(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 606 567**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/19 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2010** **PCT/EP2010/002360**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **21.10.2010** **WO2010118888**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2010** **E 10713860 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016** **EP 2419089**

(54) Título: **Formulación para estabilizar proteínas, que está libre de excipientes de mamíferos**

(30) Prioridad:

17.04.2009 EP 09005470
17.04.2009 US 212952 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.03.2017

(73) Titular/es:

MERZ PHARMA GMBH & CO. KGAA (100.0%)
Eckenheimer Landstrasse 100
60318 Frankfurt am Main, DE

(72) Inventor/es:

TAYLOR, HAROLD;
BURGER, MARKUS y
MANDER, GERD, J.

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 606 567 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

Formulación para estabilizar proteínas, que está libre de excipientes de mamíferos

Campo de la invención

La presente invención se refiere a una formulación para estabilizar proteínas, que está libre de excipientes de mamíferos. En particular, se refiere a una formulación que comprende un polímero hidrófilo, una mezcla de un polialcohol y un azúcar, en la que la relación en peso de polialcohol a azúcar es de 2:1 a 5:1 (% en peso), un detergente, y en la que la formulación está libre de proteínas de estabilización. En una realización, la presente invención se refiere a un kit, en el que dicho kit comprende uno o más recipientes que comprenden dicha formulación/composición, instrucciones de uso y, opcionalmente, un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

Antecedentes de la invención

Formulaciones de proteínas, que están libres de proteínas estabilizadoras, son conocidas en la técnica. El documento WO 2006/020208 se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden la toxina botulínica y un agente estabilizador no proteínico, que conserva la actividad de la toxina botulínica en una solución acuosa.

El documento FR 2881 139 describe (tabla 1) una formulación que comprende: un polímero hidrófilo (pvp), un azúcar (sacarosa o maltosa) O un polialcohol (manitol), un detergente (tween 80) para estabilizar una formulación líquida de proteínas.

El documento WO 2006/005910 se refiere a composiciones farmacéuticas sólidas o líquidas que comprenden el complejo de toxina botulínica o la toxina botulínica de alta pureza y un agente tensioactivo. Un máximo de seis meses de estabilidad a 23°C a 27°C se ha informado de la misma.

El documento WO 2007/041664 se refiere a una composición farmacéutica que comprende una toxina botulínica y una polivinilpirrolidona (PVP) y, opcionalmente, un disacárido.

El documento WO 2004/006954 se refiere a una composición farmacéutica que comprende una toxina botulínica estabilizada y al menos un agente potenciador para facilitar la administración transdérmica de la toxina botulínica en un paciente humano mediante la mejora de la permeabilidad de la piel del paciente.

El documento WO 01/58472 describe una composición farmacéutica adecuada para inyección en un paciente humano, que comprende una toxina botulínica y un polisacárido. También se describe una composición farmacéutica que comprende una neurotoxina y almidón de hidroxietilo.

El documento WO 2006/079722 se refiere al uso de composiciones líquidas para la aplicación del método de las proteínas de liofilización, para estabilizar dichas proteínas, comprendiendo dichas composiciones; un agente de carga que tiene una temperatura de colapso entre -18°C y 0°C, un estabilizador, una solución tampón, y, en su caso, un tensioactivo no iónico.

Objetivos de la invención

Un objeto de la presente invención era proporcionar una nueva formulación para proteínas estabilizadoras, que está libre de proteínas estabilizadoras, que está libre de albúmina de suero humano (HSA), gelatina, histidina, lisina, metionina o inmunoglobulinas. Dichas formulaciones pueden formularse tal que proporcionen una estabilidad superior a las proteínas, comparado con las formulaciones de la técnica anterior.

Este y otros objetos se logran mediante la formulación objeto de esta solicitud.

Compendio de la invención

Los objetos de la invención se consiguen mediante la formulación objeto de esta solicitud. La presente invención se refiere a una formulación que está libre de albúmina de suero humano (HSA), gelatina, histidina, lisina, metionina o inmunoglobulinas, que comprende un péptido o una proteína, un polímero hidrófilo, una mezcla de un polialcohol y un azúcar, en el que la relación en peso de polialcohol a azúcar es de [2:1] a [5:1] (en peso), por ejemplo, [2:1], [2.5:1], [3:1], [3.5:1], [4:1], [4.5:1], [5:1], un detergente, y en el que la formulación está libre de proteínas estabilizadoras. En una realización adicional, la presente invención se refiere a una composición que comprende dicha formulación y un péptido, una proteína o una mezcla de los mismos, de origen natural o modificado/artificial.

En una realización adicional, se liofiliza la composición de la invención.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición que comprende un péptido o una proteína, o una mezcla de los mismos, como se define en este documento, para uso como un medicamento, un producto cosmético, un producto de cosmética o un producto de diagnóstico.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a dicha composición para uso en el tratamiento de una

enfermedad o condición causada o asociada con la inervación colinérgica hiperactiva de los músculos o las glándulas exocrinas en un paciente.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un kit que comprende uno o más de un recipiente que comprende dicha formulación/composición y las instrucciones para el uso de dicha formulación y opcionalmente un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a una formulación que está libre de albúmina de suero humano (HSA), gelatina, histidina, lisina, metionina o inmunoglobulinas, que comprende un péptido o una proteína, un polímero hidrófilo, una mezcla de un polialcohol y un azúcar, en el que la relación en peso de polialcohol a azúcar está entre de [2:1] a [5:1] (% en peso), por ejemplo, [2:1], [2.5:1], [3:1], [3.5:1], [4:1], [4.5:1], [5:1], un detergente, y en el que dicha formulación está libre de proteínas estabilizadoras.

El término "formulación", como se usa en el presente documento se refiere a una mezcla que comprende excipientes farmacéuticamente aceptables y abarca formas líquida, sólida, semisólida, coloidales y todas otras formas conocidas por los expertos en la técnica. La dicha formulación en el presente documento está libre de proteínas estabilizadoras.

El término "composición" como se usa en la presente invención se refiere a una formulación como se reivindica en el presente documento que comprende, además, un péptido, una proteína o una mezcla de los mismos.

La formulación de la invención comprende un polímero hidrófilo.

El término "polímero" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a estructuras compuestas de unidades de repetición. El término "polímero" dentro del alcance de la presente invención se emplea tanto para homopolímeros como para copolímeros.

El término "hidrófilo", como se usa en el presente documento se refiere a sustancias, materiales, excipientes o ingredientes farmacéuticamente activos que son humectables por agua.

En una realización de la presente invención, el polímero hidrófilo se selecciona del grupo que consiste en ácido hialurónico, polivinilpirrolidona (PVP), copolímeros de N-vinilpirrolidona, derivados de celulosa, polietilenglicol (PEG), copolímeros de bloque PEG/PPG, homo- y copolímeros de ácido acrílico y metacrílico, poliuretanos, alcohol polivinílico (PVA), polivinilléteres, copolímeros a base de anhídrido maleico, poliésteres, vinilaminas, polietileniminas, polietilenóxidos, poli (ácidos carboxílicos), poliamidas, polianhídridos, polifosfacenos y sus mezclas.

El derivado de celulosa mencionado se puede seleccionar del grupo que consiste en hidroxipropil metil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxietil celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa, dextrano, y sus mezclas.

El término "polivinilpirrolidona" tal como se utiliza en este documento, se refiere a un polímero soluble en agua hecho a partir de monómero de N-vinilpirrolidona. Los términos y abreviaturas "PVP, povidona, polividona, crospovidona, Kollidon" se utilizan como sinónimos.

La dicha polivinilpirrolidona (PVP) puede ser Kollidon 12 PF, Kollidon 17 PF, Kollidon 25, Kollidon 30, Kollidon 90 F, povidona, crospovidona, Kollidon VA 64 y copovidona o una mezcla de los mismos.

El término "ácido hialurónico" en el sentido de la presente invención se refiere a un glicosaminoglicano no sulfatado. En una realización, el ácido hialurónico tiene un peso molecular de 0,8 a 1,2 x 10^6 Da. Además, dentro de la presente invención también puede ser utilizado el ácido hialurónico reticulado. El término "ácido hialurónico" se usa como sinónimo del término "hialuronano". Dentro de la presente invención, el término ácido hialurónico" también abarca derivados de ácido hialurónico, tales como sales de los mismos, por ejemplo, sales de sodio, potasio, magnesio y calcio. Además, el término "ácido hialurónico" abarca todos los derivados naturales y sintéticos de los mismos. Es una molécula que tiene típicamente un peso molecular de 10 kDa y 4,5 x 10^6 Da.

La formulación de la invención comprende una mezcla de polialcohol y azúcar en una proporción en peso de [2:1] a [5:1] (% en peso).

El término "polialcohol" como se usa en el presente documento se refiere a un grupo de ingredientes a base de carbohidratos, que se emplean para proteger la proteína contra la inestabilidad. El término "poliol" y "alcoholes de azúcar" se utilizan como sinónimos.

El término "azúcar" tal como se usa en el presente documento se refiere a cualquier monosacárido, disacárido y polisacárido. El término "monosacárido" como se usa en el presente documento se refiere a las unidades básicas de hidratos de carbono. El término "disacárido" dentro del alcance de la presente invención se refiere a carbohidratos compuestos de dos monosacáridos. El término "polisacáridos" como se utiliza en este documento se refiere a unidades de repetición de monosacáridos, en los que los monosacáridos se unen con enlaces glucosídicos.

El término "mezcla" como se utiliza en este documento se refiere a composiciones de naturaleza homogénea o heterogénea, en la que al menos dos sustancias del mismo o diferente compuesto o estructura se mezclan mediante el empleo de los métodos y dispositivos conocidos para el experto en la técnica. El término "mezcla" dentro del alcance de la presente invención abarca mezclas en forma de sólidos, líquidos y semisólidos.

El término "mezclar" como se utiliza en este documento se refiere a la combinación de al menos dos ingredientes activos o inactivos en varias proporciones. Mezclar se refiere a cualquier proceso o acción que combine también al menos dos sustancias activas o inactivas diferentes del mismo grupo o de grupos diferentes, en cualquier orden secuencial. El término "mezclar" también describe cualquier proceso o acción que combina a cualquier ingrediente activo con cualquier excipiente.

En una realización de la presente invención, el polialcohol se selecciona del grupo que consiste en manitol, inositol, lactilol, isomalt, xilitol, eritritol y sorbitol.

En una realización adicional de la presente invención, el azúcar se selecciona del grupo que consiste en monosacáridos, en el que dichos monosacáridos pueden ser glucosa, tioglucosa, tiomanosa, tiofructosa, fructosa y galactosa. En otra realización, el azúcar es un disacárido, en el que dicho disacárido puede ser trehalosa, sacarosa, octa-O-acetil-tiotrehalosa, tiosacarosa, tiomaltosa, maltosa, y maltitol. En una realización adicional, el azúcar es un polisacárido, en el que dicho polisacárido puede ser un alginato, almidón de hidroxietilo y almidón de hidroxipropilo.

La presente invención reivindica una formulación, en la que un polialcohol y un azúcar se mezclan para obtener una mezcla de polialcohol y azúcar en una proporción en peso de [2:1] a [5:1]. En una realización adicional, dicha mezcla de polialcohol y azúcar está en una relación en peso de [2:1] a [3:1], por ejemplo, [2:1], [2.5:1], [3:1]. En otra realización, dicha mezcla de polialcohol y azúcar está en una relación en peso de [3:1].

De acuerdo con una realización de la presente invención, la mezcla de polialcohol y azúcar comprende manitol y sacarosa en una relación en peso de [2:1] a [5:1], por ejemplo, [2:1], [2.5:1], [3:1], [3.5:1], [4:1], [4.5:1], [5:1]. En una realización adicional de la presente invención, la mezcla de polialcohol y azúcar comprende manitol y sacarosa en una relación en peso de [3:1].

Dicho polialcohol y dicho azúcar se pueden mezclar mediante el uso de mezcladores en V (mezcladores de sólidos doble), mezcladoras de tambor rotativo, mezcladores de doble cinta, mezcladores de arado, mezcladores de paletas, mezcladores de doble cono. El experto en la materia será capaz de seleccionar el mezclador correcto dependiendo de la escala de sobremesa o de alta escala. El tiempo de mezcla dependerá del tamaño del lote, la calidad de excipientes, por ejemplo, el tamaño de partícula del polvo y el tipo de mezclador.

La formulación de la invención también comprende un detergente.

El término "detergente" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier sustancia empleada para solubilizar o estabilizar otra sustancia, que puede ser un ingrediente activo farmacéutico u otro excipiente en una formulación. Dicho detergente puede estabilizar dicha proteína o péptido, ya sea estérica o electrostáticamente. El término "detergente" se usa como sinónimo de los términos "tensioactivos" o "agentes activos de superficie".

En una realización de la presente invención, el detergente se selecciona del grupo que consiste en tensioactivos no iónicos.

La expresión "tensioactivos no iónicos" en el sentido de la presente invención se refiere a tensioactivos que no tienen ni carga positiva ni negativa.

Según un aspecto, dichos tensioactivos no iónicos pueden ser ésteres de sorbitán (monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, monoestearato de sorbitán, triestearato de sorbitán, monooleato de sorbitán, trioleato de sorbitán), polisorbatos (polioxietileno (20) monolaurato de sorbitán (polisorbato 20), polioxietileno (20) monopalmitato de sorbitán, polioxietileno (20) monoestearato de sorbitán, polioxietileno (20) triestearato de sorbitán, polioxietileno (20) trioleato de sorbitán, polioxietileno (20) monooleato de sorbitán (Tween 80/Polisorbato 80)), poloxámeros (poloxámero 407, poloxámero 188), Cremophor, y mezcla de los mismos.

En otra realización, dicho detergente es un tensioactivo aniónico.

La expresión "tensioactivo aniónico" en el sentido de la presente invención se refiere a agentes tensioactivos que comprenden un grupo hidrófilo aniónico.

Según un aspecto, dicho tensioactivo aniónico puede ser bromuro de tetradeciltrimetilamonio, bromuro de dodeciltrimetilamonio, lauril éter sulfato sódico, dodecil sulfato de sodio (SDS), cetrimida, bromuro de hexadeciltrimetilamonio, y una mezcla de los mismos.

En una realización adicional dicho detergente es un tensioactivo catiónico.

La expresión "tensioactivo catiónico" en el sentido de la presente invención abarca los tensioactivos que comprenden un grupo hidrófilo catiónico.

Según un aspecto, dicho tensioactivo catiónico puede ser cloruro de benzalconio, bromuro de cetil trimetilamonio (CTAB), cloruro de cetilpiridinio (CPC), cloruro de bencetonio (BZT), y mezclas de los mismos.

En una realización de la presente invención, la concentración del detergente no es más de 0,5 mg/g basado en el peso total de la composición en masa de producción, es decir la cantidad total de la formulación de la invención, el péptido o proteína que ha de estabilizarse y el disolvente estéril añadido para inyección, típicamente agua o una solución salina isotónica. En una realización adicional de la presente invención, la concentración del detergente se sitúa entre 0,1 mg/g y 0,3 mg/g basado en el peso total de la composición en masa de producción. En otra realización de la presente invención el detergente empleado es polisorbato 80 y la concentración del mismo es de 0,2 mg/g basado en el peso total de la composición en masa de producción.

La expresión "composición en masa de producción", como se usa en este documento, se refiere a la composición existente antes del llenado de la composición en unidades de dosificación individuales.

En una realización de la presente invención el polímero hidrófilo empleado es ácido hialurónico y el detergente empleado es polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, el polímero hidrófilo empleado es ácido hialurónico y el detergente empleado es polisorbato 20.

En una realización adicional de la presente invención, el polímero hidrófilo empleado es polivinilpirrolidona (PVP) y el detergente empleado es polisorbato 80.

La formulación de la invención está libre de proteínas estabilizantes.

La expresión "libre de proteínas estabilizantes" en el sentido de la presente invención se refiere a formulaciones están libres de péptidos o proteínas que estabilizan el péptido o proteína activa. Ejemplos de tales excipientes son, pero no se limitan a, albúmina de suero humano (HSA), gelatina, aminoácidos tales como histidina, lisina, metionina o inmunoglobulinas.

La formulación de la presente invención se utiliza para la estabilización de proteínas, péptidos, o mezclas de los mismos.

La presente invención además se refiere a una composición que comprende dicha formulación y un agente activo que puede ser una proteína, un péptido, de origen natural o modificado/artificial o una mezcla de los mismos.

La expresión "composición estable" como se usa en el presente documento se refiere a una composición, en donde la proteína o el péptido conservan, tras un almacenamiento durante al menos 4 semanas a temperatura ambiente y 60% de humedad relativa (RH), su estabilidad física y química y una integridad de hasta 50%, 60%, 70%, 80% y 90% en comparación con el valor medido después de la liofilización, es decir, antes de su almacenamiento.

En una realización adicional, la composición de la invención está compuesta de tal manera que la proteína o el péptido mantienen, tras un almacenamiento durante al menos 6 meses a temperatura ambiente y 60% de HR, su estabilidad física y química y una integridad de hasta 50%, 60%, 70%, 80% y 90% en comparación con el valor medido después de la liofilización, es decir, antes de su almacenamiento.

En una realización adicional, la composición de la invención está compuesta de tal manera que la proteína o el péptido mantienen, tras un almacenamiento durante al menos 12 meses a temperatura ambiente y 60% de HR, su estabilidad física y química y una integridad de hasta 50%, 60%, 70 %, 80% y 90% en comparación con el valor medido después de la liofilización, es decir, antes de su almacenamiento.

En cuanto a la actividad biológica, "composición estable" se refiere a una composición, en la que el componente neurotóxico de una solución reconstituida o acuosa de composición farmacéutica tiene más de aproximadamente 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, y hasta aproximadamente 100% que la toxicidad del componente neurotóxico biológicamente activo tenía antes de ser incorporado en la composición farmacéutica.

La expresión "temperatura ambiente", también designada como TA (o temperatura ambiente) en el sentido de la presente invención, se refiere a la definición de la Farmacopea de EE.UU. como 20-25°C [68-77°F].

La expresión "humedad relativa" también designada como HR en el sentido de la presente invención, se refiere a la relación de la cantidad de vapor de agua en el aire a una temperatura específica a la cantidad máxima que el aire podría mantener a esa temperatura, expresada como un porcentaje.

En un aspecto de la invención, dicha composición en el presente documento es estable durante 7 meses a 25°C y 60% de humedad relativa en forma liofilizada. En otro aspecto de la invención, dicha composición es estable durante 3 meses a 25°C y 60% de humedad relativa en forma liofilizada. En un aspecto más de la invención, dicha composición es estable durante 2 meses a 25°C y 60% de humedad relativa en forma liofilizada. En otro aspecto de la invención, dicha composición es estable durante 1 mes a 25°C y 60% de humedad relativa en forma liofilizada.

En otro aspecto de la invención, dicha composición es estable durante 7 meses a 40°C y 75% de humedad relativa en forma liofilizada. En un aspecto más de la invención, dicha composición es estable durante 3 meses a 40°C y 75% de humedad relativa en forma liofilizada. En un aspecto más de la invención, dicha composición es estable durante 2 meses a 40°C y 75% de humedad relativa en forma liofilizada. En un aspecto más de la invención, dicha composición es estable durante 1 mes a 40°C y 75% de humedad relativa en forma liofilizada.

En una realización de la presente invención, la estabilidad se mide mediante la medición de la extensión de la agregación como una función del tiempo como un indicador de la estabilidad de la proteína. En otra realización, la estabilidad de la composición de proteína puede medirse utilizando los métodos de análisis conocidos por los expertos en la técnica mediante la determinación del % de proteína intacta, por ejemplo, por escisión proteolítica, ensayo basado en células. En una realización adicional, la estabilidad de la composición de proteínas se determinó mediante el empleo de un ensayo de hemidiafragma de ratón-(HDA-ensayo). En una realización de la presente invención, el HDA-ensayo se emplea para determinar la estabilidad de las composiciones reivindicadas en el presente documento. Los resultados se demuestran cuando se mide la potencia en un ensayo de HDA.

El HDA-ensayo se lleva a cabo tal como se define por Göschel et al. ("Botulinum Toxin Therapy: Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies - Therapeutic Consequences" Experimental Neurology, 1997; 147: 96-102).

La presente invención se refiere además a una composición que comprende dicha formulación y un péptido, una proteína o una mezcla de los mismos, siendo de origen natural o modificado/artificial. La modificación comprende, por ejemplo, la modificación química por glicosilación, acetilación, acilación o similar, que puede ser, por ejemplo, beneficiosa para la absorción o la estabilidad de la proteína. La cadena polipeptídica de la proteína puede, sin embargo, ser modificada de forma alternativa o adicionalmente por adición, sustitución o deleción de uno o más residuos de aminoácidos.

El término "péptido", en el sentido de la presente invención, se refiere a polímeros cortos formados mediante la unión, en un orden definido, de alfa-aminoácidos.

El término "proteína", tal como se usa en el presente documento se refiere a compuestos de aminoácidos dispuestos en una cadena lineal y unidos entre sí por enlaces peptídicos entre los grupos carboxilo y amino de los residuos de aminoácidos adyacentes. El término "proteína" se usa como sinónimo del término "polipéptido". Las proteínas de acuerdo con la presente invención pueden ser artificiales o naturales.

La proteína activa o péptido en la formulación reivindicada en la presente memoria puede ser artificial/modificado o de origen natural.

La expresión "proteína artificial" en el sentido de la presente invención se refiere a proteínas modificadas. La expresión "proteína modificada" abarca todas las modificaciones posibles conocidas por el experto en la técnica, por ejemplo modificación química y eliminación.

El término "natural" en el sentido de la presente invención se refiere a proteínas o péptidos que se encuentran de forma natural en el organismo mamífero.

En una realización de la presente invención, dicha proteína se selecciona del grupo que consiste en toxinas, elastina, actina, miosina, aprotinina, hormona del crecimiento, factor de liberación de la hormona de crecimiento, hormona paratiroidea, hormona estimulante del tiroides, lipoproteínas (LDL, IDL, VLDL, VHDL, HDL), las apolipoproteínas (ApoA-1, ApoA-II, ApoA-IV, apoC-I, apoC-II, apoC-III, ApoD, ApoE), α-1-antitripsina, insulina, proinsulina, la hormona estimulante del folículo , calcitonina, oxitocina, vasopresina, acetato de leuprolida, somatostatina, hormona luteinizante, glucagón, factores de coagulación, factores anti-coagulantes, activador del plasminógeno, proteína inflamatoria de macrófagos humana, factor de crecimiento vascular de endotelina (VEGF), factores reumatoides, factor neurotrófico derivado del hueso (BDNF), factor de crecimiento nervioso-β (NGF-β), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante (TGF-β1, TGF-β2, TGF- β3, TGF-β4, TGF-β5), eritropoyetina, interleucinas (de IL-1 a IL-10), proteína morfogénica ósea (BMP) la hormona paratiroidea, DNAsa, ferritina catiónica, el interferón (α, β, γ) y mezclas de los mismos.

En otra realización de la presente invención, dicha proteína es una toxina. En una realización adicional de la presente invención, dicha toxina es una toxina botulínica, una toxina de la difteria o una toxina del tétanos, o una mezcla de dos o más de los mismos.

En una realización de la presente invención la proteína en dicha composición es la toxina botulínica.

En una realización adicional de la presente invención, dicha toxina botulínica se selecciona del grupo que consiste en tipo A, B, C, C1, D, E, F y G. En otra realización de la presente invención, dicha toxina botulínica es del tipo A. En una realización adicional de la presente invención, dicha proteína es el componente neurotóxico de la toxina botulínica tipo A.

La expresión "toxina botulínica" como se usa en toda la presente solicitud, se refiere al componente neurotóxico

desprovisto de cualesquiera otras proteínas clostridiales, sino también al complejo de toxina botulínica". La expresión "toxina botulínica" se usa en el presente documento en los casos cuando no es necesaria o no se desea ninguna discriminación entre el complejo de toxina y el componente neurotóxico. "BoNT" o "NT" son abreviaturas comúnmente usadas.

El "componente neurotóxico" del complejo de toxina botulínica se forma inicialmente como una única cadena polipeptídica, que tiene en el caso del serotipo A un peso molecular de aproximadamente 150 kDa. En otros serotipos el componente neurotóxico se ha observado que varía entre aproximadamente 145 y aproximadamente 170 kDa, dependiendo de la fuente bacteriana. En el caso del serotipo A, por ejemplo, el procesamiento proteolítico de los polipéptidos da como resultado un polipéptido activado en forma de un polipéptido de cadena doble que consiste en una cadena pesada y una cadena ligera, que están unidos por un enlace disulfuro. En los seres humanos, la cadena pesada media la unión a terminales nerviosos colinérgicos pre-sinápticos y la internalización de la toxina en la célula. La expresión componente neurotóxico" también incluye homólogos funcionales que se encuentran en los otros serotipos de Clostridium botulinum. En una realización de la presente invención, el componente neurotóxico está desprovisto de cualquier otra proteína botulínica C, por ejemplo, también desprovista de ARN, lo que potencialmente podría estar asociado con el componente neurotóxico. El componente neurotóxico puede ser la proteína precursora de cadena única de aproximadamente 150 kDa o el componente neurotóxico proteolíticamente procesado, que comprende la cadena ligera (Lc) de aproximadamente 50 kDa y la cadena pesada (Hc) de aproximadamente 100 kDa, que pueden estar unidas por uno o más enlaces disulfuro (para una revisión véase, por ejemplo, Simpson LL, Ann Rev Pharmacol Toxicol. 2004, 44:167-93). En los seres humanos, la cadena pesada media la unión a terminales nerviosos colinérgicos pre-sinápticos y la internalización de la toxina en la célula. La cadena ligera se cree que es responsable de los efectos tóxicos, en calidad de cinc-endopeptidasa y escindiendo proteínas específicas responsables de la fusión de la membrana (complejo SNARE) (véase, Montecucco C., Shiavo G., Rosetto O: The mechanism of action of tetanus and Botulinum neurotoxins. Arch Toxicol. 1996, 18 (Suppl.): 342-354)).

La subunidad del complejo neurotóxico de la toxina botulínica se denomina en este documento el "componente neurotóxico" o el "componente neurotóxico sin proteínas complejantes". La producción del componente neurotóxico de la toxina botulínica de tipo A y B se describe, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional WO 00/74703.

En una realización adicional, la toxina botulínica es la toxina botulínica tipo A. En una realización, dicha toxina botulínica está libre de cualquier proteína complejante (componente neurotóxico). En una realización adicional es el componente puro neurotóxico serotipo A. Además de esto, los componentes neurotóxicos modificados, así como recombinantes producidos de las toxinas botulínicas, incluyendo las respectivas mutaciones, deleciones, etc., están también dentro del alcance de la presente invención. Además, dentro de la presente invención, se pueden usar mezclas de diferentes serotipos (en forma del componente neurotóxico o forma recombinante o ambas formas de la misma, por ejemplo mezclas de neurotoxinas botulínicas de los tipos A y B). La presente invención, sin embargo, también se refiere a toxinas, por ejemplo, toxinas botulínicas, que se modifican químicamente, por ejemplo, por pegilación, glicosilación, sulfatación, fosforilación o cualquier otra modificación, en particular, de uno o más aminoácido(s) expuestos a la superficie o al disolvente. Tales toxinas botulínicas se describen, por ejemplo, en el documento EP 08015288.7 y la técnica anterior descrita en la misma.

De acuerdo con la enseñanza de la presente invención, también abarca que el medicamento no contiene proteínas que se encuentran en el complejo de toxina botulínica que no sea el componente neurotóxico.

La toxina botulínica, preferiblemente el componente neurotóxico denominado en este documento, puede ser el único componente activo o puede contener componentes farmacéuticamente activos adicionales.

En una realización la composición se liofiliza.

En una realización de la presente invención, las composiciones líquidas se pueden llenar en lio-viales y posteriormente ser liofilizadas. La liofilización de las muestras se lleva a cabo mediante la congelación de las muestras a temperaturas entre -35°C y -65°C durante un periodo de 1 a 10 horas, por ejemplo, de 5 a 10 horas. Este paso es seguido por un secado primario a una temperatura de almacenamiento de -30°C a 10°C, por ejemplo, -20°C a 10°C o 5°C a 10°C bajo una presión de 100 Torr (13,3 KPa) a 200 Torr (26,7 KPa) durante un período de 10 horas a 25 horas. Finalmente, las muestras entran en el último paso del proceso de liofilización, que es el secado secundario, que se realiza a una temperatura de almacenamiento de 15°C a 25°C durante 5 horas a 15 horas. El volumen de la muestra en los lio-viales varía entre 0,1 a 5 ml, por ejemplo de 0,2 a 1 ml o de 0,4 a 0,6 ml o 0,5 ml. En una realización, el volumen de la muestra está entre 2 ml y 4 ml.

En una realización adicional de la presente invención, el proceso de liofilización puede llevarse a cabo mediante la congelación de las muestras a una temperatura de almacenamiento de -45°C durante aproximadamente 2 horas seguido de secado primario a una temperatura de los estantes de -25°C y 90 mTorr (12 Pa) durante 12 horas, y secado secundario a una temperatura de almacenamiento de 25°C durante 12,5 horas.

En una realización se reivindica una solución inyectable que comprende dicha composición.

La solución inyectable que se reivindica en este documento es estable a una temperatura de 2-8°C durante 24

horas.

En una realización, dicha solución inyectable se obtiene mediante la reconstitución de dicha composición liofilizada con un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable antes de la administración a un mamífero.

En una realización adicional, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de dicha solución inyectable diseñada para la inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular, intra-articular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intracardíaca, intratecal, intravesical, intraósea, intravítrea, epidural, intrasinovial en un mamífero. Dicho procedimiento comprende la etapa de disolver dicha composición liofilizada como se reivindica en este documento, antes de la administración, en un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

En otra realización de la presente invención, dicha solución inyectable se administra también a través de otras vías de administración. Tales vías de administración son, pero no se limitan a, inhalación, oral y nasal. Un ejemplo para una aplicación de este tipo es, pero no limitado a, por ejemplo, la inhalación de α-1-antitripsina por los pacientes con EPOC en forma de una solución inyectable como se reivindica en el presente documento.

La composición según se reivindica en el presente documento es para su uso como un medicamento, un producto cosmético, un producto cosmecéutico o un producto de diagnóstico.

El término "medicamento", como se usa en el presente documento se refiere a un producto o una mezcla de productos, en el que dichos productos pueden ser mezclados antes de la administración o ser utilizados uno tras otro y tener un resultado terapéutico y/o diagnóstico en el mamífero en el que se administra.

La expresión "producto cosmético, como se usa en el presente documento, se refiere a productos empleados para fines cosméticos. El término "cosmético", como se usa en el presente documento se refiere a los productos definidos en la Ley FD&C, sec. 201 (i) (*Federal Food, Drug and Cosmetic Act, FDA*) pretendidos para ser frotados, vertidos, rociados, o pulverizados, introducidos o aplicados de otro modo al cuerpo humano para limpiar, embellecer, promover el atractivo, o alterar la apariencia".

La expresión "producto de diagnóstico", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier producto que comprende cualquier compuesto o compuestos que se administra a un paciente con el fin de llevar a cabo una prueba de diagnóstico o de ensayo en el paciente.

La expresión "producto cosmecéutico", como se usa en el presente documento, se refiere a un producto cosmético no sujeto a prescripción, que también tiene beneficios medicinales o similares a los fármacos.

En una realización de la presente invención, la formulación reivindicada en la presente memoria puede comprender un tampón.

El término "tampón", como se utiliza en este documento, se refiere a una solución acuosa que consiste en una mezcla de un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado.

En una realización adicional de la presente invención, el tampón se selecciona del grupo que consiste en tampón de fosfato, tampón acetato, tampón citrato, tampón formiato, tampón benzoato, TRIS (tris(hidroximetil)-aminometano) y tampón de maleato. Dicho tampón es preparado de acuerdo con las especificaciones de la USP (Farmacopea de Estados Unidos), EP (Farmacopea Europea) y Japón (Farmacopea Japonesa) mediante el uso de excipientes conformes a la Farmacopea. La concentración de tampón se ha de determinar en relación con el pH del producto final.

Los excipientes y los ingredientes activos (péptidos y/o proteínas) empleados en la formulación en el presente documento son farmacéuticamente aceptables.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en este documento, se refiere a cualquier excipiente, ingrediente farmacéuticamente activo, que permita que la dicha composición sea tomada por mamíferos a una concentración terapéuticamente eficaz, evitando cualquier tipo de efectos secundarios.

En un aspecto la presente invención se refiere a un kit que comprende uno o más recipientes que comprenden la formulación/composición y las instrucciones de uso de la formulación/composición y, opcionalmente, un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

El término "disolvente", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier líquido que ayude a disolver o diluir cualquier otra sustancia o mezcla de sustancias o producto. El término "disolvente", en el sentido de la presente invención, puede abarcar también una mezcla de disolventes.

El disolvente estéril farmacéuticamente aceptable que se emplea dentro de dicho proceso es, pero no está limitado a, agua para inyección (WFI), solución salina isotónica, solución de Ringer, solución de pH tamponado, una solución acuosa de 5% de glucosa.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición estéril.

El término "estéril", como se utiliza en este documento, se refiere a la ausencia de microorganismos no deseados y se refiere a las normas definidas en la USP (Farmacopea de Estados Unidos), EP (Farmacopea Europea) y la JP (Farmacopea Japonesa).

En una realización, la composición es no pirógena, por ejemplo, contiene 1 UE (unidad de endotoxina, una medida estándar) por dosis, y preferiblemente 0,1 UE por dosis. En una realización adicional, dicha solución inyectable también es estéril y no pirogénica.

En una realización de la presente invención, dicha composición es para uso en los vertebrados, tales como mamíferos.

El término "vertebrado" se define en este documento como cualquier miembro del subfilo Vertebrata, cordados con esqueleto o columna vertebral. Por lo tanto el término "vertebrado" incluye seres humanos, mamíferos, marsupiales, reptiles, aves, anfibios y peces.

El término "mamífero" en este documento se define como cualquier vertebrado de sangre caliente caracterizado por la presencia de glándulas sudoríparas, incluyendo glándulas productores de leche, y por la presencia de pelo, tres huesos del oído medio utilizados en el oído, y una región neocórtex en el cerebro. Por tanto, un hombre o una mujer humana, perro, gato, cerdo, vaca, caballo, burro, oveja, cabra y ciervo son abarcados por esta definición de mamífero.

El término "marsupial" se define en este documento como un mamífero en el que la hembra tiene típicamente una bolsa en la que se aloja su cría a lo largo de la primera infancia. Se diferencian de los mamíferos placentarios en sus aspectos reproductivos.

El término "reptil" se define en este documento como cualquier vertebrado ectotérmico de respiración aérea que tiene cubierta la piel de escamas en lugar de pelo o plumas.

El término "ave" se define en este documento como cualquier vertebrado bípedo, de sangre caliente que pone huevos.

El término "anfibio" se define en este documento como todos los tetrápodos vivientes (vertebrados de cuatro patas) que no tienen huevos amnióticos, son ectotérmicos y generalmente pasan parte de su tiempo en la tierra.

El término "pez" se define en este documento como los vertebrados acuáticos que son típicamente ectotérmicos, cubiertos de escamas, y equipados con dos juegos de aletas emparejadas y de varias aletas impares.

Los valores de concentración en el presente documento se expresan en valores de "aproximadamente".

El término "aproximadamente" como se usa en este documento pretende reflejar una variación del 20% del valor al que está asociado.

La presente invención se refiere además a un procedimiento para preparar dicha composición caracterizada porque dicha composición se prepara como una composición acuosa y posteriormente se liofiliza.

Antes de la liofilización, la proteína o el péptido se disuelven en una solución acuosa, que se estabiliza mediante un polímero hidrófilo, una mezcla de polialcohol y un azúcar, un detergente. La estabilización de la proteína en solución significa que la proteína está envuelta por una estructura compuesta de polímero hidrófilo, un detergente y una mezcla de polialcohol y azúcar.

Mediante el uso de un detergente, es posible reducir la cantidad de polímeros hidrófilos. En una realización, mediante el uso de Tween 80 la concentración de PVP se redujo de 150 mg/g a 80 mg/g basado en el peso total de la composición en masa de producción. Debido a tal efecto, en el presente documento se mejoró la producción industrial de la composición.

En una realización de la presente invención la composición de la presente invención comprende el componente neurotóxico de la toxina botulínica en una cantidad de aproximadamente 2 pg a 50 ng por 1 g de la composición en masa de producción. Los intervalos de cantidad preferidos están en el intervalo de 2 pg a 200 pg, 200 pg a 400 pg, 400 pg a 600 pg, 600 pg a 800 pg, 800 pg a 1 ng, 1 ng a 1,5 ng, 1,5 ng a 2 ng , 2 ng a 2,5 ng, 2,5 ng a 3 ng, 3 a 3,5 ng, 3,5 a 4 ng, 4 ng a 4,5 ng, y 4,5 a 5 ng por 1 g de agua, respectivamente por 1 g de composición en masa de producción. En una realización de la presente invención, el componente neurotóxico tiene una actividad biológica de 50 a 250 unidades DL50 por ng componente neurotóxico, como se determina en un ensayo LD50 ratón. En una realización adicional, el componente neurotóxico tiene una actividad biológica de aproximadamente 150 LD50 por ng componente neurotóxico.

Lo siguiente demuestra algunas realizaciones de las composiciones estables, como se reivindica en el presente documento, en el que las cantidades de los componentes especificados son todos con respecto a 1 g de composición en masa de producción.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 0,5 mg de ácido hialurónico, aproximadamente 15,0 mg de manitol, aproximadamente 5,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,1 mg de Polisorbato 80.

En otra realización de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 1,0 mg de ácido hialurónico, aproximadamente 30,0 mg de manitol, aproximadamente de 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,2 mg de Polisorbato 80.

En otra realización de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 2,0 mg de ácido hialurónico, aproximadamente 40,0 mg de manitol, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,5 mg de Polisorbato 80.

En otra realización de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 2,0 mg de ácido hialurónico, aproximadamente 40,0 mg de manitol, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,2 mg de Polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 1,0 mg de ácido hialurónico, aproximadamente 40,0 mg de manitol, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,5 mg de Polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 1,0 mg de ácido hialurónico, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,2 mg de Polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 80,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 50 mg de manitol, y aproximadamente 0,2 mg de Polisorbato 80poli (ácidos carboxílicos.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 80,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 50 mg de manitol, y aproximadamente 0,5 mg de Polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 100,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 30,0 mg de manitol, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,2 mg de polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 80,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 30,0 mg de manitol, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,2 mg de polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, sobre 80,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 30,0 mg de manitol, aproximadamente de 10,0 mg de sacarosa aproximadamente 0,2 mg de Polisorbato 80 y unos 10 mM de tampón de fosfato (pH 7,4).

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 50,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 30,0 mg de manitol, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa aproximadamente 0,2 mg de Polisorbato 80 y aproximadamente 10 mM de tampón de fosfato (pH 7,4).

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 100,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 30,0 mg de manitol, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,5 mg de polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 100,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 50,0 mg de manitol, y aproximadamente 0,2 mg de Polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 100,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 50,0 mg de manitol, y aproximadamente 0,5 mg de Polisorbato 80.

En una realización adicional de la presente invención, la composición reivindicada en el presente documento

comprende ≤ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica, aproximadamente 150,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP), aproximadamente 30,0 mg de manitol, aproximadamente 10,0 mg de sacarosa y aproximadamente 0,2 mg de polisorbato 80.

La composición que se reivindica en el presente documento es para el tratamiento de una enfermedad o condición causada o asociada con la inervación colinérgica hiperactiva de los músculos o las glándulas exocrinas en un paciente, donde el componente neurotóxico bloquea la secreción de acetilcolina en la hendidura sináptica. Por lo tanto, la composición reivindicada por la presente invención puede estar dirigida al tratamiento de cualquiera de las siguientes indicaciones, la mayoría de los cuales se describen en detalle en Dressler D (2000) (Botulinum Toxin Therapy. Thieme Verlag, Stuttgart, New York):

distonía

- distonía craneal
  - blefaroespasmo
  - distonía oromandibular
    - Tipo de apertura de la mandíbula
    - Tipo de cierre de la mandíbula
  - bruxismo
  - Síndrome de Meige
  - distonía lingual
  - apraxia de la apertura palpebral
- distonía cervical
  - antecolis
  - retrocolis
  - laterocolis
  - tortícolis
- distonía faríngea
- distonía laríngea
  - disfonía espasmódica/tipo aductor
  - disfonía espasmódica/Tipo secuestrador
  - disnea espasmódica
- distonía de extremidad
  - distonía de brazo
    - distonía específica de tarea
      - calambre del escritor
      - calambres del músico
      - calambre del golfista
    - distonía de pierna
      - aducción de muslo, abducción del muslo
      - flexión de la rodilla, extensión de la rodilla
      - flexión del tobillo, extensión del tobillo
      - deformidad en equino

distonía de pies
dedo del estriado
flexión del dedo del pie
extensión del dedo del pie
distonía axial
síndrome de Pisa
distonía de danza del vientre
distonía segmentaria
hemidistonía
distonía generalizada
distonía en Lubag
distonía en la degeneración corticobasal
distonía en Lubag
distonía tardía
distonía en la ataxia espinocerebelosa
distonía en la enfermedad de Parkinson
distonía en la enfermedad de Huntington
distonía en la enfermedad de Hallervorden Spatz
discinesias inducidas por dopa/distonía inducida por dopa
discinesias tardías/distonía tardía
discinesias paroxísticas/distonías
cinesiogenica
no cinesiogenica
inducido por la acción
mioclono palatino
mioclono
mioquimia
rigidez
calambres musculares benignos
temblor hereditario de la barbilla
actividad muscular de la mandíbula paradójica
espasmos hemimasticatorios
miopatía branquial hipertrófica
hipertrofia maseterina
hipertrofia anterior tibial
nistagmo
oscilopsia

parálisis visual supranuclear

epilepsia parcial continua

planificación de la operación tortícolis espasmódica

paralisis de las cuerdas vocales en abducción

disfonía mutacional recalcitrante

disfunción del esfínter esofágico superior

granuloma del pliegue vocal

tartamudeo

síndrome de Gilles de la Tourette

mioclono del oído medio

cierre de la laringe protectora

pérdida de voz después de laringectomía

ptosis protectora

entropión

disfunción del esfínter de Oddi

seudoacalasia

trastornos motores esofágicos sin acalasia

vaginismo

inmovilización postoperatoria

temblores

disfunción de la vejiga

- disinergía detrusor-esfínter
- espasmo de vejiga-esfínter

espasmo hemifacial

discinesias de reinervación

uso cosmético

- patas de gallo
- fruncimiento de ceño
- asimetrías faciales
- hoyuelos en la barbilla

síndrome de la persona rígida

tétanos

hiperplasia de próstata

tratamiento de adiposidad

parálisis cerebral infantil

estrabismo

- mixto

- paralítico
- concomitante
- desprendimiento de retina después de la cirugía
- cataratas después de la cirugía
- en afaquia
- estrabismo miosítico
- estrabismo miopático
- desviación vertical disociada
- como un complemento de la cirugía de estrabismo
- endotropia
- exotropía

acalasia

fisuras anales

hiperactividad de la glándula exocrina

- Síndrome de Frey
- síndrome de lágrimas de cocodrilo
- hiperhidrosis
  - axilar
  - palmar
  - plantar

rinorrea

hipersalivación relativa

- en el accidente cerebrovascular
- en el parkinson
- en la esclerosis lateral amiotrófica

estados espásticos

- en la encefalitis y mielitis
  - procesos autoinmunes
    - esclerosis múltiple
    - mielitis transversa
    - Síndrome de Devic
  - infecciones virales
  - infecciones bacterianas
  - infecciones parasitarias
  - infecciones por hongos
- en paraparesia espástica hereditaria
- síndrome postapopléctico

infarto hemisférico

infarto del tronco cerebral

infarto medular

en trauma del sistema nervioso central

lesiones hemisféricas

lesiones del tronco cerebral

lesión medular

en hemorragia del sistema nervioso central

hemorragia intracerebral

hemorragia subaracnoidea

hemorragia subdural

hemorragia intraespinal

en las neoplasias

tumores hemisféricos

tumores del tronco cerebral

tumores medulares

En otra realización, la presente invención se refiere a un kit, en el que dicho kit comprende uno o más de un recipiente que comprende la formulación/composición reivindicada en el presente documento, las instrucciones para la reconstitución de la formulación dicho/composición y opcionalmente, un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable. Los recipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a, viales individuales, viales de doble cámara, jeringas de una sola aplicación o jeringas de doble cámara. El recipiente puede estar formado a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico adaptado para la administración farmacéutica, diagnóstica, cosmética o cosmecéutica. Dicho kit se puede adaptar para un solo uso o para usos múltiples.

La invención se describe ahora con referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos se proporcionan con el propósito de ilustración solamente y la invención no debe interpretarse como limitada a estos ejemplos, sino más bien debe interpretarse para abarcar cualquiera y todas las variaciones que se hacen evidentes como resultado de la enseñanza proporcionada en este documento. Los siguientes materiales y métodos se proporcionan con respecto a los ejemplos siguientes, pero no limitan una multiplicidad de materiales y metodologías abarcados por la presente invención.

EJEMPLOS

Ejemplos:

Se realizaron estudios para encontrar una composición estabilizada de la toxina botulínica tipo A. Cada composición estaba compuesta de $\geq$ 1,6 ng componente neurotóxico de la toxina botulínica tipo A. La composición de las formulaciones de detección se resume en la siguiente tabla, donde las cantidades se dan como mg por 1 g de la composición en masa de producción.

Formulación No	PVP [mg/g]	Ácido hialurónico [mg/g]	Manitol [mg/g]	Sacarosa [mg/g]	Polisorbato 80 [mg/g]
Formulación Comparativa 1	100	-	50	-	0,5
Formulación Comparativa 2	-	1	30	10	-
Formulación Comparativa 3	-	-	30	10	0,2
Ejemplo 1	80	-	30	10	0,2
Ejemplo 2	-	2	40	10	0,5
Ejemplo 3	-	2	30	10	0,2
Ejemplo 4	-	1	30	10	0,2

Formulación No	Valor de inicio	40°C / 75 % de humedad relativa 1 Mes	40°C / 75 % de humedad relativa 3 Meses	40°C / 75 % de humedad relativa 7 Meses
	T1/2 [min]			
Formulación Comparativa 1	68	76	98	n.m.
Formulación Comparativa 2	138	110	n.m.	n.m.
Formulación Comparativa 3	96	n.m.	n.m.	n.m.
Ejemplo 1	67	72	87	90
Ejemplo 2	66	85	n.m.	n.m.
Ejemplo 3	69	78	n.m.	n.m.
Ejemplo 4	68	69	n.m.	67

n.m. = no medido

Formulación No	Valor de inicio	25°C / 60 % de humedad relativa 1 Mes	25°C / 60 % de humedad relativa 3 Meses	25°C / 60 % de humedad relativa 7 Meses
	T1/2 [min]			
Ejemplo 1	67	69	75	n.m.
Ejemplo 4	71	64	74	66

La estabilidad de las formulaciones se determinó mediante el uso de un HDA-ensayo como se define por Göschel et al. ("Botulinum Toxin Therapy: Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies - Therapeutic Consequences" Experimental Neurology, 1997; 147: 96-102). El valor inicial se midió después de la liofilización. La media de los cuatro experimentos se calcula y se compara con los datos generados por el material de referencia. El cambio de tiempo de parálisis sobre el tiempo de almacenamiento indica la estabilidad de la formulación de neurotoxina: el aumento de tiempo de parálisis de la muestra en comparación con los valores originales indica una pérdida de la actividad de la neurotoxina.

Los resultados se expresan en minutos requeridos para alcanzar la mitad de la fuerza de concentración muscular inicial. Los valores de tiempo más cortos reflejan una mayor cantidad de toxina activa. Los resultados pueden ser interpretados de la siguiente manera: En principio, las formulaciones de acuerdo con la presente invención son más estables en comparación con las formulaciones comparativas, en las que uno de los componentes necesarios falta.

Se hace evidente a partir de la Formulación Comparativa 1, en ausencia de sacarosa, que se puede preparar una formulación con una toxina activa, que, sin embargo, pierde rápidamente su actividad tal que en un plazo de 3 meses a 40°C y 75% de humedad relativa la actividad de la toxina se reduce significativamente. La Formulación Comparativa 2 muestra que en ausencia del detergente, la toxina pierde significativamente la actividad ya durante la producción, como se hace evidente a partir del valor de inicio alto de 138 min medido directamente después de la liofilización. La Formulación Comparativa 3 muestra que, en ausencia del polímero hidrófilo, la toxina pierde significativamente la actividad ya durante la producción, como se hace evidente a partir del valor de inicio alto de 96.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que está libre de albúmina de suero humano (HSA), gelatina, histidina, lisina, metionina o inmunoglobulinas, que comprende:

(a) un péptido, una proteína o una mezcla de los mismos,

(b) un polímero hidrófilo,

(c) una mezcla de un polialcohol y un azúcar, en donde la relación en peso del polialcohol frente al azúcar es de 2:1 a 5:1 (% en peso), y

(d) un detergente.

2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polímero hidrófilo se selecciona del grupo que consiste en ácido hialurónico, polivinilpirrolidona (PVP), copolímeros de N-vinilpirrolidona, un derivado de celulosa, en donde dicho derivado de celulosa se selecciona del grupo que consiste en hidroxipropil metil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxietil celulosa, metil celulosa y carboximetil celulosa, dextrano, polietileneglicol (PEG), copolímeros de bloque de PEG/PPG, homo- y copolímeros de ácido acrílico y metacrílico, poliuretanos, alcohol polivinílico, poliviniléteres, copolímeros a base de anhídrido maleico, poliésteres, vinilaminas, polietileniminas, polyethyleneoxides, poli (ácidos carboxílicos), poliamidas, polianhídridos, polifosfacenos, y mezclas de los mismos.

3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el polialcohol se selecciona del grupo que consiste en manitol, inositol, lactitol, isomalt, xilitol, eritritol, sorbitol, mezclas de los mismos.

4. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el azúcar se selecciona del grupo que consiste en monosacáridos, disacáridos, polisacáridos, mezclas de los mismos.

5. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones1 to 4, en donde la composición se liofiliza.

6. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha proteína farmacéuticamente activa se selecciona del grupo que consiste en toxinas, elastina, actina, miosina, aprotinina, hormona del crecimiento, factor de liberación de la hormona de crecimiento, hormona paratiroidea, hormona estimulante del tiroides, lipoproteínas (LDL, IDL, VLDL, VHDL, HDL), apolipoproteínas (ApoA-1, ApoA-II, ApoA-IV, ApoC-I, ApoC-II, ApoC-III, ApoD, ApoE), α-1-antitripsina, insulina, proinsulina, hormona estimulante del folículo, calcitonina, oxitocina, vasopresina, acetato de leuprolida, somatostatina, hormona luteinizante, glucagón, factores de coagulación, factores anti-coagulantes, activador del plasminógeno, proteína inflamatoria de macrófagos humana, factor de crecimiento de endotelina vascular (VEGF), factores reumatoides, factor neurotrófico derivado del hueso (BDNF), factor de crecimiento nervioso -β (NGF-β), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante (TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3, TGF-β4 , TGF-β5), eritropoyetina, interleucinas (IL-1 a IL-10), proteína morfogénica ósea (BMP) hormona paratiroidea, DNAsa, ferritina catiónico, interferón (α, β, γ) y mezclas de los mismos.

7. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones1 to 6, en donde la proteína se selecciona del grupo que consiste en toxina botulínica, toxina de la difteria, la toxina del tétanos y mezclas de las mismas.

8. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la composición comprende toxina botulínica, ácido hialurónico, manitol, sacarosa, polisorbato 80 y, opcionalmente, agua para inyección.

9. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la composición es en la forma de una solución inyectable.

10. El uso de una formulación para estabilizar péptidos, proteínas o mezclas de los mismos, en donde la formulación comprende:

(a) un polímero hidrófilo,

(b) una mezcla de un polialcohol y un azúcar, en donde la relación en peso del polialcohol frente al azúcar es de 2:1 a 5:1 (% en peso), y

(c) un detergente.

11. El uso de la formulación de acuerdo con la reivindicación 10, en donde la formulación comprende un polímero hidrófilo como se define en la reivindicación 2.

12. El uso de la formulación de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, en donde la formulación comprende un polialcohol como se define en la reivindicación 3 y/o un azúcar como se define en la reivindicación 4.

13. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso como un medicamento, un producto cosmecéutico o un producto diagnóstico.

14. El uso de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones1 to 9 como un producto cosmético.

15. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso en el tratamiento de una enfermedad o condición causada o asociada con la inervación colinérgica hiperactiva de los músculos o las glándulas exocrinas en un paciente.

16. Un kit, que comprende:

(a) uno o más recipientes que comprende la composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o la formulación que se define en cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12,

(b) instrucciones para el uso de dicha formulación y, opcionalmente,

(c) un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.