistema antes del envasado final. Un parámetro de degradación forzada adicional es la esterilización terminal, que fue evaluada para generar datos de estabilidad acelerada. Los sistemas se envasaron en cada una de las cinco configuraciones de envasado esbozadas en la Tabla 6 y se sometieron a un tratamiento por haz de electrones con una dosis de 15 o 21 kGy y a temperatura ambiental. Se almacenaron muestras de estabilidad a largo plazo para los Grupos A y B a 2-8 °C o 25 °C y humedad ambiental durante hasta 12 meses con 5 puntos temporales. Los demás grupos se almacenaron a 25 °C y humedad ambiental durante un mes. Se sometió una muestra de cada grupo a análisis del espacio de cabeza. Las demás muestras fueron analizadas por RP-HPLC para la estabilidad química por RP-HPLC y fueron comparadas con testigos de envío no irradiados y similarmente envasados.

Los datos del espacio de cabeza se resumen en la Tabla 7 junto con los detalles del envasado y las condiciones de tratamiento. Las concentraciones de vapor de agua fueron convertidas en porcentaje de RH suponiendo una presión total de 101.325 Pa en la bolsita y 5 o 25 °C. El testigo de envío no irradiado (muestra nº 1) fue sometido a medición por triplicado para determinar una estimación de la repetibilidad del sistema de medición. Para todos los gases detectados en niveles > 500 ppm la repetibilidad fue ~1% y, para los gases detectados en niveles < 500 ppm, la repetibilidad fue ~10%.

Los niveles de humedad de todas las muestras que contenían agente desecante están en concordancia con el análisis previo del espacio de cabeza de sistemas similarmente envasados sin Tyvek (~100 ppm), lo que indica que la adición de la bolsita de Tyvek no introduce una cantidad significativa de humedad en el espacio de cabeza de la bolsita. Sin embargo, el nivel de oxígeno es ligeramente mayor que el previamente observado para un sistema comparable, 0,2-0,3% frente a 0,5% para este estudio antes del tratamiento por irradiación. Después de la irradiación del sistema testigo (configuración A de envasado), el nivel de humedad parece inalterado mientras que el oxígeno cae en un factor de diez y el hidrógeno aumenta en un factor de 25. La interacción de la radiación del haz de electrones con la especie polimérica en la bolsita (Tyvek y/o anillo de policarbonato) para generar radicales libres e hidrógeno como un subproducto puede reducir los niveles de oxígeno. Los radicales libres que se generan pueden luego reaccionar con el oxígeno en el espacio de cabeza para formar radicales peróxido reactivos que dan lugar a una degradación oxidativa del péptido.

Las dos muestras envasadas bajo vacío (Muestras nº 2 y nº 3) fueron menos eficaces en cuanto a purgar la bolsita de oxígeno o, en menor grado, de humedad. Estas muestras tenían aproximadamente 30 veces más oxígeno en el espacio de cabeza después de la irradiación, cantidad que podía haber sido incluso mayor antes de la irradiación. Las Muestras 5, 6 y 7 no tenían niveles detectables de oxígeno, debido lo más probablemente al pretratamiento por vacío del agente desecante seguido de relleno con nitrógeno para la Muestra 5, y a la falta de anillos de retención para las Muestras 6 y 7, de los que se sabe que son una gran fuente de oxígeno. El nivel de humedad algo mayor (11% de RH es aún considerado muy seco) detectado en la Muestra 6 se debe a la ausencia de agente desecante. La Muestra nº 7 (agente desecante no tratado y sin anillo de retención) no presentaba un nivel detectable de oxígeno. En la Muestra 7, el oxígeno liberado por el agente desecante puede ser consumido por radicales libres después del tratamiento por haz de electrones, a pesar de la ausencia de un anillo de retención.

Se sometieron tres muestras de cada condición de envasado a análisis de pureza por RP-HPLC inmediatamente después del tratamiento por haz de electrones a T = 0. Las muestras se promediaron conjuntamente y se resumen en la Figura 8 posterior, y los resultados se comparan en la Tabla 8 en cuanto a la humedad y el oxígeno del espacio de cabeza. En la Figura 9 se resume el perfil de degradación para cada condición.

La pureza disminuye un 2-3% después del tratamiento por haz de electrones a 15 o 21 kGy; esta disminución se ve más exacerbada por niveles aumentados de humedad en la bolsita y, en menor grado, por altos niveles de oxígeno. Además de la oxidación como principal especie de degradación, las modificaciones de acetato/citrato observadas a elevados tiempos de retención en la HPLC fueron también igualmente prevalentes para este estudio. Las modificaciones son una colección de varios picos más pequeños que se combinan para proporcionar el valor indicado. Estos niveles de modificaciones de acetato no han sido previamente observados bajo similares condiciones de tratamiento por haz de electrones (Figura 10). Una diferencia entre las muestras del presente estudio es las bolsitas internas de Tyvek (salvo la Muestra nº 7), mientras que las muestras de estudios previos eran envasadas sin Tyvek. Sin embargo, es improbable que el propio Tyvek cause modificaciones de acetato/citrato adicionales ya que la Muestra nº 7, envasada sin Tyvek, contiene en esta región aproximadamente el mismo nivel de degradación (2,0%) que otras muestras envasadas con Tyvek (valor medio = 2,2%).

Se almacenaron muestras de cada condición de formación de bolsita/irradiación durante 4 semanas a 2-8 o 25 °C.

Se analizaron $n = 3$ muestras para cada condición mediante RP-HPLC y, en las figuras siguientes, se presenta el porcentaje de área media de pico. En la Figura 11 se comparan los valores de pureza de hBNP por áreas de picos totales a $T = 0$ con los datos de estabilidad en 1M, para envasado bajo purga de nitrógeno o vacío.

Los testigos no irradiados fueron también almacenados bajo condiciones de temperatura acelerada de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ para una comparación. Los datos indican que, además de dañar al péptido a $T = 0$ durante el proceso de irradiación, el tratamiento por haz de electrones también aumenta la velocidad de degradación a muy por encima de la temperatura de almacenamiento acelerada de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ para los testigos no irradiados (barra de color azul claro en la Figura 11). Los perfiles de degradación para las muestras de un mes se presentan en la Figura 12 y se comparan con los datos a $T = 0$ para cada condición.

Las principales especies de degradación para cada condición son la oxidación y la modificación de acetato. Aunque el fragmento de hBNP (3-32) estuvo presente en todas las condiciones, constituye el $\sim 0,5\text{-}1,0\%$ del área de picos de degradación total. Los envases sellados sin purga de nitrógeno bajo vacío parecen ser mucho más susceptibles a la oxidación, mientras que las bolsitas selladas bajo nitrógeno muestran menos oxidación. No parece que las modificaciones de acetato resulten significativamente afectadas por las condiciones de envasado. En la Tabla 9 se resumen los datos de estabilidad en 1M a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ para todas las configuraciones de envasado examinadas.

En comparación con las muestras testigo (Muestra nº 1), los sistemas revestidos con hBNP envasados, en la bolsita interior de Tyvek con agente desecante y purga de nitrógeno, irradiados con un haz de electrones de 15 kGy , daban lugar a $< 3\%$ de degradación de hBNP (Muestra nº 2). Se observó más degradación en las Muestras números 3 y 4, que fueron envasadas bajo vacío sin purga de nitrógeno. A 21 kGy , el porcentaje de pureza está ya por debajo de la especificación de 90% . Estos datos indican que el alto contenido de oxígeno afecta a la estabilidad del péptido tras la irradiación. Las Muestras números 5-7 presentan mejor estabilidad a $T = 0$, particularmente las Muestras 5 y 7, demostrando ambas unos niveles muy bajos de humedad y oxígeno.

Después del almacenamiento durante 1M a $2\text{-}8\text{ }^{\circ}\text{C}$, los sistemas en la configuración nº 2 de envasado, irradiados con 15 kGy , conservaban una pureza total de $93,1\%$ con una leve oxidación total de $1,4\%$, que está solo un $0,8\%$ por encima de la de los testigos no irradiados y almacenados bajo las mismas condiciones (Muestra nº 1). Sin embargo, las modificaciones de acetato/citrato aumentaron a $2,2\%$ como resultado del tratamiento por haz de electrones. Para los sistemas envasados bajo vacío en lugar de con purga de nitrógeno (Muestras números 3 y 4), tanto la oxidación como las modificaciones de acetato/citrato aumentaron por encima de los valores de los testigos no irradiados. Los sistemas envasados bajo vacío e irradiados con 15 o 21 kGy cayeron por debajo del umbral de pureza total de 90% después de un almacenamiento de 1M a $2\text{-}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ a causa principalmente de la oxidación del BNP como resultado del alto contenido de oxígeno en el espacio de cabeza.

Los sistemas almacenados a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ presentaban cierto aumento tanto de la oxidación como de las modificaciones de acetato/citrato a causa de la elevada condición de almacenamiento en comparación con sistemas similarmente envasados/irradiados y almacenados a $2\text{-}8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las medidas de envasado adicionales de tratamiento del agente desecante en vacío, almacenamiento sin componentes del montaje y almacenamiento sin bolsita de Tyvek mitigaron el proceso de degradación oxidativa pero ejercieron poco efecto sobre la cantidad de modificación de acetato/citrato formada durante el almacenamiento a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, incluso para los sistemas mantenidos en un ambiente de muy baja humedad y bajo oxígeno en el espacio de cabeza (Muestra nº 7).

Efecto de los agentes absorbentes de oxígeno añadidos

Se sometieron sistemas de suministro revestidos con hBNP (1-32) adicionales a un tratamiento por haz de electrones en diferentes configuraciones de formación de bolsita con y sin la adición de un agente absorbente de oxígeno específicamente diseñado para eliminar el oxígeno del espacio de cabeza de la bolsita de hoja metálica sellada. En la Tabla 11 se esbozan las diferentes configuraciones de envasado para esta evaluación.

Se sometieron sistemas de cada condición a un análisis de pureza por RP-HPLC y un análisis del espacio de cabeza después de un tratamiento por haz de electrones (Tabla 12). Todos los sistemas que contenían un agente absorbente de oxígeno (supresor de O_2) tenían una humedad muy elevada. Los supresores de O_2 se basan en hierro y pueden requerir una humedad mayor para catalizar la eliminación del O_2 del espacio de cabeza. Por esta razón, muchos fabricantes de supresores de O_2 incluyen sales liberadoras de humedad con el agente absorbente de O_2 para mantener una humedad relativamente elevada que permita que el catalizador de hierro actúe del modo previsto y elimine el O_2 del espacio de cabeza. Todos los sistemas que contenían los supresores alcanzaron niveles de oxígeno menores en comparación con los sistemas testigo.

Después del tratamiento por haz de electrones, se analizaron muestras de cada grupo mediante un ensayo de pureza por RP-HPLC. En la Figura 13 se presentan los resultados de la pureza total del hBNP y en la Figura 14 se presenta el perfil de degradación para los principales productos de degradación. En la Tabla 13 se compara el análisis del espacio de cabeza con el perfil de degradación. Muy poca humedad en el espacio de cabeza (Prueba nº 6) o muy poco oxígeno en el espacio de cabeza (Prueba nº 5) evita la degradación por oxidación o modificación de

acetato durante el tratamiento por haz de electrones. Además, la presencia de niveles elevados de oxígeno en el espacio de cabeza no está dañando necesariamente al péptido a menos que en el espacio de cabeza haya también un nivel suficiente de humedad que facilite el mecanismo de degradación. En la Prueba nº 7 hay niveles muy elevados de oxígeno en el espacio de cabeza; sin embargo, el ambiente muy seco (4% de RH) evita la oxidación y/o la modificación de acetato del péptido durante el tratamiento por haz de electrones. Sin embargo, la Prueba nº 1, con un nivel elevado de oxígeno en el espacio de cabeza y un nivel moderado de humedad (41% de RH), muestra un drástico aumento de la oxidación total (a 17%) permaneciendo el nivel de modificaciones de acetato en niveles menores.

Las muestras de la Prueba nº 4 y la Prueba nº 9 fueron selladas sin agente desecante ni supresor de O₂, la Prueba nº 4 con purga de nitrógeno primero y vacío luego, y la Prueba nº 9 con vacío primero y nitrógeno luego. Ambas condiciones se comportaron equivalentemente con una pureza total de ~89% después del tratamiento por haz de electrones. Para la Prueba nº 8 y la Prueba nº 10, las muestras fueron selladas tanto con agente desecante de tamiz molecular de 0,4 nm como con supresor de O₂. En la Prueba nº 8 las bolsitas fueron primero purgadas con nitrógeno y luego sometidas a vacío, mientras que las bolsitas de la Prueba nº 10 fueron primero sometidas a vacío y luego purgadas con nitrógeno. De nuevo, ambos grupos de muestras se comportaron equivalentemente al margen del orden de la purga de nitrógeno y el vacío; pureza total de ~92%.

El ajuste de los datos a T = 0 del Estudio número 7 y el Estudio nº 8 con Esterilización Terminal (TS; del inglés, Terminal Sterilization) en un modelo lineal de mínimos cuadrados indicó que la oxidación del hBNP era sensible al nivel de oxígeno (P = 0,0047) en la bolsita pero no resultaba significativamente afectada por el nivel de humedad (P = 0,9963). Por contraste, la degradación del hBNP por las rutas de modificación de acetato resultaba más afectada por la humedad (P = 0,0002) y no por el oxígeno del espacio de cabeza (P = 0,7260). En general, la pureza total del BNP resultaba significativamente afectada por la humedad (P = 0,0004) y menos significativamente por el oxígeno (P = 0,0623).

Después de un mes de almacenamiento a 25 °C, se analizaron muestras por HPLC. Todos los resultados presentados son promedios para n = 3 sistemas envasados bajo condiciones similares. En la Figura 15 se incluye una comparación de la pureza total del hBNP, según se determinó por RP-HPLC. Los datos de las Pruebas nº 6 y nº 7 se generaron para el Estudio nº 7 de Esterilización Terminal como Muestras nº 2 y nº 4, respectivamente. Como se esperaba de los datos de estabilidad a T = 0, las Pruebas nº 1 a nº 3 continuaron funcionando mal, con la mayoría de la degradación debida a la formación de modificaciones de acetato (Figura 16) debidas lo más probablemente a la elevada humedad relativa dentro de la bolsita. En la Tabla 14 se resumen el análisis del espacio de cabeza y los datos de estabilidad a T = 1M y 25 °C. En las condiciones de envasado que no reducían los niveles de oxígeno del espacio de cabeza (Pruebas números 1, 6 y 7), la oxidación del BNP continuaba aumentando por encima de los niveles detectados a T = 0, duplicándose para estas tres condiciones después de un mes de almacenamiento a 25 °C. Las demás condiciones de envasado, que mantenían un bajo nivel de oxígeno en el espacio de cabeza (<200 ppm) (Pruebas números 2-5 y 8-10), dieron lugar a de poco a ningún aumento detectable en la oxidación del BNP después de un mes a 25 °C. Por lo tanto, aunque no es evidente a T = 0 (por ejemplo, las Pruebas números 6 y 7), niveles elevados de oxígeno en el espacio de cabeza conducirán a una velocidad aumentada de oxidación de BNP durante el almacenamiento. Por lo tanto, es beneficioso mantener bajos niveles de oxígeno en la bolsita.

Con la excepción de la Prueba nº 1, las configuraciones de envasado que contenían niveles elevados de humedad en el espacio de cabeza contenían niveles elevados de modificaciones de acetato. Las muestras envasadas bajo las condiciones testigo negativo resultaron seriamente degradadas después de un mes de almacenamiento a 25 °C, con una pureza total de sólo 42%. Las modificaciones de acetato en otras especies de degradación pueden ser el resultado de una degradación avanzada/descomposición adicional.

Los datos anteriores confirman que la condición del ambiente de la bolsita, en términos de humedad y oxígeno, es un factor importante que contribuye a la degradación del BNP después de un tratamiento por haz de electrones. Con los diagramas I y II se intenta resumir la relación de causa y efecto ilustrada por los experimentos. Si los niveles de oxígeno y humedad dentro de la bolsita son elevados (> 60% de RH y 1000 ppm de O₂), el BNP se degradará rápidamente para formar BNP oxidado y modificaciones de acetato durante el tratamiento por haz de electrones. La minimización tanto de la humedad como del oxígeno en la bolsita reduce la degradación del BNP por ambos mecanismos. Sin embargo, ambos mecanismos son más sensibles a los niveles de humedad, que deberían ser rigurosamente mantenidos en niveles bajos para preservar la estabilidad del péptido.

Tabla 5: Matriz de condiciones de envasado

Grupo	Condiciones de envasado	Condiciones de irradiación	Condiciones de almacenamiento						
			T = 0	Temp.	Total	1M	3M	6M	9/12M
A	Bolsita de hoja metálica sellada, con bolsita interna de Tyvek, purga de nitrógeno	Ninguna (testigos de envío)	✓	-20 °C	✓	✓	–	–	–
				2-8 °C	✓	✓	✓	✓	✓
				25 °C	✓	✓	✓	✓	✓
				40 °C	✓	✓	–	–	–
		15 kGy/ temperatura ambiental	✓	-20 °C	✓	✓	–	–	–
				2-8 °C	✓	✓	✓	✓	✓
				25 °C	✓	✓	✓	✓	✓
		21 kGy/ temperatura ambiental	✓	-20 °C	✓	✓	–	–	–
				2-8 °C	✓	✓	✓	✓	✓
				25 °C	✓	✓	✓	✓	✓
B	Hoja metálica y Tyvek, sellado bajo vacío sin	15 kGy/ temperatura ambiental	✓	2-8 °C	✓	✓	✓	✓	✓
				25 °C	✓	✓	✓	✓	✓
		21 kGy/ temperatura ambiental	✓	2-8 °C	✓	✓	✓	✓	✓
				25 °C	✓	✓	✓	✓	✓
C	Desecante bajo vacío	21 kGy/ temperatura ambiental	✓	25 °C	✓	✓	–	–	–
D	Sólo conjunto (sin desec.)		✓		✓	✓	–	–	–
E	Sólo conjunto y Tyvek (sin		✓		✓	✓	–	–	–

Tabla 6: Protocolo de estabilidad

Grupo	Bolsita de Tyvek	"+" = purga de nitrógeno "–" = vacío	Componentes del montaje	Secado del desecante en vacío	Agente desecante	Bolsita de hoja metálica
A	+	+	+	–	+	+
B	+	–	+	–	+	+
C	+	+	+	+	+	+
D	–	+	–	–	–	+
E	+	+	–	–	+	+

Tabla 7: Sumario del análisis del espacio de cabeza

Número de muestra	1	1 (repetición)	1 (repetición)	2	3	4	5	6	7
NITRÓGENO, ppm	994.062	994.254	994.242	995.935	853.524	828.976	995.220	997.884	997.06
OXÍGENO, ppm	5178	5039	5088	753	111.750	148.190	ND	ND	ND
ARGÓN, ppm	402	393	396	458	9389	9199	425	106	190
CO ₂ , ppm	187	172	155	205	364	223	144	652	175
HUMEDAD, ppm	49	29	18	104	226	234	31	745	16
HIDRÓGENO, ppm	122	113	101	2545	24.747	13.178	4180	613	2555
RH (a 25 °C, 101.325 Pa), %	0	0	0	0	1	1	0	3	0
RH (a 5 °C, 101.325 Pa), %	1	1	0	2	4	4	1	11	0
Tipo de envasado	A	A	A	A	B	B	C	D	E
Tratamiento por haz de e ⁻	NA	NA	NA	15 kGy	15 kGy	21 kGy	21 kGy	21 kGy	21 kGy
Envasado con desecante	+	+	+	+	+	+	+	-	+
+ = nitrógeno / - = vacío	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Desecante tratado con vac./N ₂	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Bolsita interna de Tyvek	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Componentes del montaje	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Tabla 8: Sumario de datos

Nº de muestra	Purga de N ₂	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones	Humedad del espacio de cabeza (RH, %)	Oxígeno del espacio de cabeza (ppm)	Condiciones del haz de e ⁻ (T amb.)	Pureza del hBNP (%)	Oxidación total (%)	Modificación de acetato/citrato RRT > 1,33
1	+	-	+	-	Testigo de envío	0	5102	Ninguna	98,4	0,8	0,1
2	+	-	+	-		2	753	15 kGy	93,7	1,3	1,7
3	-	+	+	-		4	111.750	15 kGy	91,2	2,9	2,2
4	-	+	+	-		4	148.190	21 kGy	89,6	3,1	3,2
5	+	-	+	-	Desecante tratado	1	0	21 kGy	92,8	1,7	2,1
6	+	-	-	-	Sin componentes de montaje ni desecante	11	0	21 kGy	91,3	2,2	1,8
7	+	-	+	-	Sin bolsita de Tyvek ni componentes de montaje	0	0	21 kGy	93,0	1,3	2,0

Tabla 9: Sumario de datos de estabilidad a 25 °C en un mes

Nº de muestra	Purga de N ₂	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones	Humedad del espacio de cabeza (RH, %)	Oxígeno del espacio de cabeza (ppm)	Condiciones del haz de e ⁻ (T amb.)	Pureza del hBNP (%), 1M, 25 °C	Oxidación total (%), 1M, 25 °C	Modificación de acetato, 1M, 25 °C
1	+	-	+	-	Testigo de envío	1	5102	Ninguna	96,6	0,6	0,2
2	+	-	+	-		2	753	15 kGy	91,5	2,3	2,6
3	-	+	+	-		4	111.750	15 kGy	85,7	6,8	3,0
4	-	+	+	-		4	148.190	21 kGy	83,6	7,5	3,6
5	+	-	+	-	Desecante tratado	1	0	21 kGy	90,5	2,4	3,2
6	+	-	-	-	Sin componentes de montaje ni desecante	11	0	21 kGy	91,4	1,8	2,9
7	+	-	+	-	Sin bolsita de Tyvek ni componentes de montaje	0	0	21 kGy	91,6	1,3	3,2

Tabla 10: Sumario de datos de estabilidad a 2-8 °C en un mes

Nº de muestra	Purga de N ₂	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones	Humedad del espacio de cabeza (RH, %)	Oxígeno del espacio de cabeza (ppm)	Condiciones del haz de e ⁻ (T amb.)	Pureza del hBNP (%), 1M, 2-8 °C	Oxidación total (%), 1M, 2-8 °C	Modificación de acetato, 1M, 2-8 °C
1	+	-	+	-	Testigo de envío	1	5102	Ninguna	96,9	0,6	0,0
2	+	-	+	-		2	753	15 kGy	93,1	1,4	2,2
3	-	+	+	-		4	111.750	15 kGy	88,8	4,7	2,3
4	-	+	+	-		4	148.190	21 kGy	87,0	4,7	3,7

5

Tabla 11: Diseño del estudio de envasado

Prueba	Nitrógeno	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones
1	-	-	-	-	N/A
2	+	-	-	+	N/A
3	-	+	-	+	N/A
4	+	+	-	-	Primero nitrógeno, luego vacío
5	-	-	+	+	N/A
6	+	-	+	-	Estudio previo

Prueba	Nitrógeno	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones
7	–	+	+	–	Estudio previo
8	+	+	+	+	Primero nitrógeno, luego vacío
9	+	+	–	–	Primero vacío, luego nitrógeno
10	+	+	+	+	Primero vacío, luego nitrógeno

Tabla 12: Análisis del espacio de cabeza

ID de la muestra	Prueba nº 1	Prueba nº 2	Prueba nº 3	Prueba nº 4	Prueba nº 5	Prueba nº 6	Prueba nº 7	Prueba nº 8	Prueba nº 9	Prueba nº 10
NITRÓGENO, ppm	787.951	973.502	904.959	923.021	969.568	995.935	828.976	957.206	994.988	982.434
OXÍGENO, ppm	187.385	170	189	172	ND	753	148.190	130	149	132
ARGÓN, ppm	9478	615	10.725	3824	10.784	458	9199	2603	223	291
CO ₂ , ppm	5420	151	158	14.243	159	205	223	613	1344	609
HUMEDAD, ppm	3336	21.906	25.126	2881	11.509	104	234	12.732	1318	13.026
HIDRÓGENO, ppm	6430	3656	58.843	55.859	7980	2545	13.178	26.716	1978	3508
RH (a 25 °C, 101.325 Pa), %	11	58	78	9	36	0	1	40	5	37
RH (a 5 °C, 101.325 Pa), %	41	100	100	36	100	2	4	100	15	100
Condiciones de envasado										
Irradiación	21 kGy T amb	21 kGy T amb	21 kGy T amb	21 kGy T amb	21 kGy T amb	21 kGy T amb	21 kGy T amb	21 kGy T amb	21 kGy T amb	21 kGy T amb
Purga de N ₂	–	+	–	+	–	+	–	+	+	+
Vacío	–	–	+	+	–	–	+	+	+	+
Desecante	–	–	–	–	+	+	+	+	–	+
Supresor de O ₂	–	+	+	–	+	–	–	+	–	+
Observaciones	Testigo negativo		Primero nitrógeno, luego vacío			De la TS nº 7		Primero nitrógeno, luego vacío	Primero vacío, luego N ₂	Primero vacío, luego N ₂

Tabla 13: Comparación entre datos del espacio de cabeza y datos de estabilidad a T = 0

Nº de muestra	Purga de N ₂	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones	Humedad del espacio de cabeza (RH, %)	Oxígeno del espacio de cabeza (ppm)	Condiciones del haz de e ⁻ (T amb.)	Pureza del hBNP (%)	Oxidación total (%)	Modificación de acetato/citrato RRT > 1,33 (%)
Prueba nº 1	–	–	–	–	Testigo negativo	41	187.385	21 kGy	75,0	17,3	2,0
Prueba nº 2	+	–	–	+		100	170	21 kGy	59,3	2,4	35,6

Nº de muestra	Purga de N ₂	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones	Humedad del espacio de cabeza (RH, %)	Oxígeno del espacio de cabeza (ppm)	Condiciones del haz de e ⁻ (T amb.)	Pureza del hBNP (%)	Oxidación total (%)	Modificación de acetato/citrato RRT > 1,33 (%)
Prueba nº 3	-	+	-	+		100	189	21 kGy	63,1	0,7	33,8
Prueba nº 4	+	+	-	-	Primero N ₂ , luego vacío	36	172	21 kGy	89,5	4,8	2,0
Prueba nº 5	-	-	+	+		100	ND	21 kGy	92,4	1,2	2,5
Prueba nº 6	+	-	+	-	De la TS nº 7	2	753	15 kGy	93,7	1,3	1,7
Prueba nº 7	-	+	+	-	De la TS nº 7	4	148.190	21 kGy	89,6	3,1	3,2
Prueba nº 8	+	+	+	+	Primero N ₂ , luego vacío	100	130	21 kGy	91,7	1,0	3,6
Prueba nº 9	+	+	-	-	Primero vacío, luego N ₂	12	149	21 kGy	88,6	4,6	2,7
Prueba nº 10	+	+	+	+	Primero vacío, luego N ₂	100	132	21 kGy	92,3	1,1	2,8

Tabla 14: Comparación entre datos del espacio de cabeza y datos de estabilidad a T = 1M y 25 °C

Nº de muestra	Purga de N ₂	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones	Humedad del espacio de cabeza (RH, %)	Oxígeno del espacio de cabeza (ppm)	Condiciones del haz de e ⁻ (T amb.)	Pureza (%) del hBNP, 1M, 25 °C	Oxidación total (%), 1M, 25 °C	Modificación de acetato, 1M, 25 °C
Prueba nº 1	-	-	-	-	Testigo negativo	41	187.385	21 kGy	42,18	37,10	2,59
Prueba nº 2	+	-	-	+		100	170	21 kGy	34,06	0,51	52,93
Prueba nº 3	-	+	-	+		100	189	21 kGy	30,71	0,46	39,67
Prueba nº 4	+	+	-	-	Primero N ₂ , luego vacío	36	172	21 kGy	88,47	3,45	3,48
Prueba nº 5	-	-	+	+		100	ND	21 kGy	90,54	1,27	4,05
Prueba nº 6	+	-	+	-	De la TS nº 7	2	753	15 kGy	91,49	2,31	2,56
Prueba nº 7	-	+	+	-	De la TS nº 7	4	148.190	21 kGy	83,63	7,53	3,64
Prueba nº 8	+	+	+	+	Primero N ₂ , luego vacío	100	130	21 kGy	90,15	1,38	4,48

Nº de muestra	Purga de N ₂	Vacío	Desecante	Supresor de O ₂	Observaciones	Humedad del espacio de cabeza (RH, %)	Oxígeno del espacio de cabeza (ppm)	Condiciones del haz de e ⁻ (T amb.)	Pureza (%) del hBNP, 1M, 25 °C	Oxidación total (%), 1M, 25 °C	Modificación de acetato, 1M, 25 °C
Prueba nº 9	+	+	-	-	Primero vacío, luego N ₂	12	149	21 kGy	88,76	3,65	3,67
Prueba nº 10	+	+	+	+	Primero vacío, luego N ₂	100	132	21 kGy	87,79	1,14	7,22

Diagrama I: Factores que afectan a la oxidación del hBNP

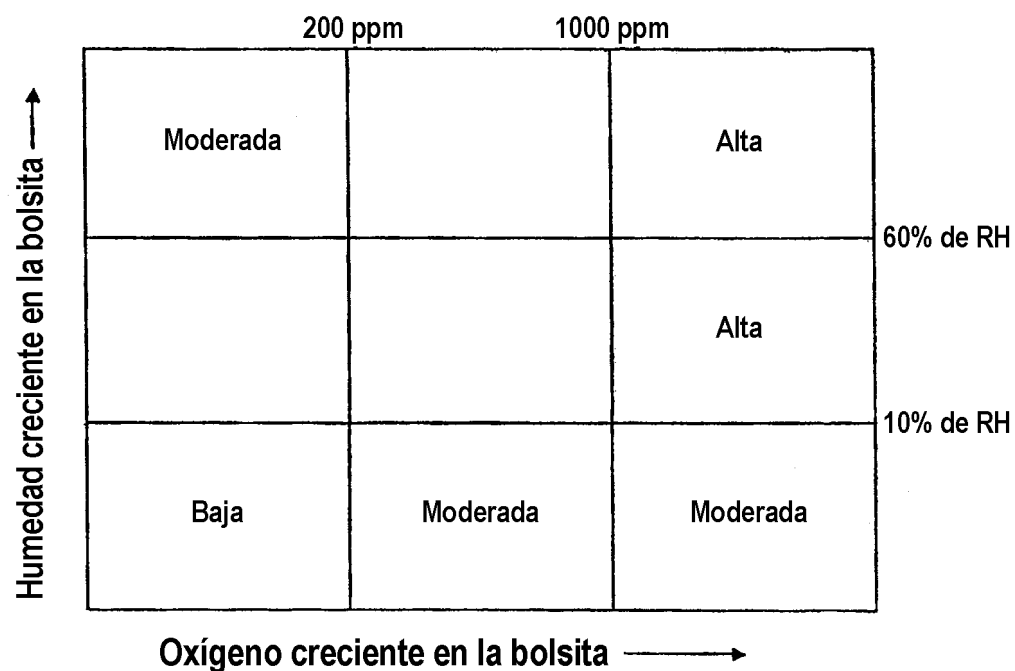


Diagrama II: Factores que afectan a las modificaciones de acetato del hBNP

	200 ppm	1000 ppm	
Humedad creciente en la bolsita ↑	Altas		Altas
			Moderadas
	Moderadas	Moderadas	Moderadas
			60% de RH 10% de RH
	Oxígeno creciente en la bolsita →		

Lo precedente es ilustrativo de la presente invención y no ha de ser considerado restrictivo de la misma. La invención viene definida por las reivindicaciones siguientes, incluyéndose en la misma equivalentes de las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un método para fabricar y envasar un dispositivo de suministro transdérmico que comprende un anillo; en donde el método comprende las operaciones siguientes:

(i) proporcionar un elemento (5) de microproyección que tiene una pluralidad de microproyecciones (10);

5 (ii) proporcionar una formulación (18) de revestimiento biocompatible que comprende un agente biológicamente activo que comprende hPTH (1-34) y compuestos análogos al mismo;

(iii) revestir el elemento de microproyección con la formulación de revestimiento biocompatible para formar dicho dispositivo de suministro transdérmico; y

10 (iv) envasar dicho dispositivo de suministro transdérmico encerrando herméticamente mediante calor dicho dispositivo de suministro transdérmico en una bolsita de hoja metálica purgada con nitrógeno gaseoso, en donde

dicho método comprende además presecar el anillo para eliminar eficazmente el oxígeno y/o la humedad desorbidos del anillo antes de la formación de la bolsita.

2. El método de la Reivindicación 1, en donde el agente biológicamente activo comprende además uno o más contraiones para mejorar más la estabilidad de la formulación.

15 3. El método de la Reivindicación 2, en donde los uno o más contraiones son seleccionados de entre acetato, propionato, butirato, pentanoato, hexanoato, heptanoato, levulinato, cloruro, bromuro, citrato, succinato, maleato, glicolato, gluconato, glucuronato, 3-hidroxi-isobutirato, 2-hidroxi-isobutirato, lactato, malato, piruvato, fumarato, tartrato, tartronato, nitrato, fosfato, bencenosulfonato, metanosulfonato, sulfato, sulfonato, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, lisina, histidina, arginina, morfolina, metilglucamina y glucosamina.

20 4. El método de la Reivindicación 1, en donde la operación de presecado del anillo comprende secar el anillo bajo vacío a 60 grados Celsius durante al menos cuarenta y ocho horas antes del montaje.

25 5. Un dispositivo de suministro transdérmico que tiene microproyecciones perforadoras del estrato córneo revestidas con una formulación de hPTH (1-34), envasado con un anillo de retención presecado en una bolsita de hoja metálica térmicamente sellada y purgada con nitrógeno gaseoso.

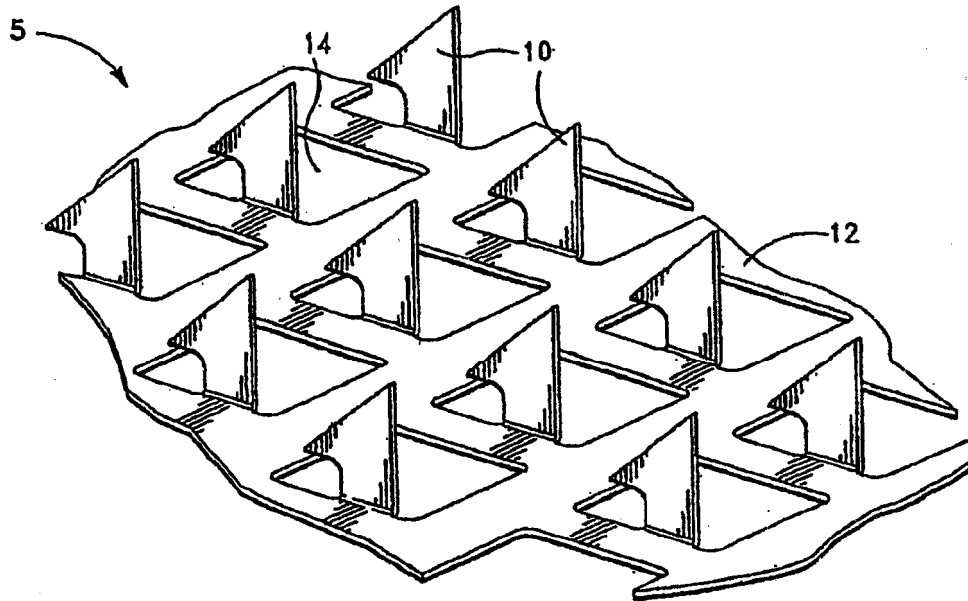


FIG. -1

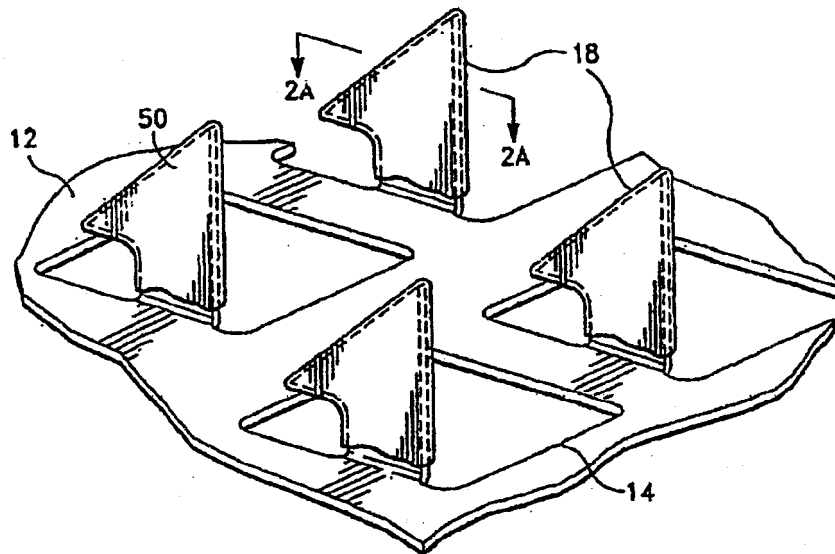


FIG. -2

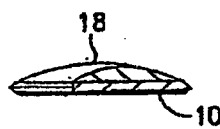


FIG. -2A

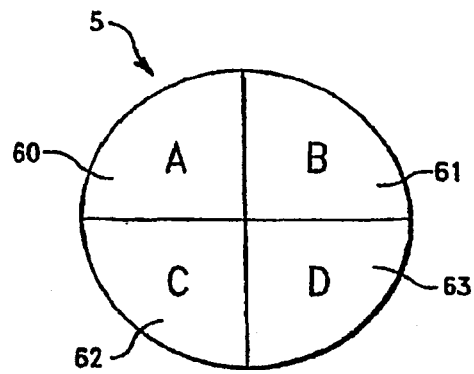


FIG.-3

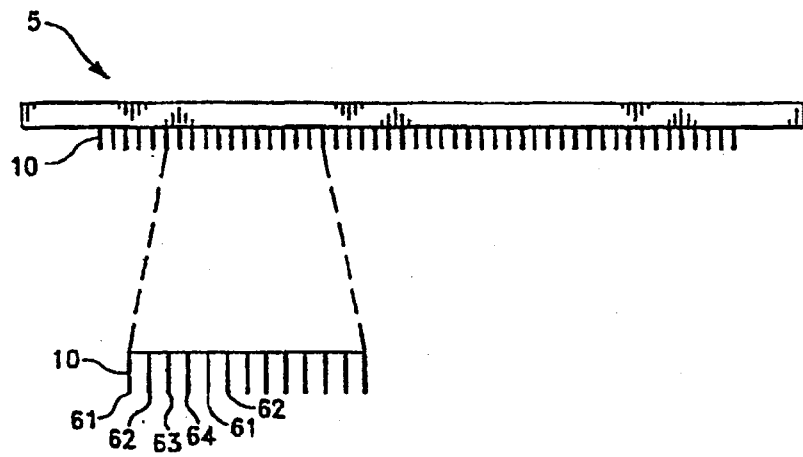


FIG.-4

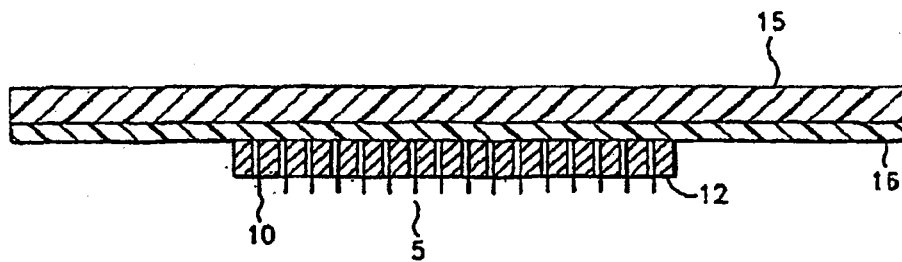


FIG.-5

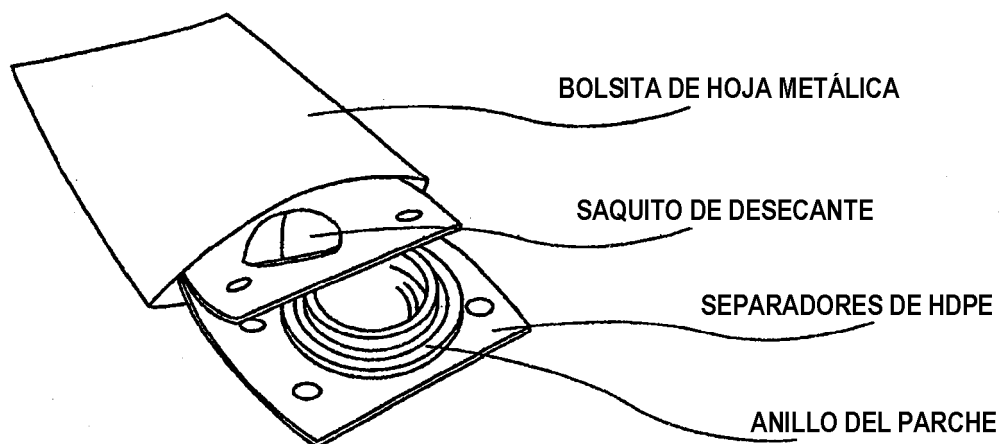


FIG. 6

Estabilidad a largo plazo de PTH Macroflux® en distintas condiciones de envasado

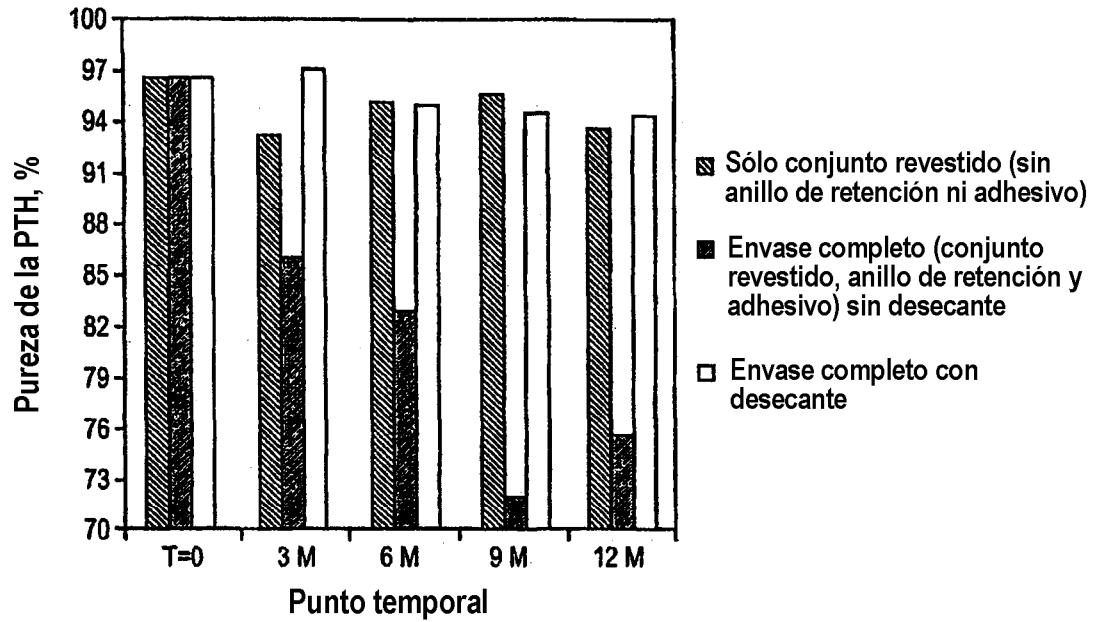


FIG. 7

Pureza del BNP (%) por HPLC después del tratamiento por haz de e- (T=0)

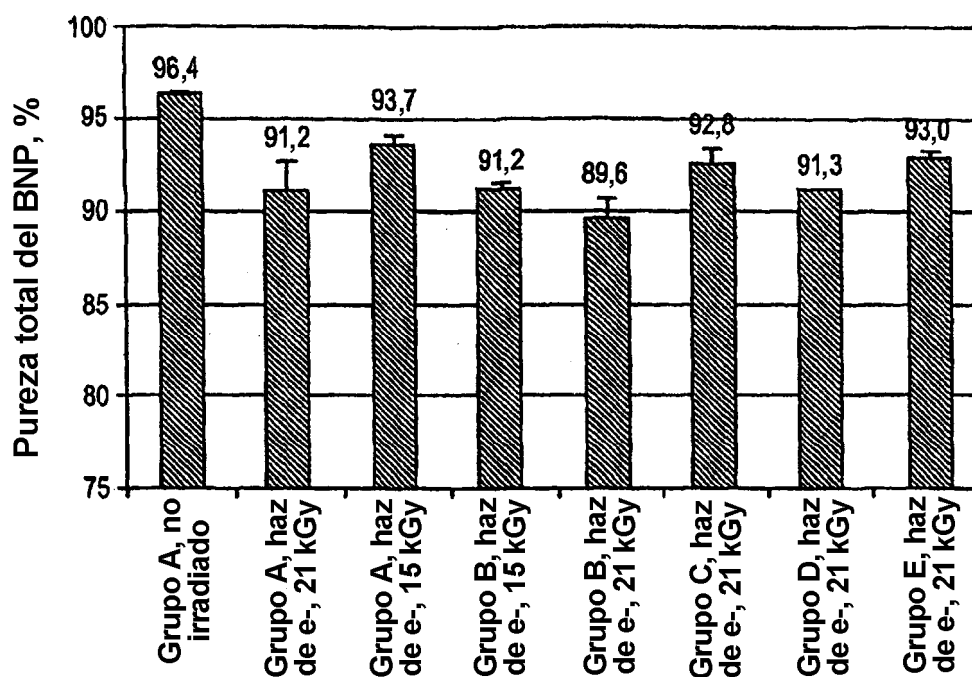


FIG. 8

Perfil de degradación de BNP por HPLC a T = 0

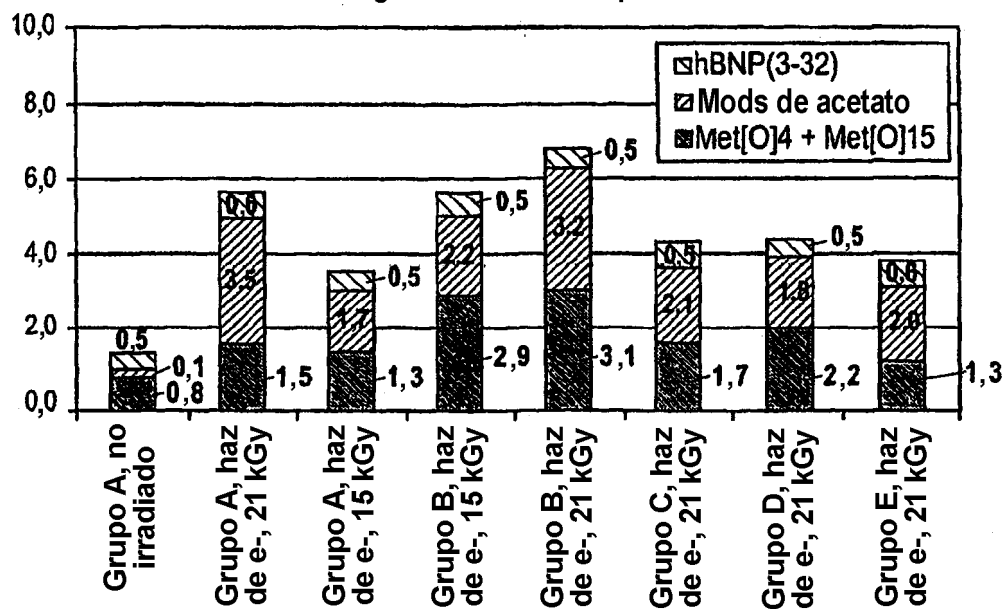


FIG. 9

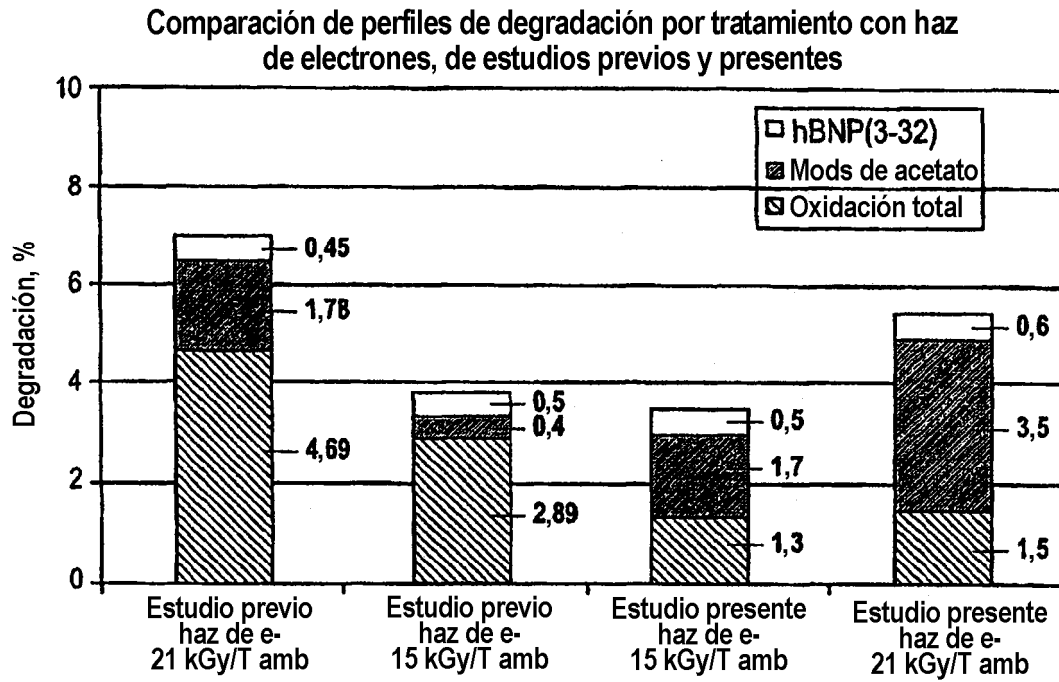


FIG. 10

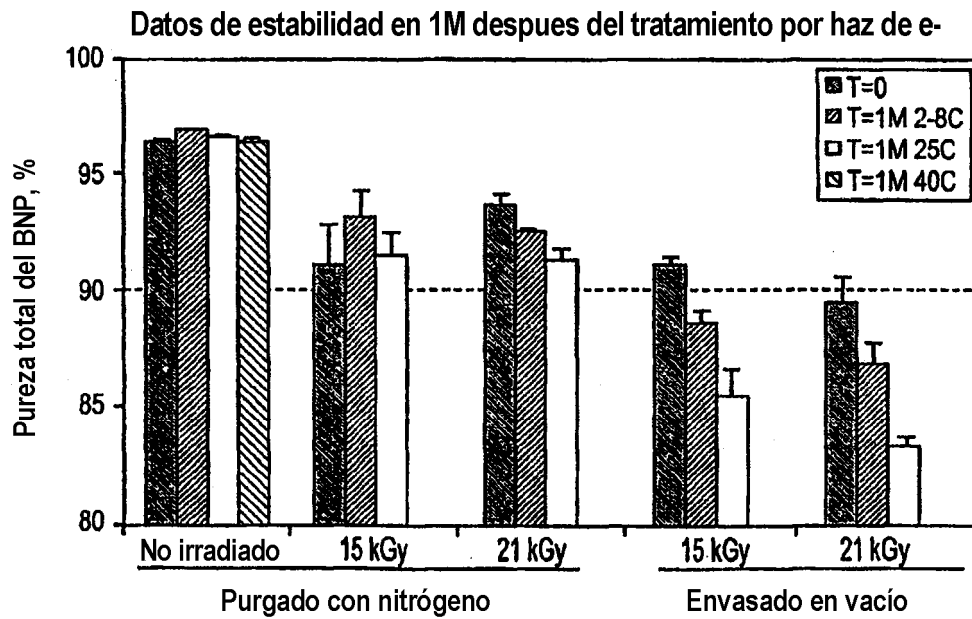


FIG. 11

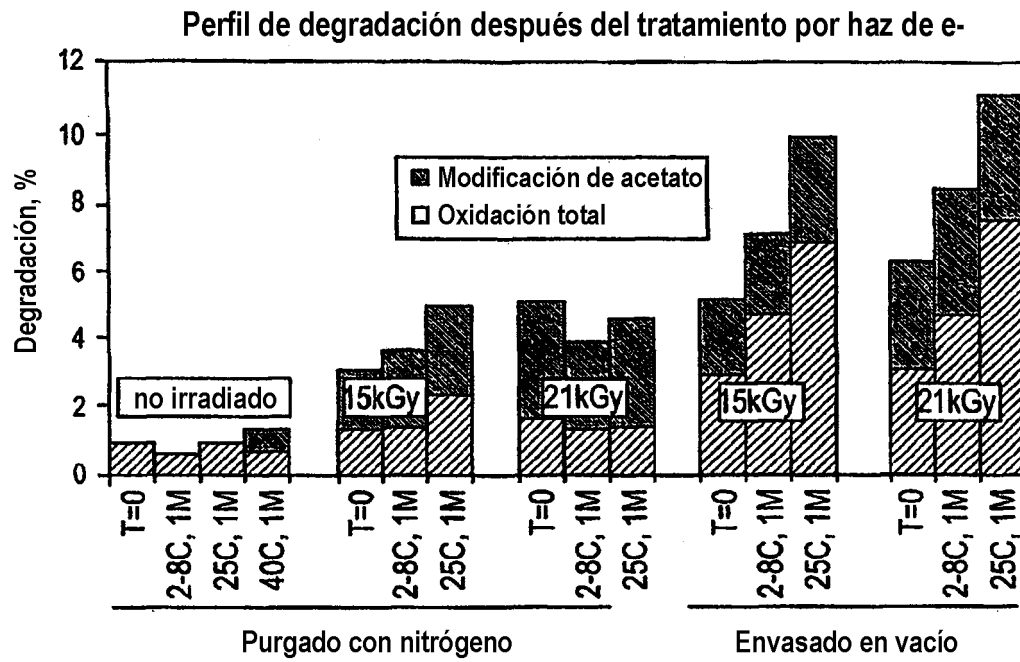


FIG. 12

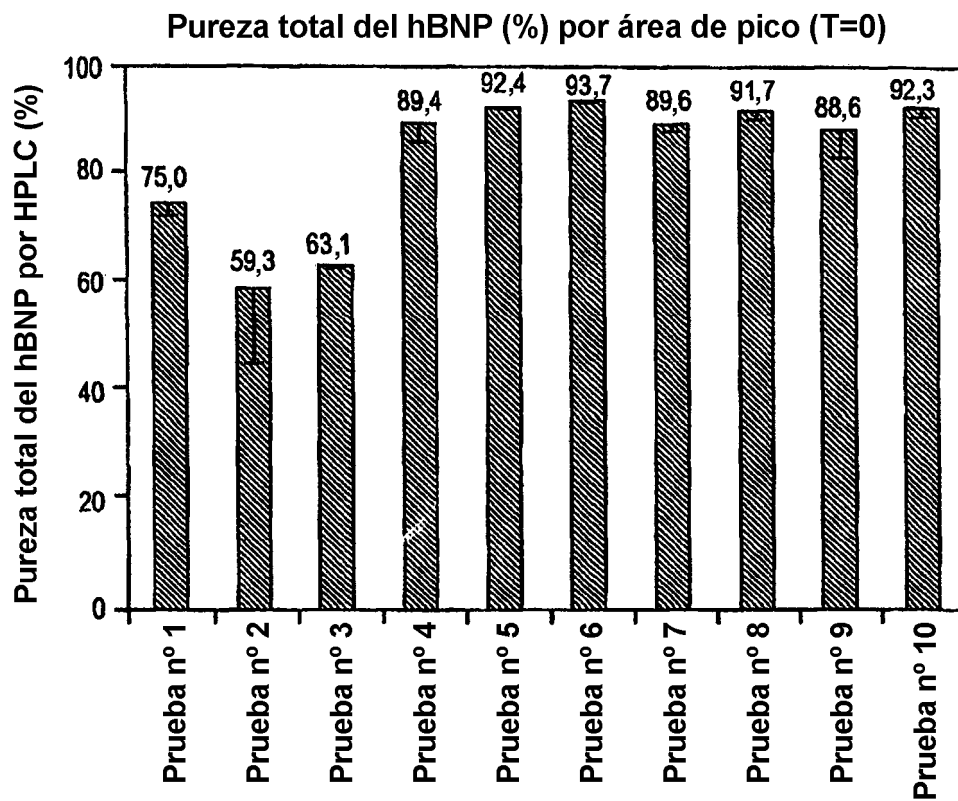


FIG. 13

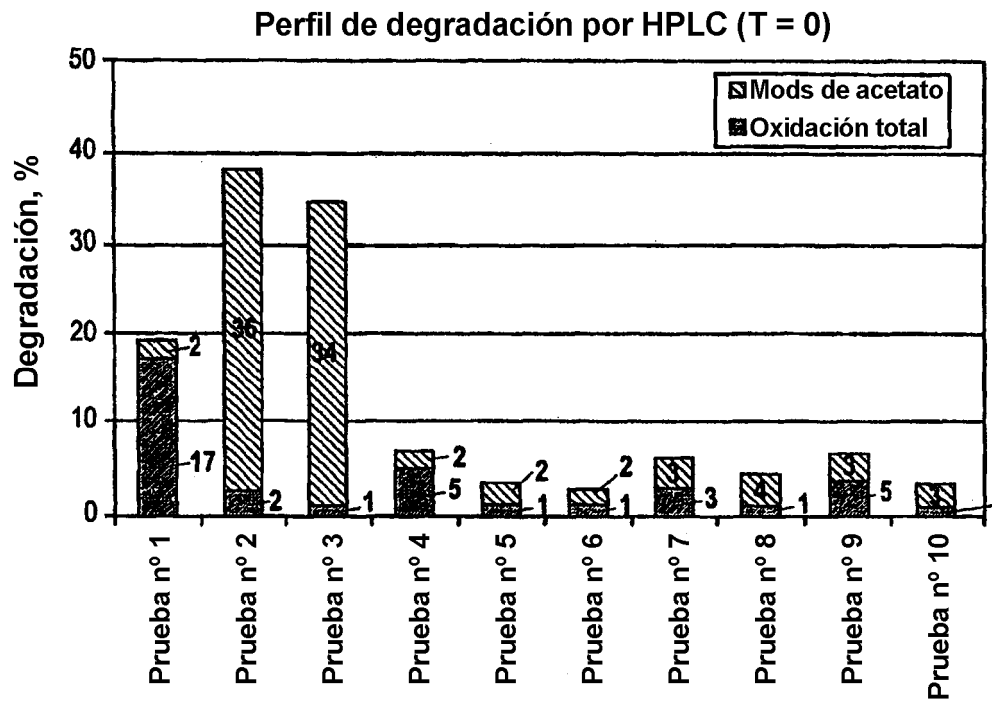


FIG. 14

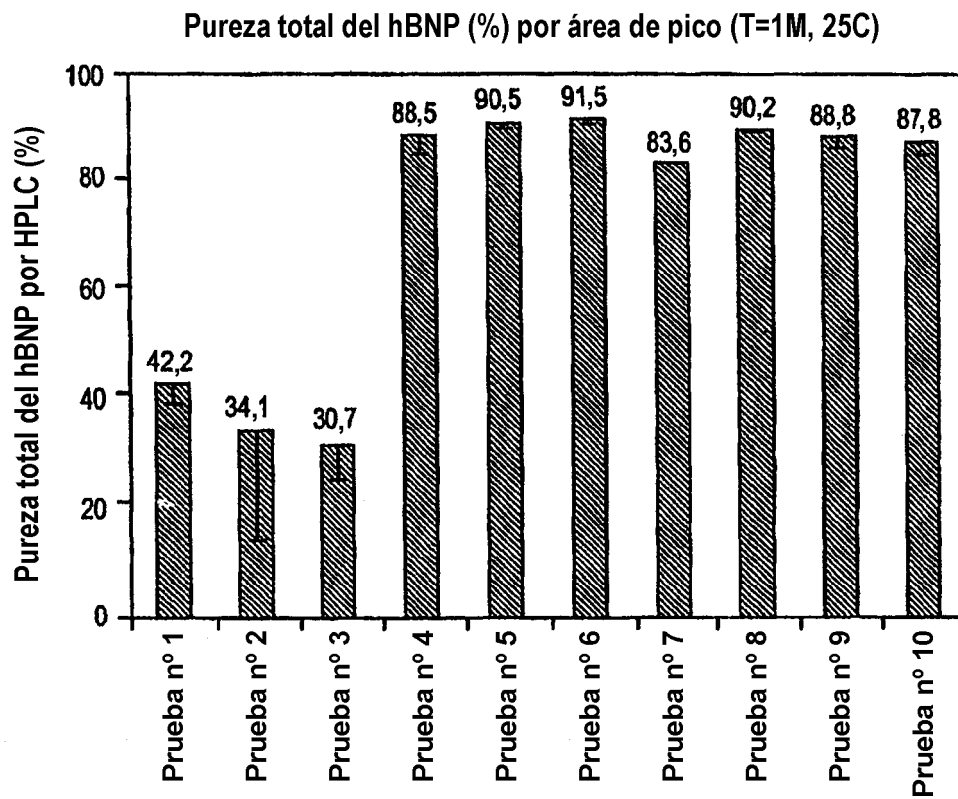


FIG. 15

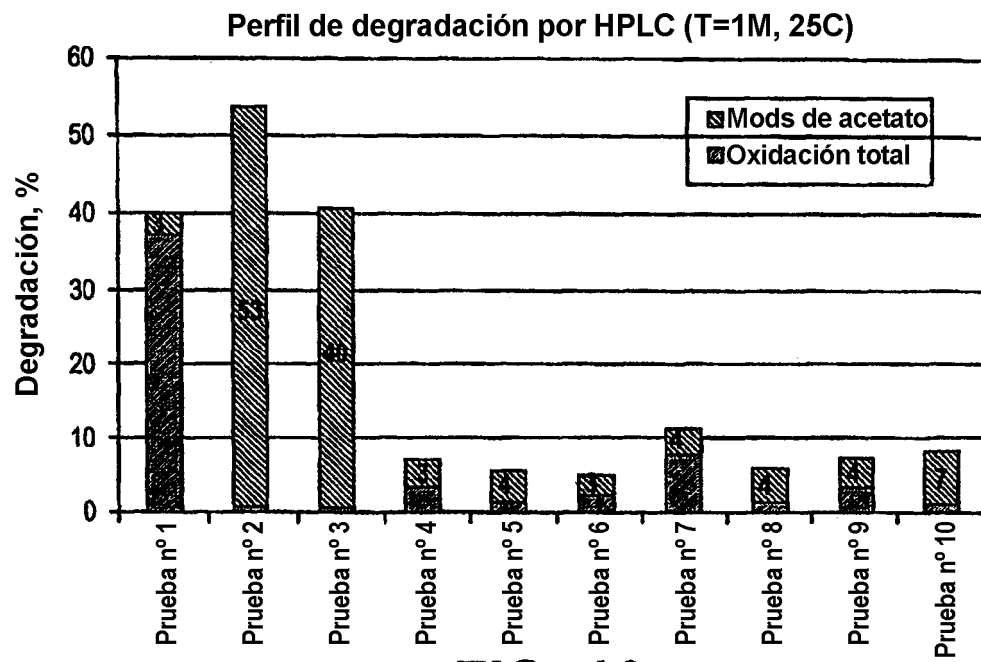


FIG. 16