

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 693 523**

51 Int. Cl.:

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.12.2014 PCT/IB2014/066986**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015 WO15092690**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2014 E 14821857 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 3082765**

54 Título: **Sistemas de suministro de fármacos**

30 Prioridad:

19.12.2013 US 201361918378 P

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

12.12.2018

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

SUPPER, STEPHANIE

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 693 523 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

Sistemas de suministro de fármacos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a sistemas de suministro de un péptido termogelificante que se inyectan como sol de fluido a temperatura ambiente a través de agujas de inyección finas y se transforman en un gel altamente viscoso, una vez insertado en el tejido caliente del cuerpo humano o animal. El péptido se libera entonces desde el hidrogel inducido térmicamente en el tejido circundante de una manera controlada durante un período de tiempo más largo.

Antecedentes de la invención

10 Muchos péptidos farmacéuticamente activos no se pueden entregar de manera efectiva a través de la administración oral dado que la mayoría de los péptidos son propensos a la degradación en el tracto gastrointestinal. Como consecuencia, los péptidos deben ser entregados por vía parenteral. Sin embargo, la administración parenteral del fármaco peptídico en el subcutis o el tejido muscular está asociada con la incomodidad del paciente por medio de las inyecciones de aguja. Esas inyecciones invasivas necesitan ser repetidas con bastante frecuencia toda vez que muchos péptidos tienen una corta vida media de sólo unas pocas horas o incluso menos de una hora. por lo tanto, se han desarrollado formulaciones de depósito parenteral en forma de implantes o suspensiones de micropartículas para reducir la frecuencia en la que las inyecciones tienen que ocurrir.

Para la comodidad de la paciente que sufre de una enfermedad crónica, hay una necesidad de desarrollar aún más las tecnologías de formulación de depósito disponibles de hoy para lograr sistemas de administración sostenida de fármacos que puedan inyectarse a través de agujas muy finas.

20 Se sugieren hidrogeles inducidos térmicamente que se pueden inyectar como sol de fluido y que se solidifican como hidrogel muy viscoso. Sin embargo, muchos de estos hidrogeles se basan en polímeros de alto peso molecular que, una vez disueltos en medios acuosos, se convierten en soluciones altamente viscosas de modo que se requiere de nuevo un gran tamaño de aguja para la inyección (por ejemplo, en X. Chen et al., J. Biomat. Aplicaciones 2011, 27 (4), 391-402, debido a la utilización de un quitosano de alto peso molecular (500 kDa) el sol tuvo que ser instilado en el ojo usando una jeringa sin aguja). Otro problema con los sistemas hasta ahora propuesto es una liberación de fármaco muy fuerte corto tiempo después de la inyección (la llamada "oleada") de modo que una cantidad significativa del fármaco ya se libera en el tejido inmediatamente antes de que el fluido se transforme en un hidrogel . Aún más, algunos sistemas tienen un problema de estabilidad y se transforman en un hidrogel ya durante el tiempo de almacenamiento que los hace inservibles para una inyección posterior (por ejemplo, como se observa por el inventor de la presente invención para sistemas de quitosano/beta-glicerofosfato como se describe anteriormente por ejemplo, en el documento WO99/07416).

Sumario de la invención

35 Por lo tanto, todavía hay una necesidad de un sistema de administración sostenida de un fármaco de péptido que cumpla todos los requisitos siguientes para minimizar las molestias de los pacientes y para maximizar la comodidad, seguridad y operatividad para la inyección realizada por el propio paciente o por los médicos clínicos:

- Listos para el uso (el producto fármaco debe estar inmediatamente listo para ser inyectado, no hay que realizar esfuerzos preparatorios importantes, por ejemplo, no es necesario que un polvo seco deba reconstituirse con un vehículo acuoso para llegar a una suspensión inyectable)
- Inyectabilidad a través de una aguja muy fina (por ejemplo, 21 G o menor)
- 40 – la liberación sostenida del fármaco durante un período prolongado de tiempo (por ejemplo, uno o más meses)
- Biocompatibilidad (por ejemplo, que los componentes no causen dolor después de la inyección)
- Biodegradabilidad (por ejemplo, que todos los componentes sean completamente reabsorbidos por el cuerpo después de un tiempo razonable para evitar la acumulación de cualquiera de los componentes después de eventos repetitivos de inyección)
- 45 - La estabilidad física durante la vida útil razonable (por ejemplo, no hay posibilidad de que la calidad del sol en el sistema de almacenamiento se prolongue más allá del almacenamiento en condiciones de frío o a temperatura ambiente)
- Buen perfil de seguridad de los excipientes

50 La presente invención satisface sorprendentemente todos esos requisitos y por lo tanto es un sistema de suministro de péptidos comercialmente viable.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un sistema de suministro de fármaco que comprende:

(a) un péptido farmacéuticamente activo o cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por ejemplo, pamoato de pasireotida,

5 (b) 1 a 2% en peso de un quitosano (CS) o derivado de quitosano, que tiene un grado de desacetilación (DD) de 85 a 95% y un peso molecular (MW) de 100 a 200 kDa

(c) 10 a 25% en peso de un azúcar-fosfato, preferiblemente un glucosa-1-fosfato (G1-P) y

(d) agua, con base en el peso total del sistema de administración de fármacos.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar el sistema de administración de fármacos tal como se define por un primer aspecto que comprende siguientes etapas del proceso:

10 (1) disolver el quitosano en una solución acuosa ácida, Preferiblemente en una solución de ácido clorhídrico,

(2) disolver el azúcar-fosfato en un medio acuoso, preferiblemente en agua,

(3) disolver, disolver parcialmente, o dispersar el péptido en la solución de azúcar-fosfato, preferiblemente dispersar el péptido, y

(4) combinar la solución de péptido/glucosa-fosfato y/o la suspensión con la solución de quitosano.

15 El sistema de suministro de fármaco de acuerdo con el primer aspecto es para uso intramuscular o subcutáneo, preferiblemente para uso subcutáneo.

En un tercer aspecto, se proporciona una forma de dosificación que comprende el sistema de suministro de fármaco de acuerdo con el primer aspecto en forma de un líquido en una ampolla, vial o jeringa precargada.

Breve descripción de los dibujos

20 La figura 1 muestra los perfiles de liberación de los hidrogeles de pasireotida CS/G1-P frente a soluciones de CS (media \pm DE, $n = 3$) y demuestra la liberación controlada de fármacos de péptido en contraste con un control.

La figura 2 muestra los perfiles de liberación de los hidrogeles de Pasireotida CS/G1-P como una función de la carga inicial (media \pm DE, $n = 3$).

25 La figura 3 muestra la viscosidad de cizallamiento aparente en $20,0 \pm 0,2$ °C para la solución de CS y sistemas de CS/agentes gelificantes almacenados a 2 - 8 °C y a 20 - 25 °C ($n = 3$) que demuestran la buena estabilidad física de las formas de realización de la presente invención en contraste con una forma de realización de referencia.

La figura 4 muestra la evolución del tiempo de gelificación, determinado por la reología a 37 °C, de soluciones de CS/agentes gelificantes almacenadas a 2 - 8 °C y a 20 - 25 °C ($n = 3$) lo que demuestra la buena estabilidad física de las formas de realización de la presente invención en contraste con una forma de realización de referencia.

30 La figura 5 muestra las fuerzas de inyección de 1 ml de solución CS/G1P (1,5 % en peso. CS y 0,40 mmol/g G1P) inyectados en el aire a dos velocidades de inyección con agujas 23 G, 25 G y 30 G ($n = 10$) y demuestra la buena inyectabilidad de las realizaciones de la presente invención.

35 La figura 6 muestra el peso molecular relativo de CS para tres lotes diferentes de 1,5 % en peso/Solución de 0,40 mmol/g G1P CS no filtrada y esterilizada por filtración a través de una membrana de 0,2 micras ($n = 3$) y demuestra la viabilidad de esterilizar las formas de realización de la presente invención para hacerlas adecuadas para uso parenteral.

Descripción detallada de la invención

De aquí en adelante, la presente invención se describe y se ejemplifica con más detalle.

40 En los aspectos de la presente invención, el péptido es preferiblemente hidrófobo. En una realización el péptido es hidrófobo por medio de las características de sus aminoácidos. En otra realización, el péptido es hidrófobo por medio de su contracción (es) que hacen que el péptido como una sal hidrófoba, por ejemplo sales como dibunato, naftoato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato/embonato, estearato, xinafoato. En una realización preferida, el péptido está presente como sal de pamoato, más preferiblemente como la sal monopamoato.

45 En una realización preferida, el péptido hidrófobo o la sal del mismo está presente en una forma amorfa (grado de cristalinidad <20%, preferiblemente <5%) y micronizada (por ejemplo, por molienda por chorro) a una distribución tamaño de partícula (por difracción de luz láser) de $x_{90} \leq 10$ micras, por ejemplo, 3 μm , $x_{50} \leq 5$ μm , por ejemplo, 1 μm , $x_{10} > 0,3$ μm , por ejemplo, 0,7 μm y posee un área de superficie específica (por BET) > 8 m^2/g , por ejemplo, 32 m^2/g .

En aún otra realización preferida, el péptido es un análogo de la somatostatina, por ejemplo, octreotida, pasireotida, vapreotida, o lanreotida, preferiblemente octreotida o pasireotida, más preferiblemente pasireotida. En una realización preferida, el péptido hidrófobo es pamoato de octreótido o pamoato de pasireotida.

5 "Hidrófobo" en este documento se refiere como una característica de una sustancia farmacológicamente activa que es escasamente, ligeramente, o muy ligeramente soluble en agua a temperatura ambiente (por ejemplo 20 - 25 °C) de acuerdo a la Pharmacopeia (USP y PhEur) con términos descriptivos para la solubilidad con sus gamas de solubilidad de 10 a 33, 1-10, o 0,1 a 1 g/L, respectivamente. Preferiblemente, el péptido hidrófobo es muy poco soluble en agua a temperatura ambiente, preferiblemente la solubilidad en agua es de aproximadamente 1 g/L o inferior a temperatura ambiente. Por ejemplo, los péptidos hidrófobos son pamoato de pasireotida con una solubilidad en agua de 0,02 g/L
10 o pamoato de octreótido con una solubilidad en agua de 0,2 g/L (25 °C) o pamoato de vapreotida con una solubilidad en solución salina de tampón de fosfato (PBS pH 7,4) de aproximadamente 0,02-0,04 g/L.

En los aspectos de la presente invención, un quitosano, un quitosano modificado o un derivado de quitosana (por ejemplo quitosano HCl, carboximetilquitosano, lactato de quitosán, acetato de quitosán) se utiliza. En una realización preferida, un quitosano se utiliza que tiene un grado de desacetilación (DD) de 70 a 95%, preferiblemente un DD 85 a 95%, más preferiblemente un DD de 90 ± 2,5%. En una realización preferida se utiliza un quitosano que tiene un peso molecular (MW) de 20 a 300 kDa, preferiblemente un MW 80-200 kDa, más preferiblemente un MW de 100 a 150 kDa, incluso más preferiblemente un peso molecular de 135 ± 20 kDa.

Los quitosanos se pueden obtener en, por ejemplo, por Heppe Medical Chitosan GmbH, Halle (Saale), Alemania, por ejemplo, en el tipo de quitosano 90/10 (DD 87,6-92,5%, viscosidad 8 - 15 mPas, corresponde a un MW (GPC) de ca. 20 a 100 kDa), Chitosan 90/20 (DD 87,6-92,5%, viscosidad 16 - 30 mPas, corresponde a un MW (GPC) de ca. 40 a 150 kDa), Chitosan 90/50 (DD 87,6-92,5%, viscosidad 31 - 70 mPas, corresponde a un MW (GPC) de ca. 80-200 kDa), Quitosano 90/100 (DD 87,6-92,5%, viscosidad 71 - 150 mPas, corresponde a un MW (GPC) de ca. 100-250 kDa), o quitosano 90/200 (DD 87,6-92,5%, Viscosidad 151 - 350 mPas, corresponde a un MW (GPC) de ca. 150-300 kDa). Las viscosidades se miden como una solución de 1% de quitosano en ácido acético 1% a 20 °C. En una realización preferida de la presente invención se utiliza un quitosano 90/50.

En los aspectos de la presente invención se usa un azúcar-fosfato. En las realizaciones de la presente invención el azúcar de dicho azúcar-fosfato es un monosacárido, disacárido, o un oligosacárido, preferiblemente un monosacárido seleccionado del grupo de las aldosas, por ejemplo, glucosa, manosa, galactosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, ribosa, arabinosa, xilosa, lixosa, o del grupo de cetosas, por ejemplo fructosa, sorbosa, tagatosa, psicosa, araboketose, xyloketose, o una mezcla de las mismas, glucosa o fructosa preferiblemente o una mezcla de las mismas.

En una realización preferida, dicho azúcar-fosfato es una glucosa-fosfato, preferiblemente una glucosa-1-fosfato, preferiblemente un alfa-D-glucosa-1-fosfato, más preferiblemente un hidrato de alfa-D-glucosa-1-fosfato disódico.

En los aspectos de la presente invención, el sistema de suministro de medicamento comprende al menos 1%, al menos 2%, 1 a 30%, 2 a 10%, o 2 a 5%, preferiblemente de 2 a 5% en peso del péptido en su forma de base libre basado en el peso total del sistema de administración de fármacos. El sistema de administración de fármaco comprende de 10-25% en peso de la azúcar-fosfato del sistema de administración de fármacos basado en el peso total del sistema de administración de fármacos. Las formas de realización preferidas comprenden 10, 15, y 20% en peso del azúcar-fosfato de glucosa-1-fosfato basado en el peso total del sistema de administración de fármacos. En las realizaciones preferidas, los valores porcentuales corresponden a 0,27, 0,40 y 0,53 mmol/g, respectivamente.

40 En una realización preferida, el sistema de suministro de fármaco comprende, comprende sustancialmente, consiste esencialmente en, o consiste en, preferiblemente consiste en

(a) 2 a 5% en peso de un péptido hidrófobo en su forma de base libre, preferiblemente presente en forma de sal de pamoato, preferiblemente el petido es pamoato de pasireotida,

45 (b) 1 a 2% en peso de un quitosano que tiene un DD de 90 ± 2,5% y un PM de 135 ± 20 kDa, que se somete a un ácido, preferiblemente se somete al ácido clorhídrico.

(c) 10 a 25% en peso de glucosa-1-fosfato, y

(d) agua.

basado en el peso total del sistema de administración de fármacos

50 En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para preparar el sistema de administración de fármacos tal como se define por el primer aspecto que comprende siguientes etapas de proceso:

(1) disolver el quitosano en una solución ácida acuosa, preferiblemente en una solución de ácido clorhídrico,

(2) disolver el azúcar-fosfato en un medio acuoso, preferiblemente en agua,

(3) disolver, disolver parcialmente, o dispersar el péptido en la solución de azúcar-fosfato, preferiblemente dispersar

el péptido, y

(4) combinar la solución de péptido/glucosa-fosfato y/o la suspensión con la solución de quitosano.

En una realización preferida, las soluciones resultantes de las etapas (1) y (2) se enfrían, por ejemplo, a 1-12 °C, preferiblemente a 2 - 8 °C, antes del procesado adicional de acuerdo con los pasos (3) y (4).

5 En una forma de realización preferida el paso (3) comprende el uso de ultrasonido y se realiza bajo condiciones frías. Las condiciones frías son, por ejemplo, condiciones que aseguren que los componentes involucrados en el paso (3) se mantienen en el intervalo de 1-12 °C, preferiblemente en el intervalo de 2 a 8 °C durante el tratamiento con ultrasonidos y a partir de entonces.

10 En una realización preferida en el paso se añade (4) la solución de péptido/glucosa-fosfato a la solución de quitosano en condiciones frías. Las condiciones frías son, por ejemplo, condiciones que aseguren que los componentes de la etapa (4) que participan se mantienen en el intervalo de 1-12 °C, preferiblemente en el intervalo de 2-8 °C durante la adición y a partir de entonces.

En un tercer aspecto, se proporciona un sistema de administración de fármaco obtenible por el procedimiento de acuerdo con segundo aspecto.

15 En el cuarto aspecto de la presente invención, el sistema de administración de fármacos de acuerdo con el primer o tercer aspecto es para uso intramuscular o subcutáneo. En una realización preferida, el sistema de administración del fármaco es para uso subcutáneo. En una realización preferida, el sistema de suministro de fármaco se administra en el subcutis a través de una aguja 21G, 23G, 25G, 30G o, preferiblemente a través de una aguja 25.

20 En el quinto aspecto de la presente invención, la forma de dosificación que comprende el sistema de suministro de fármaco de acuerdo con el primer, tercer, o cuarto aspecto es en forma de un líquido en una ampolla, vial o una jeringa precargada, preferiblemente en una jeringuilla precargada. En una realización preferida la jeringa precargada está equipada con una aguja 21G, 23G, 25G, o 30G, preferiblemente a través de una aguja 25.

25 Como una forma de realización preferida, el sistema de suministro de fármaco de acuerdo con el primer, tercer, cuarto o quinto aspecto es en forma de una suspensión fina y homogénea que comprende a las partículas del péptido o de la sal del péptido de las que 90% o más son más pequeñas que un longitud de cuerda de 30 micras (medido por mediciones de reflectancia del haz centradas, FBRM, por ejemplo, con una sonda de barrido de luz láser por Lasentec).

Dicha suspensión es lo suficientemente estable como para que pueda ser llenado en ampollas, viales o jeringas precargadas y sólo necesita ser sacudido suavemente después de largo tiempo de almacenamiento a corto antes de su uso.

30 Ejemplos

Materiales:

35 El quitosano (CS) tal como se utiliza en los siguientes ejemplos se encuentra disponible comercialmente, por ejemplo, Heppes Medical Chitosan (HMC, Halle, Alemania) en grado técnico, por ejemplo, Chitoscience® 90/50, o en grado farmacéutico, por ejemplo, Chitoceutical® 90/50 (lote 1) y Chitoceutical® 90/50 (lote 2). La viscosidad de los quitosanos se mide con un viscosímetro (Brookfield DVI + pro) a 20 °C (1% en ácido acético al 1%) y los datos de viscosidad están en el rango de 31 - 70 mPas. La DD se mide por fotometría o por los datos DD de titulación y están en el intervalo de 87,6 a 92,5%. El MW se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) en combinación con detección de índice de refracción (RI) y los datos MW están en el intervalo de 80 a 200 kDa. El hidrato de la sal disódica de Alfa-D-glucosa-1-fosfato (G1-P, Mw: 376,16 g/mol) y ácido clorhídrico (HCl) está comercialmente disponible de varias fuentes. La síntesis de la pasireotida péptido se ha descrito antes, por ejemplo, en el documento WO02/10192. se utilizó agua purificada, por ejemplo, Ultrapure® agua obtenible a través de un sistema de filtración Millipore MilliQ® (Millipore, Molsheim, Francia).

Caracterización física de los quitosanos:

45 El CS utilizado para la presente invención se caracteriza por cromatografía de exclusión molecular de triple detección (GPC) en un sistema de matriz máximo Viscotek Triple detector (Viscotek, EE.UU.) utilizando dos Viscogel A6000M (lecho mixto) columnas (Malvern Instruments GmbH, Alemania). La puesta en marcha consistió en un cromatógrafo de exclusión por tamaños conectado a una celda de dispersión de luz; un detector de índice de refracción y un viscosímetro, lo que permite la determinación simultánea del peso molecular absoluto del polímero (Mw), el radio hidrodinámico y la viscosidad intrínseca (η). Los análisis se realizaron a 30 °C con una fase móvil de ácido acético 0,3 M, acetato de sodio 0,3 M, 1% de glicol de etileno y el uso de una velocidad de flujo de 0,7 ml/min y un dn/dc de 0,163 ml/g. Las muestras de CS se prepararon a concentraciones de 1 mg/ml, se disolvieron 24 h bajo agitación en el mismo buffer y luego se filtraron utilizando un filtro de 0,2 micras antes del análisis. El volumen de inyección fue de 100 mL. La calibración del sistema se hizo utilizando un estándar de pululano (Mw = 133 kDa, $[\eta] = 0,515$ dl/g, índice de polidispersidad Mw/Mn = 1,08) obtenido a partir de Viscotek. Para la evaluación de los se utilizó datos físicos el

software Omnisecc de Viscotek. Cada caracterización de las muestras de CS se realizó por duplicado.

Los resultados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Parámetros físicos obtenidos para los diferentes lotes de quitosano.

Nombre	grado de desacilación (%) (información del proveedor)	Absoluto Mw (kDa)	Mw/Mn	Viscosidad intrínseca (DL/g)	Hidrodinámica radio (nm)
Chitoscience® 90/50	89.7	122	1.57	3.62	18.33
Chitoceutical® 90/50 (1)	90.7	135	1.61	3.86	19.28
Chitoceutical® 90/50 (2)	88.7	149	1.62	4.11	20.30
Chitoscience® 90/200		267	1.90	6.01	27.74

5 Preparación de las formulaciones

Solución de CS:

Las soluciones CS se obtuvieron por disolución de 3,75% en peso de CS en ácido clorhídrico (HCl) de acuerdo con una relación molar de grupos amino de quitosano: HCl igual a 0,9: 1.

Solución G1-P:

10 La solución G1-P se preparó a 350 mg/mL-1 en agua Milli-Q.

Suspensiones cargadas con péptidos CS/G1-P y determinación del tamaño de partícula:

15 El pamoato de péptido pasireotida se añadió a la solución de G1-P, dispersa mediante agitación magnética durante 2 h y se sonicó 2 min usando una sonda de ultrasonidos (amplitud 80%, ciclo 1, la tecnología Hielscher ultrasonido procesador UP400S ultrasónico, Stuttgart, Alemania) bajo agitación magnética en un baño de hielo. A continuación se añadió 3,60 g de suspensión de G1-P/péptido gota a gota a 2,40 g de solución fría CS bajo agitación magnética en un baño de hielo. La formulación/G1-P/péptido obtenido CS se agitó adicionalmente hasta que se obtuvo una suspensión homogénea, según lo verificado por microscopía óptica y centrado mediciones de reflectancia del haz (FBRM) (Tabla 2). Las formulaciones finales, que contiene 1,5% en peso de CS, 0,40 mmol/g G1 P y péptido% en peso de 2,5 o 5,0, se almacenaron a 2 - 8 °C hasta su uso.

20 Se obtuvieron los datos utilizando una sonda Lasentec FBRM PI-14/206 FBRM (Mettler-Toledo, EE.UU.) y se analizaron con el software FBRM Lasentec (Versión 6.7.0 09/2005 Mettler Toledo, Columbia, EE.UU.). Esta técnica de dispersión de luz mide la luz de retrodispersión de un haz láser giratorio centrado fuera de una ventana de zafiro, en contacto con la suspensión. Cuando los escáneres láser de partículas de luz cerca de la ventana de la sonda, que genera señales de luz de retrodispersión cuya duración se traduce en longitudes de cuerda (distancia en línea recta desde un borde de la partícula a otra). Por lo tanto, incluso si la longitud de la cuerda está relacionado con el tamaño de partícula, que no mide directamente la distribución del tamaño de partícula, sino más bien la distribución de la longitud de cuerda.

Tabla 2: distribución de longitud de la cuerda en las suspensiones de péptidos CS/G1-P/

Formulación	Contenido de peptide (Peso%)	Mediana de la longitud de la cuerda cuadrados ponderados (m)	Media de la de longitud de lacuerda cuadrados ponderados (micras)	< 30 micras (%)
Ejemplo 1: CS/G1-P/Peptido 2.5	2.50	10.27	12.66	94.56
Ejemplo 2: CS/G1-P/Peptido 5	5.00	10,87	12.57	96.61

Suspensiones cargadas con péptidos CS (control sin glucosa-fosfato):

5 Las suspensiones CS/péptido así como los controles se prepararon siguiendo el mismo protocolo pero dispersando el péptido en agua en lugar de solución de G1-P.

Descripción detallada del método de preparación (Tamaño del lote 6 g) de CS/G1-P/pasireotida 2,5% (Ejemplo 1) y CS/G1-P/pasireotida 5% (Ejemplo 2):

Materiales:

10 Chitoceutical 90/50 por HMC DD: 88,7% Mw: 149 kDa; HCl 1 M por Fluka; G1-P disódico por Sigma, Mw: 361,59 g/mol; pamoato de Pasireotida, amorfo, micronizado (base libre Mw: 1047.21, Mw sal de pamoato: 1435.53, disdribución del tamaño de partícula por difracción de luz láser: x90 <= 10 micras, aquí: 3 m, x50 <= 5 micras, aquí: 1 m, x10 > = 0,3 m, 0,7 m aquí, superficie específica (BET)> = 8 m2/g, aquí 32 m2/g); Agua (MilliQ).

(1) Preparación de la solución de quitosano

15 Solución de 40,00 g de quitosano de 3,75% w/w en HCl 0.185M se preparó por agitación magnética durante la noche. La solución de quitosano se filtró a través de un filtro de nylon de 11 micras para eliminar cualquier material particulado insoluble. La solución se almacena a 2 - 8 °C.

	Requerido	Actual
m _{CS} (g)	1.50	1.50
HCl 0.185M qsp (g)	40.00	40.00
C _{CSsol} (mg/g)	37.8	37.5
pH	5.5–5.8	5.55

(2) Preparación de suspensiones termogelificantes de CS /G1-P/ pasireotida 2,5% (Ejemplo 1):

(2.1) Preparación de la suspensión G1-P/pamoato de pasireotida 5,712%:

20 Se pesan 342,70 mg de pamoato de pasireotida y 1500.00 mg G1-P en un vaso de vidrio, y se ajustó a 6.000 g con agua. La mezcla se pre-homogeneizó mediante agitación magnética durante 2 h.

Después, la mezcla se homogeneiza por sonicationfor durante 5 min usando una sonda de ultrasonidos (amplitud 80%, ciclo 1) bajo agitación magnética en un baño de hielo.

	Requerido	Actual
M _{G1-P} (mg)	1500.0	1500.11
M _{pamoato de pasireotida} (mg)	342.70	342.70
H ₂ O qsp (g)	6.000	5.9987
C _{G1-P} (mg/g)	250.00	250.07

ES 2 693 523 T3

	Requerido	Actual
$C_{\text{pamoato de pasireotida}}$ (mg/g)	57.12	57.06

(2.2) Preparación de suspensión termogelificante CS/G1-P/SOM230 2,5%:

Se pesaron 2.400 g de solución de quitosano en un matraz de vidrio tarado con un agitador magnético.

5 En un baño de hielo, la disolución de quitosano y la suspensión del pamoato de pasireotida /G1-P 5,712% se enfría por lo menos durante 15 min. Gota a gota se añaden 3.600 g de la suspensión del pamoato de pasireotida /G1-P 5,712% a la solución de quitosano con agitación magnética. La agitación de la suspensión obtenida se continúa durante al menos 30 min o hasta que la sustancia farmacológicamente activa se dispersa en su totalidad. Se determina el pH y el tamaño medio de partícula (usando una sonda de Lasentec, FBRM). La suspensión se almacena a 2 - 8 °C.

	Requerido	Actual
M_{CSsol} (g)	2.400	2.40039
$M_{\text{pamoato de pasireotida/G1-P 5.712\%}}$ (g)	3.600	3.60797
$m_{\text{pCS/G1-P pasireotida 2.5\%}}$ (g)	6.000	6.00835

(3) Preparación de las suspensiones termogelificantes de CS/G1-P /Pasireotida 5% (Ejemplo 2):

(3.1) Preparación de la suspensión G1-P/pamoato de pasireotida 11,423%:

10 Se pesaron 685,40 mg de pamoato de pasireotida y 1500.00 mg G1-P en un vaso de vidrio y se ajustó a 6.000 g con agua. La mezcla se pre-homogeneizó mediante agitación magnética durante 2 h. Después, la mezcla se homogeneiza por tratamiento con ultrasonidos durante 5 minutos usando una sonda de ultrasonidos (amplitud 80%, ciclo 1) bajo agitación magnética en un baño de hielo.

	Requerido	Actual
$M_{\text{G1-P}}$ (mg)	1500.0	1499.81
$M_{\text{pamoato de pasireotida}}$ (mg)	685.40	685.60
H_2O qsp (g)	6.000	5.99967
$C_{\text{G1-P}}$ (mg/g)	250.00	249.98
$C_{\text{pamoato de pasireotida}}$ (mg/g)	114.23	114.27

(3.2) Preparación de la suspensión termogelificante de CS/G1-P/Pasireotida 5%:

15 Se pesaron 2.400 g de solución de quitosano en un matraz de vidrio tarado con un agitador magnético.

20 En un baño de hielo, la disolución de quitosano y la suspensión de pamoato de G1-P /SOM230 11.423% se enfriaron durante al menos 15 minutos. Gota a gota se añaden 3.600 g de la suspensión G1-P/ pamoato de pasireotida 11.423% a la solución de quitosano con agitación magnética. La agitación de la suspensión obtenida se continúa durante al menos 30 min o hasta que la sustancia farmacológicamente activa se dispersa en su totalidad. El pH y el tamaño medio de partícula se determina (usando una sonda de Lasentec, FBRM). La suspensión se almacena a 2 - 8 °C.

	Requerido	Actual
M_{CSsol} (g)	2.400	2.39977
$M_{\text{pamoato de pasireotida/G1-P 5.712\%}}$ (g)	3.600	3.59806
$m_{\text{pCS/G1-P pasireotida 2.5\%}}$ (g)	6.000	5.99783

(4) Resultados:

ES 2 693 523 T3

		Requerido (% peso)	Actual (% peso)	pH 2-8 °C
Ejemplo 1	Quitosano	1.50	1.498	
	G1-P	15.00	15.017	7.30
	SOM230 Base Libre	2.50	2.500	
Ejemplo 2	Quitosano	1.50	1.500	
	G1-P	15.00	14.996	7.32
	SOM230 Base Libre	5.00	5.001	

Cuantificación del Péptido por HPLC:

El péptido se cuantificó usando un sistema de HPLC Agilent 1100 (Agilent, Santa Clara, CA, EE.UU.), con un Symmetry Shield® de Waters, RP18 3,5 µm, 50 x 4,6 mm de columna (Waters Corporation, Milford, EE.UU.). La fase móvil A consistía en agua, acetonitrilo, ácido fosfórico (900: 100: 1 V/V/V) y la fase móvil B de (100: 900: 1 V/V/V) a una velocidad de flujo de 1,0 mL/min utilizando un gradiente de 6 pasos. 10 muestras mu l se inyectaron en una temperatura del horno de 40 °C. El análisis se realizó por detección UV a 230 nm. Todas las muestras se inyectaron por duplicado. El cromatograma resultante se analizó con Chromeleon 6,8 Datasystem (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, EE.UU.). La solución stock de referencia del péptido se preparó en metanol y las soluciones estándar de diferentes concentraciones se prepararon con medio de liberación a pH 7,4 (véase la Tabla 2). Las curvas de calibración resultantes variaban desde 3 hasta 250 mg/ml con un coeficiente de correlación por encima de 0.999.

Pruebas de liberación in vitro:

Las pruebas de liberación in vitro se realizaron por triplicado utilizando dos métodos diferentes. En el método I, se inyectó una cantidad de aproximadamente 0,5 g (exactamente pesada de 0.001 g) la formulación a través de una aguja 21G en un tubo de 50 ml y se incubó 1 h en un baño oscilante de agua (GFL, Burgwedel, Alemania) se mantuvo a 37 °C para permitir la formación de gel. 25 ml del medio de liberación pH 7,4 pre-calentado a 37 °C y después se añadió lentamente al contenedor (t = 0) y se inició una agitación leve (10%). En el método II, se inyectó directamente la misma cantidad de la formulación en un tubo de 50 ml que contiene 25 ml (50 ml para las formulaciones cargadas con péptido) de liberación medio de pH 7,4 pre-calentado a 37 °C, en un baño de agua de movimiento alternativo (GFL, Burgwedel, Alemania) se mantuvo a 37 °C (t = 0). Después de 1 h en reposo, para permitir la formación de gel, se inició una agitación suave (10%). Para el método I y II, en los puntos de tiempo definidos, los tubos fueron gentilmente homogeneizados, se centrifugaron y fueron retiradas muestras de 10 mL (25 mL para las formulaciones cargadas de péptido) de los medios y se reemplaza con medio de liberación fresco para mantener constante el volumen y mantener las condiciones de inmersión. Todas las mediciones se realizaron por duplicado. La cantidad de péptido liberado se determinó por HPLC, como se describió anteriormente. La composición del medio de liberación a pH 7,4 utilizada para cada ensayo de liberación está en la lista en la Tabla 3.

Tabla 3: Composición del pH del medio de liberación 7.4 utilizado para la *in vitro* ensayos de liberación

Componente	Cantidad
Na ₂ HPO ₄	1,09 g
KH ₂ PO ₄	0,32 g
NaCl	8,06 g
Cloruro de benzalconio	0,01 g
Polisorbato 80 *	4,00 g
Agua	qs 1000,0 ml

*: El polisorbato 80 se añadió como agente tensoactivo para mejorar la solubilidad del péptido en el medio de liberación

Comportamiento de liberación sostenida del material depositado péptido-cargado CS/G1-P:

Las formulaciones CS/G1-P/péptido convertidas en depósitos de sólidos después de la inyección en el medio de liberación de pH 7,4 a 37 °C. En contraste, la solución CS cargada con péptido (sin agente gelificante) solidifica progresivamente en numerosos agregados, debido al pH del medio. Los depósitos CS /G1-P /péptido mantuvieron su forma e integridad estructural durante los 90 días de la prueba de liberación.

El perfil de liberación de la CS/G1-P hidrogel cargado con péptido se muestra en la Fig. 1.

La adición de G1-P a la solución CS redujo significativamente la descarga inicial (liberación de $2,5 \pm 2,1\%$ dentro de 6 h), en comparación con la suspensión de péptido sin agente ($60,6 \pm 16,8\%$) de gelificación. Además, la formulación CS/G1 P/péptido mostró una liberación sostenida del péptido durante más de 3 meses, mientras que el 80% liberado se alcanzó en alrededor de 3 días para el control positivo basado en CS puro. En realidad, los depósitos que contienen péptido al 2,5% liberaron el 47% dentro de los 90 días, siguiendo un patrón de liberación bifásico. Se visualiza una pequeña cantidad de aproximadamente 20% a lo largo de la primera semana, seguido de una fase de liberación sostenida más lenta.

Se observó una pequeña desviación estándar de la cantidad de péptido liberado, en su mayoría por debajo de $\pm 3\%$, entre las muestras por triplicado durante el período de prueba completa, mostrando que las formulaciones de materiales depositados logran una buena repetibilidad de la liberación con el tiempo.

Influencia de la carga de fármaco:

Como se muestra en la Fig. 2, la duplicación de la carga entre las formulaciones de péptido CS/G1-P/peptido 2.5 y CS/G1-P/peptido 5 no afectan significativamente a la exposición inicial (2,5% y 2,3%, respectivamente, en 6 h) y el patrón de liberación bifásica en general fue mantenido. Sin embargo, durante la fase de liberación más lenta, el hidrogel cargado al 5% liberó el péptido más lento que el hidrogel cargado al 2,5%, dando lugar a una diferencia de 18% entre las dos formulaciones después de 90 días.

Las siguientes pruebas analíticas de los ejemplos de las realizaciones de la invención se realizaron con formulaciones correspondientes de placebo cuyos resultados son igualmente representativas para las formulaciones que comprenden péptido.

Preparación de las soluciones CS/G1-P placebo:

Las soluciones CS se obtuvieron por disolución de 3,75 % en peso de CS en HCl de acuerdo con una relación molar de grupos amino CS/HCl igual a 0,9/1. Las soluciones G1P se prepararon a diferentes concentraciones en agua MilliQ. Las soluciones CS y G1P se enfriaron por separado a 4 °C durante 15 minutos. Entonces, la solución de G1P se añadió gota a gota en la solución de CS colocado en un baño de hielo bajo agitación magnética. La solución de CS/G1P obtenida se agitó adicionalmente durante 15 minutos. Las formulaciones resultantes se almacenaron a 2 - 8 °C. Como referencia, se preparó una solución CS/hidrato de sal de disodio de β -glicerofosfato (β GP, Mw: 288,10 g/mol) de acuerdo con el mismo procedimiento.

Mediciones reológicas:

Las medidas reológicas se llevaron a cabo utilizando un reómetro Haake Rheostress1 (Thermo Fisher Scientific, Karlsruhe) con un sistema de circulación para el medio ambiente de control de temperatura. El volumen de la muestra fue de aproximadamente 0,5 ml, introducidos entre una geometría cono-placa (2 ° de ángulo de cono, 35 mm de diámetro). Se utiliza una trampa de disolvente para minimizar la evaporación de agua durante todas las pruebas. Para determinar la viscosidad a $20,00 \pm 0,20$ °C, las muestras desgasificadas recién preparadas, son preparadas con 1.5 wt.% Chitoceutical® 90/50 (1) y la concentración de G1P que va desde 0.00 a 0,53 mmol/g, fueron sometidas a pruebas de rotación a velocidades controladas de cizallamiento, durante las cuales la velocidad de cizallamiento se mantuvo constante durante 60 s y luego aumentó por etapas de 5 a 10^3 s⁻¹. Los valores de viscosidad de cizallamiento aparente se calcularon como la media de las viscosidades de cizallamiento aparente determinadas después de 30 s de equilibrado en cada velocidad de cizalladura. Se llevaron a cabo las pruebas siguientes: (i) pruebas de barrido de tiempo, para determinar tiempos de gelificación, se llevaron a cabo en constante frecuencia angular de 1 Hz y la temperatura constante de $37,00 \pm 0,20$ °C. La temperatura de transición sol/gel (Tgel) o tiempo (Tgel) corresponden a la intersección de las curvas de G' y G''; (iii) la fuerza de los hidrogeles se evaluó mediante la realización de pruebas de barrido de frecuencia en hidrogeles formados ya sea en contacto con el aire o en PBS. Los geles se hicieron como sigue, 1 ml de solución CS/G1P se vertió en moldes de forma redonda y se incubaron 6 h, 24 h y 48 h a 37 °C para permitir la formación de hidrogeles, ya sea en una atmósfera saturada en humedad para evitar la evaporación de agua o en 1 ml de PBS pre-calentado a 37 °C.

Pruebas de estabilidad:

Las pruebas de estabilidad se llevaron a cabo con diferentes soluciones CS: (i) . Una solución CS pura, 1,5% en peso de Chitoceutical® 90/50 (2); (ii) soluciones CS/G1-P 1,5 en peso.% Chitoceutical® 90/50 (1)/0,27 mmol/g G1-P y (iii) 1,5 en peso.% Chitoceutical® 90/50 (1)/0,40 mmol/g G1-P, y (iv) una solución de CS/ β GP, y como referencia 1,5% en

peso Chitoceutical® 90/50 (1)/hidrato de sal disódica β-glicerofosfato 0,40 mmol/g (βGP, Mw: 288,10 g/mol). Estas soluciones se filtran a través de filtros de 0,22 micras, llena en viales de vidrio 2R y se purgan con nitrógeno antes del sellado hermético. El contenido medio de oxígeno del espacio de cabeza determinado por espectroscopia de modulación de frecuencia utilizando el FMS-760 Instrumento Lighthouse (Lighthouse Instruments, LLC) fue de $0,70 \pm 0,07\%$. Las muestras se almacenaron en condiciones de refrigeración (es decir, $2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$) y a temperatura ambiente (es decir, $20-25 \text{ }^\circ\text{C}$), y se analizaron después de $t = 1, 7, 14, 30, 60, 90, 135, 180$ y 270 días para las muestras almacenadas a $2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$ y en $t = 1, 7, 14, 30, 60$ y 180 días para las muestras almacenadas a $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. En cada momento, se siguió un grupo de características diferentes para cada muestra: (i) la formulación se inspeccionó visualmente para cualquier cambio en el aspecto físico, es decir, color, turbidez, consistencia (líquida o estado de gel); (ii) el valor de pH se determinó utilizando un medidor de pH 691 (Metrohm, Herisau, Suiza); (iii) se midió la viscosidad a $20,00 \pm 0,20 \text{ }^\circ\text{C}$ mediante la realización de una prueba de pasos como se describe en la sección "Mediciones reológicas"; (iv) el tiempo de gelificación se determinó mediante una prueba de barrido de tiempos como se define en "mediciones reológicas".

Estabilidad durante el almacenamiento de soluciones de CS/agentes gelificantes:

La estabilidad durante el almacenamiento es un parámetro crucial que necesita ser evaluado durante el desarrollo de un producto farmacéutico en un sistema de hidrogel formado in situ. Este tipo de formulaciones debe tener una vida útil aceptable, es decir, sus propiedades físicas termogelificantes deben mantenerse durante condiciones de almacenamiento definidas hasta la administración. En esta sección se presenta el estudio de la estabilidad de dos soluciones de termogelificación CS/G1P (con $0,27$ y $0,40$ mmol/g G1P) de acuerdo con la presente invención en comparación con la solución de referencia CS termogelificante/βGP (con $0,40$ mmol/g βGP) y la solución de CS puro (a la misma concentración de polímero: $1,5\%$ en peso.). El estudio incluyó el seguimiento durante 6 a 9 meses, por dos diferentes temperaturas de almacenamiento (2 y $8 \text{ }^\circ\text{C}$ y $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$), el tiempo de la apariencia, el pH, la viscosidad y la gelificación de las soluciones así como el peso molecular del CS.

Apariencia y pH:

En general, no se observaron cambios en la apariencia (estado líquido), ni en los valores de pH de las soluciones de CS/G1-P CS y el almacenamiento de 6 a 9 meses (para ambas temperaturas). El pH de la solución de CS puro se mantuvo $5,2 \pm 0,1$ mientras que las de las soluciones de la G1P/CS fueron $7,1 \pm 0,1$ y $7,2 \pm 0,1$, para $0,27$ y $0,40$ mmol/g G1-P, respectivamente. Por el contrario, la solución de CS/βGP se convirtió en un gel turbio en menos de 30 días a $2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$ y después de sólo 1 día a $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$, con una caída del valor de pH desde $7,4$ hasta $7,0$.

Viscosidad:

Las viscosidades de cizallamiento aparente de la solución de CS y sistemas de CS/agente gelificante se presentan en la Fig. 3. Los resultados muestran que para períodos de almacenamiento, siempre tan largos como de 6 a 9 meses y en condiciones de refrigeración, la viscosidad aparente de cizallamiento de las soluciones puras CS y CS/ G1P se mantuvo sin cambios. Por el contrario, la viscosidad de CS/βGP aumentó significativamente dentro de los 30 días, de aproximadamente 180 mPas hasta 7500 mPas a una velocidad de cizallamiento de 5 s^{-1} . Del mismo modo, la viscosidad de las soluciones CS/G1P era estable a temperatura ambiente durante 2 meses y sólo aumentaba ligeramente a bajas velocidades de cizallamiento después de 6 meses, mientras que la viscosidad de la solución de CS puro muy ligeramente reducida con el tiempo y la viscosidad de la CS/βGP solución se elevó drásticamente después de sólo 7 días. Estos resultados están completamente alineados con las observaciones anteriores, es decir, la solución de CS puro, así como las soluciones de CS/G1P mantenidas en estado líquido con el tiempo para las dos condiciones de almacenamiento, mientras que la solución de CS/βGP se convirtió en gel con el tiempo. El almacenamiento en condiciones de refrigeración permite mantener la formulación CS/βGP en estado líquido durante poco más de 14 días en comparación con menos de 7 días a temperatura ambiente. Una vez que se produjo la transición sol/gel, la viscosidad de los geles de CS/βGP continúa aumentando hasta la estabilización (más apreciable a $2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$ en la figura 3 (g)).

Tiempo de gelificación:

Los tiempos de transición sol/gel de las diferentes formulaciones de CS/agentes gelificantes creadas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ fueron seguidos durante el mismo período de almacenamiento y reportadas en la Fig. 4. Parece que el tiempo de gelificación de la solución compuesta de $0,27$ mmol/g de G1P no es estable en el tiempo, y disminuye de aproximadamente 40 min inicialmente, a 35 min y 27 min después de 6 meses de almacenamiento a $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$ y $2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente, con variaciones significativas observadas con el tiempo en condiciones de $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Estas variaciones se desvanecen cuando la concentración de G1P se incrementa a $0,40$ mmol/g. De hecho, el tiempo de gelificación observado para la solución de CS/G1P que contiene $0,40$ mmol/g G1P almacenada a $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$ fue estable durante 2 meses, pero disminuyó ligeramente después. Sin embargo, cuando se almacena en condiciones de refrigeración, esta solución aparece con un tiempo de gelificación constante de $12,2 \pm 1,0$ min más de 9 meses. Con respecto a las soluciones de CS/βGP, las muestras se sometieron a una gelificación espontánea en menos de 30 días a $2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$ y 1 día a $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Estas observaciones fueron confirmadas por las mediciones reológicas de el tiempo de gelificación, ya que el sistema CS/βGP exhibió un comportamiento similar a un gel ($G' > G''$) desde el comienzo de la prueba de barrido de tiempo. Sin embargo ya antes de que estos puntos de tiempo, los tiempos de gelificación fueron, sin embargo, muy

rápidos, en el intervalo de 1 a 2 min. Así que la solución CS/βGP no era estable cuando se almacena a temperatura ambiente o en condiciones de refrigeración. Por el contrario, la adición de 0,40 mmol/g G1P como agente gelificante alternativo a la solución de CS mejoró significativamente la estabilidad del sistema, en particular cuando se almacena a 2 - 8 °C.

5 Evaluación de la inyectabilidad:

La fuerza de inyección de una solución CS/G1-P que contiene 1,5 en peso.% Chitoceutical® 90/50 (1) y 0,40 mmol/g G1-P se midió usando un medidor de tracción electrónico (Zwick Z 2.5, Ulm, Alemania) y se analizó con el software testXpert II (versión 3.0, Zwick, Ulm, Alemania). Se inyectó 1 ml solución termogelificante en un recipiente de cristal vacío, usando una jeringa de 1 ml (1 ml Luer-Lok jeringa de punta, BD, Franklin Lakes, Nueva Jersey, EE.UU.) Se ensayaron varias agujas: (i) 23 G (HSW FINE-JECT® 23 G x 1", Henke-Sass Wolf GmbH, Tuttlingen, Alemania), (ii) 25 G (Terumo® agujas hipodérmicas, 25 G x 1 "de pared delgada aguja, Terumo Medical Corporation, Somerset, NJ, EE.UU.) y (iii) 30 G (BD Microlance™ 3, 30 G x ½", BD, Franklin Lakes, Nueva Jersey, EE.UU.). Antes de la medición, todas las jeringas se equilibraron 10 min a temperatura ambiente y fueron preparadas para expulsar las burbujas de aire hasta que salió una pequeña cantidad de la solución. se midió la fuerza de inyección en dos velocidades de inyección diferentes: 80 y 100 mm/ min, para cada tamaño de la aguja. Todas las mediciones se repitieron 10 veces.

El límite superior de 20 N se establece como criterio de aceptación para inyecciones s.c., según Schoenhammer *et al* en Pharmaceutical Research, 26 (2009) 2568-2577. Los resultados se presentan en la Fig. 5, y muestran que, sólo el tamaño de la aguja impactó significativamente la fuerza de la inyección. La fuerza necesaria para inyectar la solución de CS/G1P estaba por debajo de 5 N cuando se utilizan agujas 23 G y 25 G, que se consideran como agujas que permiten inyecciones muy lisas. El usar una aguja más delgada de 30 G requiere un aumento de la fuerza de inyección de aproximadamente 17,5 N, que todavía no superaba el límite superior de 20 N. Por lo tanto, la formulación a base de CS de la presente invención puede ser considerada como fácil de inyectar a través de agujas tan delgadas como 30 G o más delgadas.

Filtración estéril:

La solución CS/G1P que contiene 1,5 en peso.% Chitoceutical® 90/50 (1) y 0,40 mmol/g G1P se filtraron a través de filtros de jeringa de 0,22 micras (hidrófilos, 33 mm de diámetro, 4,5 cm² de área de filtración, Millex-GV filtros, Millipore). se evaluó en tres lotes mediante el estudio del peso molecular de CS, determinado por GPC La influencia de la filtración estéril de las características de la solución, medida antes y después de la filtración estéril. Los pesos moleculares de la CS en las soluciones filtradas se calcularon en relación al Mw de las soluciones no filtradas. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

La filtración estéril se realiza fácilmente en la solución de CS/G1P. Tal como se presenta en la Fig. 6, la viscosidad de la solución se mantuvo sin cambios después de la filtración. El análisis GPC mostró sólo una ligera disminución de aproximadamente el 1% del peso molecular del polímero entre la formulación no filtrada, y la formulación filtrada, este valor está dentro del rango de precisión del método (± 5%). Por lo tanto, no hay material polimérico que se considere perdido en el filtro durante la filtración estéril.

Administración *in vivo*/tolerabilidad local del hidrogel CS/G1-P:

La tolerabilidad local de los CS/G1-P hidrogeles de más de tres semanas, se examinó cada 10 semanas de edad ratas macho Wistar Hans sanos. Se inyectan 0,5 ml de solución estéril CS/G1-P termogelificante (1,5 en peso.% Chitoceutical® 90/50 (2), 0,40 mmol/g G1-P), equilibrada a temperatura ambiente, por vía subcutánea utilizando una aguja de 23 G en la región interescapular de nueve ratas bajo anestesia general. El mismo volumen de solución salina estéril se inyecta por vía subcutánea en su zona dorsal caudal como control negativo. El estado de salud y el peso corporal de los animales se controló. Las muestras de sangre se recogieron bajo isoflurano mediante punción sublingual en día -3 (antes de la dosis) para el análisis de hematología y por punción de la vena cava en el día de la necropsia para hematología y análisis de bioquímica. Después de 1, 7 y 21 días, tres ratas se sacrificaron mediante exanguinación de la punción de la vena cava después de la exposición a isoflurano y los tejidos en los sitios de inyección fueron extirpados para su examen histológico.

Tabla 4: El examen histológico de s.c. tejido de las ratas implantadas con hidrogeles CS/G1P.

Inyección en los puntos de tiempo de post	Inflamación	Fibrosis
1 día	+++ /++++ agudo	-
7 días	+++ /++++ subaguda	+ /++ inmaduro

Inyección en los puntos de tiempo de post	Inflamación	Fibrosis
21 días	++ crónico	+ / ++ maduro

Para la inflamación, "+", "++" y "+++" indica respuesta inflamatoria leve, moderada y marcada respectivamente.

Para la fibrosis, "-", "+" y "++" representa no, fibrosis mínima y leve, respectivamente.

5 La reacción inflamatoria observada en toda formulación CS/G1-P inyectada por vía subcutánea en ratas fue una reacción típica de cuerpo extraño, similar a la respuesta del tejido reportado para otros sistemas de depósito como micropartículas de PLGA o hidrogeles estándar CS/ β -GP. Después de la inyección de la formulación, se produjo una inflamación de aguda a crónica en un orden secuencial y la inflamación tendía a desaparecer con el tiempo. La fibrosis acompañada de la respuesta inflamatoria y rodeado el lugar del implante; que comenzó 7 días después de la inyección con un tejido inmaduro de granulación bien vascularizado y hacia las 21 días, se formó una cápsula de espesor ligeramente vascularizado compuesto por fibroblastos y fibras de colágeno. Por lo tanto, el hidrogel exhibe

10 biocompatibilidad aceptable de tejido.

REIVINDICACIONES

1. Un sistema de suministro de fármacos que comprende
 - (a) un péptido farmacéuticamente activo o cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
 - (b) 1 a 2% en peso de un quitosano o derivado de quitosano, que tenga un grado de desacilación (DD) de 85 a 95% y un peso molecular (PM) de 100 a 200 kDa,
 - (c) 10 a 25% del peso de un azúcar-fosfato, y
 - (d) agua,
 con bases en el peso total del sistema de suministro de fármacos.
2. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con la reivindicación 1 en el que dicho péptido es hidrófobo.
3. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que un dicho péptido se encuentra presente en forma de una sal hidrófoba, por ejemplo, el péptido está presente como sal de pamoato.
4. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que un dicho péptido es octreotida, pasireotida, vapreotida, o lanreotida, preferiblemente octreotida o pasireotida, más preferiblemente pasireotida.
5. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que dicho quitosano tiene un grado de desacilación (DD) de $90 \pm 2,5\%$.
6. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que dicho quitosano tiene un peso molecular (MW) de 100 a 150 kDa, preferiblemente un MW de 135 ± 20 kDa.
7. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el azúcar de dicho azúcar-fosfato es un monosacárido, disacárido, o un oligosacárido, preferiblemente un monosacárido seleccionado del grupo de aldosas, por ejemplo, glucosa, manosa, galactosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, ribosa, arabinosa, xilosa, lixosa, o del grupo de cetosas, por ejemplo fructosa, sorbosa, tagatosa, psicosa, araboketose, xyloketose, o una mezcla de los mismos, glucosa o fructosa preferiblemente o una mezcla de los mismos.
8. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que dicho azúcar-fosfato es una glucosa-fosfato, preferiblemente una glucosa-1-fosfato, preferiblemente un alfa-D-glucosa-1-fosfato, más preferiblemente alfa-D-glucosa -1-fosfato hidrato disódico.
9. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende al menos 1%, al menos 2%, 1 a 30%, 2 a 10%, o 2 a 5%, preferiblemente 2 a 5% en peso del péptido en su forma de base libre basado en el peso total del sistema de suministro de fármacos.
10. El sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende, sustancialmente comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, que consiste preferiblemente en
 - (a) 2 a 5% en peso de un péptido hidrófobo en su forma de base libre, preferiblemente presente en forma de sal de pamoato, preferiblemente el péptido es pamoato pasireotida,
 - (b) 1 a 2% en peso de un quitosano que tiene un DD de $90 \pm 2,5\%$ y un MW de 135 ± 20 kDa, se somete a un ácido, somete preferiblemente a ácido clorhídrico.
 - (c) 10 a 25% en peso de glucosa-1-fosfato, y
 - (d) agua.
- con base en el peso total del sistema de suministro de fármacos
11. Un procedimiento para preparar el sistema de suministro de fármacos como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende siguientes etapas de proceso:
 - (1) disolver el quitosano en una solución ácida acuosa, preferiblemente en una solución de ácido clorhídrico,
 - (2) disolver el azúcar-fosfato en un medio acuoso, preferiblemente en agua,
 - (3) disolver, disolver parcialmente, o dispersar el péptido en la solución de azúcar-fosfato, preferiblemente dispersar el péptido, y

(4) combinar la solución péptido/glucosa-fosfato y/o la suspensión con la solución de quitosano.

12. Una forma de dosificación que comprende el sistema de suministro de fármacos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en forma de un líquido, preferiblemente una suspensión en una ampolla, vial o jeringa precargada, preferiblemente en forma de una suspensión en una jeringa precargada equipada con una aguja de inyección 21G o más fina, preferiblemente 25G o más fina.

5

FIG. 1

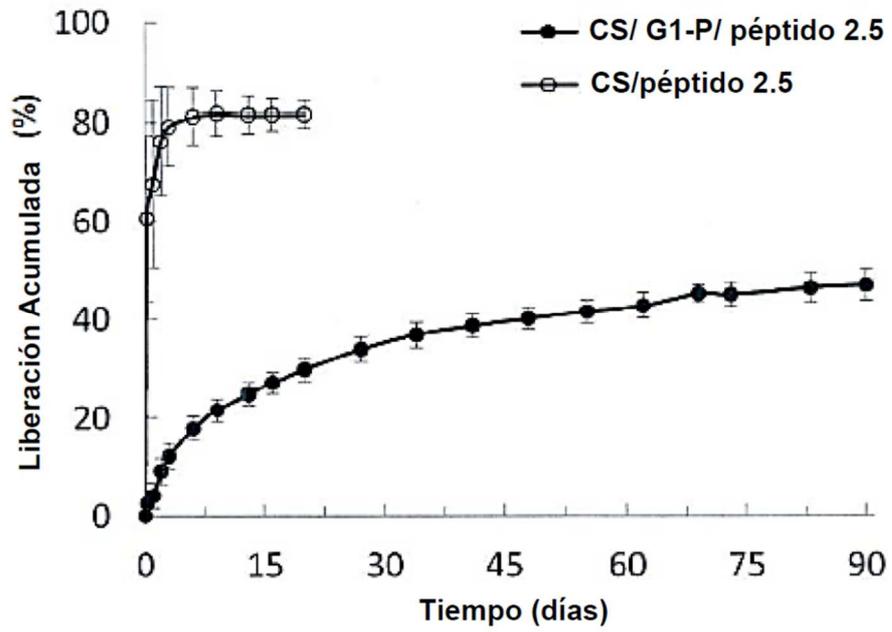
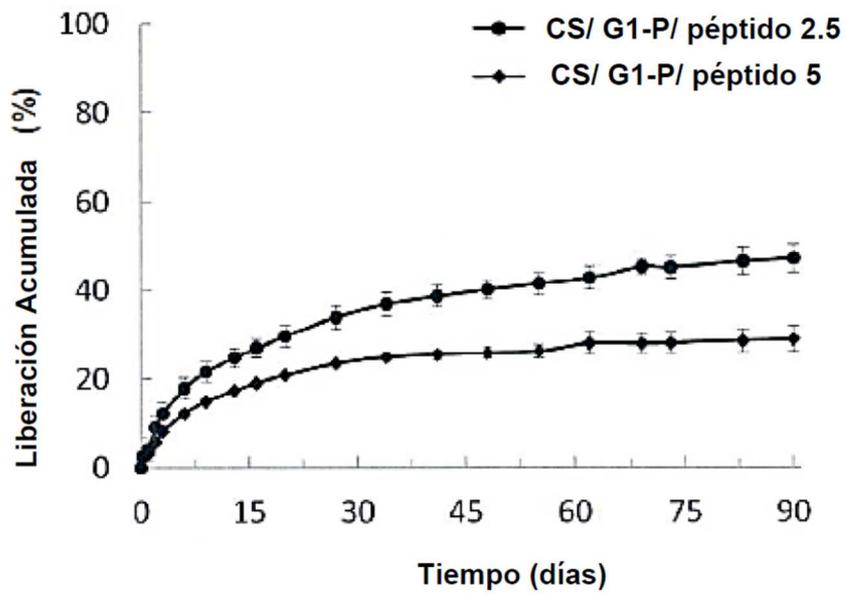


FIG. 2



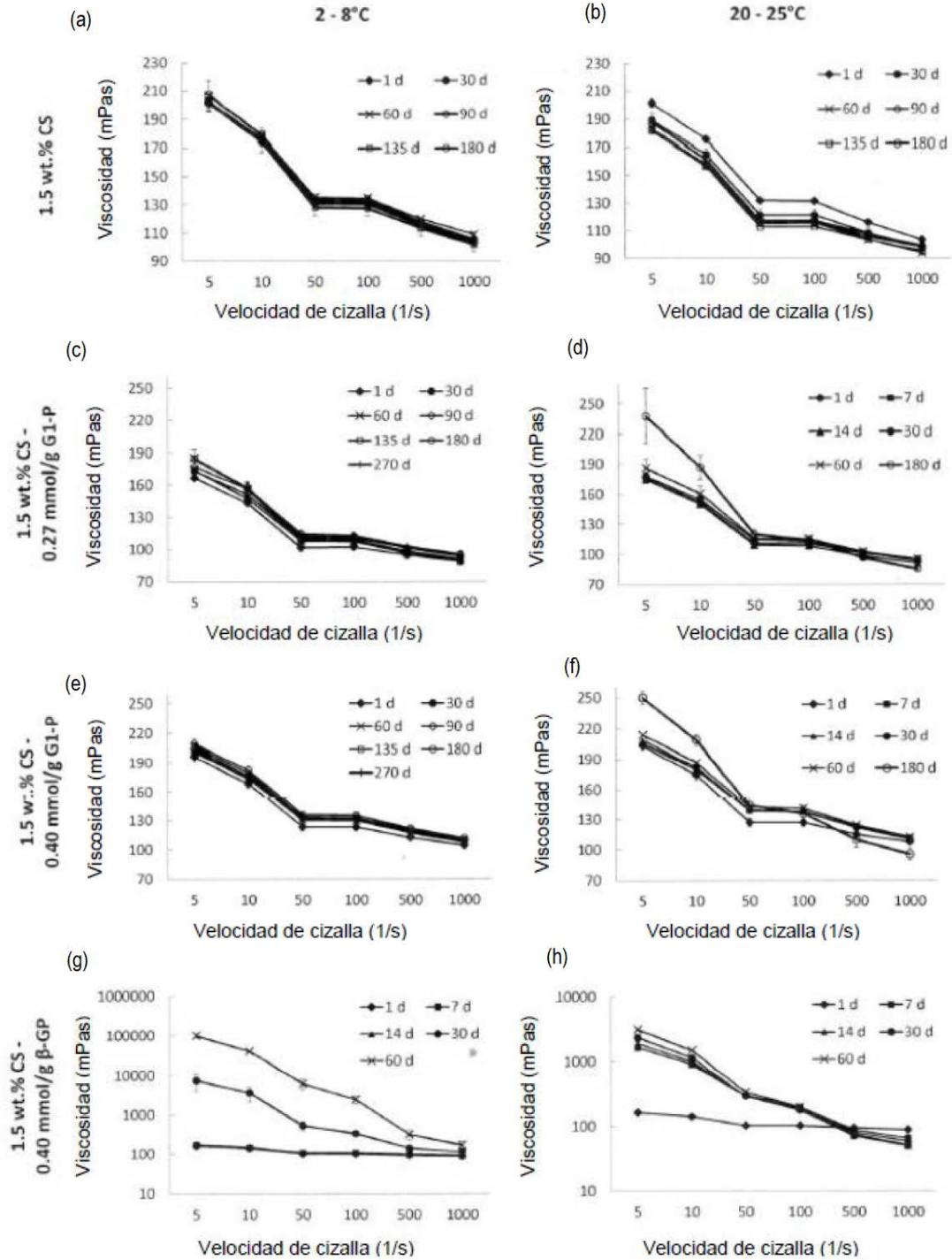


FIG. 4

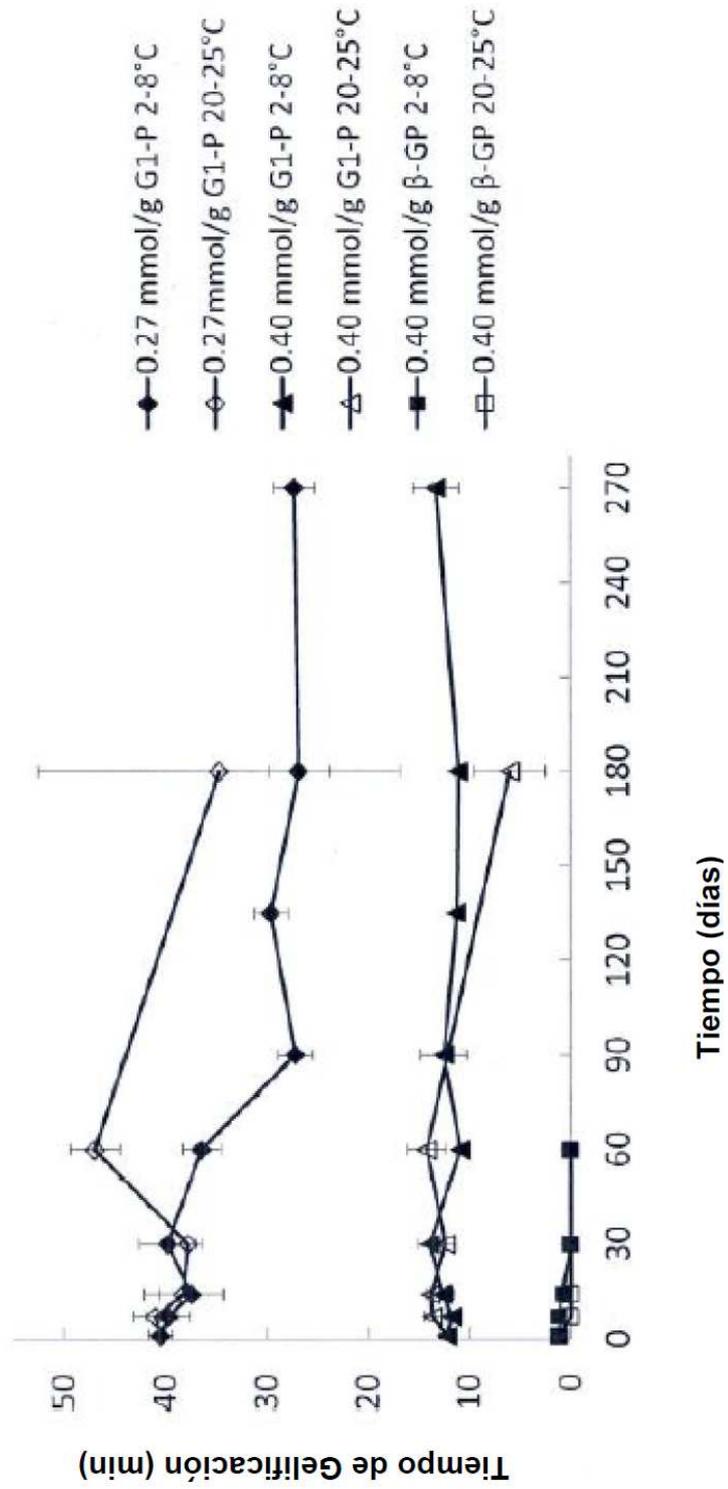


FIG. 5

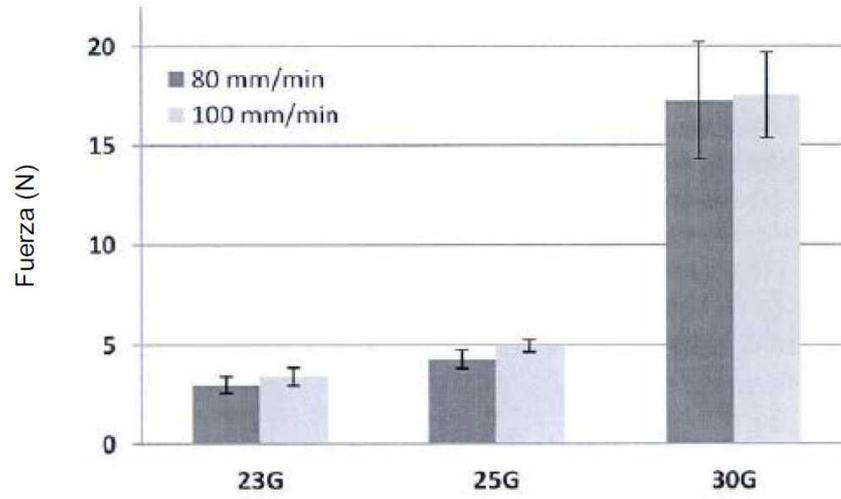


FIG. 6

