

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 140**

51 Int. Cl.:

**A01N 25/00** (2006.01)

**A61K 9/50** (2006.01)

**A61M 31/00** (2006.01)

**A23J 7/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.12.2006 PCT/US2006/062529**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.07.2007 WO07076462**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2006 E 06846772 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.07.2017 EP 1962586**

54 Título: **Sistema de suministro de liberación lenta sublimable y procedimiento de realización del mismo**

30 Prioridad:

**22.12.2005 US 753114 P**

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

**21.11.2017**

73 Titular/es:

**OAKWOOD LABORATORIES L.L.C. (100.0%)  
7670 FIRST PLACE  
OAKWOOD, OH 44146, US**

72 Inventor/es:

**MASKIEWICZ, RICHARD**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

ES 2 643 140 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

Sistema de suministro de liberación lenta sublimable y procedimiento de realización del mismo.

5 **Referencia cruzada a solicitud relacionada**

La presente solicitud reivindica los derechos de la solicitud de patente provisional US nº 60/753.114, presentada el 22 de diciembre de 2006.

10 **Antecedentes de la invención**

En las últimas décadas recientes, ha existido una investigación exhaustiva en el área de las matrices bioerosionables para la liberación controlada de compuestos bioactivos. Estos sistemas son de interés no solo debido a que proporcionan la liberación lenta de compuestos terapéuticos, incrementando de ese modo el cumplimiento del paciente, sino también debido a que obvian la necesidad de recuperar el sistema portador tras el agotamiento del fármaco.

Los materiales más comunes utilizados para estas matrices son polímeros biodegradables, que se fabrican ya sea como dispositivos implantables o como suspensiones de micropartículas poliméricas que contienen fármaco. Los polímeros sintéticos contemplados para uso como matrices incluyen los compuestos de poliácido láctico o copolímeros de ácidos láctico y glicólico, polianhídridos, poliamidas, poliortoésteres, y polifosfacenos (véanse, por ejemplo, la patente US nº 4.389.330, la patente US nº 4.093.709; la patente US nº 4.138.344; y Smith et al., Adv. Drug Del. Rev, 1990). También son igualmente conocidos los polímeros biodegradables de origen biológico; por ejemplo Yamahira, en la patente US nº 4.855.134, describe la liberación lenta de  $\alpha$ -interferón a partir del uso de matrices compuestas de proteínas reticuladas deshidratadas o polisacáridos para la liberación de muchos tipos de fármacos, incluyendo macromoléculas. El ácido hialurónico también se ha reticulado y usado como un polímero de hinchamiento degradable para aplicaciones de suministro de fármacos (patente US nº 4.957.744 de Della Valle et al).

También se han descrito sistemas de implantes no poliméricos que se forman in situ (patente US nº 5.736.152 de Dunn y documento US 5.747.058 de Tipton y Holl). En estos sistemas, un material portador biodegradable no polimérico se disuelve en un disolvente orgánico en el que un fármaco se ha dispersado o disuelto para formar un líquido. Al inyectarlo en el cuerpo, el disolvente orgánico se disipa, produciendo de ese modo un implante sólido desde el que se libera el fármaco. Los portadores no poliméricos ejemplificativos descritos son colesterol y sus derivados, diversos ácidos grasos y alcoholes de ácidos grasos, fosfolípidos y derivados de los mismos, acetato-isobutirato de sacarosa, y amidas de ácidos grasos de cadena larga. También se han descrito otros implantes no poliméricos que utilizan matrices a base de triglicéridos, ésteres oligoglicéricos de ácidos grasos, y diversos aceites vegetales (aceites de sésamo, soja, cacahuete, etc.) o sintéticos (migliol) gelificados con ésteres de monoácidos grasos de aluminio (patente US nº 5.411.951, patente US nº 5.628.993 y patente US nº 5.352.662).

Las proteínas, péptidos, polipéptidos y otras sustancias proteínicas (por ejemplo, virus, anticuerpos), colectivamente denominados en la presente memoria como proteínas, tienen gran utilidad como agentes terapéuticos en la prevención, tratamiento, y diagnóstico de enfermedades. Desafortunadamente, estas moléculas poseen estabilidad limitada, y son susceptibles tanto a degradación química (por ejemplo, vía desamidación, oxidación, hidrólisis, intercambio de disulfuro, y racemización de restos de aminoácidos quirales) como degradación física (por ejemplo, vía desnaturalización, agregación, y precipitación), que dan como resultado a menudo una pérdida de la actividad biológica. Por lo tanto, no es sorprendente que el suministro de estas moléculas a partir de implantes a base de poliésteres y a partir de microesferas conduzca a menudo a su inactivación química debido al entorno ácido que se desarrolla durante la erosión de la matriz, y/o a su degradación física debido a la adsorción a la superficie de la matriz del poliéster. En otros casos, la presencia de agua o la hidrofilia parcial de la matriz hace difícil garantizar que no se producirán procesos de degradación y/o desnaturalización mediados por agua, ya sea in situ o en entornos, tales como el espacio subcutáneo, en los que es posible el contacto con o la imbibición de agua. Y, aunque los vehículos de suministro oleaginosos pueden proteger teóricamente a los fármacos proteicos de las rutas de degradación acuosa (hidrólisis, desamidación, racemización, etc.), muchos de los propios vehículos son, hasta grados limitados, hidrófilos e inestables a la temperatura corporal. Por ejemplo, el almacenamiento de aceites vegetales líquidos a temperaturas fisiológicas puede dar como resultado la formación de especies anfífilas y reactivas tales como ácidos grasos y peróxidos libres (un proceso acelerado por la presencia de trazas de diversos iones metálicos tales como cobre o hierro), que a su vez catalizarán la degradación oxidativa o degradación estructural de muchas proteínas.

Además, ciertos fármacos, por ejemplo los agentes citotóxicos, no se pueden desarrollar actualmente como productos farmacéuticos orales de liberación controlada debido a su elevada reactividad (baja estabilidad) en excipientes utilizados típicamente para lograr una liberación lenta a partir de comprimidos o cápsulas. La alternativa, suministro parenteral (a menudo después de la reconstitución de material liofilizado), o una formulación oral de liberación inmediata, puede presentar aspectos de eficacia o toxicidad debido a fluctuaciones

rápidas en los niveles plasmáticos. Pueden surgir problemas de conveniencia y de cumplimiento si se requieren diariamente múltiples inyecciones o comprimidos/cápsulas.

5 En consecuencia, existe la necesidad de desarrollar composiciones, dispositivos o sistemas que puedan superar estas limitaciones de la técnica anterior. Tales composiciones deberían mantener la y 37°C) durante períodos prolongados, y deberían proporcionar la liberación lenta de agentes activos, tales como agentes terapéuticos bioactivos reactivos o inestables.

### Sumario de la invención

10 Se ha descubierto un nuevo sistema de suministro de fármaco químicamente inerte que proporciona la liberación lenta de agentes biológicamente activos in vivo mediante la sublimación del material de matriz circundante, en lugar de mediante disolución, hidrólisis o erosión de la matriz llevada a cabo químicamente. El material de matriz habitualmente es sustancialmente insoluble en agua y químicamente inerte, teniendo poca o ninguna reactividad oxidativa o hidrolítica. De este modo, aunque habrá posiblemente cierta liberación inicial de fármaco por difusión, y la subsiguiente liberación parcial de fármaco por erosión de la matriz que resulta de mecanismos convencionales de disolución o de degradación química, la liberación de una cantidad significativa, y habitualmente sustancialmente todo el agente terapéutico, se logra a partir de la composición de la presente invención sin que dependa de estos mecanismos bien conocidos. Más bien, la velocidad y duración de liberación de un agente terapéutico a partir de una composición de la presente invención se basa en la entalpía de sublimación ( $\Delta H_{\text{sub}}$ ) de las sustancias usadas para la preparación de la matriz. La entalpía de sublimación del material de matriz da como resultado una presión de vapor específica a la temperatura corporal. La erosión de la matriz por sublimación, con exposición concomitante del fármaco disperso en la matriz, sería entonces una función de la presión de vapor lograda y de la convección medioambiental (por ejemplo, sitio de inyección/implante).

En las reivindicaciones en la presente memoria se describen diversas formas de realización de la invención.

30 Una ventaja de la actual invención es que el material de matriz sublimable proporciona un entorno hidrófobo de baja reactividad intrínseca y mediada por el agua, protegiendo así al agente terapéutico tanto de la degradación química como de la física. Esto permite plantas y animales, incluyendo seres humanos, que de otro modo no sería posible. También se ha descubierto ventajosamente que, mediante la selección juiciosa de materiales de matriz sublimables, se puede lograr una amplia variedad de velocidades de sublimación y, como consecuencia, velocidades de liberación del agente biológicamente activo. En consecuencia, en una forma de realización, la composición comprende un material de matriz sublimable y un agente biológicamente activo.

35 También se ha descubierto ventajosamente que la velocidad de liberación de un agente biológicamente activo se puede modular mezclando materiales de matriz sublimables que poseen diferentes entalpías de sublimación. Por lo tanto, en una forma de realización alternativa, la composición comprende una mezcla de materiales de matriz sublimables y un agente biológicamente activo.

40 En todavía otra forma de realización, la composición comprenderá además un excipiente, que modificará la liberación del agente biológicamente activo de la matriz sublimable – un “modificador de la velocidad de sublimación”. El modificador de la velocidad de sublimación puede actuar para modificar la velocidad de liberación del agente biológicamente activo, por ejemplo afectando a la presión de vapor neta del material de matriz sublimable, o alterando el área superficial, tal como formando poros en el material de matriz sublimable. Esto permite la manipulación no solo de la velocidad de liberación del agente biológicamente activo desde la matriz, sino también del perfil de liberación. Por ejemplo, usando un modificador de la velocidad de sublimación formador de poros, se puede obtener un perfil de liberación en el que se libera una ráfaga de agente biológicamente activo, que es seguido de un perfil de liberación sustancialmente lineal. Por lo tanto, en todavía otra forma de realización, la composición comprende un material de matriz sublimable, o mezclas del mismo, un modificador de la velocidad de sublimación, y un agente biológicamente activo.

45 De este modo, otra ventaja de la presente invención es que tanto la velocidad de liberación como el perfil de liberación de los agentes biológicamente activos de la matriz se manipulan fácilmente modificadores de la velocidad de sublimación. Por supuesto, en algunas formas de realización, la composición de la invención se puede combinar o utilizar con otros materiales, tales como revestimientos, que afectarán a la liberación por otros mecanismos convencionales.

50 En todavía otro aspecto, la invención proporciona procedimientos para preparar composiciones que comprenden un material de matriz sublimable o mezclas del mismo, un agente biológicamente activo, y opcionalmente un modificador de la velocidad de sublimación. En una forma de realización, un material de matriz sublimable y un agente biológicamente activo se mezclan íntimamente, después se comprimen en un implante de la forma deseada, tal como una varilla, cilindro o disco.

60 En todavía otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para suministrar a un animal un agente

biológicamente activo, comprendiendo dicho procedimiento administrar a dicho animal una cantidad eficaz de una composición que comprende un material de matriz sublimable y un agente biológicamente activo.

### Descripción de los dibujos

- 5 La figura 1 representa gráficamente las velocidades de sublimación de diversas matrices sublimables, determinadas gravimétricamente a temperatura ambiente en condiciones convectivas definidas. Se muestran las velocidades de sublimación, expresadas como el porcentaje de masa de pélet restante frente al tiempo, para matrices de perfluoroneopentano (PFNP), norbornano (NOR), hexametiletano (HME),  
10 hexametilciclotrisiloxano (HCMS), perfluoroadamantano (PFA) y adamantano (ADM).
- 15 La figura 2 representa gráficamente las velocidades de sublimación determinadas gravimétricamente en condiciones libremente convectivas, de matrices sublimables puras, y diversas tiempo, se muestran para matrices compuestas de HME, PFA y ADM puros, así como para matrices que comprenden diversas mezclas de HME, PFA y ADM.
- 20 La figura 3 representa gráficamente el efecto del modificador de la velocidad de liberación perfluorodecalina (PFD) sobre la velocidad de sublimación de las matrices de PFNP.
- 25 La figura 4 representa gráficamente la equivalencia de la velocidad de sublimación de matrices de tipo pélet de HME (representada gráficamente como el porcentaje de pérdida de peso de la matriz de HME frente al tiempo) con la velocidad de liberación de BPB de matrices de tipo pélet de HME en agua destilada abierta parcialmente a la atmósfera (representada gráficamente como el porcentaje de liberación de BPB frente al tiempo).
- 30 La figura 5 representa gráficamente la equivalencia de azul de bromofenol (BPB) fácilmente soluble a partir de matrices de tipo disco de HME (representada como el porcentaje de liberación de BPB frente al tiempo) con la velocidad de sublimación de matrices de tipo disco de HME en aire en condiciones de buena convección (representada gráficamente como el porcentaje de pérdida de peso de la matriz de HME frente al tiempo).
- 35 La figura 6 representa gráficamente la equivalencia de la velocidad de liberación de BPB fácilmente soluble en agua destilada de matrices de tipo disco de ADM (representada gráficamente como el porcentaje de liberación de BPB frente al tiempo) con la velocidad de sublimación de matrices de tipo disco de ADM en aire en condiciones de buena convección (representada gráficamente como el porcentaje de pérdida de peso de la matriz de HME frente al tiempo).
- 40 La figura 7 representa gráficamente la equivalencia de la velocidad de sublimación de matrices de tipo pélet de HME ("pérdida de peso de HME") con las velocidades de liberación de betametasona (BMS) de matrices de tipo pélet de HME en agua destilada parcialmente abierta a la atmósfera ("liberación por sublimación de BMS"). Por el contrario, la figura ilustra gráficamente la gran diferencia en la velocidad de liberación de BMS en condiciones en las que puede producirse la sublimación ("liberación por sublimación de BMS") frente a aquella que se produce en condiciones en las que no puede producirse la sublimación del pélet, es decir, se puede difundir a través de la matriz de pélet ("liberación limitada a la difusión de BMS").
- 45 La figura 8 representa gráficamente la equivalencia de la velocidad de sublimación de matrices de tipo pélet de ADM ("pérdida de peso de ADM") con las velocidades de liberación de BMS de matrices de tipo pélet de ADM en agua destilada parcialmente abierta a la atmósfera ("liberación por sublimación de BMS"). Por el contrario, la figura ilustra gráficamente la gran diferencia en la velocidad de liberación de BMS en condiciones en las que puede producirse la sublimación ("liberación por sublimación de BMS") frente a la que se produce en condiciones en las que no se puede producir la sublimación del pélet, es decir, recipientes cerrados llenos de agua, limitando así la liberación de BMS a partir de los pélets de ADM a aquella que se puede difundir a través de la matriz del pélet ("liberación limitada a la difusión de BMS").
- 50 La figura 9 representa gráficamente la equivalencia de la velocidad de sublimación de matrices de tipo pélet de 50/50 de HME/ADM ("pérdida de peso de mezcla 50/50") con las velocidades de liberación de BMS a partir de matrices de tipo pélet de 50/50 de HME/ADM en agua destilada parcialmente abierta a la atmósfera ("liberación por sublimación de BMS"). Por el contrario, la figura ilustra gráficamente la gran diferencia en la velocidad de liberación de BMS en condiciones en las que se puede producir la sublimación ("liberación por sublimación de BMS") frente a la que se produce en condiciones en las que no se puede producir la sublimación del pélet, es decir, recipientes cerrados llenos de agua, limitando así la liberación de BMS a partir de pélets de 50/50 de HME/ADM a aquella que se puede difundir a través de la matriz del pélet ("liberación limitada a la difusión de BMS").
- 60 La figura 10 representa gráficamente la modulación de la liberación de BMS mezclando diferentes materiales de matriz sublimables.
- 65

La figura 11 ilustra la velocidad de sublimación *in vivo* de pélets de HME y de ADM, según se mide mediante el porcentaje de la masa de pélet explantada que permanece frente al tiempo. Interferón alfa-2b humano ( $\alpha$ -IFN) en ratas, tras la administración subcutánea de pélets que contienen  $\alpha$ -IFN compuestos respectivamente de matrices de HME, ADM, y mezcla de HME/ADM.

La figura 13 representa gráficamente la comparación de la pérdida de actividad enzimática por la fosfatasa alcalina cuando se almacena: (a) como el polvo liofilizado formulado a 37°C y 100% de pureza, o (b) como el polvo liofilizado incorporado en matrices de HME y almacenado en disolución acuosa a 37°C.

### Descripción detallada de la invención

Como se usa en la presente memoria, la expresión "material de matriz sublimable" se refiere a cualquier compuesto que se transforma desde un sólido o semisólido en un gas en el entorno de uso, tal como el cuerpo humano. Habitualmente será esencialmente insoluble en agua y más volátil que el agente activo. Los materiales de matriz sublimables útiles en la invención incluyen materiales que son sólidos o semisólidos a la temperatura corporal y tienen una entalpía de sublimación ( $\Delta H_{\text{sub}}$ ) de alrededor de 20 kJ/mol a alrededor de 100 kJ/mol. En ciertas formas de realización, tales materiales tendrán un punto de fusión por encima de alrededor de 37°C. Los materiales de matriz sublimables preferidos comprenden típicamente alcanos o perfluoroalcanos multiramificados o multicíclicos, que tienen una forma esencialmente esférica, globular, u ovalada, y poseen entalpías de sublimación que permiten velocidades deseables y controladas de erosión de la matriz. El material de matriz sublimable es preferiblemente biocompatible, por ejemplo no debería ser tóxico o provocar de otro modo reacciones tisulares adversas.

Los ejemplos de materiales de matriz sublimables incluyen, pero no se limitan a, alcanos globulares (por ejemplo, moléculas de alcanos que poseen una forma esférica, elipsoidal, o similar a un balón), alcanos perfluorados, alcanos perfluorados globulares, perfluoroadamantano, 1-perfluorotetraisopropilmetano, 2,2,3,3-tetrametilbutano (hexametiletano), perfluoro-2,2,3,3-tetrametilbutano, perfluoroneopentano, perfluoro-C60 fullereno, cubano, perfluorocubano, octametilcubano, perfluorooctametilcubano, perfluorometiladamantanos, perfluorotri-terc-butilmetano, perfluorodimetiladamantano, perfluorohexametiletano, perfluoro-1,3-dimetiladamantano, isocanfano, tricleno, 1-etiladamantano, 1-metildimantano, perfluorodimetilbiciclo[3.3.1]nonano, diadamantano, perfluorodiadamantano, tri-terc-butilmetano, norbornano, perfluoronorbornano, ciclododecano, perfluorociclododecano, hexametilciclotrisiloxano, perfluoroundecano, perfluorododecano, biciclo[3.3.1]nonano, tetracicloheptano, triciclohexano, dimetil-isopropil-perhidrofenantreno, hexametilprismano, prismano, tetraciclododecano, biciclo[3.3.3]undecano, 2-metiladamantano, 1-metiladamantano, pentacicloundecano, triciclododecano, biciclododecano, biciclo[3.3.1]nonano, biciclo[2.2.2]octano, biciclo[2.2.1]heptano, perfluorotri-terc-butilmetano, perfluoro-1,3,5-trimetiladamantano, perfluoro-2,2-dimetiladamantano, perfluorotetracicloheptano, perfluorotriciclohexano, perfluorohexametilprismano, perfluoroprismano, perfluorotetraciclododecano, perfluorobiciclo[3.3.3]undecano, perfluoro-2-metiladamantano, perfluoropentacicloundecano, perfluorotriciclododecano, perfluorobiciclododecano, perfluorobiciclo[3.3.1]nonano, perfluorobiciclo[2.2.2]octano, perfluorobiciclo[2.2.1]heptano, y cualesquiera mezclas de los anteriores. Otros materiales adecuados serán manifiestos para un experto en la materia a partir de la actual descripción.

En un aspecto particular de la invención, como material de matriz sublimable se usa adamantano. El adamantano es un alcano globular con un punto de fusión de 270°C y un hexametiletano (punto de fusión 100°C,  $\Delta H_{\text{sub}}$  43 kJ/mol), perfluoroneopentano (punto de fusión 72°C,  $\Delta H_{\text{sub}}$  <25 kJ/mol), norbornano (punto de fusión 88°C,  $\Delta H_{\text{sub}}$  40 kJ/mol), hexametilciclotrisiloxano (punto de fusión 60°C,  $\Delta H_{\text{sub}}$  54 kJ/mol), ciclododecano ((punto de fusión 61°C,  $\Delta H_{\text{sub}}$  76 kJ/mol), o mezclas de los mismos.

Como se define en la presente memoria, la expresión "modificador de la velocidad de sublimación" se refiere a una molécula o moléculas añadidas al material de matriz sublimable a fin de alterar la velocidad de liberación de un agente terapéutico, tal como alterando la velocidad de sublimación o alterando la estructura física de la matriz. Un modificador de la velocidad de sublimación puede ser sublimable o no, y puede ser un sólido o un líquido a temperaturas fisiológicas. La adición de modificadores de la velocidad de sublimación a la matriz proporciona un intervalo de características de liberación *in vivo* del agente biológicamente activo. El modificador de la velocidad de sublimación se puede dispersar homogéneamente a lo largo de la composición para afectar a la velocidad de sublimación alterando la presión de vapor neta de la matriz, o se puede dispersar heterogéneamente en la matriz para inducir la formación de poros, que incrementarían el área superficial de la matriz y su velocidad de erosión concomitante, facilitando de ese modo la liberación del fármaco.

El modificador de la velocidad de sublimación está presente en la composición en cualquier cantidad que logra el efecto deseado. Típicamente, el modificador de la velocidad de sublimación está presente en la composición en el intervalo de alrededor de 0,1 por ciento a alrededor de 30 por ciento en peso con respecto al peso total de la composición, y más típicamente, entre aproximadamente 0,5 por ciento a alrededor de 10 por ciento en peso. Pueden existir mayores cantidades cuando el modificador de la velocidad de sublimación es él mismo



antiespasmódicos tales como atropina, metantelina, papaverina, y bromuro de metoscopolamina; antimaláricos tales como las 4-aminoquinolinas, 8-aminoquinolinas, cloroquina, y pirimetamina, antihistaminas tales como difenhidramina, dimenhidrinato, tripelenamina, perfenazina, y clorfenazina; agentes cardioactivos tales como dibenzhidroflume tiazida, flumetiazida, clorotiazida, y aminotrato; agentes nutricionales tales como vitaminas.

5 Los ejemplos de fármacos proteínicos, peptídicos, y proteinosos que se pueden formular usando la presente invención incluyen aquellas proteínas/péptidos/compuestos proteinosos que tienen actividad biológica o que se pueden usar para tratar una enfermedad u otra afección patológica. Incluyen, pero no se limitan a, hormona del crecimiento, Factor VIII, Factor IX y otros factores de coagulación, quimiotripsina, tripsinógeno, interferón, beta-galactosidasa, lactato deshidrogenasa, factores de crecimiento, factores de coagulación, enzimas, estimulantes de la respuesta inmunitaria, citocinas, lincocinas, interferones, inmunoglobulinas, interleucinas, péptidos, somatostatina, análogos de somatotropina, somatomedina-C, hormona liberadora gonadotrópica, hormona estimulante del folículo, hormona luteinizante, LHRH, análogos de LHRH tales como leuprolida, nafarelina y goserelina, agonistas y antagonistas de LHRH, factor liberador de la hormona del crecimiento, calcitonina, colquicina, gonadotropinas tales como gonadotropina coriónica, oxitocina, octreotida, somatotropina más un aminoácido, vasopresina, hormona adrenocorticotrófica, factor de crecimiento epidérmico, prolactina, somatotropina más una proteína, cosintropina, lipresina, polipéptidos tales como hormona liberadora de tirotropina, hormona estimulante de la tiroides, secretina, pancreozimina, encefalina, glucagón, agentes endocrinos segregados internamente y distribuidos por medio del torrente sanguíneo, y similares. Otros agentes que se pueden suministrar incluyen un, antitripsina, insulina y otras hormonas peptídicas, hormonas, interferón – alfa, -beta, y –gamma, interferón de consenso, eritropoyetina, factores de crecimiento tales como GCSF, GM-CSF, factor 1 de crecimiento similar a insulina, activador del plasminógeno tisular, CF4, dDAVP, receptor del factor de necrosis tumoral, enzimas pancreáticas, lactasa, antagonista del receptor de interleucina-1, interleucina-2, proteínas supresoras de tumores, proteínas citotóxicas, retrovirus y otros virus, proteínas virales, anticuerpos, anticuerpos recombinantes, fragmentos de anticuerpos, y similares.

Los compuestos proteicos, peptídicos y de ácidos nucleicos útiles en las formulaciones y procedimientos de la presente invención se pueden usar en forma de una sal, preferiblemente una sal farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, estos agentes pueden estar PEGilados, o conjugados con aductos tales como hidratos de carbono.

Los ejemplos de compuestos de ácidos nucleicos que se pueden formular usando la presente invención incluyen aquellos ácidos nucleicos que codifican partículas que tienen actividad biológica o que se pueden usar para tratar una enfermedad u otra afección patológica, tales como los compuestos proteicos enumerados anteriormente. También son útiles en la presente invención los ácidos nucleicos, incluyendo oligonucleótidos sentido o antisentido, que bloquean o reducen la producción de proteínas indeseadas. También están incluidos en los aminoácidos que se pueden usar en la presente invención aquellos que, ya sea directamente o por codificación de una proteína, estimulan a un animal a que produzca inmunidad frente a un estado mórbido (por ejemplo, cáncer) o una infección por un organismo patógeno, tal como una bacteria, virus o protozoo.

Los agentes anteriores son útiles para el tratamiento o prevención de una variedad de afecciones, que incluyen, pero no se limitan a, hemofilia y otros trastornos de la sangre, trastornos del crecimiento, diabetes, leucemia, hepatitis, insuficiencia renal, infección por VIH, enfermedades hereditarias tales como deficiencia de cerebrosidasa y deficiencia de adenosina desaminasa, hipertensión, choque séptico, y artritis reumatoide, choque y trastornos debilitantes, fibrosis cística, intolerancia a la lactosa, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, cánceres gastrointestinal y otros cánceres. También se pueden usar análogos, derivados, antagonistas, agonistas y sales farmacéuticamente aceptables de los anteriores.

En una forma de realización, el agente terapéutico a suministrar es un antígeno, de manera que la composición actúa como una vacuna. El antígeno se puede suministrar desde una partícula de una célula, de una bacteria, o de un virus, o desde una porción de la misma. Como se define en la presente memoria, el antígeno puede ser una proteína, péptido, polisacárido, glicoproteína, glicolípido, ácido nucleico, o combinación de los mismos, que provoca una respuesta inmunógena en un animal, por ejemplo un mamífero, pájaro, o pez. Los ejemplos de antígenos preferidos incluyen proteínas virales tales como proteínas de la gripe, proteínas del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y proteínas de la hepatitis A, B, o C, y proteínas bacterianas, lipopolisacáridos tales como paredes de células bacterianas gramnegativas y proteínas de Neisseria gonorrhoea, y parvovirus. La respuesta inmunógena provocada puede ser humoral o mediada por células. En el caso en el que el material al que se dirige la respuesta inmunógena es poco antigénico, se puede conjugar a un portador o a un hapteno, usando técnicas de unión covalente estándar, por ejemplo con uno de los varios kits de reactivos comercialmente disponibles.

El agente terapéutico está incluido en la composición en una cantidad suficiente para suministrar al animal o planta hospedador/a una cantidad para lograr un efecto deseado. La cantidad de fármaco o agente biológicamente activo incorporada en la composición depende del perfil de liberación deseado, de la concentración de fármaco requerida para un efecto biológico, y del período de tiempo deseado para la liberación del fármaco. Adicionalmente, la cantidad del agente terapéutico en la composición también dependerá de la

5 farmacéutica y farmacodinámica del agente terapéutico, así como con la gravedad de la afección a aliviar. Se ha de entender además que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos se deberían ajustar a lo largo del tiempo según la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración expuestos en la presente memoria son únicamente ejemplificativos y no limitativos del alcance o práctica de la invención reivindicada. La composición se puede administrar en una dosis, o se puede dividir en un número de dosis más pequeñas a administrar a intervalos de tiempo variables.

10 El agente biológicamente activo está presente típicamente en la composición en el intervalo de alrededor de 0,05 por ciento a alrededor de 90 por ciento en peso con respecto al peso total de la composición. En algunas formas de realización, el agente biológicamente activo está presente en el intervalo de alrededor de 0,1 por ciento a alrededor de 40 por ciento en peso con respecto al peso total de la composición, y en todavía otras formas de realización, entre aproximadamente 0,5 por ciento a alrededor de 20 por ciento en peso. Puede haber cantidades más grandes, por ejemplo en exceso de 90%, del agente biológicamente activo en peso cuando la composición se emplea como una barrera similar a una membrana o como una corteza encapsulante.

15 En la práctica de la presente invención, la composición de la invención se coloca en o sobre el entorno de uso, tal como una planta o animal. En muchas formas de realización, el entorno de uso es el cuerpo de un animal. Se incluyen en el término "animal" los seres humanos, primates, mamíferos, animales domesticados o semidomesticados (tales como animales domésticos, mascotas, y animales de granja), animales de laboratorio (tales como ratones, ratas y cobayas), pájaros, reptiles, peces, animales de zoológico, y similares. Los entornos de uso típicos en el cuerpo incluyen tejido blando tal como músculo o grasa; tejido duro tal como hueso; un espacio, incluyendo, pero sin limitarse a, el subcutáneo, el bolsillo periodontal o el fondo de saco del ojo. Como alternativa, las composiciones de la presente invención se pueden colocar en el cuerpo para la curación de heridas, o el suministro transdérmico o intradérmico de agentes y similares.

20 Las composiciones de la presente invención se pueden obtener en diversas formas, tales como plana, cuadrada, redonda, esférica, hemiesférica, tubular, cilíndrica, de disco, de varilla, anular, y similar, que se pueden dimensionar, conformar y adaptar para el implante o inserción en el cuerpo, o en cavidades y pasajes del cuerpo, de un animal. Aunque en muchas formas de realización la composición estará en forma de varillas, discos, o pélets implantables, sus aplicaciones no están limitadas a implantes, y pueden incluir micropartículas inyectables más pequeñas que son termodinámicamente inestables pero cinéticamente estables.

35 Las composiciones de la presente invención también pueden estar en forma de partículas, que se pueden suministrar directamente a los pulmones vía inhalación. Como alternativa, los materiales en partículas se pueden suspender en un vehículo suspendedor adecuado. Los ejemplos de vehículos suspendedores adecuados son hidrocarburos perfluorados, fosfolípidos, ésteres de ácidos grasos, mono-, di- o triglicéridos, glicerol, poligliceroles, o polietilenglicoles. La suspensión resultante se puede administrar mediante las vías oral, nasal, parenteral o por inhalación, o se puede aplicar tópicamente.

40 Alternativamente, las composiciones de la presente invención pueden estar en forma de comprimidos, supositorios, pastas, cremas, películas, y similares.

45 Las composiciones de la presente invención pueden estar en forma de una sola matriz, un número de capas de matriz, o una "membrana" de matriz que encierra un depósito en ella.

50 Las composiciones de la actual invención se pueden preparar mediante técnicas estándar. Por ejemplo, el material de matriz sublimable, el agente terapéutico, y opcionalmente un artículo, moldeado en estado fundido en artículos conformados, moldeado de película de disolvente, moldeado de película en estado fundido, moldeado por compresión, o formado en micropartículas mediante coacervación o criomolienda o evaporación del disolvente, por ejemplo, y procedimientos similares de fabricación.

55 Un procedimiento para preparar composiciones implica dispersar o disolver un agente terapéutico y, opcionalmente un modificador de la velocidad de sublimación, en un material de matriz sublimable fundido (o mezcla de materiales de matriz sublimables), para formar una mezcla fundida. La mezcla fundida se vierte entonces en un molde adecuado y se enfría para uso como implantes inyectables, supositorios, películas o comprimidos, o se extruye en varillas o láminas para dispositivos implantables o transdérmicos.

60 Las composiciones en forma de micropartículas de la actual invención se pueden preparar de diversas maneras. Uno de tales procedimientos comprendería dispersar o disolver el agente terapéutico en un material de matriz sublimable fundido para formar una mezcla fundida, combinar entonces rápidamente la mezcla fundida con un no disolvente para el material de matriz sublimable, que se combina a una temperatura por debajo del punto de fusión de la mezcla fundida mientras se aplica cizallamiento suficiente a la mezcla de mezcla fundida/no disolvente para formar micropartículas. Alternativamente, la mezcla fundida se podría dejar enfriar en una masa sólida, que entonces se reduce a la forma de partículas vía molienda de bolas, molienda de chorro, u otros procedimientos conocidos en la técnica. Aún otro procedimiento para formar micropartículas implicaría disolver o

dispersar un fármaco en un disolvente orgánico que contiene un material de matriz sublimable disuelto, formar pequeñas gotitas de esta fase orgánica (que contiene material de matriz sublimable y fármaco) en una fase no miscible vía mezclado de alta energía, extraer el disolvente orgánico de las gotitas y fase no miscible mediante una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, tales como evaporación o dilución, y recolectar las micropartículas. material de matriz sublimable, un agente terapéutico y opcionalmente un modificador de la velocidad de sublimación en un molino de bolas oscilante, y comprimir subsiguientemente la mezcla en una forma adecuada (peletes, discos, varillas, etc.) para uso como implantes inyectables, supositorios para uso vaginal o rectal, o comprimidos para uso oral.

Se ha de entender en todas las formas de realización anteriores que los sólidos sublimables se pueden usar de forma individual o como mezclas de sólidos sublimables, y que opcionalmente se pueden incluir modificadores de la velocidad de sublimación. Si se incluye un modificador de la velocidad de sublimación, se puede dispersar homogéneamente a lo largo de la matriz, se puede dispersar heterogéneamente a fin de formar poros, o una combinación de ambos, lo que facilita la liberación del agente terapéutico.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la presente invención, pero no se deben de interpretar de ninguna manera como limitantes de su alcance. Los ejemplos a continuación se llevaron a cabo usando técnicas convencionales que son bien conocidas y rutinarias para los expertos en la materia, excepto donde se describa de otro modo con detalle.

#### 1. Preparación de mezclas sólidas que subliman

Los materiales de matriz sublimables 2,2,3,3-tetrametilbutano (hexametiletano), norbornano, hexametilciclotrisiloxano, y adamantano (99%) se adquirieron de Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Perfluoroneopentano, y perfluoroadamantano se adquirieron de ExFluor Research (Round Rock, TX, USA). El hexametiletano se purificó para eliminar ácido píválico residual mediante una sublimación a presión reducida a partir de una mezcla finamente en polvo del sólido que sublima y carbonato potásico. Para obtener un tarro de molienda de acero inoxidable de 10 ml que contienen cojinetes de bolas de acero inoxidable de 12 mm) se empleó para todas las preparaciones molidas. Se prepararon a temperatura ambiente mezclas de sólidos que subliman añadiendo un total de dos o tres gramos de sólidos a un tarro, y moliendo a 30 Hz durante 10 minutos. Se obtuvieron polvos finos o masas vítreas al terminar la molienda. Las masas vítreas se cortaron a mano en trozos pequeños antes del procesamiento posterior.

#### 2. Preparación de matrices sólidas que subliman

Se prepararon pélets mediante moldeo por compresión usando una prensa hidráulica Carver Modelo C que utiliza una matriz de cara cóncava cilíndrica de 5 mm de diámetro para pélets, una matriz de cara cóncava de 9 mm para discos, y una matriz de 2 mm de diámetro para varillas. Típicamente, 100-250 mg de muestras de trozos sólidos que subliman molidos o sublimados se convirtieron en pélets mediante compresión a temperatura ambiente a 1000 lbs durante 60 segundos. Los pélets y varillas resultantes tuvieron una longitud de 8-10 mm. Los discos tuvieron aproximadamente 9 mm de diámetro y aproximadamente 2-4 mm de grosor. Todas las matrices tuvieron un aspecto translúcido a opaco.

#### 3. Velocidades de sublimación de matrices bajo temperatura controlada y convección

Las velocidades de pérdida de masa de los pélets se determinaron gravimétricamente colocando un pélet o disco de matriz de sólidos que subliman en una bandeja abierta en condiciones convectivas libres a temperatura ambiente controlada. Las bandejas se colocaron directamente sobre una balanza analítica que permite la medida esencialmente continua de los cambios de peso de los pélets. En la figura 1 se muestran los perfiles de sublimación para 150 mg de pélets cilíndricos de hexametiletano (HME), adamantano (ADM), perfluoroneopentano (PFNP), norbornano (NOR), hexametilciclotrisiloxano (HMC) y perfluoroadamantano (PFA).

Las matrices que comprenden mezclas íntimas o "aleaciones" de varios sólidos que subliman se prepararon moliendo con bolas componentes de la mezcla a 30 Hz durante 10 minutos, seguido de la compresión en comprimidos. La Mezcla A consistió en 0,6 g de hexametiletano, 0,6 g de adamantano, y 0,6 g de perfluoroadamantano. La Mezcla B consistió en 0,5 g de hexametiletano, 0,5 g de adamantano, y 2,1 g de perfluoroadamantano. La Mezcla C consistió en 1 g de hexametiletano, 0,5 g de adamantano, y 0,5 g de perfluoroadamantano. Los pélets de cada mezcla se prepararon moldeando por compresión alícuotas de 110-115 mg de Mezcla A, alícuotas de 150-165 mg de Mezcla B, y alícuotas de 120-150 mg de Mezcla C a 1000 lbs durante 60 segundos. Las sublimaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente en bandejas abiertas como en el Ejemplo 3. En la figura 2 se muestran las velocidades de sublimación de las matrices.

#### 5. Modificadores de la velocidad de sublimación sobre las velocidades de erosión de matrices de sólidos que subliman

Se prepararon matrices de perfluoroneopentano (PFNP) que contienen 25% de perfluorodecalina (PFD) mezclando 1,5 gramos de perfluoroneopentano sólido con 500 mg de perfluorodecalina líquida. El molino de bolas oscilante a 30 Hz durante 10 minutos produjo un sólido plástico blando. Se prepararon pélets cilíndricos de ~150 mg comprimiendo a 1000 lbs durante 60 segundos. La sublimación se midió como en el Ejemplo 3, mostrándose la velocidad reducida de la erosión de la matriz en la figura 3.

#### 6. Velocidad de liberación *in vitro* de azul de bromofenol a partir de pélets cilíndricos de matriz de hexametiletano que sublima

La sal sódica de azul de bromofenol (BPB) se adquirió de Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA), y se dispersó en hexametiletano moliendo con cuchillas aproximadamente 30 mg a temperatura ambiente. La carga diana de azul de bromofenol fue 1% en peso (0,98-1,22% real). Se prepararon pélets cilíndricos del hexametiletano formulado moldeando 150 mg de polvo cohesivo en cilindros de 5 mm x 9 mm mediante compresión a temperatura ambiente a 1000 lbs durante 60 segundos.

La cantidad de azul de bromofenol (BPB) liberada a partir de los pélets en 10 ml de agua desionizada en condiciones de sublimación/convección restringida, a saber, en tubos de ensayo abiertos (150 x 15 mm) incubados a 37°C en un baño de agua oscilante (86 rpm), se determinó por medidas de absorbancia acumulativas a 497 nm (el punto isosbético de BPB) a lo largo de una serie de intervalos de tiempo, en condiciones de hundimiento para el soluto. Los volúmenes de agua evaporados se sustituyeron antes de las retiradas de las alícuotas para las medidas de la absorbancia. Se calcularon los porcentajes de BPB liberado en puntos de tiempo dados con respecto a la absorbancia final medida con la desaparición total de los pélets. Las velocidades de sublimación de los pélets se determinaron recuperando, secando por golpecitos, y pesando en cada punto de tiempo. Las absorbancias y cambios de peso se midieron para muestras de pélets duplicadas o triplicadas, dándose los porcentajes medios liberados y pérdida de peso a puntos de tiempo definidos. En la figura 4 se muestran los datos, que demuestran la equivalencia de la velocidad de liberación de BPB con la velocidad de sublimación de la matriz.

#### 7. Velocidades de liberación *in vitro* de azul de bromofenol a partir de matrices de hexametiletano y de adamantano de discos delgados

Se prepararon formulaciones de 5% de azul de bromofenol en hexametiletano y adamantano moliendo con bolas oscilantes 1,9 gramos de cada sólido que sublima con 100 mg de colorante durante 20 minutos a 30 Hz. Las mezclas resultantes fueron más adhesivas y cohesivas que los materiales obtenidos moliendo los sólidos que subliman puros. Los discos de cada formulación se sometieron a presión durante 10 minutos a temperatura ambiente. La velocidad de sublimación de los discos se determinó gravimétricamente usando bandejas abiertas a temperatura ambiente (Ejemplo 3), y la velocidad a la que el azul de bromofenol se liberó desde la matriz a medida que sublimó se determinó después de cada pesada sumergiendo cada disco en 10 ml de agua desionizada durante 5 segundos, secando después por golpecitos y reanudando la sublimación en el aire. Las absorbancias de las disoluciones colorantes obtenidas en cada punto de tiempo se midieron a 497 nm, diluyendo cuando fue necesario para mantener las absorbancias medidas por debajo de 1,5. Las velocidades equivalentes de la liberación acumulativa del colorante y la pérdida de peso de la matriz se muestran en la figura 5 para hexametiletano, y en la figura 6 para adamantano. En ambos casos, la velocidad de sublimación de los discos y las velocidades de liberación del colorante fueron esencialmente idénticas.

#### 8. Velocidades de liberación *in vitro* de betametasona a partir de matrices sólidas que subliman

Se incorporó betametasona (Sigma Aldrich, St Louis MO USA) en matrices de hexametiletano (HME), adamantano (ADM), y una mezcla de HME/ADM al 50/50 por ciento en peso, moliendo con bolas oscilantes aproximadamente 2 g de sólido que sublima pesado de forma exacta (o mezclas de sólidos que subliman) con aproximadamente 44 mg de esteroide pesado de forma exacta, en tarros de molienda de 10 ml. La molienda se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 3 minutos a una velocidad de oscilación de 30 Hz. La carga diana de betametasona fue 2,2% en peso (2,1-2,7% real). Los pélets de cada mezcla que contiene fármaco se prepararon moldeando por compresión usando una prensa hidráulica Carver Modelo C y matrices de cara cóncava cilíndricas de 5 mm de diámetro. Típicamente, alícuotas de 80 mg de cada mezcla se convirtieron en pélets mediante compresión a temperatura ambiente a 1000 lbs durante 60 segundos. Los pélets resultantes tuvieron un diámetro de 5 mm, una longitud de 7-9 mm, y un aspecto translúcido a opaco.

Condiciones de sublimación/convección, en las que los pélets se sumergieron en 10 ml de agua desionizada en tubos de ensayo de 150 x 15 mm abiertos; (2) en condiciones en las que no se pudo producir la sublimación al aire, en las que los pélets se sumergieron en 15 ml de agua desionizada en tubos de ensayo de 125 x 10 mm completamente llenos y cerrados herméticamente; o (3) en las que los pélets se incubaron en tubos de ensayo de 150 x 15 mm vacíos, abiertos. Muestras duplicadas o triplicadas para cada condición de almacenamiento se incubaron a 37°C en un baño de agua oscilante (86 rpm). En puntos de tiempo definidos, se retiraron alícuotas de 1 ml de la disolución de liberación para la cuantificación de la betametasona, sustituyéndole todo el volumen

del medio de liberación (agua) en cada punto de tiempo de medida. Las condiciones de hundimiento (<25% de saturación) se mantuvieron durante todos los intervalos de liberación del fármaco. La velocidad de sublimación de los pélets a partir de tubos en ensayo vacíos se determinó gravimétricamente en los mismos puntos de tiempo definidos.

Se midieron cantidades de betametasona liberadas en medio de liberación acuoso evaluando conjuntos de muestras de disolución usando HPLC de fase inversa. De forma breve, se realizaron inyecciones de 10  $\mu$ l de medio de liberación sobre una columna YMC-Pack ODS-A (5 micrómetros, 6,0 x 150 mm), y se eluyeron a 1,2 ml/minuto con una fase móvil de 50 mM de dihidrogenofosfato potásico/metanol (45/55 v/v), a una temperatura de 40°C, durante 20 minutos. La betametasona se detectó a 240 nm.

El porcentaje medio de fármaco liberado y la pérdida media de peso de los pélets en puntos de tiempo definidos para pélets de hexametileno, de adamantano, y de mezcla 50/50 de HME/ADM se muestran en las figuras 7, 8, y 9, respectivamente, y demuestran que las velocidades de liberación de betametasona a partir de los pélets en el agua desionizada fueron muy similares a las velocidades de sublimación en aire de las tres matrices de pélets. Las velocidades de betametasona liberada a partir de los pélets almacenados en condiciones en las que no se produjo sublimación, es decir, en tubos cerrados herméticamente llenos de agua, en los que la liberación del fármaco solo se puede producir de forma mucho más lenta a partir de pélets que subliman.

En la figura 10 se muestra el efecto de mezclar matrices sólidas que subliman para modular la liberación, que demuestra que el mezclamiento de dos matrices que subliman puede producir perfiles de liberación intermedios entre aquellos de los de los sólidos que subliman puros.

### 9. Velocidades de sublimación *in vivo* de matrices de sólidos que subliman

Se evaluó durante un período de 16 semanas las velocidades de desaparición *in vivo* de pélets de hexametileno y de adamantano a partir de sitios de implante subcutáneo en ratas. Se asignaron cuarenta y seis ratas macho Sprague-Dawley de edad y peso similares a cinco grupos de tratamiento: implante de pélet de hexametileno (Grupo H), implante de pélet de adamantano (Grupo A), implante de pélet de PLGA (Boehringer Ingelheim Resomer RG 504H) (Grupo P), un grupo simulado para el que se llevó a cabo la cirugía sin implante de pélet, y un grupo de control (sin cirugía). Los pélets se pesaron individualmente, y se implantaron en la parte posterior del cuello de las ratas. La explantación y el pesado nuevamente de los pélets de adamantano se llevó a cabo a los 4 y 8 días, y a las 2, 4, 8, y 10 semanas; los pélets de hexametileno se explantaron y se pesaron a 4 y 24 horas, y a 4, 8, y 14 días. La figura 11 demuestra que en la sublimación *in vivo* de pélets de matriz de hexametileno se puede producir a lo largo de un período tan corto como una semana, produciéndose la desaparición de los pélets de adamantano a lo largo de un período de dos meses.

### 10. Velocidades de liberación *in vivo* de interferón alfa bioactivo a partir de matrices sólidas que subliman

Se incorporó interferón alfa-2b ( $\alpha$ -IFN) humana recombinante en matrices compuestas de hexametileno, adamantano, o una mezcla 50/50 de hexametileno y adamantano mediante molienda con bolas oscilantes. Una dispersión fina, uniforme, de polvo de  $\alpha$ -IFN liofilizado (que contiene 50 MIU de  $\alpha$ -IFN) con 2,1-2,2 gramos del sólido que sublima, y moliendo a 30 Hz durante 45 segundos. La matriz de la mezcla de sólidos que subliman se preparó moliendo 1,59 gramos de hexametileno con 1,50 gramos de adamantano, a 30 Hz durante 10 minutos.

La uniformidad de la dispersión de la proteína a lo largo de la matriz se demostró mediante evaluación microscópica de una proteína modelo, seroalbúmina bovina marcada con rodamina, que se dispersó en matrices de hexametileno o adamantano mediante las técnicas descritas anteriormente. No se detectaron partículas discretas de proteína marcada con rodamina en el aumento de 200X, con la iluminación incidente con luz azul. La ausencia de partículas proteicas visibles también se observó en matrices de adamantano.

Cada miligramo de matriz posmolida contenía típicamente 22.700 UI de interferón y 0,011 mg de especies solubles en agua (glicina, fosfatos, y seroalbúmina humana), que corresponden a las cargas en por ciento en peso de 0,01% de interferón y 1,1% de sólidos solubles en agua. Se prepararon pélets cilíndricos de las tres matrices que contienen interferón comprimiendo muestras de ~150 mg de mezcla de sólidos que subliman pesadas de forma exacta con 1000 lbs de presión durante 60 segundos.

El implante subcutáneo de los pélets (que contienen típicamente 3,2 MIU de interferón alfa) en ratas se llevó a cabo como se describió en el Ejemplo 9. Se asignaron diez animales a cada grupo de matrices de sólidos que subliman, asignándose cada pélet a una rata específica que tiene un peso inicial (y final) conocido. Tras el implante, se extrajeron muestras de sangre de 1 ml en puntos de tiempo específicos, se redujeron hasta suero, y se almacenaron congeladas a -70 grados antes del análisis. Los puntos de tiempo de muestreo para las ratas dosificadas con pélets de hexametileno fueron 1, 2, 6, y 24 horas, 2, muestras de sangre adicionales extraídas a 4, 5, 6, 8, y 10 semanas.

5 Las concentraciones de interferón-alfa humano soluble en las muestras de suero procedentes de diez ratas se determinaron usando ELISA colorimétrico con anticuerpo anti-anticuerpo secundario conjugado a peroxidasa de rábano picante y tetrametilbenzidina como sustrato. Los ensayos se llevaron a cabo por PBL Biomedical Laboratories (Piscataway NJ). La actividad biológica del interferón presente en cada muestra se determinó usando un ensayo de inhibición del virus VSV a base de células MDBK, realizándose nuevamente los análisis por PBL Biomedical Laboratories.

10 Los resultados del estudio anterior, que demuestran la liberación lenta *in vivo* de interferón alfa biológicamente activo y soluble a partir de matrices de hexametiletano, de adamantano, y de mezcla 50/50, se muestran en la figura 12. El cálculo de las constantes de velocidad de primer orden a partir de estos datos demuestra una liberación más lenta a partir de la matriz de ADM,  $k = 0,017 \text{ h}^{-1}$ , que a partir de la matriz de HME,  $k = 0,064 \text{ h}^{-1}$ .

15 La descripción previa de las formas de realización preferidas se proporciona para permitir a cualquier experto en la materia llevar a cabo y usar la presente invención. Las diversas modificaciones a estas formas de realización serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia, y los principios genéricos definidos en la presente memoria se pueden aplicar a otras formas de realización sin el uso de la facultad inventiva. De este modo, la presente invención no pretende estar limitada a las formas de realización mostradas en la presente memoria, sino que estará de acuerdo con el alcance más amplio consistente con los principios y nuevas características descritos en la presente memoria.

#### 11. Mejora de la estabilidad de fosfatasa alcalina en condiciones fisiológicas al incorporar la proteína en matrices de hexametiletano

25 Formulación que contiene 24 U/mg de actividad enzimática (Sigma-Aldrich Corp., nº de Cat. P-5931). ALP se incorporó en matrices de HME mezclando en primer lugar 10,5 mg del polvo de enzima con 3,0 gramos de HME en un molino de bolas oscilante a 30 Hz durante 45 segundos, y formando matrices de tipo varilla comprimiendo muestras de 60-70 mg de la mezcla a 1000 libras durante 60 segundos. Las matrices se almacenaron entonces en viales de polietileno de 2 ml llenos de agua y cerrados herméticamente, y se incubaron a 37°C.

30 Concomitantemente, se incubaron muestras de polvo liofilizado de ALP a 37°C y 100% de humedad relativa en viales de polietileno abiertos. Las muestras almacenadas en cada condición se extrajeron a intervalos de tiempo definidos, retirándose las varillas de los viales llenos de agua, se secaron, y entonces se almacenaron a temperatura ambiente en nuevos viales abiertos durante 24 horas, a fin de sublimar todo el material de matriz. Los viales se cerraron entonces herméticamente y se almacenaron a -20°C hasta que se evaluaron para determinar la actividad (véase más abajo). Los viales que contienen el polvo de enzima liofilizado se cerraron directamente de forma hermética al retirarlos del baño de agua, y se almacenaron a -20°C grados hasta que se evaluaron.

40 La actividad específica y total en los viales se midió usando un ensayo cinético de hidrólisis de fosfato de p-nitrofenilo (Kit de Ensayo de Fosfatasa Alcalina QuantiChrom, BioAssay Systems, Hayward CA). El análisis de cada muestra de fosfatasa se llevó a cabo por triplicado. Los resultados, mostrados en la figura 13 como porcentajes de actividad inicial que queda a lo largo del tiempo, demuestran que la velocidad de pérdida de actividad enzimática en condiciones fisiológicas se puede reducir significativamente cuando el polvo de enzima se dispersa en una matriz de sólidos que subliman.

45

## REIVINDICACIONES

1. Composición en forma de un implante o inserto adecuada para la implantación o inserción dentro de un organismo hospedador, y eficaz para proporcionar una liberación lenta de un agente biológicamente activo en el organismo hospedador, comprendiendo dicha composición:

(a) por lo menos un material de matriz sublimable sólido que presenta una entalpía de sublimación desde 20 kJ/mol a 100 kJ/mol y un punto de fusión de 37°C o superior; y

(b) un agente biológicamente activo dispersado dentro del material de matriz sublimable sólido;

estando presente dicho material de matriz sublimable sólido en una cantidad de por lo menos 10% en peso de dicha composición y siendo eficaz para lograr una liberación lenta de dicho agente activo cuando dicha composición se administra dentro del organismo hospedador.

2. Composición según la reivindicación 1, en la que dicho material de matriz sublimable se selecciona de entre el grupo que consiste en alcanos globulares, alcanos perfluorados, alcanos perfluorados globulares, adamantano, perfluoroadamantano, 1-metiladamantano, perfluoro 1-metiladamantano, tetraisopropilmetano, perfluorotetraisopropilmetano, 2,2,3,3-tetrametilbutano (hexametiletano), perfluoro-2,2,3,3-tetrametilbutano, perfluoroneopentano, perfluoro-C60 fullereno, cubano, perfluorocubano, octametilcubano, perfluorooctametilcubano, perfluorometiladamantanos, perfluorotri-terc-butilmetano, perfluorodimetiladamantano, perfluorohexametiletano, perfluoro-1,3-dimetiladamantano, isocanfano, triciclono, 1-etiladamantano, 1-metildimantano, perfluorodimetilbiciclo[3.3.1]nonano, diadamantano, perfluorodiadamantano, tri-terc-butilmetano, norbornano, perfluoronorbornano, ciclododecano, perfluorociclododecano, hexametilciclotrisiloxano, perfluoroundecano, perfluorododecano, biciclo[3.3.1]nonano, tetracicloheptano, triciclohexano, dimetil-isopropilperhidrofenantreno, hexametilprismano, prismano, tetraciclododecano, biciclo[3.3.3]undecano, 2-metiladamantano, 1-metiladamantano, pentacicloundecano, triciclododecano, biciclododecano, biciclo[3.3.1]nonano, biciclo[2.2.2]octano, biciclo[2.2.1]heptano, perfluorotri-terc-butilmetano, perfluoro-1,3,5-trimetiladamantano, perfluoro-2,2-dimetiladamantano, perfluorotetracicloheptano, perfluorotriciclohexano, perfluorohexametilprismano, perfluoroprismano, perfluorotetraciclododecano, perfluorobiciclo[3.3.3]undecano, perfluoro-2-metiladamantano, perfluoropentacicloundecano, perfluorotriciclododecano, perfluorobiciclododecano, perfluorobiciclo[3.3.1]nonano, perfluorobiciclo[2.2.2]octano, perfluorobiciclo[2.2.1]heptano, y mezclas de los mismos.

3. Composición según la reivindicación 1, en la que el material de matriz sublimable se selecciona de entre el grupo que consiste en adamantina, hexametiletano, perfluoroneopentano, norborano, hexametilciclotrisiloxano, ciclododecano, o mezclas de los mismos.

4. Composición según la reivindicación 1 en la que dicho material de matriz sublimable está presente en una cantidad de por lo menos aproximadamente 60% en peso sobre la base del peso de la composición.

5. Composición según la reivindicación 1 en la que dicho material de matriz sublimable está presente en una cantidad de por lo menos aproximadamente 80% en peso sobre la base del peso de la composición.

6. Composición según la reivindicación 1 que contiene además un modificador de la velocidad de sublimación.

7. Composición según la reivindicación 6 en la que dicho modificador de la velocidad de sublimación es eficaz para alterar una velocidad de sublimación de dicha composición.

8. Composición según la reivindicación 6 en la que dicho modificador de la velocidad de sublimación es eficaz para alterar un área de superficie de dicha composición a lo largo del tiempo.

9. Composición según la reivindicación 6 en la que dicho modificador de la velocidad de sublimación se selecciona de entre el grupo que consiste en trimetilacetamida, 2,2-dimetil-1,3-propanodiol, pivalato de neopentilo, perfluorodecalina, perfluoroalcanos, tri-terc-butilmetanol, perfluorocicloalcanos, alcanfor, canfeno, alcohol neopentílico, hexacloroetano, clorobutanol, mentol, hidrato de terpina, vainillina, etil vainillina, 1,3,5-trioxano, naftaleno, fenol, triestearina, dextrano, glucógeno, terc-butanol, polímeros biodegradables compuestos por poliácido láctico o copolímeros de ácidos láctico y glicólico, poliortoésteres, o polianhídridos, micropartículas compuestas por dichos polímeros bioerosionables, ácidos grasos, polivinilpirrolidona, polietilenglicol, polialcohol vinílico, poliácido acrílico, colesterol y sus micropartículas, caprostan, triglicéridos que presentan un punto de fusión superior a 37°C, colágeno y sus micropartículas, gelatina y sus micropartículas, etanol, propilenglicol, PEG 400, glicerol, poliglicerol, polisorbato, sacaralosa, pentahidrato de sacaralosa, y sus mezclas.

10. Composición según la reivindicación 6 en la que dicho modificador de la velocidad de sublimación está presente en una cantidad desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30% en peso sobre la base del peso de dicha composición.

11. Composición según la reivindicación 6 en la que dicho modificador de la velocidad de sublimación está presente en una cantidad desde aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10% en peso sobre la base del peso de dicha composición.
- 5 12. Composición según la reivindicación 1 en la que dicho implante está en forma de un disco, cilindro o pélet implantables.
13. Composición según la reivindicación 1, en la que dicho agente biológicamente activo es un fármaco.
- 10 14. Composición según la reivindicación 1 en la que dicho organismo hospedador es un mamífero.
15. Composición según la reivindicación 14 en la que dicha composición comprende además un modificador de la velocidad de sublimación.
- 15 16. Procedimiento de protección de un agente biológicamente activo de la degradación física o química o de la pérdida de actividad que comprende disponer dicho agente activo en una matriz sólida o semisólida de material de matriz sublimable para formar un implante que puede proporcionar una liberación lenta de dicho agente biológicamente activo a un organismo hospedador por sublimación de dicho material de matriz sublimable al implantar dicho implante en dicho organismo, presentando dicho material de matriz sublimable una entalpía de sublimación desde 20 kJ/mol a 100 kJ/mol y un punto de fusión de 37°C o superior; en el que dicho sistema de suministro de fármaco comprende por lo menos 10% en peso de dicho material de matriz sublimable.
- 20 17. Procedimiento según la reivindicación 16 en el que dicha matriz comprende además un modificador de la velocidad de sublimación.
- 25 18. Procedimiento según la reivindicación 16 en el que dicha matriz es adecuada para el depósito en un organismo hospedador.
- 30 19. Procedimiento según la reivindicación 16 en el que dicha matriz es adecuada para el depósito en un mamífero.
20. Composición según la reivindicación 1 adaptada para liberar dicho agente activo durante un período de por lo menos aproximadamente 7 días.
- 35 21. Composición según la reivindicación 1 adaptada para liberar dicho agente activo durante un período de por lo menos aproximadamente 30 días.
22. Composición según la reivindicación 1 adaptada para liberar dicho agente activo durante un período de por lo menos aproximadamente 3 meses.
- 40 23. Procedimiento para preparar una composición adecuada para el suministro de agentes biológicamente activos que comprende:
- 45 a. combinar por lo menos un material de matriz sublimable y un agente biológicamente activo para formar una mezcla;
- b. mezclar la mezcla; y
- 50 c. comprimir la mezcla para formar una masa sólida o semisólida de peso y forma definidos para formar un implante eficaz para proporcionar una liberación lenta de dicho agente biológicamente activo a un organismo hospedador por sublimación de dicho material de matriz sublimable tras la implantación de dicho implante en dicho organismo, presentando dicho material de matriz sublimable una entalpía de sublimación desde 20 kJ/mol a 100 kJ/mol y un punto de fusión de 37°C o superior; en el que dicho sistema de suministro de fármaco comprende por lo menos 10% en peso de dicho material de matriz sublimable.
- 55 24. Procedimiento según la reivindicación 23, que comprende además combinar por lo menos un modificador de la velocidad de sublimación con dicho material de matriz sublimable y dicho agente biológicamente activo.
- 60 25. Procedimiento según la reivindicación 23, en el que dicha mezcla se comprime para formar un disco, cilindro, o pélet sustancialmente esférico.
26. Procedimiento para fabricar un medicamento destinado al tratamiento del cuerpo humano o animal, caracterizado por que se utiliza la composición según la reivindicación 1.
- 65 27. Procedimiento según la reivindicación 26, en el que la composición comprende por lo menos dos materiales de matriz sublimables diferentes.

28. Procedimiento según la reivindicación 26 o 27, en el que la composición comprende además un modificador de la velocidad de sublimación.
- 5 29. Composición según la reivindicación 1, en la que la composición es adecuada para administración oral, parenteral, periodontal, peritoneal, subcutánea, ocular, mediante implantación, vaginal, rectal, mediante colocación sobre una herida, o intradérmica.
- 10 30. Composición según la reivindicación 1 para la utilización en el tratamiento de un cuerpo humano o animal.
- 15 31. Composición según la reivindicación 1 para la utilización en el tratamiento de uno o más de hemofilia y otros trastornos de la sangre, trastornos del crecimiento, diabetes, leucemia, hepatitis, insuficiencia renal, infección por VIH, enfermedades hereditarias tales como deficiencia de cerebrosidasa y deficiencia de adenosina desaminasa, hipertensión, choque septicémico, enfermedades autoinmunitarias tales como esclerosis múltiple, enfermedad de Graves, lupus eritematoso diseminado y artritis reumatoide, trastornos de choque y consuntivos, fibrosis quística, intolerancia a la lactosa, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, cáncer gastrointestinal u otros cánceres.
- 20 32. Forma de dosificación que comprende la composición según la reivindicación 1, seleccionándose dicha forma de dosificación de entre el grupo que consiste en: implantes, comprimidos, inyectables, suspensiones orales, varillas, micropartículas y supositorios.

Figura 1

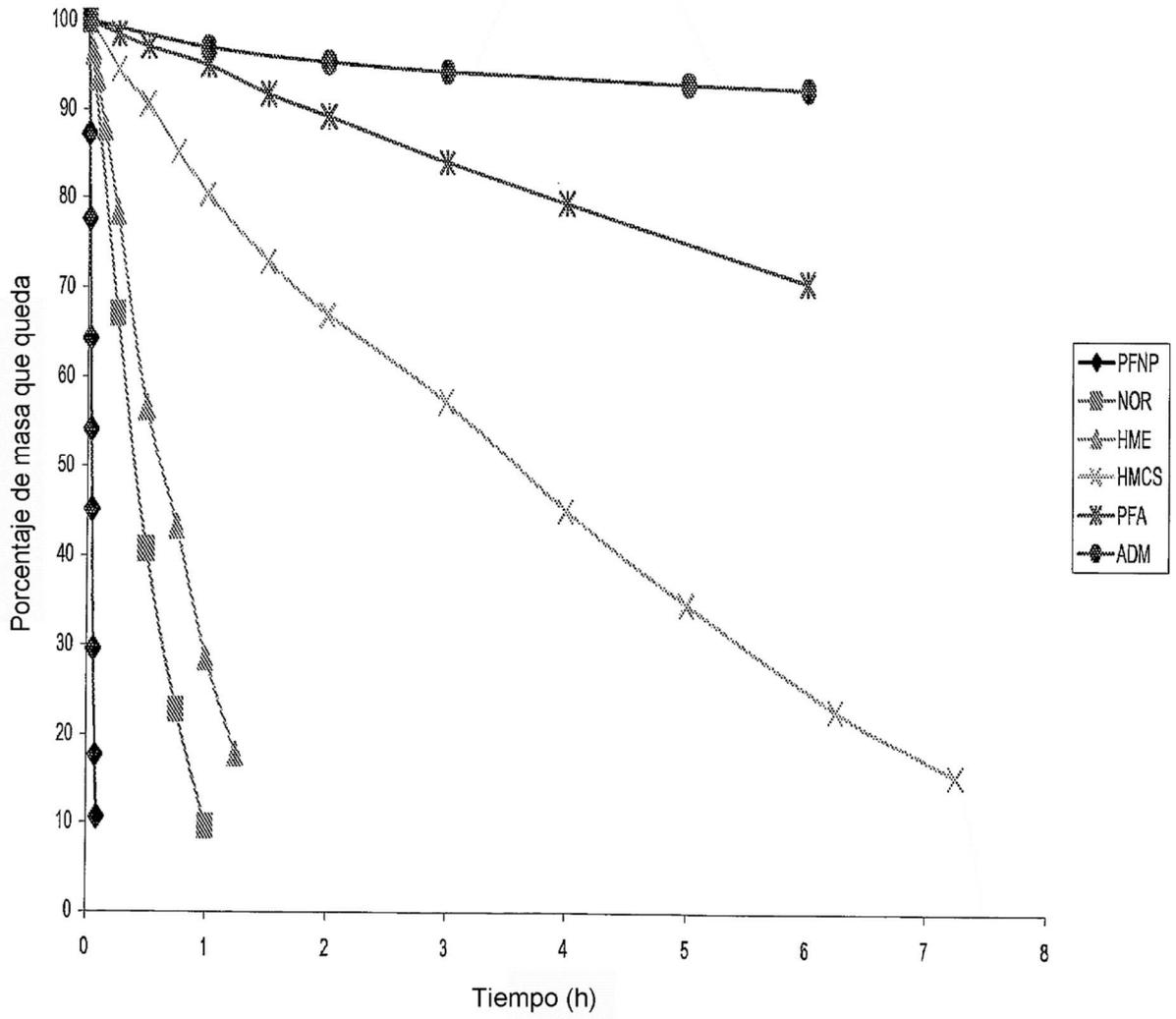


Figura 2

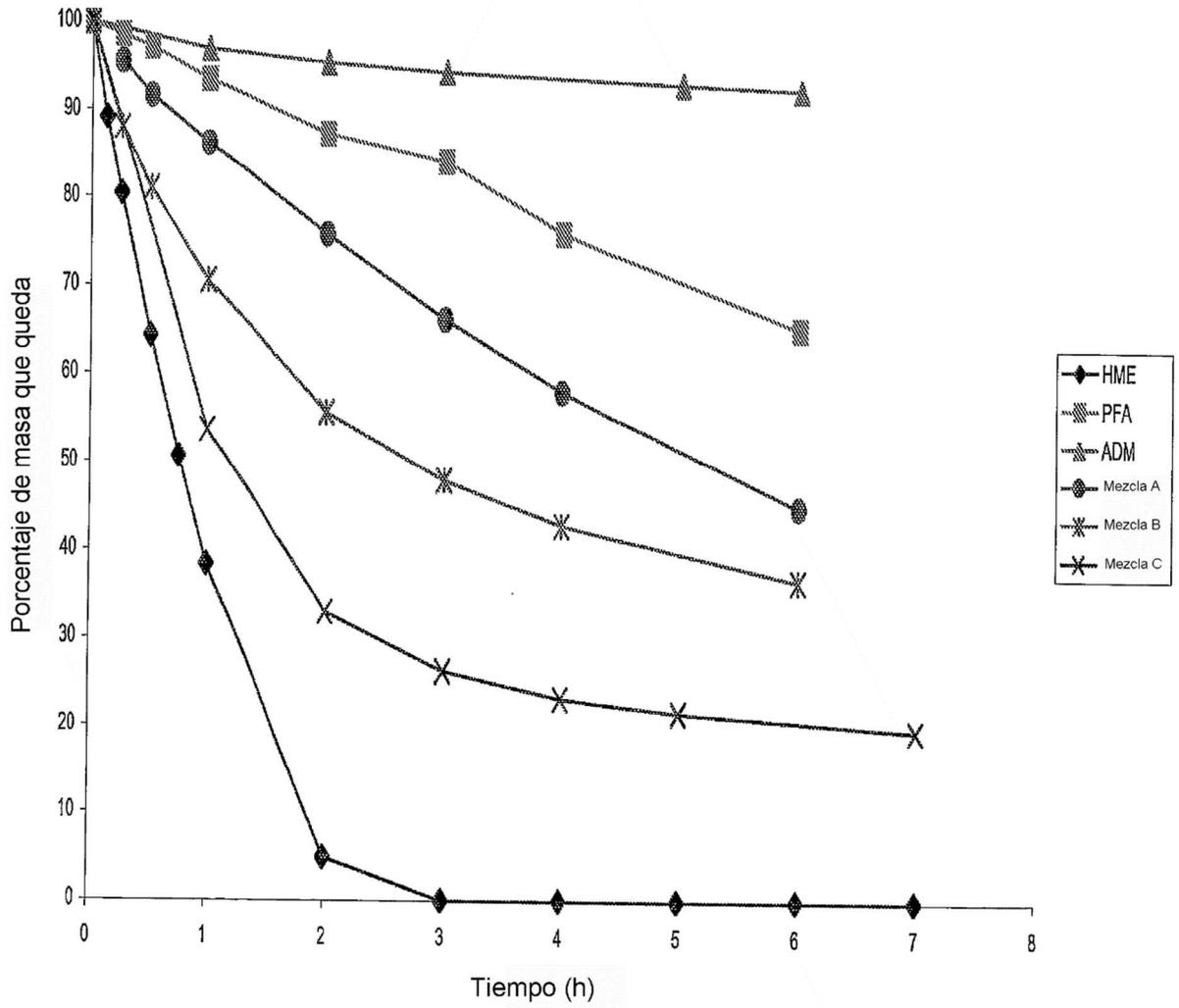


Figura 3

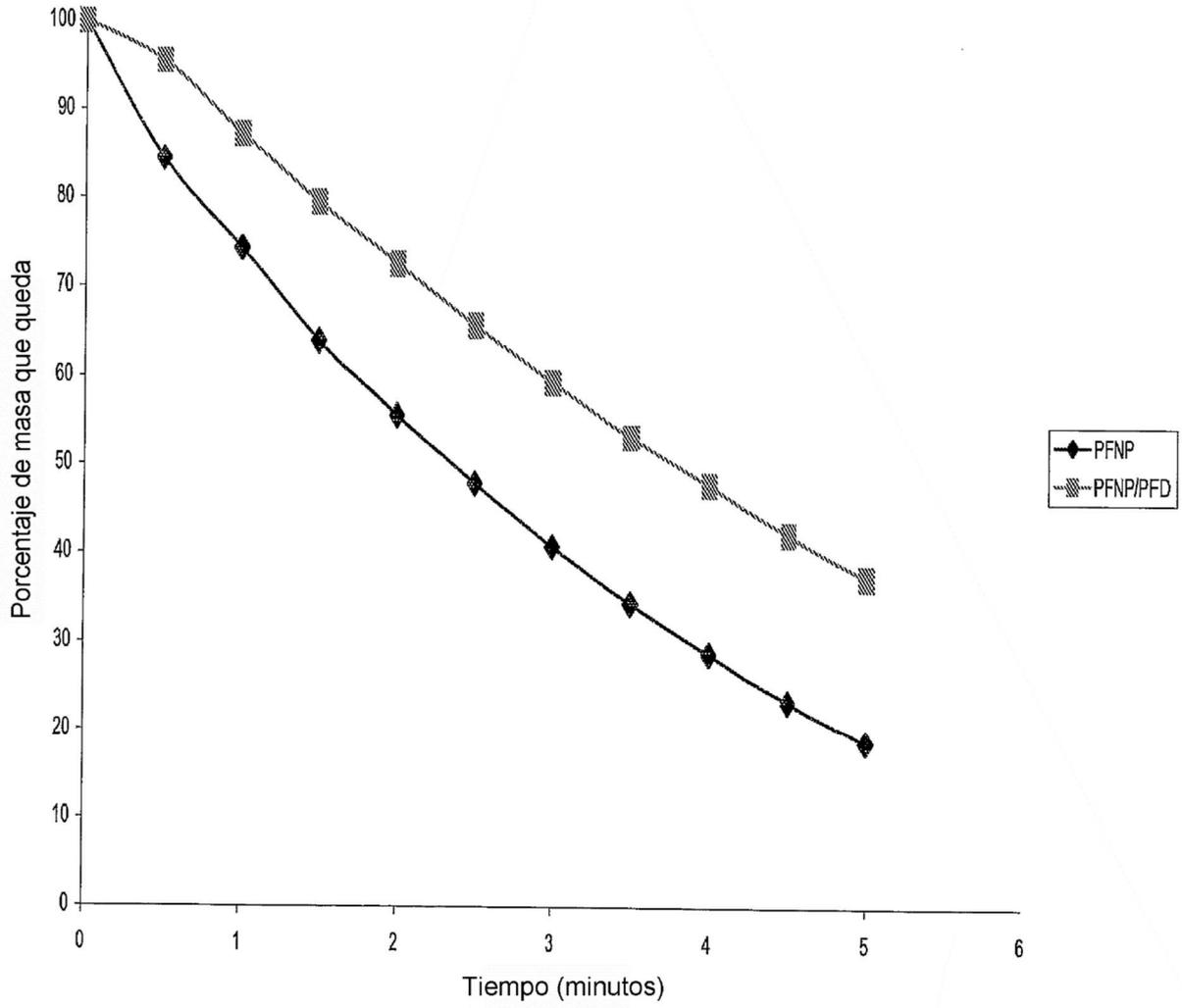


Figura 4

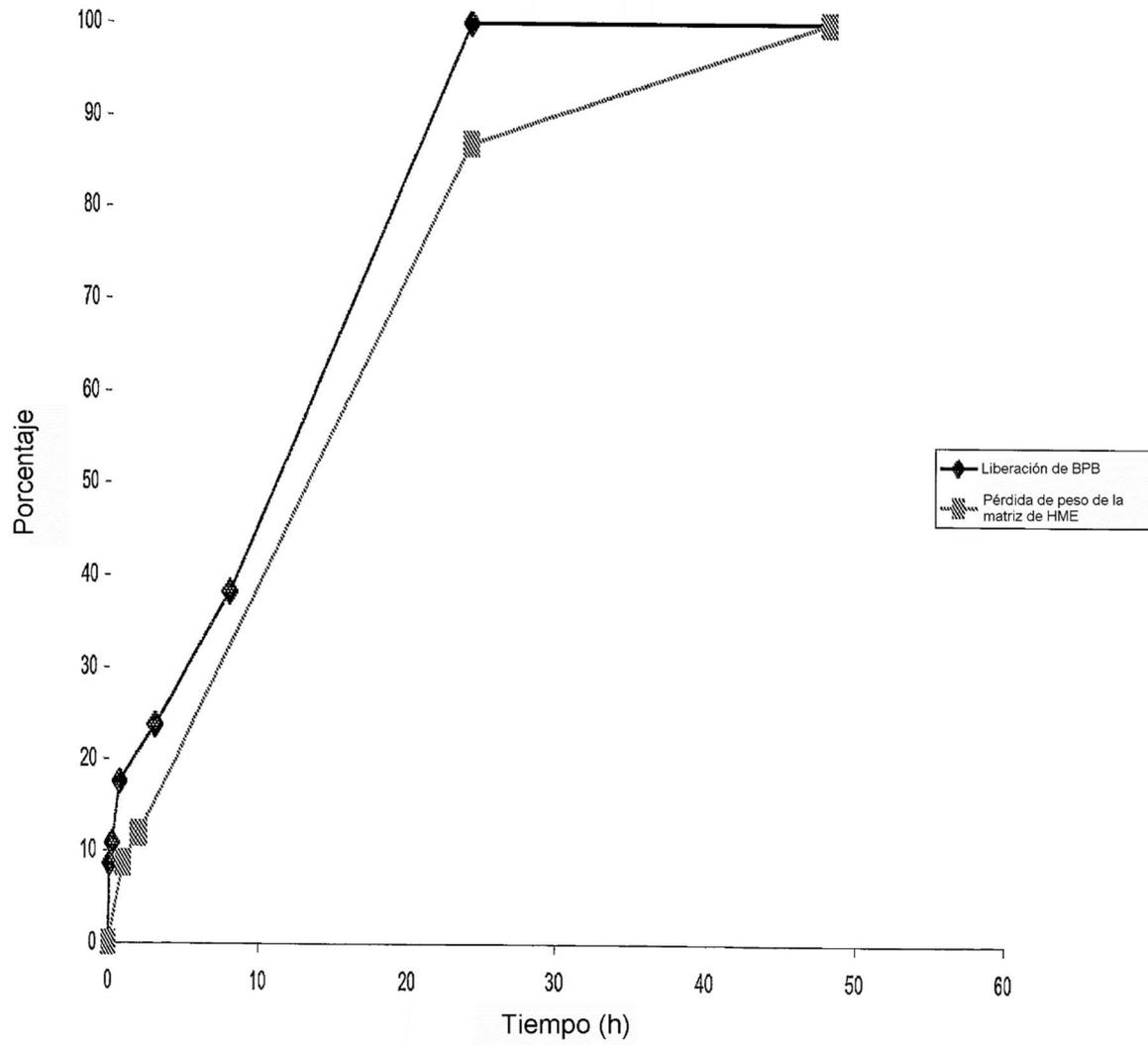


Figura 5

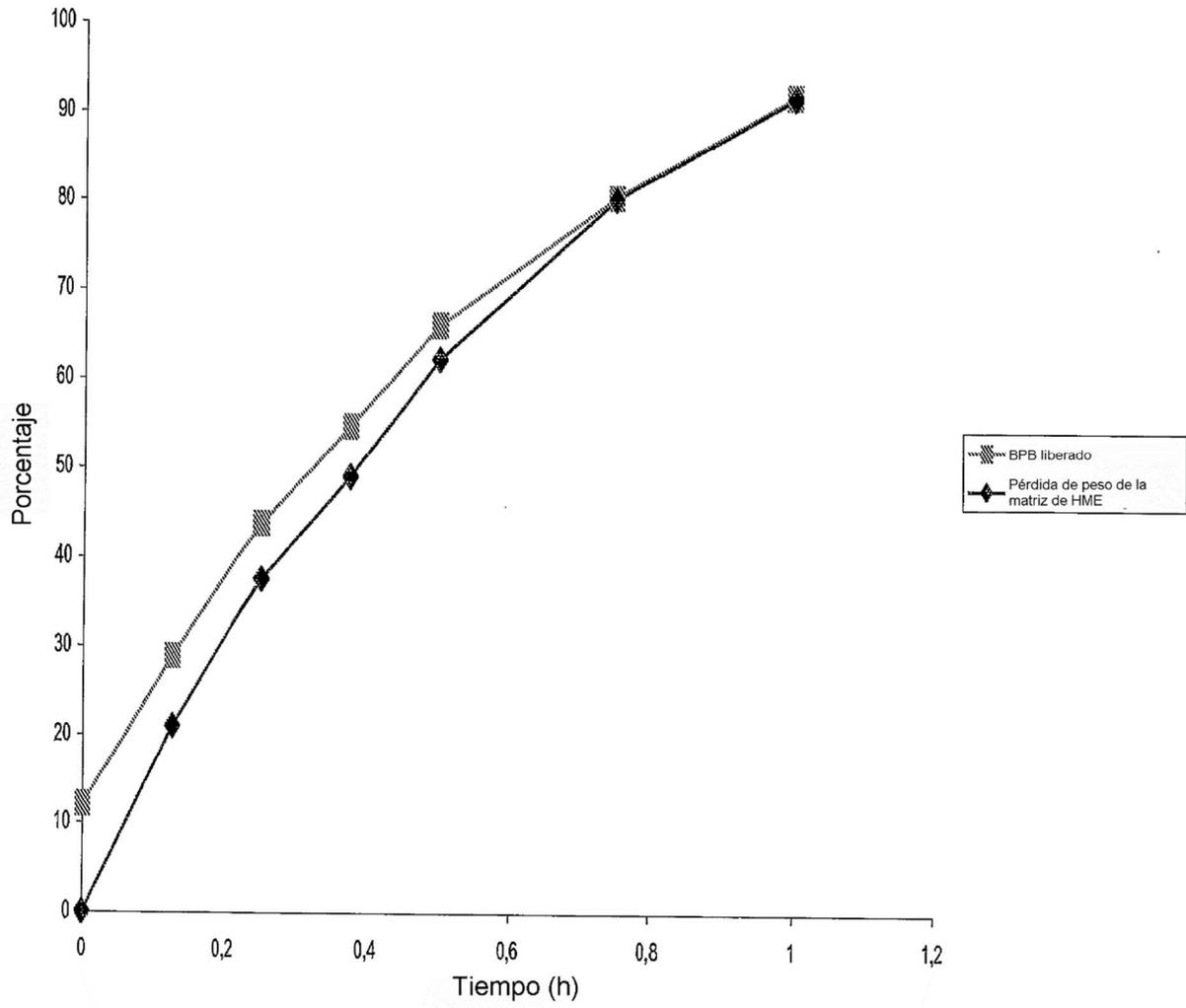


Figura 6

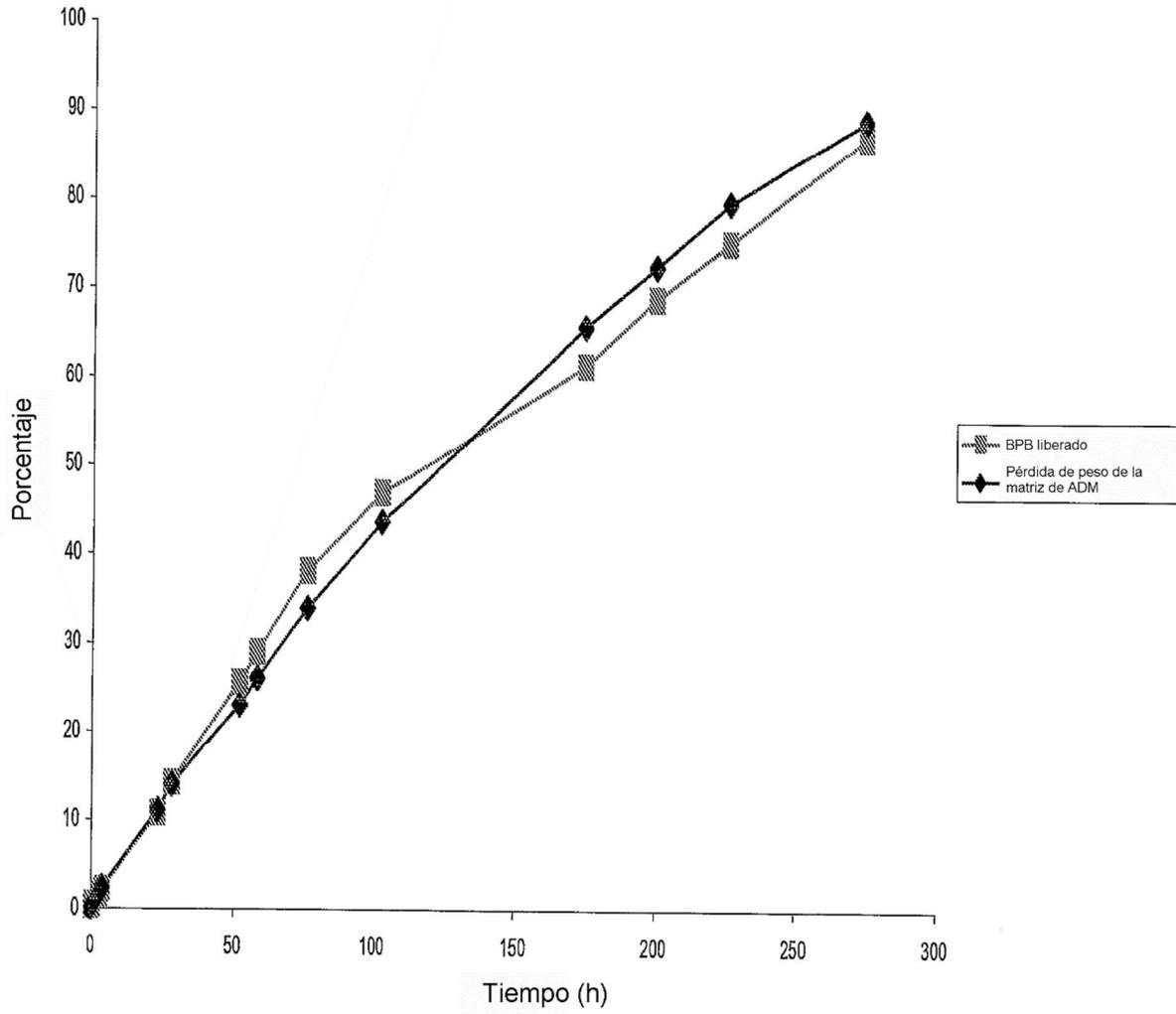


Figura 7

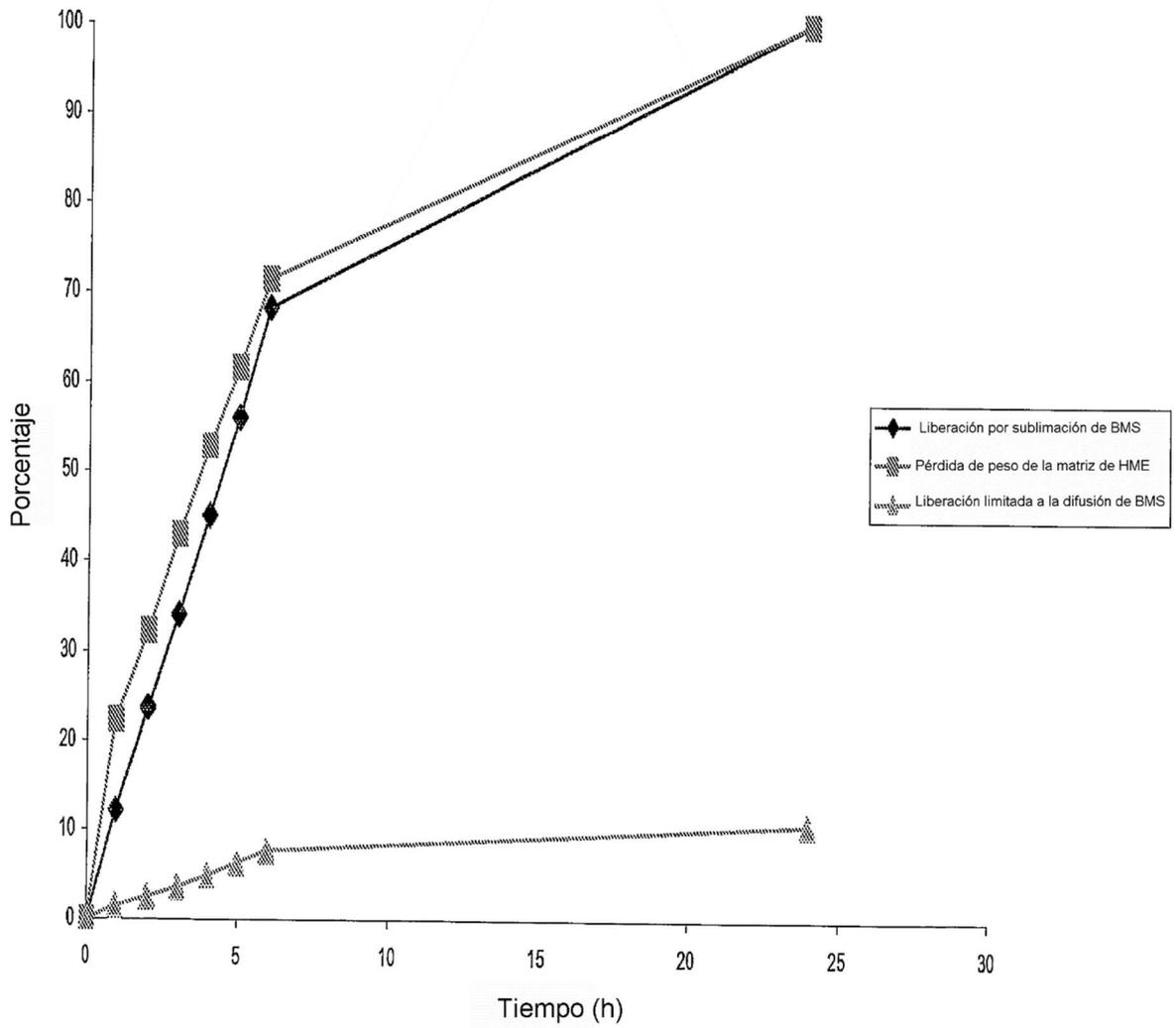


Figura 8

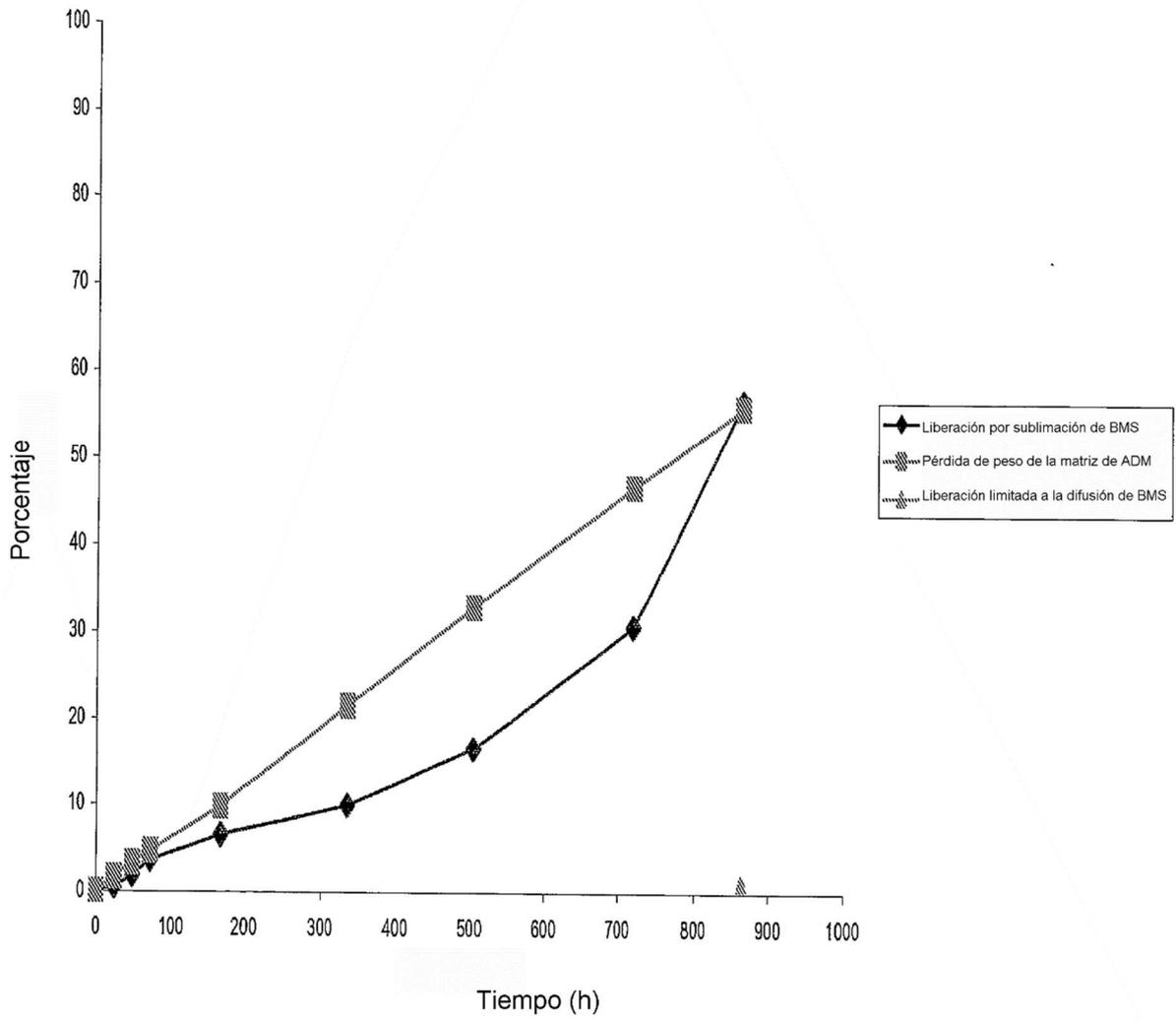


Figura 9

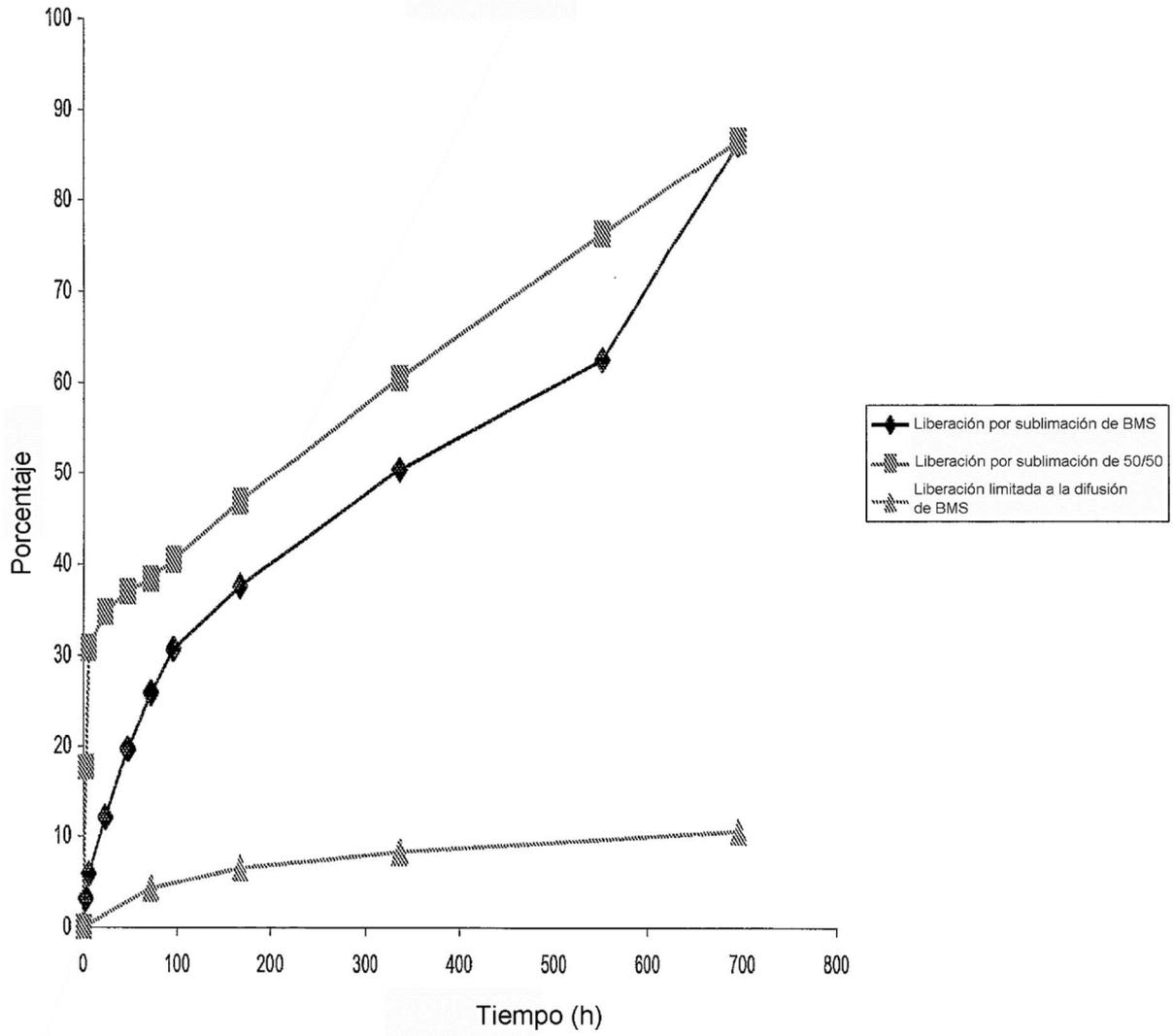


Figura 10

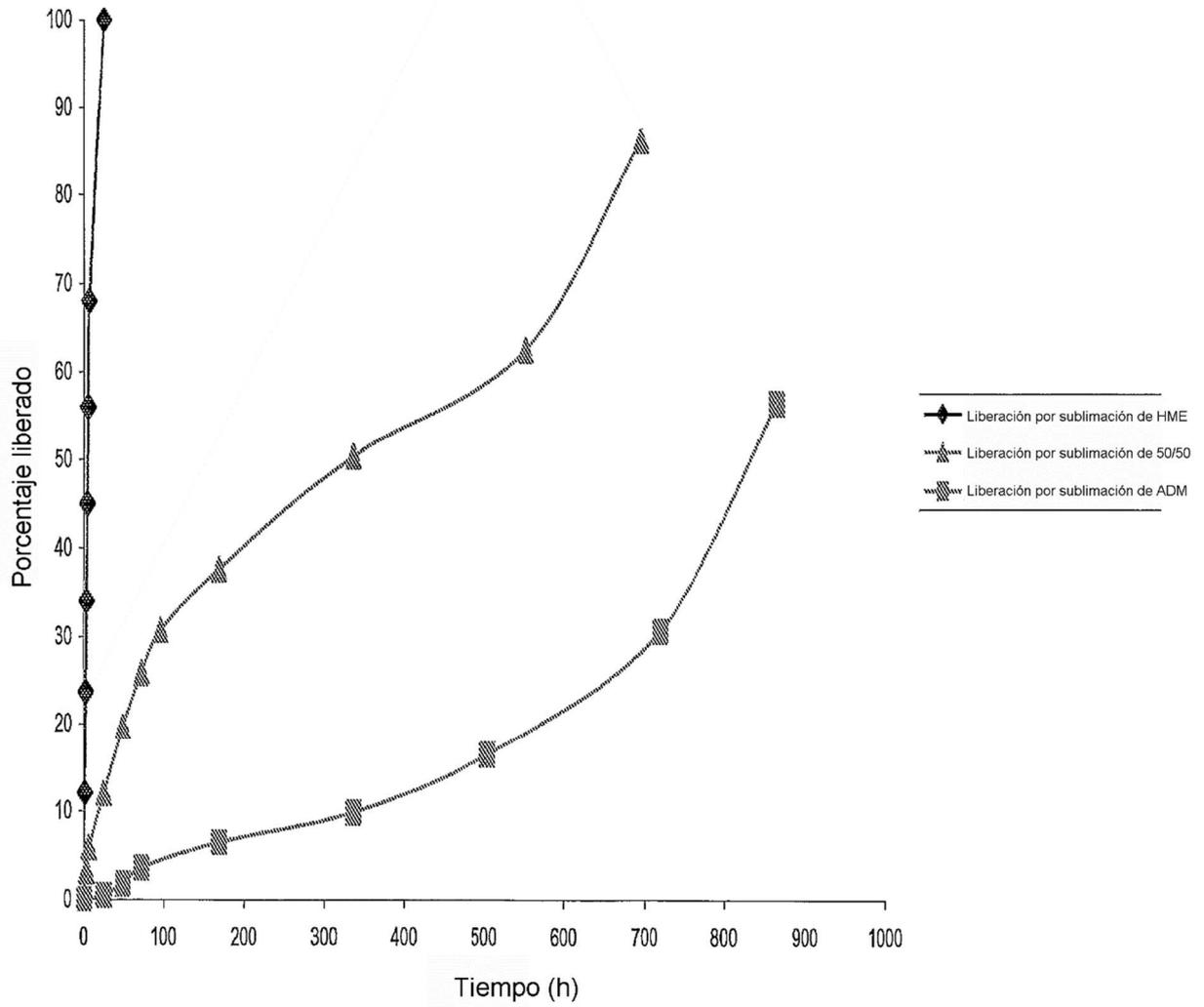


Figura 11

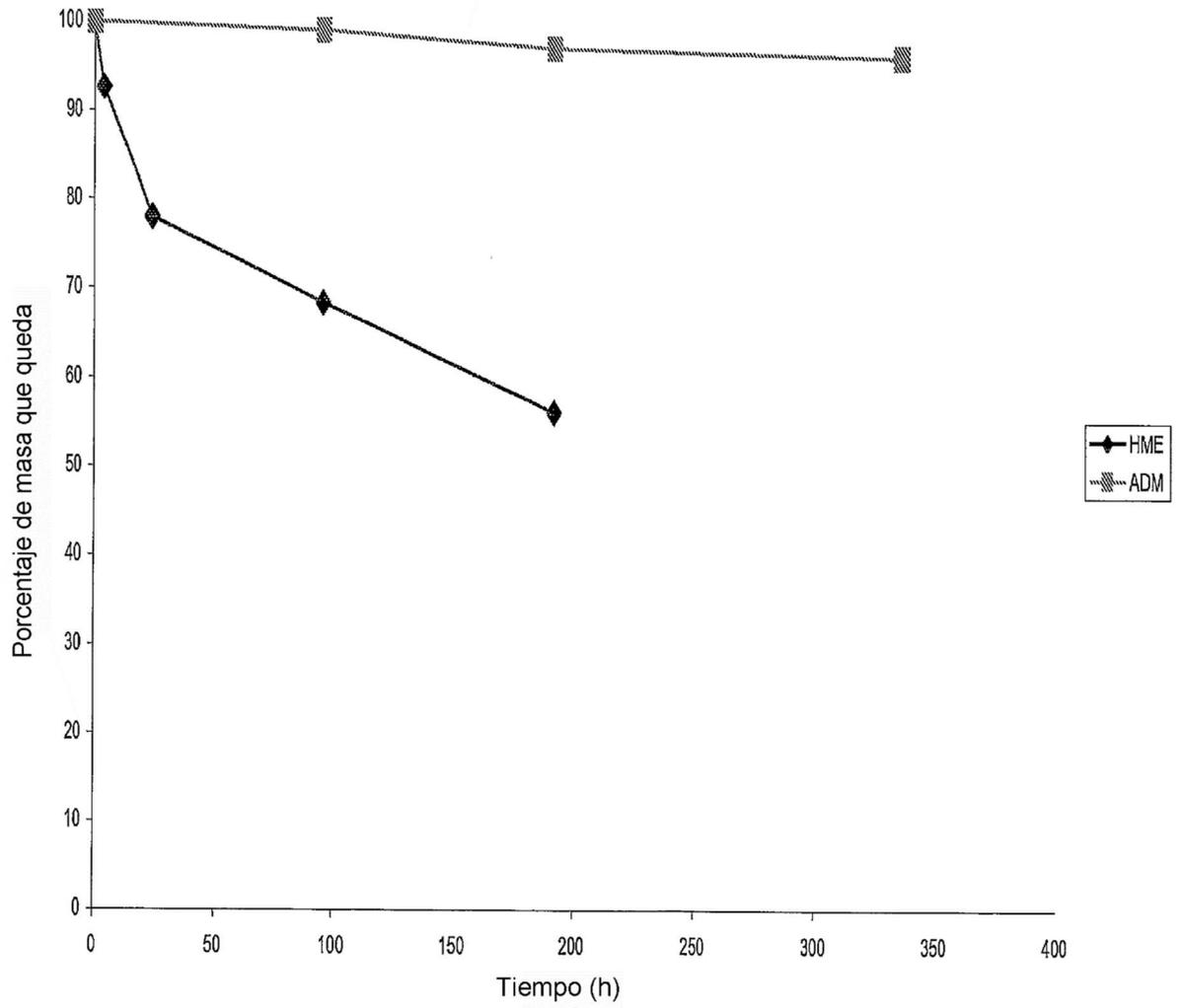


Figura 12

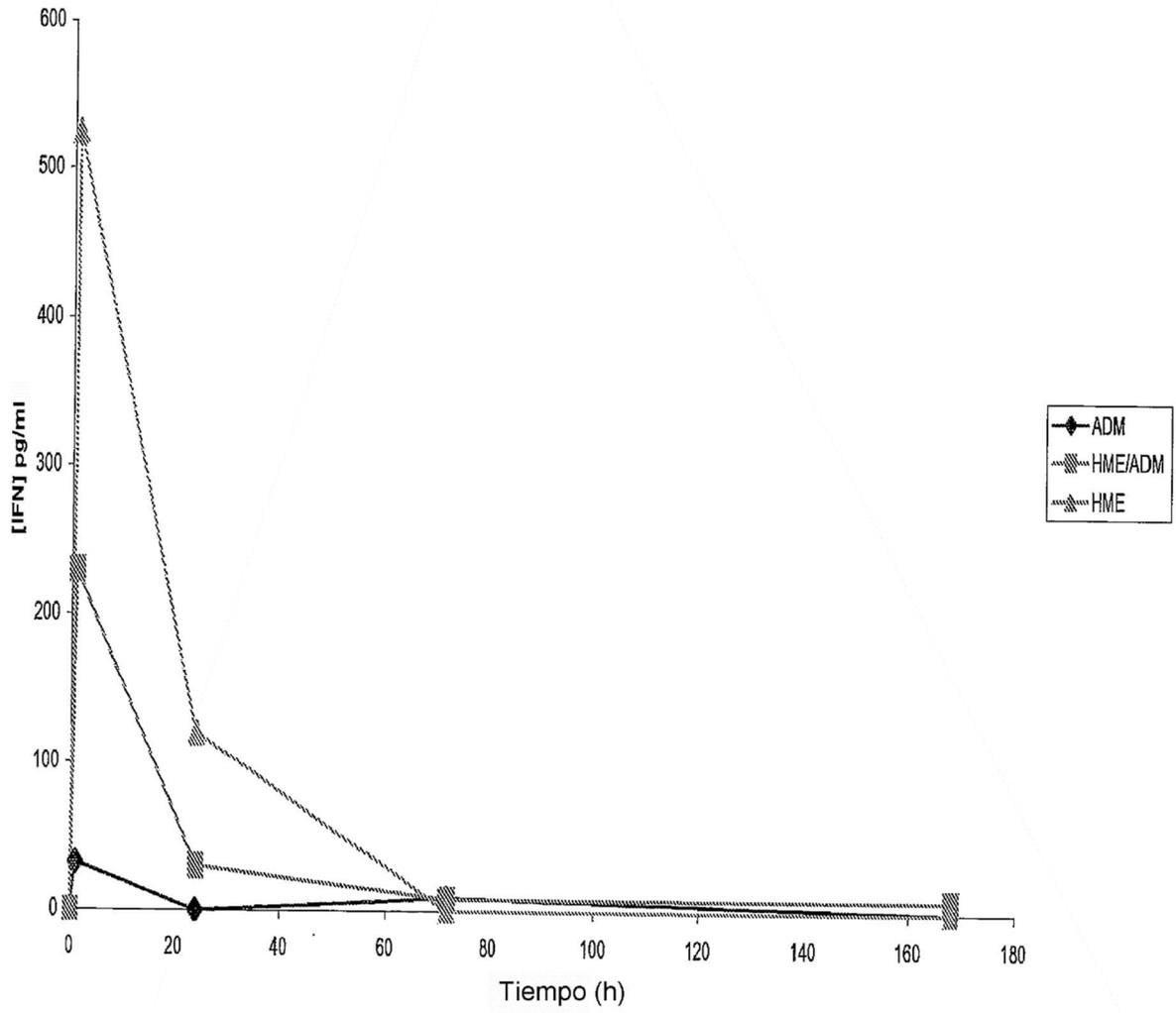


Figura 13

