

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 617**

51 Int. Cl.:

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 47/14 (2007.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.10.2011 PCT/EP2011/005088**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2012 WO12048854**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.10.2011 E 11767935 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017 EP 2627318**

54 Título: **Formulación adecuada para estabilizar proteínas, que carece de excipientes de mamíferos**

30 Prioridad:

12.10.2010 US 404915 P
12.10.2010 EP 10013567

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.10.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 639 617 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 adecuada para estabilizar proteínas, que carece de excipientes de mamíferos

Campo de la invención

5 La presente invención concierne a una formulación para estabilizar proteínas, péptidos o mezclas de éstos cuando se produce en procesos de producción industrial a gran escala, en el que dicha formulación que carece de proteínas estabilizadoras. La presente invención se refiere además a un kit, en el que dicho kit comprende uno o más contenedores que comprenden una composición que comprende dicha formulación y una proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activos, instrucciones para uso y, opcionalmente, un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

10 Antecedentes de la invención

Las formulaciones de proteínas, que carecen de proteínas estabilizadoras se conocen en la técnica. WO 2006/020208 se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden toxina botulínica y un agente estabilizador no proteináceo, que retiene la actividad de la toxina botulínica en una disolución acuosa.

15 WO 2006/005910 se refiere a composiciones farmacéuticas sólidas o líquidas que comprenden complejo de toxina botulínica o toxina botulínica de alta pureza y un tensioactivo. En ella se reporta un máximo de seis meses de estabilidad a 23°C a 27°C.

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

20 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 potenciación de la permeabilidad de la piel del paciente.

WO 01/58472 describe una composición farmacéutica adecuada para inyección en un paciente humano, que comprende una toxina botulínica y un polisacárido. También describe una composición farmacéutica que comprende una neurotoxina e hidroxietil almidón.

25 WO 2006/079722 se refiere al uso de composiciones líquidas para implementar el método de liofilizar proteínas, para estabilizar dichas proteínas, comprendiendo dichas composiciones; un agente de relleno que tiene una temperatura de colapso entre -18°C y 0°C, un estabilizador, una disolución tampón, y, como puede ser el caso, un tensioactivo no iónico.

EP 2 248 518 también se refiere a composiciones estables que carecen de HSA.

30 US 2007/122476 A1 (Hanshaw Dwight D. JR. et al.), 31 de mayo de 2007, (31-05-2007) se refiere a una hormona tiroidea (tiroxina) estabilizada por una formulación que comprende celulosa microcristalina, manitol, sacarosa y lauril sulfato como un detergente.

WO 2007/041664 (Allergan, Inc.), 12 de abril de 2007 (12-04-2007), se refiere a una formulación liofilizada que comprende toxina botulínica, PVP, sacarosa o manitol y Poloxámero 188.

35 FR 2 881 139 (Agronomique Inst. Nat. Rech.), 28 de julio de 2006 (28-07-2006), se refiere a formulaciones que comprenden en un caso proteína, manitol, PVP y TRIS HCl; en otro caso proteína, glicina, PVP y TRIS HCl; y en un tercer caso proteína, maltodextrina, sacarosa, Polisorbato 80 y TRIS HCl.

40 La presente invención, sin embargo, se refiere a determinadas formulaciones que resultan en formulaciones incluso más estables que las hace especialmente adecuadas cuando se producen en procesos de producción industrial a gran escala.

Objetos de la invención

Un objeto de la presente invención fue proporcionar formulaciones nuevas para estabilizar proteínas, que carecen de proteínas estabilizadoras. Dichas formulaciones pueden formularse de manera que proporcionan una estabilidad superior a las proteínas, comparado con formulaciones de la técnica anterior.

45 Además, las formulaciones nuevas descritas en la presente memoria resultan en formulaciones estables cuando se producen en procesos de producción industrial a gran escala.

Resumen de la invención

50 En una realización, la presente invención engloba una composición que comprende (a) una proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activos, (b) una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que la relación en peso de polímero hidrofílico a detergente no iónico es de 18:1 a 22:1 (% en peso), y (c) 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), en el que la composición carece de albúmina de suero animal o humano, gelatina, aminoácidos seleccionados de histidina, lisina y metionina, y/o inmunoglobulinas.

5 El término "carece de proteínas" en la presente memoria más adelante se refiere a una formulación que carece de cualquier proteína y/o péptido que no es la proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activos. Más específicamente, se quiere decir que la formulación carece de las proteínas estabilizadoras siguientes: albúmina de suero animal o humano (HSA), gelatina, aminoácidos tales como histidina, lisina, metionina y/o inmunoglobulinas.

10 El término "una formulación que estabiliza proteínas, péptidos, o mezclas de éstos farmacéuticamente activos" en la presente memoria más adelante se refiere a una formulación que es capaz de estabilizar una proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activos. En ello, el término "estabilizar" se refiere a una elongación de la actividad farmacéutica de la proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activos, por ejemplo, la actividad DL₅₀ del componente neurotóxico de una toxina botulínica, cuando se compara con dicha proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activos sin ningún medio de estabilización, tal como HSA.

15 El término "composición farmacéutica" tal y como se usa en la solicitud objeto se refiere a la combinación de las formulaciones que carecen de proteínas y una proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activos.

20 En otra realización, la presente invención engloba una composición que comprende: (i) una proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activos, (ii) una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que el detergente no iónico está presente en dicha composición en una cantidad de entre 0,2 y 0,01 mg/g, y la relación en peso de polímero hidrofílico a detergente no iónico es de 2:1 a 30:1 (% en peso), y (iii) un azúcar, en el que no hay polialcohol presente y la composición carece de albúmina de suero animal o humano, gelatina, aminoácidos seleccionados de histidina, lisina y metionina, y/o inmunoglobulinas, y en el que una composición no es una composición que comprende $\leq 1,6$ ng de componente neurotóxico de toxina botulínica, 1,0 mg de ácido hialurónico, 10,0 mg de sacarosa y 0,2 mg de polisorbato 80.

25 En más realizaciones adicionales, el polímero hidrofílico mencionado anteriormente se selecciona del grupo que consiste en ácido hialurónico, polivinilpirrolidona (PVP), copolímeros de N-vinilpirrolidona, un derivado de celulosa, en el que dicho derivado de celulosa se selecciona del grupo que consiste en hidroxipropil metil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxietil celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa, dextrano, Polietilenglicol (PEG), copolímeros en bloque PEG/PPG, homo y copolímeros de ácido metacrílico y acrílico, poliuretanos, polivinil alcohol, poliviniléteres, copolímeros basados en anhídrido maleico, poliésteres, vinilaminas, polietileniminas, polietilénóxidos, poli(ácidos carboxílicos), poliamidas, polianhídridos, polifosfazenos, y mezclas de éstos.

En realizaciones adicionales, el polialcohol mencionado anteriormente se selecciona del grupo que consiste en manitol, inositol, lactilol, isomalt, xilitol, eritritol, sorbitol, y mezclas de éstos.

De nuevo en realizaciones adicionales, el azúcar mencionado anteriormente se selecciona del grupo que consiste en monosacáridos, disacáridos, polisacáridos, y mezclas de éstos.

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

En incluso una realización adicional, la composición mencionada anteriormente de la presente invención comprende una proteína farmacéuticamente activa que se selecciona del grupo que consiste en toxinas, condroitina, elastina, actina, miosina, aprotinina, hormona de crecimiento, factor liberador de hormona de crecimiento, hormona paratiroidea, hormona estimuladora de 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 estimuladora del folículo, calcitonina, oxitocina, vasopresina, acetato de leuprólido, somatostatina, hormona luteinizante, glucagones, factores de coagulación, factores anti-coagulación, activador de plasminógeno, proteína inflamatoria de macrófagos humanos, factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factores reumatoides, factor neurotrófico derivado de 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- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 4, TGF- β 5), eritropoyetina, interleuquinas (IL-1 a IL-10), proteína morfogénica de hueso (BMP) hormona paratiroidea, ADNasa, ferritina catiónica, interferón (α , β , γ) y mezclas de éstos. En una realización adicional más, la composición mencionada anteriormente comprende una proteína farmacéuticamente activa que se selecciona del grupo que consiste en toxina botulínica, toxina de la difteria, toxina del tétanos y mezclas de éstas. En realizaciones adicionales, la composición mencionada anteriormente comprende toxina botulínica, ácido hialurónico, manitol, sacarosa, polisorbato 80 y opcionalmente agua para inyección. En otra realización, dicha composición es una disolución inyectable.

55 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición que comprende un péptido o una proteína, o una mezcla de éstos, como se define en la presente memoria, para uso como un medicamento, un producto cosmético, un producto cosmocéutico o un producto de diagnóstico. En una realización adicional, dicha composición es adecuada para el tratamiento de una enfermedad o afección causada por o asociada con enervación colinérgica hiperactiva de músculos o glándulas exocrinas en un paciente.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un kit que comprende uno o más contenedores que comprenden las composiciones mencionadas anteriormente e instrucciones para uso de dicha composición, y opcionalmente un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

La presente invención concierne a una composición que comprende una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que la relación en peso entre el polímero hidrofílico y el detergente no iónico es de [18:1] a [22:1] (% en peso), por ejemplo, [18:1], [19:1], [20:1], [21:1] o [22:1]; 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] o [5:1] y en el que la formulación carece de proteínas estabilizadoras.

En otra realización, la composición comprende una mezcla entre un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que la relación en peso entre el polímero hidrofílico y el detergente no iónico es de [2:1] a [30:1] (% en peso), por ejemplo, [2:1], [3:1], [4:1], [6:1], [7:1], [8:1], [9:1], [10:1], [15:1], [20:1], [25:1] y [30:1]; y un azúcar, y en el que la formulación carece de proteínas estabilizadoras y polialcoholes, tales como manitol, inositol, lactilol, isomalta, xilitol, eritritol y sorbitol.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de una formulación para estabilizar proteínas, péptidos o mezclas de éstos farmacéuticamente activos, en el que la formulación comprende: (a) una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que el detergente no iónico está presente en dicha formulación en una cantidad de entre 0,2 y 0,01 mg/g, y la relación en peso de polímero hidrofílico a detergente no iónico es de 18:1 a 22:1 (% en peso), y (b) 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), en el que la formulación carece de albúmina de suero animal o humano, gelatina, aminoácidos seleccionados de histidina, lisina y metionina, y/o inmunoglobulinas.

En otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso de una formulación para estabilizar proteínas, péptidos o mezclas de éstos farmacéuticamente activos, en el que la formulación comprende (i) una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que el detergente no iónico está presente en dicha formulación en una cantidad de entre 0,2 y 0,01 mg/g, y la relación en peso de polímero hidrofílico a detergente no iónico es de 2:1 a 30:1 (% en peso), y (ii) un azúcar, en el que no hay polialcohol presente y la composición carece de albúmina de suero animal o humano, gelatina, aminoácidos seleccionados de histidina, lisina y metionina, y/o inmunoglobulinas, y en el que la composición no es una composición que comprende $\leq 1,6$ ng de componente neurotóxico de toxina botulínica, 1,0 mg de ácido hialurónico, 10,0 mg de sacarosa y 0,2 mg de polisorbato 80.

Descripción detallada de la invención

En la presente memoria se describe una formulación que comprende una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente, en el que la relación en peso entre el polímero hidrofílico y el detergente es de [18:1] a [22:1] (% en peso), por ejemplo, [18:1], [19:1], [20:1], [21:1] o [22:1]; 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] y en el que la formulación carece de proteínas estabilizadoras. El detergente es un detergente no iónico, a no ser que se afirme otra cosa.

En la presente memoria se describe además una formulación que comprende una formulación que carece de proteínas, en particular proteínas estabilizadoras, que es estable en procesos de producción a gran escala que comprende una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que la relación en peso entre el polímero hidrofílico y el detergente es 20:1 (% en peso), una mezcla de un polialcohol y un azúcar, en el que la relación en peso de polialcohol a azúcar es 3:1 (% en peso), y en el que el detergente no iónico está presente en dicha formulación en una cantidad de bien 0,2 ó 0,1 mg/g.

La formulación descrita en la presente memoria, en otra realización, comprende una mezcla entre polímero hidrofílico y un detergente, en el que la relación en peso entre el polímero hidrofílico y el detergente es de [2:1] a [30:1] (% en peso), por ejemplo, [2:1], [3:1], [4:1], [5:1] [6:1], [7:1], [8:1], [9:1], [10:1], [15:1], [20:1], [25:1] y [30:1]; y un azúcar, y en el que la formulación carece de proteínas estabilizadoras y polialcoholes, tales como manitol, inositol, lactilol, isomalta, xilitol, eritritol y sorbitol.

La composición que comprende $\leq 1,6$ ng de componente neurotóxico de toxina botulínica, 1,0 mg de ácido hialurónico, 10,0 mg de sacarosa y 0,2 mg de Polisorbato 80 se excluye.

En una realización, la presente invención concierne a una composición que comprende una de dichas formulaciones y un péptido, una proteína o una mezcla de éstos, naturales o modificados/artificiales.

El término "formulación" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a una mezcla que comprende excipientes farmacéuticamente aceptables y engloba formas líquidas, sólidas, semisólidas, coloidales y todas las demás formas conocidas para el experto en la técnica. Dicha formulación en la presente memoria carece de proteínas estabilizadoras.

El término "composición" o "composición farmacéutica" tal y como se usa en la presente invención se refiere a una formulación como se reivindica en la presente memoria que comprende además un péptido, una proteína o una mezcla de éstos.

- 5 La formulación descrita en la presente memoria comprende una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente, en el que la relación en peso entre el polímero hidrofílico y el detergente es de [18:1] a [22:1] (% en peso), por ejemplo, [18:1], [19:1], [20:1], [21:1] o [22:1].

El término "polímero" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a estructuras compuestas por unidades repetidas. El término "polímero" en el alcance de la presente invención se emplea tanto para homopolímeros como copolímeros.

- 10 El término "hidrofílico" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a sustancias, materiales, excipientes o ingredientes farmacéuticamente activos que se pueden humedecer con agua.

- 15 En una realización de la presente invención, el polímero hidrofílico se selecciona del grupo que consiste en ácido hialurónico, polivinilpirrolidona (PVP), copolímeros de N-vinilpirrolidona, derivados de celulosa, polietilenglicol (PEG), copolímeros en bloque PEG/PPG, homo- y copolímeros de ácido metacrílico y acrílico, poliuretanos, polivinil alcohol (PVA), poliviniléteres, copolímeros basados en anhídrido maleico, poliésteres, vinilaminas, polietileniminas, polietilénóxidos, poli(ácidos carboxílicos), poliamidas, polianhídridos, polifosfazenos y mezclas de éstos.

Dicho derivado de celulosa puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxipropil metil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxietil celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa, dextrano y mezclas de éstos.

- 20 El término "polivinilpirrolidona" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a un polímero soluble en agua preparado a partir del monómero N-vinilpirrolidona. Los términos y abreviaturas "PVP, povidona, polividona, crospovidona, Kollidona" se usan de forma sinónima.

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 éstos.

- 25 El término "ácido hialurónico" en el significado 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 $1,2 \times 10^6$ Da. Además, en la presente invención también puede usarse ácido hialurónico entrecruzado. El término "ácido hialurónico" se usa de forma sinónima con el término "hialuronano". En la presente invención, el término "ácido hialurónico" también engloba derivados de ácido hialurónico, tales como sales de éste, por ejemplo, sales de sodio, potasio, magnesio y calcio. Además, el término "ácido hialurónico" engloba todos los derivados naturales y sintéticos de éste. Es una molécula que tiene típicamente un peso molecular de 10kDa y $4,5 \times 10^6$ Da.

La formulación descrita en la presente memoria comprende en una realización una mezcla de polialcohol y azúcar en una relación en peso de [2:1] a [5:1] (% en peso).

- 35 Con el término "polialcohol" tal y como se usa en la presente memoria se quiere decir un grupo de ingredientes basados en carbohidratos, que se emplean para proteger a la proteína frente a la inestabilidad. El término "poliol" y "azúcar alcoholes" se usan de forma sinónima. Los ejemplos para polialcoholes que se prevén en las composiciones de la invención son manitol, inositol, lactilol, isomalta, xilitol, eritritol y sorbitol.

- 40 El término "azúcar" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier monosacárido, disacárido y polisacárido. El término "monosacárido" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a las unidades básicas de carbohidratos. Todos los "monosacáridos" que se prevén por la presente invención tienen la fórmula $C_nH_{2n}O_n$ (n es entre 3 y 7). El término "disacárido" en el alcance de la presente invención se refiere a carbohidratos compuestos por dos monosacáridos. El término "polisacáridos" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a unidades repetidas de monosacáridos, en el que los monosacáridos están unidos con enlaces glicosídicos. Los ejemplos para azúcares como se prevén en las composiciones de la invención son glucosa, sacarosa, lactosa, dextrosa, maltosa y fructosa. Los mono- y disacáridos acíclicos contienen bien grupos aldehído o grupos cetona.

- 45 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, hidroxietil almidón e hidroxipropil almidón.

- 50 El término "mezcla" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a composiciones de naturaleza homogénea o heterogénea, en el que al menos dos sustancias de la misma o diferente composición o estructura se mezclan empleando los métodos y dispositivos conocidos para el experto en la técnica. El término "mezcla" en el alcance de la presente invención engloba mezclas en forma sólida, líquida y semisólida.

- 55 El término "mezclado" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a combinar al menos dos ingredientes activos o inactivos a varias proporciones. Mezclado se refiere a cualquier proceso o acción que combina también al

menos dos sustancias activas o inactivas diferentes del mismo grupo o de diferentes grupos, en cualquier orden secuencial. El término "mezclado" también describe cualquier proceso o acción que combina cualquier ingrediente activo con cualquier excipiente.

5 En la presente memoria se describe, en una realización, una formulación, en la que un polialcohol y un azúcar se mezclan para obtener una mezcla de polialcohol y azúcar en una relación 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].

10 Según una realización, 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, la mezcla de polialcohol y azúcar comprende manitol y sacarosa en una relación en peso de [3:1].

15 Dicho polialcohol y dicho azúcar pueden mezclarse usando mezcladores en V (mezcladores de doble cubierta), mezcladores de tambor giratorio, mezcladores de doble cinta, mezcladores de paletas, mezcladores de palas, mezcladores de doble cono. El experto en la técnica será capaz de seleccionar el mezclador correcto dependiendo de la escala de laboratorio o gran escala. El tiempo de mezclado dependerá del tamaño del lote, cualidad de excipientes, por ejemplo, tamaño de partícula del polvo y el tipo de mezclador.

La formulación descrita en la presente memoria también comprende un detergente.

20 El término "detergente" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier sustancia empelada para solubilizar o estabilizar otra sustancia, que puede ser bien un ingrediente farmacéuticamente activo u otro excipiente en una formulación. Dicho detergente puede estabilizar dicha proteína o péptido bien estéricamente o electrostáticamente. El término "detergente" se usa de forma sinónima con los términos "tensioactivos" o "agentes tensioactivos".

El detergente se selecciona del grupo que consiste en tensioactivos no iónicos.

El término "tensioactivos no iónicos" en el significado de la presente invención se refiere a tensioactivos que no tienen carga positiva o negativa.

25 Según un aspecto, dichos tensioactivos no iónicos pueden ser ésteres de sorbitán (monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, monoestearato de sorbitán, tristearato de sorbitán, monooleato de sorbitán, trioleato de sorbitán), polisorbatos (polioxietilen (20) monolaurato de sorbitán (Polisorbato 20), polioxietilen (20) monopalmitato de sorbitán, polioxietilen (20) monoestearato de sorbitán, polioxietilen (20) tristearato de sorbitán, polioxietilen (20) trioleato de sorbitán, polioxietilen (20) monooleato de sorbitán (Tween 80 / Polisorbato 80)), poloxámeros (poloxámero 407, poloxámero 188), cremofor, y mezcla de éstos.

30 En una realización, la concentración del detergente no es más de 0,2 mg/g sobre la base del peso total de la composición a granel de la producción, es decir, la cantidad total de la formulación de la invención, el péptido o proteína que se va a estabilizar y el disolvente estéril añadido para inyección, típicamente agua o una disolución salina isotónica. En una realización adicional, la concentración del detergente es entre 0,1 mg/g y 0,2 mg/g sobre la base del peso total de la composición a granel de la producción. En otra realización, el detergente empelado es Polisorbato 80 y la concentración de éste es en una realización 0,2 mg/g y en otra realización 0,1 mg/g sobre la base del peso total de la composición a granel de la producción. En ninguna de las realizaciones, la concentración del detergente está por debajo de 0,01 mg/g.

40 Se ha encontrado que una reducción en la concentración del detergente por debajo de 0,2 mg/g resulta en el descubrimiento sorprendente de una estabilidad incrementada de la neurotoxina, mientras la ausencia completa de detergente convierte a la formulación de nuevo es menos estable. La formulación más estable por lo tanto puede encontrarse entre 0,01 mg/g y 0,2 mg/g, en algunas realizaciones a 0,1 mg/g.

Además, la relación entre el polímero hidrofílico y un detergente, así como la presencia o ausencia de un polialcohol es importante para la estabilidad de la composición.

45 Si está presente un polialcohol tal como manitol, la relación en peso entre el polímero hidrofílico y el detergente es de [18:1] a [22:1] (% en peso), por ejemplo, [18:1], [19:1], [20:1], [21:1] o [22:1].

50 Si está ausente el polialcohol, la formulación comprende una mezcla entre polímero hidrofílico y un detergente, en el que la relación en peso entre el polímero hidrofílico y el detergente es de [2:1] a [30:1] (% en peso), por ejemplo, [2:1], [3:1], [4:1], [6:1], [7:1], [8:1], [9:1], [10:1], [15:1], [20:1], [25:1] y [30:1]. La composición que comprende $\leq 1,6$ ng de componente neurotóxico de toxina botulínica, 1,0 mg de ácido hialurónico, 10,0 mg de sacarosa y 0,2 mg de Polisorbato 80 se excluye.

El término "composición a granel de la producción" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a la composición que existe antes de rellenar la composición en dosis unitarias individuales.

En una realización, el polímero hidrofílico empleado es ácido hialurónico y el detergente empleado es Polisorbato 80, En una realización adicional, el polímero hidrofílico empleado es ácido hialurónico y el detergente empleado es Polisorbato 20. En una realización adicional, el polímero hidrofílico empleado es polivinilpirrolidona (PVP) y el detergente empleado es Polisorbato 80.

5 La formulación descrita en la presente memoria carece de proteínas estabilizadoras.

El término "carece de proteínas estabilizadoras" en el significado de la presente invención se refiere a formulaciones que carecen de péptidos o proteínas que estabilizan el péptido o proteína activo. Los ejemplos de dichos excipientes son, pero no están limitados a, albúmina de suero humano (HSA), gelatina, aminoácidos tal como histidina, lisina, metionina o inmunoglobulinas.

10 La formulación descrita se usa para estabilizar proteínas, péptidos, o mezclas de éstos.

En un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición que comprende dicha formulación y un agente activo que puede ser una proteína, un péptido, natural o modificado/artificial o una mezcla de éstos

15 El término "composición estable" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a una composición, en la que la proteína o péptido retiene después de almacenamiento durante al menos 4 semanas a temperatura ambiente, 60% RH su estabilidad física y química e integridad hasta 50%, 60%, 70%, 80% y 90% comparado con el valor medido después de liofilización, lo que significa antes del almacenamiento.

20 En una realización adicional, la composición de la invención está compuesta de manera que la proteína o péptido retiene después de almacenamiento durante al menos 6 meses a temperatura ambiente, 60% RH su estabilidad física y química e integridad hasta 50%, 60%, 70%, 80% y 90% comparado con el valor medido después de liofilización, lo que significa antes del almacenamiento.

En una realización adicional más, la composición de la invención está compuesta de manera que la proteína o péptido retiene después de almacenamiento durante al menos 12 meses a temperatura ambiente, 60% RH su estabilidad física y química e integridad hasta 50%, 60%, 70%, 80% y 90% comparado con el valor medido después de liofilización, lo que significa antes del almacenamiento.

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

30 El término "temperatura ambiente" también designado como RT (o temperatura ambiente) en el significado de la presente invención, se refiere a la definición de la Farmacopea de los EEUU como que es 20-25°C [68-77°F].

El término "humedad relativa" también designado como RH en el significado 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 contener, a esta temperatura, expresado como porcentaje.

35 En un aspecto de la invención, dicha composición en la presente memoria es estable durante 7 meses a 25°C y 60% RH en forma liofilizada. En otro aspecto de la invención, dicha composición es estable durante 3 meses a 25°C y 60% RH en forma liofilizada. En un aspecto adicional de la invención, dicha composición es estable durante 2 meses a 25°C y 60% RH en forma liofilizada. En otro aspecto de la invención, dicha composición es estable durante 1 mes a 25°C y 60% RH en forma liofilizada.

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

45 En una realización de la presente invención, la estabilidad se mide midiendo el grado de agregación como una función del tiempo como un indicador de la estabilidad de las proteínas. En otra realización, la estabilidad de la composición de proteína puede medirse usando los métodos analíticos conocidos para el experto en la técnica mediante la determinación del % de proteína intacta, por ejemplo, escisión proteolítica, ensayo basado en células. En una realización adicional, la estabilidad de la composición de proteína se determinó empleando un ensayo de hemidiafragma en ratón (ensayo HDA). En una realización de la presente invención, el ensayo HDA se emplea para
50 determinar la estabilidad de las composiciones reivindicadas en la presente memoria. Los resultados se demuestran como la potencia medida en un ensayo HDA.

El ensayo HDA se lleva a cabo 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 concierne además a una composición que comprende dicha formulación y un péptido, una proteína o una mezcla de éstos, siendo natural o modificado/artificial. La modificación comprende modificación química, ejemplo, por glicosilación, acetilación, acilación o semejantes, que puede ser beneficiosa, por ejemplo, para la captación o estabilidad de la proteína. La cadena de polipéptido de la proteína puede modificarse, sin embargo, alternativamente o adicionalmente, por adición, sustitución o delección de uno o más residuos de aminoácidos.

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

El término "proteína" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a compuestos de aminoácidos organizados en una cadena lineal y unidos conjuntamente por enlaces peptídicos entre los grupos carboxilo y amino de residuos de aminoácidos adyacentes. El término "proteína" se usa de forma sinónima con el término "polipéptido". Las proteínas según la presente invención pueden ser artificiales o naturales.

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

El término "proteína artificial" en el significado de la presente invención se refiere a proteínas modificadas. El término "proteína modificada" engloba todas las posibles modificaciones conocidas para el experto en la técnica, por ejemplo, modificación química, delección.

El término "natural" en el significado de la presente invención se refiere a proteínas o péptidos encontrados naturalmente en un organismo mamífero.

En una realización de la presente invención, dicha proteína se selecciona del grupo que consiste en toxinas, condroitina, elastina, actina, miosina, aprotinina, hormona de crecimiento, factor liberador de hormona de crecimiento, hormona paratiroidea, hormona estimuladora de 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 estimuladora del folículo, calcitonina, oxitocina, vasopresina, acetato de leuprólido, somatostatina, hormona luteinizante, glucagones, factores de coagulación, factores anti-coagulación, activador de plasminógeno, proteína inflamatoria de macrófagos humanos, factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factores reumatoides, factor neurotrófico derivado de 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- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 4, TGF- β 5), eritropoyetina, interleuquinas (IL-1 a IL-10), proteína morfogénica de hueso (BMP) hormona paratiroidea, ADNasa, ferritina catiónica, interferón (α , β , γ) y mezclas de éstos.

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 difteria o una toxina de tétanos, o una mezcla de dos o más de éstas.

En una realización de la presente invención, la proteína en dicha composición es 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 tipo A. En una realización adicional de la presente invención, dicha proteína es el componente neurotóxico de la toxina botulínica tipo A.

El término "toxina botulínica" tal y como se usa a lo largo de la presente solicitud, se refiere al componente neurotóxico desprovisto de cualesquiera otras proteínas clostridiales, pero también al "complejo de toxina botulínica". El término "toxina botulínica" se usa en la presente memoria en casos en los que no es necesaria o deseada la discriminación entre el complejo de toxina y el componente neurotóxico. "BoNT" o "NT" son abreviaturas usadas comúnmente.

El "componente neurotóxico" del complejo de toxina botulínica se forma inicialmente como una única cadena de polipéptido, que tiene en el caso del serotipo A un peso molecular de aproximadamente 150 kDa. En otros serotipos, se ha observado que el componente neurotóxico varía entre aproximadamente 145 y aproximadamente 170 kDa, dependiendo de la fuente bacteriana. En el caso del serotipo A, por ejemplo, el procesamiento proteolítico del polipéptido resulta en un polipéptido activado en la forma de una dicadena de polipéptido que consiste en una cadena pesada y una cadena ligera, que están unidas por un enlace disulfuro. En los seres humanos, la cadena pesada media la unión a terminales nerviosas colinérgicas pre-sinápticas y la internalización de la toxina en la célula. El término "componente neurotóxico" también incluye homólogos funcionales encontrados en los otros serotipos de Clostridium botulinum. En una realización de la presente invención, el componente neurotóxico está desprovisto de cualquier otra proteína de C. Botulinum, por ejemplo, también desprovisto de ARN, que podría estar asociado potencialmente con el componente neurotóxico. El componente neurotóxico puede ser la proteína precursora de cadena única de aproximadamente 150kDa o el componente neurotóxico procesado proteolíticamente, que comprende la cadena ligera (Lc) de aproximadamente 50kDa y la cadena pesada (Hc) de aproximadamente 100kDa, 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 nerviosas colinérgicas pre-sinápticas y la internalización de la toxina en la célula. La cadena ligera se cree que es responsable de los efectos tóxicos, actuando como endopeptidasa de cinc y escindiendo proteínas específicas responsables de la fusión de membrana (complejo SNARE) (véase, por ejemplo, Montecucco C., Shiavo G., Rosetto O: The mechanism of action of tetanus and Botulinum neurotoxins. Arch Toxicol. 1996; 18 (Suppl.): 342-354)).

La subunidad neurotóxica del complejo de toxina botulínica se refiere en este documento como el "componente neurotóxico" o el "componente neurotóxico que carece de proteínas formadoras de complejo". La producción del componente neurotóxico de toxina botulínica 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 toxina botulínica tipo A. En una realización, dicha toxina botulínica carece de cualesquiera proteínas formadoras de complejo (componente neurotóxico). En una realización adicional, es el componente neurotóxico puro serotipo A. Además de esto, los componentes neurotóxicos modificados así como los producidos de forma recombinante de toxinas botulínicas incluyendo las mutaciones, deleciones, etc. respectivas también están en el alcance de la presente invención. Respecto a los mutantes adecuados, se hace referencia a WO 2006/027207 A1, WO 2009/015840 A1, WO 2006/114308 A1 y EP 08015287.9. Además, en la presente invención, pueden usarse mezclas de varios serotipos (en la forma de componente neurotóxico o forma recombinante o ambas formas de éstos, 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 están modificadas químicamente, por ejemplo, por pegilación, glicosilación, sulfatación, fosforilación o cualquier otra modificación, en particular, de uno o más aminoácidos de superficie o expuestos a disolvente). Dichas toxinas botulínicas se describen, por ejemplo, en EP 08015288.7 y la técnica anterior descrita en ella.

Según la enseñanza de la presente invención, también engloba que el medicamento no contiene proteínas encontradas en el complejo de toxina botulínica distintas del componente neurotóxico.

La toxina botulínica, preferiblemente el componente neurotóxico referido en la presente memoria, 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 pueden utilizarse para rellenas lio-viales y liofilizarse posteriormente. La liofilización de las muestras se lleva a cabo congelando las muestras a temperaturas entre -35°C a -65°C durante un periodo de 1 a 10 horas, por ejemplo, 5 a 10 horas. Esta etapa está seguida de secado primario a una temperatura de bandeja de -30°C a 10°C, por ejemplo, -20°C a 10°C ó 5°C a 10°C bajo una presión de 100 mTorr a 200 mTorr durante un periodo de 10 horas a 25 horas. Finalmente, las muestras entran en la última etapa del proceso de liofilización, que es secado secundario, que se lleva a cabo a una temperatura de bandeja 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, 0,2 a 1 ml ó 0,4 a 0,6 ml, ó 0,5 ml. En una realización, el volumen de la muestra es entre 2 ml a 4 ml.

En una realización adicional de la presente invención, el proceso de liofilización puede llevarse a cabo congelando las muestras a una temperatura de bandeja de -45°C durante aproximadamente 2 horas seguido de secado primario a una temperatura de bandeja de -25°C y 90 mTorr durante 12 horas, y secado secundario a una temperatura de bandeja de 25°C durante 12,5 horas.

En una realización, se reivindica una disolución inyectable que comprende dicha composición.

La disolución inyectable reivindicada en la presente memoria es estable a una temperatura de 2 a 8°C durante 24 horas.

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

Además, en la presente memoria se describe, en una realización adicional, un proceso para la preparación de dicha disolución inyectable diseñada para inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular, intra-articular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intracardiaca, intratecal, intravesical, intraósea, intravítrea, epidural, intrasinovial en un mamífero. Dicho proceso comprende la etapa de disolver dicha composición liofilizada como se reivindica en la presente memoria, antes de la administración, en un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, dicha disolución inyectable también se administra a través de otras rutas de administración. Dichas rutas de administración son, pero no están limitadas a, inhalación, oral y nasal. Un ejemplo para dicha aplicación es, pero no está limitado a, por ejemplo, la inhalación de α -1 Antitripsina por pacientes con COPD en la forma de una disolución inyectable como se reivindica en la presente memoria.

La composición como se reivindica en la presente memoria es para uso como un medicamento, un producto cosmético, un producto cosmocéutico o un producto de diagnóstico.

5 El término "medicamento" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a un producto o una mezcla de productos, en el que dichos productos pueden mezclarse antes de la administración o usarse uno después del otro y tener un resultado terapéutico y/o de diagnóstico en el mamífero al que se administran

10 El término "producto cosmético" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a productos empelados para propósitos cosméticos. El término "cosmético" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a productos como se definen en FD&C Act, sec. 201 (i) (*Federal Food, Drug y Cosmetic Act, FDA*) como se pretende que sean frotados, vertidos, esparcidos, o pulverizados en, introducidos en, o aplicados de otra manera en el cuerpo humano para limpieza, embellecimiento, estimular el atractivo, o alterar la apariencia".

El término "producto de diagnóstico" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier producto que comprende cualquier compuesto o compuestos que se administra a un paciente con el fin de llevar a cabo un ensayo de diagnóstico o prueba en el paciente.

15 El término "producto cosmocéutico " tal y como se usa en la presente memoria se refiere a un producto cosmético sin prescripción, que también tiene beneficios medicinales o semejantes a fármaco.

En una realización, la formulación descrita en la presente memoria puede comprender un tampón.

El término "tampón" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a una disolución acuosa que consiste en una mezcla de un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado.

20 En una realización adicional de la presente invención, el tampón se selecciona del grupo que consiste en tampón fosfato, tampón acetato, tampón citrato, tampón formato, tampón benzoato, TRIS (Tris-(hidroximetil)-aminometan) y tampón maleato. Dicho tampón se prepara según las especificaciones de USP (Farmacopea de los Estados Unidos), EP (Farmacopea Europea) y la JP (Farmacopea Japonesa) usando los excipientes según la Farmacopea. La concentración del tampón debe determinarse según el pH del producto final.

25 Los excipientes y los activos (péptidos y/o proteínas) empleados en la formulación descrita en la presente memoria son farmacéuticamente aceptables.

El término "farmacéuticamente aceptable" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier excipiente, ingrediente farmacéuticamente activo, que permite que dicha composición sea tomada por mamíferos a concentración terapéuticamente efectiva, evitando cualquier clase de efectos secundarios.

30 En un aspecto adicional, la presente invención concierne a un kit que comprende uno o más contenedores que comprenden la composición e instrucciones para uso de la composición y opcionalmente un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

El término "disolvente" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier líquido que ayuda en la disolución o dilución de cualquier otra sustancia o mezcla de sustancias o un producto. El término "disolvente" en el significado de la presente invención puede englobar también una mezcla de disolventes.

35 El disolvente estéril farmacéuticamente aceptable que se va a emplear en dicho proceso es, pero no está limitado a, agua para inyección (WFI), disolución salina isotónica, disolución de Ringer, disolución tamponada de pH, una disolución acuosa de glucosa al 5%.

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

40 El término "estéril" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a la ausencia de microorganismos no deseados y se refiere a las normas definidas en la USP (Farmacopea de los Estados Unidos), EP (Farmacopea Europea) y la JP (Farmacopea Japonesa).

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

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

El término "Vertebrado" se define en la presente memoria como cualquier miembro del subfílum vertebrata, cordados con columnas vertebrales o columnas espinales. Por lo tanto, el término "vertebrado" engloba seres humanos, mamíferos, marsupiales, reptiles, pájaros, anfibios y peces.

50 El término "mamífero" en este documento se define como cualquier vertebrado de sangre caliente, caracterizado por la presencia de glándulas sudoríparas, incluyendo glándulas que producen leche, y por la presencia de pelo, tres huesos de oído medio usados en audición, y una región de neocorteza en el cerebro. Un ser humano, perro, gato,

cerdo, vaca, caballo, burro, oveja, cabra y ciervo macho o hembra está, por lo tanto, englobado por esta definición de un mamífero.

5 El término "marsupial" se define en la presente memoria como un mamífero en el que la hembra típicamente tiene una bolsa en la que cría a su cría a través de la infancia temprana. Se diferencian de los mamíferos con placenta en sus rasgos reproductores.

El término "reptil" se define en la presente memoria como cualquier vertebrado que respira aire, ectotérmico que tiene piel cubierta por escamas a diferencia de pelo o plumas.

El término "pájaro" se define en la presente memoria como cualquier vertebrado bípedo, de sangre caliente que pone huevos.

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

El término "pez" se define en la presente memoria como vertebrados acuáticos que son típicamente ectotérmicos, cubiertos por escamas, y equipados con dos conjuntos de aletas emparejadas y varias aletas no emparejadas.

Los valores de concentración en la presente memoria se expresan en valores de "aproximadamente".

15 El término "aproximadamente" tal y como se usa en la presente memoria se pretende que refleje una variación de 20% del valor al que está unido.

En la presente memoria se describe además un proceso para preparar dicha composición caracterizado porque dicha composición se prepara como una composición acuosa y posteriormente se liofiliza.

20 Antes de la liofilización, la proteína o péptido se disuelve en una disolución acuosa, que se estabiliza por un polímero hidrofílico, una mezcla de polialcohol y un azúcar, un detergente. La estabilización de la proteína en disolución significa que la proteína está envuelta por una estructura compuesta por polímero hidrofílico, un detergente y una mezcla de polialcohol y azúcar.

25 Mediante el uso de un detergente, es posible reducir la cantidad de polímeros hidrofílicos. En una realización, mediante el uso de Tween 80 la concentración de PVP se redujo de 150 mg/g a 80 mg/g sobre la base del peso total de la composición a granel de la producción. Debido a dicho efecto, se mejoró la producción industrial de la composición en la presente memoria.

30 En una realización de la presente invención, la composición en la presente memoria comprende el componente neurotóxico de toxina botulínica en una cantidad de aproximadamente 2 pg a 50 ng por 1 g de composición a granel de la 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 a granel de la producción. En una realización de la presente invención, el componente neurotóxico tiene una actividad biológica de 50 a 250 unidades DL₅₀ por ng de componente neurotóxico, según se determina en un ensayo de DL₅₀ en ratón. En una realización adicional, el componente neurotóxico tiene una actividad biológica de aproximadamente 150 DL₅₀ por ng de componente neurotóxico. En una realización adicional, 1,6 ng de neurotoxina se refiere a 100 unidades de DL₅₀.

En algunas realizaciones, se prevé una actividad de partida de la formulación de 10 a 400 unidades DL₅₀, en realizaciones adicionales se prevé una actividad de partida de la formulación de 50 - 200 unidades DL₅₀, en una realización adicional 200 unidades DL₅₀ y en otra realización 100 unidades DL₅₀.

40 Lo siguiente demuestra algunas realizaciones de las composiciones estables como se reivindica en la presente memoria, en el que las cantidades de los constituyentes especificados son todas referidas a 1 g de composición a granel de la producción.

45 En una realización de la presente invención, la composición reivindicada en la presente memoria comprende ≤ 1,6 ng/g de componente neurotóxico de toxina botulínica, aproximadamente 2 mg/g de ácido hialurónico, aproximadamente 30 mg/g de manitol, aproximadamente 10 mg/g de sacarosa y aproximadamente 0,1 mg/g de Polisorbato 80,

50 La composición como se reivindica en la presente memoria es para el tratamiento de una enfermedad o afección causada por o asociada con enervación colinérgica hiperactiva de músculos o glándulas exocrinas en un paciente, en el que el componente neurotóxico bloquea la secreción de acetilcolina en la hendidura sináptica. Por lo tanto, la composición reivindicada por la presente invención puede dirigirse al tratamiento de cualquiera de las indicaciones siguientes, la mayor parte de las cuales se describen con detalle en Dressier D (2000) (Botulinum Toxin Therapy. Thieme Verlag, Stuttgart, Nueva York):

	distonía	
	distonía craneal	
	blefaroespasmo	
	distonía oromandibular	
5	tipo apertura de mandíbula	
	tipo cierre de mandíbula	
	bruxismo	
	síndrome de Meige	
	distonía lingual	
10	apraxia de la apertura de los párpados	
	distonía cervical	
	antecolis	
	retrocolis	
	laterocolis	
15	tortícolis	
	distonía faríngea	
	distonía laríngea	
	tipo disfonía espasmódica/aductor	
	tipo disfonía espasmódica/abductor	
20	disnea espasmódica	
	distonía de extremidades	
	distonía de brazos	
	distonía específica de tarea	
	calambre de escritor	
25	calambre de músico	
	calambre de golfista	
	distonía de piernas	
	aducción de muslos, abducción de muslos	
	flexión de rodillas, extensión de rodillas	
30	flexión de tobillos, extensión de tobillos	
	deformidad equinovaro	
	distonía de pies	
	dedo del pie estriatal	
	flexión de los dedos de los pies	
35	extensión de los dedos de los pies	
	distonía axial	
	síndrome de pisa	

- distonía de bailarina del vientre
 - distonía segmental
 - hemidistonía
 - distonía generalizada
- 5 distonía en lubag
- distonía en degeneración corticobasal
 - distonía en lubag
 - distonía tardía
 - distonía en ataxia espinocerebelar
- 10 distonía en enfermedad de Parkinson
- distonía en enfermedad de Huntington
 - distonía en enfermedad de in Hallervorden Spatz
 - disquinesias inducidas por dopa/distonía inducida por dopa
 - disquinesias tardías/distonía tardía
- 15 disquinesias/distonías paroxismales
 - quinesiogénica
 - no quinesiogénica
 - inducida por acción
- mioclono palatal
- 20 mioclono
- mioquimia
 - rigidez
 - calambres musculares benignos
 - temblor de barbilla hereditario
- 25 actividad de músculos de la mandíbula paradójica
- espasmos hemimasticatorios
 - miopatía branquial hipertrófica
 - hipertrofia masetérica
 - hipertrofia anterior tibial
- 30 nistagmo
- oscilopsia
 - parálisis supranuclear de la mirada
 - epilepsia parcial continua
 - plan de operación de tortícolis espasmódica
- 35 parálisis del abductor de las cuerdas vocales
- disfonía mutacional recalcitrante
 - disfunción del esfínter esofágico superior

- granuloma del pliegue vocal
- tartamudeo
- síndrome de Gilles de la Tourette
- mioclonos del oído medio
- 5 cierre laríngeo protector
- fallo de habla por postlaringectomía
- ptosis protectora
- entropión
- disfunción de esfínter de Odii
- 10 pseudoacalasia
- trastornos motores esofágicos por nonacalsia
- vaginismo
- inmovilización postoperatoria
- temblor
- 15 disfunción de la vejiga
 - dis-sinergia del esfínter detrusor
 - espasmo del esfínter de la vejiga
- espasmo hemifacial
- disquinesias de reenergación
- 20 uso cosmético
 - patas de gallo
 - ceño fruncido
 - asimetrías faciales
 - hoyuelos del mentón
- 25 síndrome de la persona rígida
- tétanos
- hiperplasia de próstata
- tratamiento de adiposidad
- parálisis cerebral infantil
- 30 estrabismo
 - mixto
 - paralítico
 - concomitante
 - después de cirugía por desprendimiento de retina
- 35 después de cirugía por cataratas
- en afaquia
- estrabismo miosítico

	estrabismo miopático
	desviación vertical disociada
	como un adyuvante para cirugía de estrabismo
	esotropía
5	exotropía
	acalasia
	fisuras anales
	hiperactividad de glándulas exocrinas
	síndrome de Frey
10	síndrome de lágrimas de cocodrilo
	hiperhidrosis
	axilar
	palmar
	plantar
15	rinorrea
	hipersalivación relativa
	en ictus
	en parkinson
	en esclerosis lateral amiotrófica
20	afecciones espásticas
	en encefalitis y mielitis
	procesos autoinmunes
	esclerosis múltiple
	mielitis transversal
25	síndrome de Devic
	infecciones virales
	infecciones bacterianas
	infecciones por parásitos
	infecciones fúngicas
30	en paraparesis espásticas hereditarias
	síndrome postapopléctico
	infarto hemisférico
	infarto del tallo cerebral
	infarto de médula
35	en trauma del sistema nervioso central
	lesiones hemisféricas
	lesiones en el tallo cerebral

lesión de médula

en hemorragia del sistema nervioso central

hemorragia intracerebral

hemorragia subaracnoidea

5 hemorragia subdural

hemorragia intraespinal

en neoplasias

tumores hemisféricos

tumores del tallo cerebral

10 tumores de médula

En otra realización, la presente invención concierne a un kit, en el que dicho kit comprende uno o más de un contenedor que comprende la formulación/composición descrita en la presente memoria, instrucciones para reconstituir dicha formulación/composición y, opcionalmente, un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable. Los contenedores adecuados incluyen, pero no están limitados a, viales únicos, viales de cámara dual, jeringas de aplicación única o jeringas de cámara dual. El contenedor puede estar formado por una variedad de material tal como vidrio o plástico adaptados para administración farmacéutica, de diagnóstico, cosmética o cosmeceútica. Dicho kit puede estar adaptado para uso único o para múltiples usos.

15 La invención se describe ahora con referencia a los ejemplos siguientes. Estos ejemplos se proporcionan sólo para el propósito de ilustración y la invención no debe considerarse limitada a estos ejemplos, sino que debe considerarse que engloba cualquiera y todas las variaciones que resulten evidentes como resultado de la enseñanza proporcionada por la presente memoria.

Ejemplos

Ejemplo 1:

25 Se llevaron a cabo estudios para encontrar una composición estabilizada de toxina botulínica tipo A. Cada composición comprendía $\leq 1,6$ ng (respectivamente 100 unidades DL_{50}) de componente neurotóxico de toxina botulínica tipo A. La composición se resume en la tabla siguiente, en la que las cantidades se proporcionan como mg por 1g de la composición a granel de la producción.

No. de composición	Ácido hialurónico [mg/g]	Manitol [mg/g]	Sacarosa [mg/g]	Polisorbato 80 [mg/g]
Composición Comparativa 1	1	20	10	0,2
Composición Comparativa 2	1	30	10	0,1
Ejemplo 1	2	30	10	0,1

30 La estabilidad de las composiciones se determinó usando un ensayo de DL_{50} como se define por Göschel et al. ("Botulinum Toxin Therapy: Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies - Therapeutic Consequences" Experimental Neurology, 1997; 147: 96-102). El valor de partida se midió después de la liofilización.

Resulta evidente que existe una fina relación de los diferentes ingredientes, que resulta en composiciones estables o inestables.

Ejemplo 2:

35 Se llevaron a cabo estudios adicionales para encontrar una composición estabilizada de toxina botulínica tipo A sin un polialcohol. Cada composición comprendía $\leq 1,6$ ng (respectivamente 100 unidades DL_{50}) de componente neurotóxico de toxina botulínica tipo A. En otra realización, se prevé una cantidad de $\leq 3,2$ ng (respectivamente 200 unidades DL_{50}) de componente neurotóxico de toxina botulínica tipo.

40 Las composiciones de ejemplo se produjeron a 5°C, 18°C ó 30°C, respectivamente. Después, se liofilizaron cada una y se almacenaron a 25°C y 60% de humedad relativa. La estabilidad durante el almacenamiento se ensayó

reconstituyendo la disolución según el protocolo estándar y ensayando su actividad DL_{50} según Göschel et al. ("Botulinum Toxin Therapy: Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies -Therapeutic Consequences" Experimental Neurology, 1997; 147: 96-102). El valor de partida se midió después de la liofilización. Todas las composiciones 2a, 2b y 2c fueron estables (es decir, mostraron una DL_{50} de al menos 90%) incluso después de 12 mes de almacenamiento.

La composición de las formulaciones de cribado se resume en la tabla siguiente. Aquí, la cantidad del componente neurotóxico de toxina botulínica tipo A es 1,6 ng (respectivamente 100 unidades DL_{50}) y las cantidades de los otros compuestos se proporcionan como mg por 1 g de la composición a granel de la producción.

No. de Composición	Producción T [°C]	Ácido hialurónico [mg/g]	Manitol [mg/g]	Sacarosa [mg/g]	Polisorbato 80 [mg/g]	Estabilidad
2a	5°C	1	0	10	0,2	al menos 90% de DL_{50} de partida después de $\geq$ 12 meses
2b	18°C	1	0	10	0,2	al menos 90% de DL_{50} de partida después de $\geq$ 12 meses
2c	30°C	1	0	10	0,2	al menos 90% de DL_{50} de partida después de $\geq$ 12 meses

Resulta evidente que las composiciones que carecen de polialcohol comprenden una estabilidad bastante alta.

Figuras

Figura 1:

La composición de ejemplo, así como las composiciones comparativas se produjeron a 5°C, se liofilizaron y almacenaron a 25°C y 60% de humedad relativa. La estabilidad durante el almacenamiento se ensayó reconstituyendo la disolución según el protocolo estándar y se ensayó su actividad DL_{50} según Göschel et al. ("Botulinum Toxin Therapy: Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies - Therapeutic Consequences" Experimental Neurology, 1997; 147: 96-102). Mientras la formulación de ejemplo 1 fue estable (es decir, mostró una DL_{50} de al menos 90%) incluso después de 12 meses de almacenamiento, mientras la actividad de las composiciones comparativas decayó bastante rápidamente.

Figura 2:

La composición de ejemplo, así como las composiciones comparativas se produjeron a 18°C, se liofilizaron y almacenaron a 25°C y 60% de humedad relativa. La estabilidad durante el almacenamiento se ensayó reconstituyendo la disolución según el protocolo estándar y se ensayó su actividad DL_{50} según Göschel et al. ("Botulinum Toxin Therapy: Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies - Therapeutic Consequences" Experimental Neurology, 1997; 147: 96-102). Mientras la composición de ejemplo 1 fue estable (es decir, mostró una DL_{50} de al menos 90%) incluso después de 12 meses de almacenamiento, mientras la actividad de las composiciones comparativas decayó bastante rápidamente.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende

(a) una proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activa,

5 (b) una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que el detergente no iónico está presente en dicha composición en una cantidad de entre 0,2 y 0,01 mg/g, y la relación en peso de polímero hidrofílico a detergente no iónico es de 18:1 a 22:1 (% en peso), y

(c) 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),

10 en el que la composición carece de albúmina de suero animal o humano, gelatina, aminoácidos seleccionados de histidina, lisina y metionina, y/o inmunoglobulinas.

2. Una composición que comprende

(i) una proteína, péptido o mezcla de éstos farmacéuticamente activa,

15 (ii) una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que el detergente no iónico está presente en dicha composición en una cantidad de entre 0,2 y 0,01 mg/g, y la relación en peso de polímero hidrofílico a detergente no iónico es de 2:1 a 30:1 (% en peso), y

(iii) un azúcar,

en el que no hay polialcohol presente y la composición carece de albúmina de suero animal o humano, gelatina, aminoácidos seleccionados de histidina, lisina y metionina, y/o inmunoglobulinas, y

20 en el que la composición no es una composición que comprende $\leq 1,6$ ng de componente neurotóxico de toxina botulínica, 1,0 mg de ácido hialurónico, 10,0 mg de sacarosa y 0,2 mg de polisorbato 80.

3. La composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que el polímero hidrofílico se selecciona del grupo que consiste en ácido hialurónico, polivinilpirrolidona (PVP), copolímeros de N-vinilpirrolidona, un derivado de celulosa, en el que dicho derivado de celulosa se selecciona del grupo que consiste en hidroxipropil metil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxietil celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa, dextrano polietilenglicol (PEG),
25 copolímeros en bloque PEG/PPG, homo y copolímeros de ácido metacrílico y acrílico, poliuretanos, polivinil alcohol, poliviniléteres, copolímeros basados en anhídrido maleico, poliésteres, vinilaminas, polietileniminas, polietilenóxidos, poli(ácidos carboxílicos), poliamidas, polianhídridos, polifosfazenos, y mezclas de éstos

4. La composición según la reivindicación 1 o reivindicación 3, en cuanto es dependiente de la reivindicación 1, en la que el polialcohol se selecciona del grupo que consiste en manitol, inositol, lactilol, isomaltá, xilitol, eritritol, sorbitol, y mezclas de éstos.
30

5. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el azúcar se selecciona del grupo que consiste en monosacáridos, disacáridos, polisacáridos, y mezclas de éstos.

6. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición se liofiliza.

7. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la proteína farmacéuticamente activa se selecciona del grupo que consiste en toxina botulínica, toxina de difteria, toxina de tétanos, y mezclas de éstas.
35

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

9. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la composición está en la forma de una disolución inyectable.
40

10. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso como un medicamento, un producto cosmético, un producto cosmocéutico o un producto de diagnóstico.

11. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección causada por o asociada con enervación colinérgica hiperactiva de los músculos o glándulas exocrinas en un paciente.
45

12. Un kit que comprende

(a) uno o más contenedores que comprenden la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9,

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

(c) un disolvente estéril farmacéuticamente aceptable.

13. Uso de una formulación para estabilizar proteínas, péptidos o mezclas de éstos farmacéuticamente activos, en el que la formulación comprende:

5 (a) una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que el detergente no iónico está presente en dicha formulación en una cantidad de entre 0,2 y 0,01 mg/g, y la relación en peso de polímero hidrofílico a detergente no iónico es de 18:1 a 22:1 (% en peso), y

(b) 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),

10 en el que la formulación carece de albúmina de suero animal o humano, gelatina, aminoácidos seleccionados de histidina, lisina y metionina, y/o inmunoglobulinas.

14. Uso de una formulación para estabilizar proteínas, péptidos o mezclas de éstos farmacéuticamente activos, en el que la formulación comprende:

15 (i) una mezcla de un polímero hidrofílico y un detergente no iónico, en el que el detergente no iónico está presente en dicha formulación en una cantidad de entre 0,2 y 0,01 mg/g, y la relación en peso de polímero hidrofílico a detergente no iónico es de 2:1 a 30:1 (% en peso), y

(ii) un azúcar,

en el que no hay polialcohol presente y la composición carece de albúmina de suero animal o humano, gelatina, aminoácidos seleccionados de histidina, lisina y metionina, y/o inmunoglobulinas, y

20 en el que la composición no es una composición que comprende $\leq 1,6$ ng de componente neurotóxico de toxina botulínica, 1,0 mg de ácido hialurónico, 10,0 mg de sacarosa y 0,2 mg de polisorbato 80.

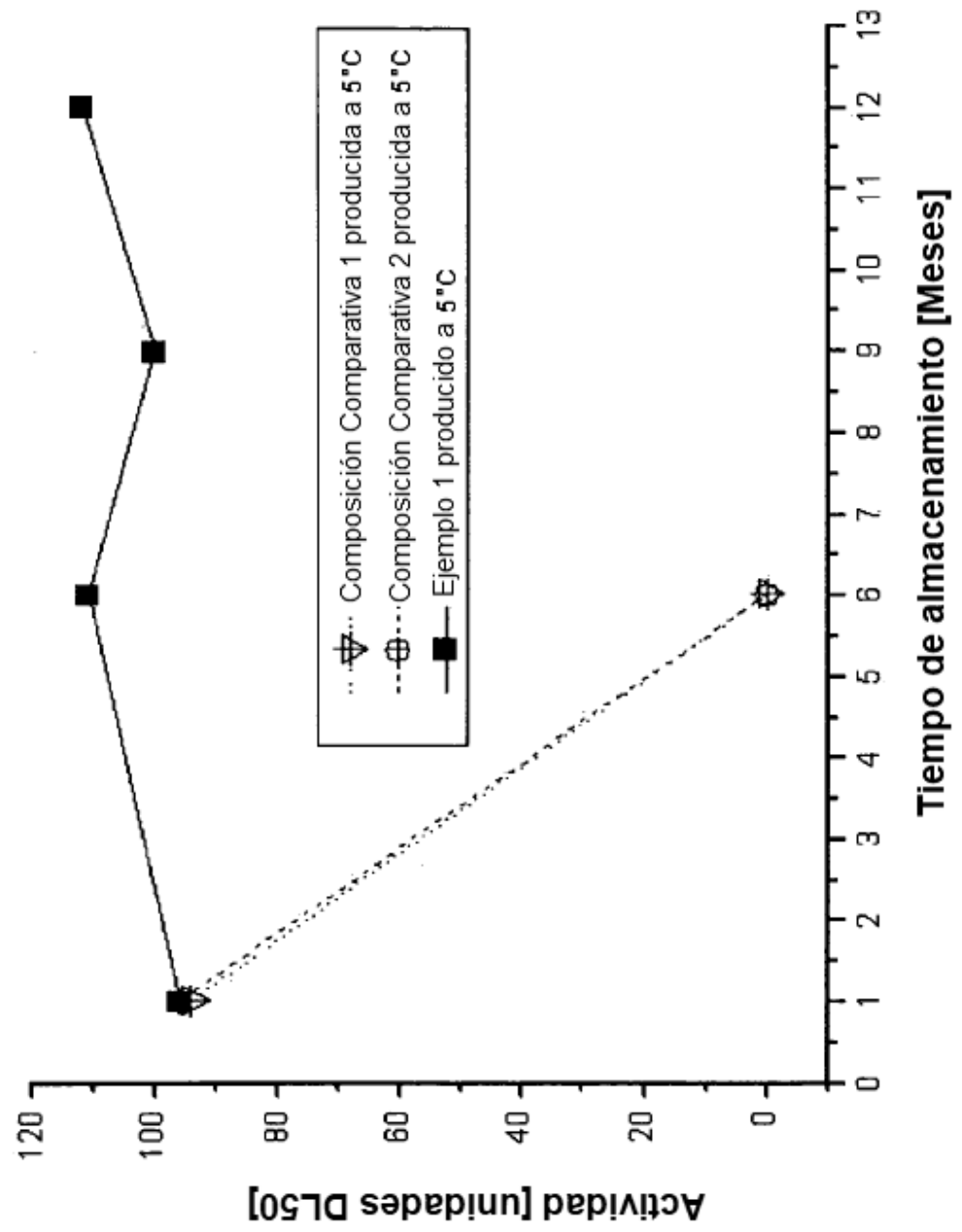
Figura 1

Figura 2