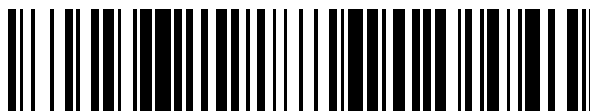


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 709 351**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/34 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.09.2013** **PCT/US2013/061803**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.04.2014** **WO14052518**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2013** **E 13779655 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2018** **EP 2900250**

54 Título: **Sistemas de administración de fármacos biodegradables para la liberación sostenida de proteínas**

30 Prioridad:

27.09.2012 US 201261706516 P

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

16.04.2019

73 Titular/es:

ALLERGAN, INC. (100.0%)
2525 Dupont Drive
Irvine, CA 92612, US

72 Inventor/es:

WU, CINDY W.;
ROBINSON, MICHAEL R.;
BURKE, JAMES A. y
HUGHES, PATRICK M.

74 Agente/Representante:

MARTÍN BADAJOZ, Irene

ES 2 709 351 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 administración de fármacos biodegradables para la liberación sostenida de proteínas

5 **Campo**

La presente invención se refiere a implantes biodegradables para la liberación sostenida de una proteína en un tejido de mamífero. Los implantes se formulan para proporcionar la administración sostenida de una proteína, tal como un anticuerpo, en una forma biológicamente activa *in vivo* durante al menos un mes (30 días o más). Los implantes son
10 útiles para tratar afecciones oculares (incluidas enfermedades oculares) que afectan a las regiones anterior o posterior del ojo, así como a afecciones médicas que afectan a regiones y tejidos en todo el cuerpo. Los ejemplos específicos incluyen implantes configurados para la administración intraocular e intraarticular. También se describen métodos para fabricar implantes de liberación sostenida que contienen proteínas.

15 **Antecedentes**

Existe gran interés en desarrollar composiciones inyectables, biocompatibles que puedan proporcionar la liberación a largo plazo de una proteína. Sería especialmente ventajoso desarrollar composiciones biocompatibles y biodegradables que liberen niveles terapéuticos de proteína biológicamente activa a una velocidad controlada
20 durante uno, dos o tres meses o más.

Las composiciones biodegradables, tales como implantes intraoculares, capaces de suministrar niveles terapéuticos de proteína funcional durante períodos de tiempo prolongados podrían ser extremadamente útiles para el tratamiento de enfermedades oculares, donde el uso de proteínas, tales como anticuerpos, requiere de forma típica una inyección intraocular frecuente o una elevada dosificación sistémica. Un ejemplo de dicho implante se proporciona en el documento US-2011/034448 A1, donde la proteína se libera desde una matriz de poli(D, L-lactido-co-glicólido).

Aparte de la incomodidad y tiempo asociados con inyecciones frecuentes, la inyección intraocular directa puede implicar determinados riesgos para el paciente, incluidos desprendimiento de retina, daño en el cristalino, e infección. La inyección intraocular directa también puede producir una toxicidad localizada debido a las elevadas concentraciones repetidas del fármaco de proteína en el cristalino y otros tejidos intraoculares. Además, la penetración de proteínas sistémicamente administradas en la retina está muy restringida debido a las barreras hematorretinianas (BHR).

Los compuestos se eliminan de forma típica del vítreo del ojo por difusión al espacio retrozonular con aclaramiento mediante el humor acuoso, o mediante eliminación transretiniana. La mayoría de los compuestos de elevado peso molecular utilizan la primera vía, mientras que los compuestos lipófilos y los que tienen mecanismos de transporte transretiniano utilizarán la última. Desafortunadamente, los compuestos que se eliminan a través de la retina tienen
40 semividas extremadamente cortas. Por lo tanto, para estos compuestos es difícil mantener concentraciones terapéuticas mediante inyección intraocular directa. Sería necesario realizar inyecciones frecuentes. Incluso para macromoléculas, tales como proteínas, que se eliminan a través del humor acuoso, la semivida en el vítreo es corta con respecto a la duración de la terapia. Por lo tanto, compuestos tales como LUCENTIS® se deben dosificar con frecuencia de una vez al mes mediante inyección intravítrea.

Por lo tanto, sería de gran valor para los pacientes poder eliminar la necesidad de inyecciones frecuentes de proteínas mediante el desarrollo de implantes biodegradables que puedan proporcionar la liberación segura, eficaz y a largo plazo de proteína biológicamente activa en una sola dosis a la vez que se evitan las elevadas concentraciones transitorias asociadas con la dosificación repetida.

50 **Sumario**

En consecuencia, algunas realizaciones de la presente invención proporcionan un sistema de administración de fármacos (DDS del inglés "drug delivery system") biodegradable que puede liberar una cantidad terapéuticamente
55 eficaz de proteína biológicamente activa *in vivo* durante dos meses o más, como se define en las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a los métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del organismo humano (o animal) por medio de terapia.

El sistema de administración de fármacos biodegradable comprende una matriz de polímero biodegradable y una proteína asociada con la matriz de polímero biodegradable, definida por las reivindicaciones. Los sistemas de administración de fármacos dentro del alcance de la presente invención se forman mediante un proceso de extrusión.

Por ejemplo, el sistema de administración de fármacos biodegradable puede estar en forma de un filamento extruido preparado mediante un proceso de extrusión simple o doble. El filamento extruido puede estar configurado y

dimensionado para su colocación en un ojo de un mamífero y, más especialmente, en una región ocular de un ojo. Dicho filamento se puede denominar como un "implante intraocular", un "implante intraocular biodegradable", o más específicamente como un "implante intraocular biodegradable extruido." Los filamentos extruidos también pueden configurarse para su colocación en una región intraarticular para tratar una enfermedad o afección médica de la misma. Dicho filamento puede denominarse como un "implante intraarticular." Un filamento extruido puede ser sólido, semisólido, o viscoelástico.

La proteína puede estar encapsulada por y/o dispersa en la matriz de polímero biodegradable. La proteína puede estar distribuida de forma uniforme o no uniforme en la matriz de polímero. Un implante puede comprender una sola proteína o una primera y segunda proteínas, tal como un primer y un segundo anticuerpos dirigidos a una primera y segunda dianas de proteína, por lo cual los anticuerpos se diseñan para unirse y bloquear la actividad de las primeras y segundas dianas de proteína *in vivo*. Un ejemplo es un implante que comprende un anticuerpo, una DARPin (del inglés "designed ankyrin repeat protein" [proteína de repetición de anquirina diseñada]), o una anticalina que se une específicamente a (en otras palabras, es específica de) el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF del inglés "vascular endothelial growth factor") o el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF del inglés "platelet derived growth factor"). Por ejemplo, un implante según esta invención puede comprender un anticuerpo anti-VEGF o anti-PDGF o un anticuerpo anti-VEGF y un anticuerpo anti-PDGF.

Los ejemplos no limitativos de proteínas que se pueden incluir en, y que por tanto se administran mediante un implante intraocular o intraarticular incluyen anticuerpos policlonales y monoclonales, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos biespecíficos, fragmentos de anticuerpos, anticalinas, DARPins, y enzimas. Otros ejemplos incluyen glucoproteínas y seroalbúminas. El anticuerpo monoclonal o policlonal puede usarse en su forma natural tal como se produce, por ejemplo, por una célula y puede contener o no modificaciones posteriores a la traducción, o puede usarse en una forma modificada química o enzimáticamente producida después de su aislamiento a partir de un cultivo celular u otra muestra biológica. El anticuerpo puede ser quimérico. En realizaciones específicas, el anticuerpo puede ser una IgA, IgD, IgE, IgG, o IgM. Los fragmentos de anticuerpo útiles incluyen los generados por papaína (p. ej., el fragmento Fab) o la escisión con pepsina de un anticuerpo. Más generalmente, los fragmentos de anticuerpo útiles incluyen fragmentos Fab', F(ab)2, Fabc y Fv. Los fragmentos de anticuerpos pueden producirse ya sea mediante la modificación de anticuerpos completos o aquellos sintetizados *de novo* usando metodologías de ADN recombinante e incluyen, además, anticuerpos "humanizados" preparados mediante técnicas ahora convencionales. Los "fragmentos de anticuerpos" comprenden una porción de un anticuerpo de longitud completa, generalmente el dominio de unión a antígeno o un dominio variable del mismo.

Algunas realizaciones de la presente invención proporcionan un implante biodegradable que comprende un anticuerpo o proteína anti-VEGF (es decir, un anticuerpo o una proteína que se une específicamente al factor de crecimiento endotelial vascular o VEGF-A). Los anticuerpos anti-VEGF útiles incluyen, aunque no de forma limitativa, ranibizumab (EUCENTIS®) y bevacizumab (AVASTIN®). Las proteínas anti-VEGF útiles incluyen Aflibercept (Eylea®) (también conocido como VEGF TRAP), las DARPins de unión a VEGF y las anticalinas de unión a VEGF. La trampa de VEGF Trap (Regeneron Pharmaceuticals, Nueva York) es una proteína de fusión que contiene porciones de los dominios extracelulares de dos receptores de VEGF diferentes conectados a la región Fc (extremo C terminal) de un anticuerpo humano. En algunas realizaciones, el implante puede comprender un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en anticuerpos anti-VEGF, anticuerpos contra el receptor de VEGF, anticuerpos anti-PDGF (del inglés "platelet derived growth factor" [factor de crecimiento derivado de plaquetas]), anticuerpos antintegrina, fragmentos terapéuticamente eficaces de los mismos y combinaciones de los mismos.

En otra realización, la presente invención proporciona un implante biodegradable extruido que comprende un anticuerpo o proteína anti-TNF (factor de necrosis tumoral). Los anticuerpos anti-TNF incluyen, aunque no de forma limitativa, Adalimumab (HUMIRA®), Infliximab (REMICADE®), certolizumab pegol (CIMZIA®), y golimumab (SIMPONI®). Las proteínas anti-TNF útiles incluyen la proteína de fusión Etanercept (ENBREE®). Los implantes que comprenden proteínas anti-TNF pueden ser especialmente útiles para tratar la uveítis y la enfermedad de Behcet.

Otras proteínas para su inclusión en un implante intraocular o intraarticular según esta invención incluyen factores de crecimiento tales como factores de crecimiento nervioso, factores de crecimiento de fibroblastos ácidos y factores de crecimiento de fibroblastos básicos; factores neurotróficos tales como factor neurotrófico ciliar, factor neurotrófico derivado de cerebro, y factor neurotrófico derivado de una línea de células gliales; citocinas, tales como interferón gamma e interleucina-10; compuestos antiproliferativos, tales como rituximab; y proteína fibrinolítica tal como activador tisular del plasminógeno. Los usos terapéuticos de dichas proteínas pueden ser generalmente conocidos en la técnica.

Así, un implante intraocular o intraarticular biodegradable según esta invención puede comprender un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en anticuerpos anti-VEGF (anticuerpos que se unen específicamente a un VEGF), anticuerpos anti-PDGF, anticuerpos contra el receptor de VEGF, anticuerpos antintegrina, fragmentos terapéuticamente eficaces de los mismos y combinaciones de los mismos.

Un factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A, también denominado como VEGF), es un mitógeno secretado específico de células endoteliales vasculares que puede estimular el crecimiento de las células

endoteliales *in vitro* y la angiogénesis *in vivo*. El VEGF-A puede aparecer en diferentes isoformas. Todas las isoformas de VEGF-A, excepto VEGF-A₁₂₁, se unen a heparina. En los seres humanos, la isoforma más abundante de VEGF-A es un polipéptido de 165 aminoácidos, VEGF-A₁₆₅. Véase, por ejemplo, Houck y col., Mol. Endocrin. 5:1806 (1991) y Leung y col., Science 246:1306 (1989).

Por consiguiente, algunas realizaciones de la presente invención proporcionan un implante biodegradable que comprende una matriz de polímero biodegradable y un anticuerpo, DARpin, o anticalina que se une VEGF-A₁₆₅. El mismo anticuerpo, DARpin, o anticalina puede reconocer y unirse a todas las isoformas de VEGF-A, ya que el anticuerpo, DARpin, o anticalina puede reconocer un epítipo presente en todas las isoformas de VEGF-A. Por ejemplo, el anticuerpo, DARpin, o anticalina puede reconocer y unirse específicamente a un epítipo en la región de los dominios de unión al receptor de VEGF-A presentes en todas las isoformas de VEGF-A, incluido el VEGF₁₂₁. Por consiguiente, un solo anticuerpo anti-VEGF (o DARpin o anticalina), en un implante de esta invención, puede reconocer y unirse específicamente a todas las isoformas de VEGF-A. Se han descrito anticuerpos, incluidos anticuerpos monoclonales y anticuerpos anti-VEGF humanizados, que se unen al receptor de VEGF-A o VEGF. Véase, por ejemplo, la patente US-5.955.311 y la patente US-6.884.879. Además, bevacizumab es un ejemplo de un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a e inhibe el VEGF-A humano. También se han descrito anticuerpos inhibidores dirigidos contra PDGF. Véase, por ejemplo, el documento WO 2003/025019.

Los implantes biodegradables de liberación prolongada que comprenden un inhibidor del VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) o del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF del inglés "platelet-derived growth factor") o de ambos, tal como un anticuerpo o combinación de anticuerpos que se une(n) específicamente al VEGF y/o PDGF *in vivo*, puede tener especial utilidad para tratar la degeneración macular (incluida la degeneración macular relacionada con la edad húmeda), retinopatía, retinopatía diabética, retinopatía diabética proliferativa, retinopatía drepanocítica, retinopatía del prematuro, retinopatía isquémica, neovascularización ocular (crecimiento anómalo de nuevos vasos sanguíneos en el ojo), neovascularización coroidea, neovascularización debida a oclusión en la vena retiniana, neovascularización coroidea, isquemia retiniana diabética, y edema macular en un paciente que lo necesita.

En una realización, la invención proporciona un implante intraocular biodegradable que comprende una matriz de polímero biodegradable y un primer y segundo anticuerpos, o un anticuerpo biespecífico, que específicamente se une(n) a VEGF y PDGF, respectivamente, en el que el implante proporciona una liberación continua del primer y segundo anticuerpos o anticuerpo biespecífico en una forma biológicamente activa durante al menos 30, 60 o 90 días después de la colocación del implante en un ojo de un mamífero. En una forma, los anticuerpos o el anticuerpo biespecífico son específicos del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF-A) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas B (PDGF-B). Estos implantes pueden ser útiles para tratar tumores oculares, neovascularización ocular, neovascularización coroidea, y degeneración macular. Por "PDGF-B" se entiende un polipéptido de cadena B de PDGF.

Los presentes implantes están diseñados para mantener la actividad biológica del anticuerpo, de manera que cuando el anticuerpo se libera del sistema, este se unirá específicamente a su diana de proteína designada. La unión del anticuerpo a la diana de proteína puede proporcionar interferencia entre la proteína y su ligando o receptor y, por lo tanto, el anticuerpo puede inhibir o reducir la función mediada por la interacción proteína/receptor. En la técnica se conocen varios métodos para determinar si un anticuerpo se une específicamente a o es "inmunorreactivo con" una diana de proteína (polipéptido). Los ensayos de inmunoquimioluminiscencia métrica (ICMA del inglés "immuno chemiluminescence metric assays"), enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA del inglés "enzyme-linked immunosorbent assays") y radioinmunoensayos (RIA del inglés "radioimmunoassays") son algunos ejemplos.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un implante biodegradable extruido que comprende una matriz de polímero biodegradable y uno o más anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, DARPin, anticalinas, fragmentos de anticuerpo, polipéptidos recombinantes derivados de una región variable de anticuerpo, o mezclas de los mismos, que interactúa(n) con (p. ej., se unen y reducen o inhiben la actividad de) VEGF o factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDFG) o tanto VEGF como PDFG. Por ejemplo, la invención proporciona un implante biodegradable extruido que comprende una matriz de polímero biodegradable y un anticuerpo biespecífico que se une específicamente a VEGF y PDFG, en el que el implante proporciona la liberación continua del anticuerpo en una forma biológicamente activa durante al menos 90 días después de la colocación del implante en un ojo de un mamífero. En otras realizaciones, un implante según la invención puede comprender una matriz de polímero biodegradable y un anticuerpo específico para el receptor de VEGF.

Los anticuerpos monoclonales útiles en las presentes formulaciones de administración de fármacos pueden obtenerse usando métodos rutinarios conocidos por los expertos en la materia. Brevemente, a animales tales como ratones, se les inyecta una proteína diana deseada o porción de la misma (el antígeno), tal como VEGF o VEGFR. La proteína diana está, preferiblemente, acoplada a una proteína portadora. A los animales se les administran una o más inyecciones de refuerzo de proteína diana, y se hiperinmunizan mediante un refuerzo intravenoso (IV) 3 días antes de la fusión. Se aíslan células de bazo de los *ratones* y se fusionan por métodos convencionales con células de mieloma. Los hibridomas se pueden seleccionar en medio de hipoxantina/aminopterina/timina (HAT) convencional, según métodos convencionales. Los hibridomas que secretan anticuerpos que reconocen la proteína

diana se identifican, se cultivan y se subclonan utilizando técnicas inmunológicas convencionales, y el anticuerpo se purifica, por ejemplo, por cromatografía de afinidad. En ciertas realizaciones de los presentes sistemas de administración, se obtiene un anticuerpo monoclonal anti-VEGF o anti-VEGFR de ImClone systems, Inc. (NY, NY). Por ejemplo, las presentes formulaciones pueden incluir un anticuerpo comercializado por ImClone Systems con el nombre IMC-18F1, o un anticuerpo con el nombre IMC-1121 Fab. Otro fragmento de anticuerpo anti-VEGF que puede usarse en las presentes formulaciones de fármaco es ranibizumab, un fragmento Fab que se une a VEGF-A. Otro anticuerpo anti-VEGF útil en los presentes sistemas de administración de fármacos es bevacizumab, un anticuerpo monoclonal que se une al VEGF-A.

En algunas realizaciones, la(s) proteína(s) del sistema de administración de fármacos (por ejemplo, el implante intraocular o intraarticular) puede tener al menos 20, al menos 30, al menos 50, al menos 100, al menos 200, o al menos 300 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, la proteína comprende tres o más aminoácidos. En algunos casos, la proteína puede tener de 30 a 50 aminoácidos de longitud o de 100 a 500 aminoácidos de longitud. En algunas formas de la invención, la proteína puede tener una masa molecular inferior a 5 kilodaltons (kDa). En otras formas, las proteínas pueden tener una masa molecular superior a 5 kDa, superior a 10 kDa, superior a 20 kDa, superior a 50 kDa, o superior a 100 kDa. En ciertas formas de la invención, la proteína puede tener una masa molecular de 10 a 30 kDa o de 20 a 50 kDa. Por ejemplo, la proteína puede tener una masa molecular de 14 a 16 kDa, o de 14 a 21 kDa. La proteína puede ser lineal, ramificada o circular, y puede sintetizarse químicamente (mediante el uso, por ejemplo, de síntesis en fase sólida) o producirse de manera natural o recombinante. La proteína puede ser una proteína de fusión. La proteína puede estar truncada comparada con su forma natural. La proteína puede comprender no más de una sola cadena de aminoácidos o dos o más cadenas de aminoácidos. Las dos o más cadenas pueden estar asociadas de forma covalente o no covalente entre sí. Por ejemplo, las cadenas de aminoácidos pueden estar asociadas mediante enlaces disulfuro, o las dos o más cadenas pueden estar asociadas entre sí por fuerzas no covalentes solamente. La proteína puede contener o no aminoácidos modificados de forma sintética o por modificaciones posteriores a la traducción. Las proteínas para su uso en los presentes implantes se pueden producir recombinantemente (por medio de un cultivo de células de mamífero o procariota), sintéticamente (como, por ejemplo, por síntesis en fase sólida) o aislarse de fuentes naturales (p. ej., cultivo de células de mamíferos o bacterias, plasma, suero, planta, hongo o similares). Uno o más de los aminoácidos de una proteína pueden ser no naturales.

Un implante intraocular o intraarticular biodegradable según esta invención puede comprender de aproximadamente 1,0 % a aproximadamente 50 % de proteína en peso del implante, (es decir, % p/p), de aproximadamente 5 % a aproximadamente 30 % de proteína en peso del implante, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 40 % de proteína en peso del implante, de aproximadamente 10 % a aproximadamente 25 % de proteína en peso del implante, o aproximadamente 5 %, 10 %, 20 % o 30 % de proteína en peso del implante.

Además de la proteína y de la matriz de polímero biodegradable, el implante puede comprender uno o más excipientes, sales, agentes tamponadores, conservantes, polielectrolitos, o cualquier combinación de los mismos.

Los excipientes útiles incluyen carbohidratos tales como trehalosa (por ejemplo, trehalosa, α,α -trehalosa dihidratada), inulina y sacarosa; tensioactivos tales como polisorbato 20, polisorbato 80, y pluronic F127; polietilenglicoles tales como polietilenglicol 3350 (PEG 3350); aminoácidos tales como glicina, ácidos aspárticos, ácidos glutámicos, arginina, lisina e histidina; agentes quelantes tales como sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético deshidratada; alcoholes polihídricos, tales como glicerol, sorbitol y manitol; colesterol; albúminas; ciclodextrinas; dextranos; poli(alcohol vinílico); glicerol; y cloruro de zinc, y combinaciones de los mismos. El/los excipiente(s) puede(n) estar presente(s) en el implante en una cantidad de 0,01 % en peso (p/p) a 30 % (p/p), de 0,01 a 20 % en peso, o de 0,01 % a aproximadamente 15 % en peso.

Los agentes tamponadores solubles en agua adecuados pueden incluir, sin limitación, carbonatos, fosfatos, bicarbonatos, citratos, boratos, acetatos, succinatos y similares alcalinos y alcalinotérreos, tales como fosfato sódico (p. ej., fosfato monosódico (NaH_2PO_4), y fosfato disódico (NaHPO_4), citrato sódico, borato sódico, acetato sódico, bicarbonato sódico, carbonato sódico y similares. Estos agentes están ventajosamente presentes en cantidades suficientes para mantener un pH del sistema entre 2 y 9 y, más específicamente, entre 4 y 8. El agente tamponador puede estar presente en el implante en una cantidad de 0,01 % a 10 % en peso (p/p), tal como, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 % a 5 % p/p.

Los conservantes solubles en agua adecuados incluyen bisulfito de sodio, bisulfato de sodio, tiosulfato de sodio, ascorbato, cloruro de benzalconio, clorobutanol, timerosal, acetato fenilmercúrico, borato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, parabenos, metilparabeno, poli(alcohol vinílico), alcohol bencílico, feniletanol y similares y mezclas de los mismos. Estos agentes pueden estar presentes en el implante en cantidades de 0,001 % a aproximadamente 5 % en peso (p/p) tales como, por ejemplo, de 0,01 % a aproximadamente 2 % p/p.

Los polielectrolitos adecuados incluyen poliarginina, polihistidina, polilisina, protoamina, histonas, sulfato de polimixina B, polialilamina, poli (etilenimina, DEAE-dextrano, carragenina, sulfatos de condroitina, sulfatos de alginato, sulfatos de dextrano, heparina, poliestirenosulfonato, polivinilsulfato y polifosfato.

Las sales adecuadas incluyen NaCl, KCl, MgCl₂ y similares.

La matriz comprende una mezcla de un primer copolímero de PLGA que tiene un grupo éster terminal y un segundo copolímero de PLGA que tiene un grupo ácido terminal, como se define en las reivindicaciones. Más específicamente, el primer copolímero de PLGA puede ser RESOMER® RG752S, y el segundo copolímero de PLGA puede ser RESOMER® RG502H. En una realización específica, la relación ponderal de RG752S a RG502H en el sistema de administración de fármacos (por ejemplo, en un implante extruido) es aproximadamente de 90 a 10. En otra realización, el primer copolímero de PLGA es RESOMER® RG753S, y el segundo copolímero de PLGA es RESOMER® RG502H. De manera útil, la relación ponderal de RG753S a RG502H en un implante extruido es aproximadamente de 90 a 10.

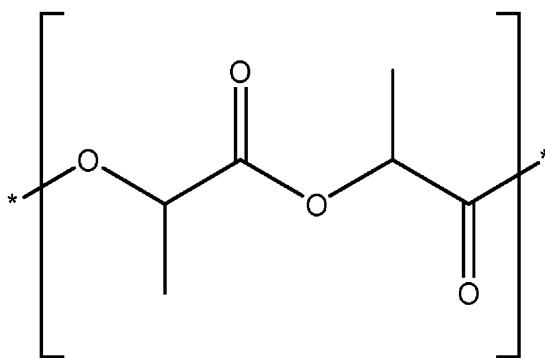
En algunas realizaciones, el implante puede comprender además un polímero reabsorbible. Un polímero reabsorbible es uno que se disuelve, pero no se degrada *in vivo*. Por tanto, un polímero reabsorbible es generalmente soluble en agua. Un ejemplo de un polímero reabsorbible es polietilenglicol 3350 (PEG 3350).

Algunas características preferidas de los polímeros o materiales poliméricos para su uso en la presente invención pueden incluir biocompatibilidad, compatibilidad con el componente terapéutico, facilidad de uso del polímero en la preparación de los sistemas de administración de fármacos de la presente invención, una semivida en el entorno fisiológico de al menos aproximadamente 6 horas, preferiblemente superior a aproximadamente un día, sin un aumento significativo de la viscosidad del vítreo, e insolubilidad en agua.

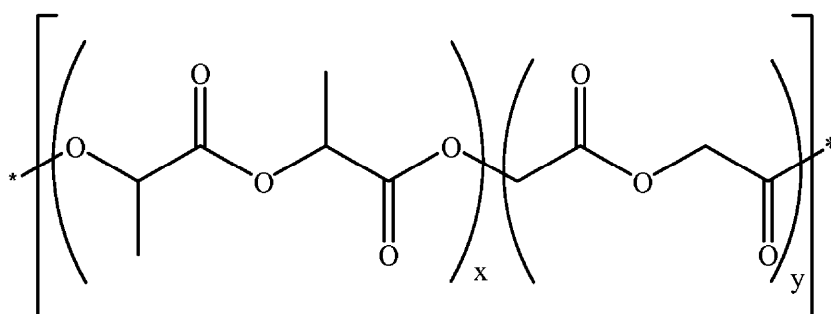
Los polímeros biodegradables que se incluyen para formar la matriz se someten, de forma deseable, a inestabilidad enzimática o hidrolítica. El grado de estabilidad puede variar ampliamente, dependiendo de la elección del monómero, de si se emplea un homopolímero o copolímero, el uso de mezclas de polímeros y de si el polímero incluye grupos ácido terminales.

Además de uno o más polímeros y además de una o más proteínas asociadas con la matriz, la matriz de polímero puede también comprender opcionalmente uno o más excipientes, sales, agentes tamponadores, conservantes, o polielectrolitos, cuyos ejemplos se han descrito anteriormente.

Polilactida, o PLA, incluye poli(D-lactida), poli(L-lactida), y poli(D,L-lactida), y también se puede identificar con el número de CAS 26680-10-4, y puede representarse mediante la fórmula:



Poli(lactida-co-glicólido) o PLGA, incluye poli(D,L-lactida-co-glicólido), también identificado con el número de CAS 26780-50-7, y puede representarse mediante la fórmula:



Así, poli(D,L-lactida-co-glicólido) es un copolímero que comprende uno o más bloques de unidades de repetición de D,L-lactida y uno o más bloques de unidades de repetición de glicólido, donde el tamaño y número de los bloques respectivos puede variar. El porcentaje molar de cada monómero (unidad de repetición) en un copolímero de

poli(lactida-co-glicólido) (PLGA) puede ser de 0-100 %, aproximadamente 15-85 %, aproximadamente 25-75 %, o aproximadamente 35-65 %. En algunas realizaciones, la relación molar de D,L-lactida a glicólido puede ser de aproximadamente 50:50 o de aproximadamente 75:25.

- 5 El polímero de PLA y/o PLGA incluido en la matriz de polímero puede comprender grupos terminales éster o ácido carboxílico libre.

Los polímeros PLA y PLGA RESOMER® se encuentran disponibles de Evonik Industries AG, Alemania.

- 10 RESOMER® R203H es una poli(D,L-lactida) que tiene un grupo ácido terminal y una viscosidad inherente de 0,25-0,35 dl/g, medida para una solución a 0,1 % p/v en cloroformo (CHCl₃) a 25 °C.

- 15 RESOMER® RG502 es un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo éster terminal y una viscosidad inherente de 0,16-0,24 dl/g (tal como se mide para una solución a 0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 50:50.

- 20 RESOMER® RG502H es un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo ácido terminal y una viscosidad inherente de 0,16-0,24 dl/g (tal como se mide para una solución a 0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 50:50.

- RESOMER® RG503H es un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo ácido terminal, una viscosidad inherente de 0,32-0,44 dl/g (tal como se mide para una solución a 0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 50:50 (RESOMER® RG503H).

- 25 RESOMER® RG753S es un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo éster terminal y una viscosidad inherente de 0,32-0,44 dl/g (tal como se mide para una solución a 0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 75:25.

- 30 RESOMER® RG752S es un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo éster terminal y una viscosidad inherente de 0,16-0,24 dl/g (tal como se mide para una solución a 0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 75:25.

- 35 Un implante según la presente invención proporciona la liberación continua de una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína biológicamente activa durante al menos dos o tres meses después de la colocación del sistema en una región ocular o intraarticular. La proteína, tal como un anticuerpo, puede liberarse del implante por difusión, erosión, disolución, u ósmosis.

- 40 La cantidad de proteína (tal como un anticuerpo) en un implante biodegradable para los fines de la presente invención puede ser una cantidad eficaz para reducir uno o más síntomas de una afección ocular o intraarticular. Dicha cantidad puede estar comprendida entre aproximadamente 20 µg y aproximadamente 500 µg de proteína o más, por ejemplo. Además, un implante (tal como un implante extruido) liberará, preferiblemente, una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína durante un período sostenido, que puede ser de 90 días o más. Una cantidad terapéuticamente eficaz de proteína puede ser una velocidad de liberación de aproximadamente 0,5 µg de proteína/día a aproximadamente 4 µg de proteína/día. En algunos casos, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una velocidad de liberación de aproximadamente 0,5 µg de proteína/día a aproximadamente 2 µg de proteína/día. Por ejemplo, los implantes pueden proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de anticuerpo cuando liberan aproximadamente 2 µg de proteína/día. Además, un implante puede proporcionar un efecto terapéutico durante más de 3 meses debido no solamente a la liberación continua de proteína durante uno, dos o tres meses o más, sino también debido al efecto residual de la proteína en el ojo o tejido en el cual se ha colocado el implante.

- 50 La cantidad de proteína liberada continuamente durante el período de al menos dos o tres meses puede ser una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar una afección ocular (incluida una afección ocular anterior o posterior) o una enfermedad o afección intraarticular.

- 55 Un filamento extruido según esta invención se puede dimensionar y configurar para su colocación en una región ocular del ojo, que incluye el cuerpo vítreo, la cámara anterior o el espacio subconjuntival. El filamento extruido puede tener forma de varilla o no ser cilíndrico.

- 60 Por tanto, un ejemplo de un sistema de administración de fármacos según la presente invención es un filamento extruido (por ejemplo, un implante intraocular o intraarticular) que comprende un anticuerpo y una matriz de polímero biodegradable, en donde la matriz de polímero comprende una mezcla de primero y segundo polímeros biodegradables, y en el que el filamento libera una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo en forma biológicamente activa durante al menos un mes desde el momento en que el filamento se coloca en una región ocular o intraarticular. En realizaciones particulares del mismo, el filamento libera una cantidad terapéuticamente

eficaz de anticuerpo biológicamente activo durante al menos dos, o al menos aproximadamente tres meses desde el momento en que el filamento se coloca en una región ocular o intraarticular.

Otro ejemplo es un filamento extruido que comprende un anticuerpo y una matriz de polímero biodegradable, en el que la matriz de polímero comprende no más de un polímero biodegradable y en el que el filamento libera una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo en forma biológicamente activa durante al menos aproximadamente un mes, o durante al menos aproximadamente dos o tres meses desde el momento en que el filamento se coloca en una región ocular o intraarticular.

Como se ha explicado anteriormente, independientemente de si el filamento extruido comprende uno o más de un polímero biodegradable, el filamento puede, no obstante, comprender además uno o más excipientes, sales, agentes tamponadores, conservantes, o polielectrolitos que pueden mejorar la estabilidad y/o modular la velocidad de liberación del anticuerpo desde el filamento. La modulación de liberación puede manifestarse en forma de una velocidad de liberación más lineal y/o en un período de liberación más largo en comparación con el mismo filamento sin el uno o más excipientes, sales, agentes tamponadores, conservantes, o polielectrolitos. Los excipientes, sales, agentes tamponadores, conservantes, o polielectrolitos útiles se han definido anteriormente, e incluyen polisorbato 20, trehalosa, y fosfato sódico.

En filamentos que comprenden una mezcla del primer y segundo polímeros biodegradables, el primer y segundo polímeros se pueden seleccionar independientemente del grupo que consiste en copolímeros de poli(D,L-lactida-co-glicólido) terminados en éster y copolímeros de poli(D,L-lactida-co-glicólido) terminados en ácido. En una realización específica, la relación ponderal entre los copolímeros terminados en éster y los copolímeros terminados en ácido en el implante es 90:10.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, el uno o más copolímeros de poli(D,L-lactida-co-glicólido) terminado en éster o en ácido puede seleccionarse independientemente del grupo que consiste en:

i) un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo éster terminal, una viscosidad inherente de 0,16-0,24 dl/g (0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 75:25 (RESOMER® RG752S);

ii) un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo éster terminal, una viscosidad inherente de 0,32-0,44 dl/g (0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 75:25 (RESOMER® RG753S);

iii) un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo ácido terminal, una viscosidad inherente de 0,16-0,24 dl/g (0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación de D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 50:50 (RESOMER® RG502H); y

iv) un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo ácido terminal, una viscosidad inherente de 0,32-0,44 dl/g (0,1 % p/v en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de aproximadamente 50:50 (RESOMER® RG503H).

Algunos ejemplos incluyen los implantes biodegradables de las Formulaciones n.º 1-9 enumerados y descritos en la Tabla 1, más adelante.

En una realización, la invención proporciona un filamento biodegradable extruido (es decir, un implante extruido) que comprende un anticuerpo y una matriz de polímero biodegradable, en el que la matriz de polímero comprende RESOMER® RG753S y RESOMER® RG502H. En una forma de este implante, el anticuerpo es un anticuerpo anti-VEGF.

En otra realización, la invención proporciona un implante biodegradable extruido que comprende un anticuerpo, tal como, por ejemplo, un anticuerpo anti-VEGF, y una matriz de polímero biodegradable, en el que la matriz de polímero comprende RESOMER® RG752S y RESOMER® RG502H. En una forma particular de esta realización, el implante comprende RESOMER® RG752S y RESOMER® RG502H en una relación ponderal (RG752S a RG502H) de aproximadamente 90 a 10, y el anticuerpo es un anticuerpo anti-VEGF. Los ejemplos incluyen las Formulaciones n.º 3 y 5, descritas en la Tabla 1, más adelante.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, el filamento puede configurarse para su colocación en una región ocular o intraarticular. Esto es, el filamento puede configurarse para su uso como un implante intraocular o intraarticular.

Un filamento extruido dimensionado, configurado, y adecuado para su colocación en una región ocular (es decir, un implante intraocular) puede tener forma de varilla o una forma no cilíndrica y de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 10 mm de longitud. Por ejemplo, el filamento puede tener aproximadamente 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm, 5 mm, 6 mm o aproximadamente 7 mm de longitud. El diámetro puede ser de aproximadamente 250 pm a

aproximadamente 1 mm, o inferior a aproximadamente 500 µm. En un ejemplo, un filamento configurado para su colocación en el cuerpo vítreo tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 7 mm de longitud y de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2 mm de diámetro. En otro ejemplo, un filamento configurado para su colocación en la cámara anterior tiene de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2 mm de longitud y de aproximadamente 50 µm a aproximadamente 500 µm de diámetro. Estos implantes pueden también ser adecuados para su administración a una región intraarticular para administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína a un paciente que lo necesita, tal como, por ejemplo, un paciente que padece una inflamación o un trastorno autoinmunitario en una articulación. La proteína seleccionada para su uso en estos implantes será una que sea eficaz para reducir la inflamación o tratar el trastorno autoinmunitario.

El peso total de un implante intraocular o intraarticular puede ser de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 5000 µg, de aproximadamente 1000 a aproximadamente 2000 µg, o más de 5000 µg. Por ejemplo, un implante extruido puede pesar aproximadamente 500 µg, aproximadamente 1000 µg, aproximadamente 2000 µg, o aproximadamente 5000 µg.

El método preferido para preparar implantes que contienen proteína incluye mezcla o molienda de polvo del polvo de la proteína con los polímeros y, opcionalmente, uno o más excipientes, sales, agentes tamponadores, conservantes, o polielectrolitos en las relaciones adecuadas. El polvo de proteína se prepara, de forma típica, mediante liofilización o secado por pulverización, en los cuales los excipientes se pueden liofilizar o secar por pulverización conjuntamente. La mezcla de polvo se extruye posteriormente en filamentos mediante un extrusor de fusión en caliente, tal como un extrusor de pistón adaptado o un extrusor de husillo doble a una temperatura de extrusión, velocidad de extrusión y boquilla del extrusor/tamaño del husillo adecuados. Un implante en forma de varilla se puede derivar de filamentos extruidos desde una boquilla, y cortarse al tamaño deseado. El orificio de la boquilla puede oscilar de 200 a 440 µm de diámetro.

La temperatura de extrusión puede ser de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 150 °C, o de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 90 °C, de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 100 °C, o de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 80 °C. Un implante puede producirse, por ejemplo, llevando la temperatura a de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 100 °C para el mezclado de proteína/polímero durante un período de tiempo de aproximadamente 5 minutos a 1 hora, de 1 minuto a aproximadamente 30 minutos, o de 5-20 minutos. Por ejemplo, un período de tiempo puede ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 minutos, tal como, por ejemplo, aproximadamente 20 min. Los implantes se extruyen a continuación a una temperatura de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 90 °C, o de aproximadamente 60 a aproximadamente 100 °C.

La velocidad de liberación de una proteína desde un implante se puede determinar empíricamente por medio de la formulación de varios implantes con proporciones variables de polímero, proteína y otros componentes tales como cualquiera de los excipientes, sales o tampones descritos en la presente memoria. Para medir la velocidad de liberación, puede utilizarse un método homologado por la USP para la prueba de disolución o liberación (USP 23; NF 18 (1995) pág. 1790-1798). Por ejemplo, utilizando el método de sumidero infinito, se añade una muestra pesada del dispositivo de administración de fármacos a un volumen medido de una solución que contiene NaCl a 0,9 % en agua (o en otro medio de liberación adecuado tal como solución salina tamponada con fosfato (PBS del inglés "phosphate buffered saline")), donde el volumen de solución será tal que la concentración de proteína después de la liberación es inferior a 20 % y preferiblemente menos de 5 % de saturación. La mezcla se mantiene a 37 °C y se agita lentamente para garantizar la liberación de proteína. La cantidad de proteína liberada en el medio de liberación en función del tiempo puede seguirse por diversos métodos conocidos en la técnica, tales como espectrofotometría, cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC del inglés "high performance liquid chromatography") (a veces denominada como cromatografía de líquidos de alta presión), espectroscopia de masas, etc. En el caso de la presente invención, la liberación del anticuerpo intacto y biológicamente activo u otra proteína desde un implante extruido se puede seguir mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento con exclusión molecular - SEC-HPLC del inglés "size exclusion high performance liquid chromatography") y enzoinmunoanálisis de adsorción (ELISA).

Los sistemas de administración de fármacos y, por lo tanto, los implantes biodegradables descritos en la presente memoria se pueden colocar (o implantar) en una región ocular de un ojo de un paciente para tratar diversas afecciones oculares, incluida la degeneración macular (incluida la degeneración macular relacionada con la edad húmeda); neovascularización ocular (formación de nuevos vasos sanguíneos anómalos en el ojo), que incluye aunque no de forma limitativa, neovascularización coroidea y neovascularización en el iris; neurorretinopatía macular aguda; edema macular (incluido el edema macular y edema macular diabético); enfermedad de Behcet; retinopatía, incluida la retinopatía diabética, y retinopatía diabética proliferante; vitreorretinopatía proliferativa; enfermedad oclusiva de la arteria retiniana; oclusión de la vena central retiniana; oclusión de la rama venosa retiniana; enfermedad retiniana uveítica; desprendimiento de retina; trastorno de la membrana epirretiniana; neuropatía óptica isquémica anterior; disfunción retiniana diferente a retinopatía diabética; retinitis pigmentosa; y glaucoma en un paciente que lo necesita.

Los implantes descritos en la presente memoria también se pueden colocar en una articulación para tratar una afección intraarticular tal como artrosis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, síndrome de dolor patelofemoral, dolor en las articulaciones, e inflamación de las articulaciones en un paciente que lo necesita. En consecuencia, en una realización, la presente invención proporciona un método para tratar una afección intraarticular (tal como cualquiera de las mencionadas anteriormente) en una articulación de un paciente que lo necesita; comprendiendo el método colocar un implante biodegradable en la articulación, en el que el implante comprende una proteína eficaz para el tratamiento de la afección y una matriz de polímero biodegradable, en el que la proteína está asociada con la matriz y en el que el implante reduce al menos un síntoma de la afección durante 3 meses o más después de su colocación en la articulación.

Definiciones de la invención

"Individuo", "sujeto", o "paciente" se refiere a un ser humano o mamífero no humano vivo, tal como un primate, mono, caballo, perro, conejo, rata, ratón, cobaya o cerdo. Un individuo o sujeto puede clasificarse además como un paciente, individuo o sujeto que necesita tratamiento para (que padece) una afección ocular o afección médica.

Como se utiliza en la presente memoria, el término "afección ocular" se refiere a una enfermedad o afección de uno o más tejidos, partes o regiones oculares del ojo que alteran el funcionamiento normal del ojo. Una afección ocular se puede clasificar como una afección ocular anterior o afección ocular posterior.

Una afección ocular anterior es una enfermedad o afección de una región o sitio anterior ocular (parte delantera del ojo), tal como un músculo periocular, un párpado o un tejido del globo ocular, o del líquido que está situado antes de la pared posterior de la cápsula del cristalino o músculos ciliares. Por lo tanto, una afección ocular anterior afecta o involucra principalmente la conjuntiva, la córnea, la cámara anterior, el iris, la cámara posterior, el cristalino o la cápsula del cristalino y los vasos sanguíneos y nervio que vascularizan o inervan una región o sitio ocular anterior.

Los ejemplos de una afección ocular anterior incluyen afaquia; pseudofaquia; astigmatismo; blefaroespasma; catarata; enfermedades de la conjuntiva; conjuntivitis; enfermedades corneales; úlcera corneal; xeroftalmia; enfermedades del párpado; enfermedades del aparato lagrimal; obstrucción del conducto lagrimal; miopía; presbicia; trastornos de la pupila; trastornos de refracción y estrabismo. El glaucoma también puede considerarse una afección ocular anterior porque un objetivo clínico del tratamiento de glaucoma puede ser reducir la hipertensión del líquido acuoso en la cámara anterior del ojo, es decir, reducir la presión intraocular.

Una afección ocular posterior es una enfermedad o afección de un sitio o región posterior ocular, tal como en la coroides o esclerótica (en una posición posterior a un plano que pasa por la pared posterior de la cápsula del cristalino), vítreo, cámara del vítreo, retina, epitelio retiniano pigmentado, membrana de Bruch, nervio óptico (el disco óptico), y los vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan una región o sitio ocular posterior.

Los ejemplos de una afección ocular posterior incluyen neurorretinopatía macular aguda; enfermedad de Behcet; neovascularización coroidea; uveítis diabética; histoplasmosis; infecciones, tales como infecciones producidas por hongos o virus; degeneración macular, tal como degeneración macular aguda, degeneración macular relacionada con la edad no exudativa y degeneración macular relacionada con la edad exudativa; edema, tales como edema macular, edema macular cistoide y edema macular diabético; coroiditis multifocal; traumatismo ocular que afecta a un sitio o ubicación ocular posterior; tumores oculares; trastornos de la retina, tales como oclusión de la vena central retiniana, retinopatía diabética (incluida la retinopatía diabética proliferativa), vitreorretinopatía proliferativa (PVR del inglés "proliferative vitreoretinopathy"), enfermedad oclusiva de la arteria retiniana, desprendimiento de retina, enfermedad retiniana uveítica; oftalmia del simpático; síndrome de Vogt Koyanagi-Harada (VKH); difusión uveal; una afección ocular posterior causada o influenciada por un tratamiento ocular con láser; enfermedades oculares posteriores causadas o influenciadas por una terapia fotodinámica, fotocoagulación, retinopatía por radiación, trastornos de la membrana epirretiniana, oclusión de la rama venosa retiniana, neuropatía óptica isquémica anterior, disfunción retiniana diferente a retinopatía diabética, retinitis pigmentosa y glaucoma. El glaucoma se puede considerar una afección ocular posterior porque el objetivo terapéutico es evitar la pérdida o reducir la aparición de pérdida de visión debido al daño o pérdida de células de la retina o células del nervio óptico (neuroprotección).

El "ojo" es el órgano del sentido de la vista, e incluye el globo ocular, el órgano de detección orbital que recibe luz y transmite información visual al sistema nervioso central. En términos generales, el ojo incluye el globo ocular y las regiones, tejidos y líquidos oculares que constituyen el globo ocular, los músculos periorbitales (tales como los músculos oblicuos y rectos) y la parte del nervio óptico que está dentro o adyacente al globo ocular.

Como se utiliza en la presente memoria, una "región ocular" o "sitio ocular" se refiere generalmente a cualquier zona del globo ocular, incluido el segmento anterior y posterior del ojo, y que generalmente incluye, aunque no de forma limitativa, cualquier tejido funcional (p. ej., para la vista) o estructural encontrado en el globo ocular, o bien los tejidos o capas celulares que revisten parcial o completamente el interior o exterior del globo ocular. Los ejemplos concretos de zonas del globo ocular en una región ocular incluyen la cámara anterior, la cámara posterior, el cuerpo vítreo (a veces denominado como la cavidad vítrea), la coroides, el espacio supracoroidal, la conjuntiva, el espacio

subconjuntival, el espacio subtenoniano, el espacio episcleral, el espacio intracorneal, el espacio epicorneal, la esclerótica, la *pars plana*, regiones avasculares inducidas quirúrgicamente, la mácula, y la retina.

La cámara anterior se refiere al espacio interno del ojo entre el iris y la superficie de la córnea más interna (endotelio).

La cámara posterior se refiere al espacio interno del ojo entre la parte posterior del iris y la parte delantera del vítreo. La cámara posterior incluye el espacio entre el cristalino y el proceso ciliar, que produce el humor acuoso que nutre la córnea, el iris y el cristalino y mantiene la presión intraocular.

Un implante "intravítreo" es aquel que está dimensionado, configurado, y formulado para su colocación en el cuerpo vítreo del ojo.

Como se utiliza en la presente memoria, un "implante intraocular" se refiere a un dispositivo o elemento que está configurado para colocarse en una región ocular del ojo. Los ejemplos incluyen filamentos extruidos, que comprenden una matriz de polímero biodegradable y una proteína asociada con la matriz de polímero y que se han cortado a una longitud adecuada para su colocación en un ojo. Los implantes intraoculares son, generalmente, biocompatibles con las condiciones fisiológicas del ojo y no producen reacciones adversas en el ojo. En ciertas formas de la presente invención, un implante intraocular se puede configurar para su colocación en el vítreo, la cámara anterior, el espacio subconjuntival o espacio subtenoniano. Los implantes intraoculares son, generalmente, biocompatibles con las condiciones fisiológicas del ojo y no producen efectos secundarios adversos. Los implantes intraoculares pueden colocarse en un ojo sin interrumpir la visión del ojo. Los implantes pueden ser biodegradables y se pueden producir mediante un proceso de extrusión, como se describe en la presente memoria. Los implantes producidos mediante un proceso de extrusión y que comprenden una proteína y una matriz de polímero biodegradable son un ejemplo de un sistema de administración de fármacos dentro del alcance de la presente invención.

El término "biocompatible" significa compatible con el tejido vivo o un sistema vivo. Los implantes y polímeros biocompatibles producen pocos o ningún efecto tóxico, no son perjudiciales, ni fisiológicamente reactivos y no producen reacciones inmunitarias.

Como se utiliza en la presente memoria, "asociado con una matriz de polímero biodegradable" significa mezclado con, disuelto en y/o disperso en el interior, encapsulado por, o acoplado a.

Como se utiliza en la presente memoria, la expresión "afección" se refiere a una afección o enfermedad de un tejido o estructura del cuerpo que altera(n) la función o el uso normal del tejido o estructura. Las afecciones médicas incluyen afecciones oculares e intraarticulares.

Los ejemplos de afecciones intraarticulares incluyen artritis reumatoide, inflamación y dolor asociado con la inflamación de una articulación. La afección intraarticular puede alterar y, de este modo, restringir la movilidad de un sujeto. Un sistema de administración de fármacos biodegradable del tipo descrito en la presente memoria puede servir para administrar una cantidad eficaz de una proteína terapéuticamente útil a la articulación, reduciendo la inflamación y aliviando el dolor de un sujeto que lo necesita.

El término "intraarticular" significa ubicado dentro, que se produce dentro, o administra por entrada a una articulación.

Una "región intraarticular" se refiere a una articulación, tal como una rodilla, codo, hombro, dedo, dedo del pie, o articulación de la cadera. Estas regiones intraarticulares incluyen las articulaciones de la muñeca y columna vertebral en el cuello y espalda.

Una "articulación", como se utiliza en la presente memoria, se refiere al punto de contacto entre dos o más huesos del esqueleto de un animal o ser humano con las partes que la rodean y la soportan. Los ejemplos de articulaciones incluyen sin limitación la articulación de la rodilla, las articulaciones de los dedos de las manos y los pies, la muñeca, el tobillo, la cadera, el hombro, la espalda (vértebras y discos vertebrales), y el codo.

El término "polímero biodegradable" se refiere a un polímero o polímeros que se degradan *in vivo* y en el que la erosión del polímero o polímeros a lo largo del tiempo se produce concomitante con, o después de, la liberación del agente terapéutico. Los términos "biodegradable" y "bioerosionable" son equivalentes y se usan indistintamente en la presente memoria. Un polímero biodegradable puede ser un homopolímero, un copolímero o un polímero que comprende más de dos unidades poliméricas diferentes.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz", como se utiliza en la presente memoria, se refiere al nivel o cantidad de agente que se necesita para tratar una afección ocular o médica, o reducir o prevenir lesiones o daños oculares sin producir efectos secundarios negativos o adversos significativos en el ojo o la región del ojo o del cuerpo a la que se administra el agente. En vista de lo anterior, una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína, tal como un

anticuerpo, es una cantidad que es eficaz para reducir al menos un síntoma de una afección médica tal como una afección ocular o intraarticular. Al reducir uno o más síntomas de una afección ocular, una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína puede mejorar la calidad óptica y el rendimiento visual de un ojo en un individuo que padece la afección ocular. Al reducir uno o más síntomas de una afección médica, una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína puede mejorar la salud física, el bienestar y/o la movilidad del sujeto. Una proteína que reduce o resuelve al menos un síntoma de una afección médica es una proteína terapéutica, o una proteína terapéuticamente eficaz para el tratamiento de la afección médica.

Como se utiliza en la presente memoria, los términos "tratar" y "tratamiento" se refieren a la reducción o resolución de al menos un síntoma de una afección ocular o médica. La reducción o resolución de un síntoma se puede observar o experimentar como una mejora en la visión, y/o como una reducción en el hinchamiento, el dolor o el enrojecimiento. El término "tratamiento" incluye cualquier efecto beneficioso o medicinal en el ojo o el tejido corporal de un individuo producido por la provisión de un sistema de administración de fármacos (por ejemplo, un implante biodegradable) como se describe en la presente memoria, donde el efecto puede ser una reducción de uno o más síntomas de la afección ocular o médica y/o como una mejora en el bienestar, el rendimiento visual y/o la calidad óptica del ojo (u ojos) en el individuo. Una reducción de uno o más síntomas incluye, aunque no de forma limitativa, una reducción del dolor ocular, dolor en las articulaciones, inflamación, o molestia. El síntoma o síntomas positivamente afectados (es decir, reducidos) por el tratamiento dependerá de la afección particular.

Un "anticuerpo monoclonal biespecífico (BsMAb del inglés "bispecific monoclonal antibody")" es una proteína artificial que está compuesta por fragmentos de dos anticuerpos monoclonales diferentes y, por consiguiente, es capaz de unirse a dos tipos diferentes de antígeno.

Un "anticuerpo biespecífico" es un anticuerpo capaz de unirse simultáneamente a dos dianas diferentes, tal como dos proteínas diferentes.

"Perfil de liberación acumulada" significa el porcentaje acumulado total de un principio activo (tal como una proteína terapéutica) liberado desde un implante en un sitio o región ocular *in vivo* a lo largo del tiempo o a un medio de liberación específico *in vitro* a lo largo del tiempo.

Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1** muestra la liberación *in vitro* de bevacizumab desde un implante de PLGA-bevacizumab (Formulación n.º 1) (0,53 mm x 5 mm), que muestra perfiles comparables según SEC-HPLC y ELISA, lo que indica que la actividad de unión se mantiene después de un mes de incubación en el medio de liberación.

La **Figura 2** muestra la liberación *in vitro* (SEC-HPLC) de bevacizumab desde dos implantes de PLGA-bevacizumab diferentes (Formulaciones n.º 1 y 2) que muestran un aumento en la duración sostenida desde 1 mes hasta 2 meses cuando se altera la composición de polímero.

La **Figura 3** muestra la liberación *in vitro* (SEC-HPLC) de bevacizumab desde un implante de PLGA-bevacizumab (Formulación n.º 3) que muestra un aumento en la duración sostenida hasta 3 meses cuando se altera la composición de polímero.

La **Figura 4** muestra la liberación *in vitro* (SEC-HPLC) de bevacizumab desde tres implantes diferentes de PLGA-bevacizumab (Formulaciones n.º 4, 5 y 6) que muestran la capacidad de modular la liberación de anticuerpo cuando se combinan dos tipos diferentes de polímeros de PLGA (RG752S y RG502H) donde RG502H facilita la liberación.

La **Figura 5** muestra la liberación *in vitro* (SEC-HPLC) de bevacizumab desde tres implantes diferentes de PLGA-bevacizumab (Formulaciones n.º 4, 7, y 8) que ilustran la capacidad de modificar las velocidades de liberación del anticuerpo desde el implante de PLGA mediante la incorporación de excipientes solubles en agua, tales como trehalosa.

La **Figura 6** muestra el perfil de liberación *in vitro* (SEC-HPLC) de bevacizumab desde dos implantes diferentes de PLGA-bevacizumab (Formulaciones n.º 1 y 9) que muestra cómo la carga del fármaco (porcentaje en peso del anticuerpo) afecta a la velocidad de liberación de anticuerpos desde el implante.

La **Figura 7** muestra las imágenes de fluoresceína de un vítreo de conejo en el que un implante de PLGA-bevacizumab (DDS: Formulación n.º 1) y un implante de placebo de PLGA se colocaron quirúrgicamente y se estimuló con VEGF cada dos semanas, que ilustra la inactivación de la actividad de VEGF en el ojo mediante el implante de bevacizumab a las 2 y 4 semanas.

La **Figura 8** muestra el perfil de liberación *in vitro* (SEC-HPLC) de bevacizumab desde un implante de PLGA-bevacizumab (Formulación n.º 10) que muestra una liberación de anticuerpo de tipo ráfaga-meseta.

Descripción detallada de la invención

La invención se puede entender mejor haciendo referencia a la siguiente descripción y ejemplos junto con los dibujos adjuntos.

En ciertas formas de la presente invención, el sistema de administración de fármacos está en forma de un implante intraocular o intraarticular biodegradable. El implante se produce mediante un proceso de extrusión. Generalmente, los implantes son sólidos o semisólidos. Un "implante" es un dispositivo de administración de fármacos que es considerablemente mayor que una microesfera. El implante biodegradable comprenderá una proteína asociada con una matriz de polímero biodegradable, tal como se define en las reivindicaciones.

La matriz comprende dos o más polímeros biodegradables y puede comprender dos o más proteínas estructuralmente diferentes. El implante se configura, preferiblemente, para su implante en una región ocular del ojo o espacio intraarticular del cuerpo, tal como una articulación del dedo, codo, o rodilla, y se formula para proporcionar la liberación de una cantidad terapéuticamente eficaz de proteína en forma biológicamente activa durante al menos 2, 3 o 6 meses. En algunas realizaciones, el implante puede liberar la proteína biológicamente activa continuamente durante 2 meses o más, o durante 3 meses o más.

La "forma biológicamente activa" de una proteína es la forma que tiene el tamaño y la estructura terciaria normalmente esperada para la proteína en condiciones no desnaturizantes, y que es capaz, por tanto, de realizar la actividad bioquímica normalmente esperada de la proteína. En el caso de las DARPin, anticualinas y anticuerpos, la forma biológicamente activa es la forma que se une específicamente a (es inmunorreactiva con) el antígeno esperado. Los ejemplos de antígenos incluyen proteínas (incluidas las enzimas). La especificidad de unión del anticuerpo esperada puede basarse en el conocimiento del antígeno usado para generar inicialmente el anticuerpo y/o para purificar el anticuerpo, o en la identidad del antígeno usado (p. ej., en un ensayo tal como un ELISA) para detectar la presencia y/o medir la cantidad (título) del anticuerpo en una muestra antes de su incorporación a un sistema de administración de fármacos (tal como un implante extruido). En el caso de enzimas, la forma biológicamente activa es la forma que cataliza la reacción química que se espera catalizar *in vitro* o *in vivo* antes de su incorporación a un sistema de administración de fármacos (tal como un implante extruido). La actividad biológica de un anticuerpo *in vivo* o *in vitro* se puede observar y/o medir por la reducción en la actividad de la proteína diana. Por ejemplo, la unión específica de un anticuerpo, DARPin, o anticualina a una diana de proteína puede proporcionar interferencia entre la diana de proteína y su ligando o receptor y, por lo tanto, se puede inhibir o reducir la función mediada por la interacción proteína/receptor. En consecuencia, la interferencia de una función o actividad particular en un sistema celular (por ejemplo, un cultivo celular) o tejido *in vitro* o *in vivo* puede servir como una indicación de la actividad biológica de un anticuerpo administrado a ese sistema o tejido celular. Además, se conocen en la técnica algunos métodos adicionales para determinar la unión específica de un anticuerpo. Los ensayos de inmunoluminiscencia métrica (ICMA), enzimoanálisis de adsorción (ELISA) y (RIA) son algunos ejemplos.

Como se describe anteriormente, "una matriz de polímero biodegradable" comprende una combinación de dos, tres o más polímeros biodegradables. La matriz de polímero biodegradable, y por lo tanto un implante, puede también opcionalmente comprender un excipiente, sal, agente tamponador, conservante, o polielectrolito, que pueden modular la liberación de la proteína desde la matriz de polímero biodegradable. La proteína puede estar asociada o dispersa dentro de la matriz de polímero biodegradable.

Además de un polímero biodegradable o combinación de polímeros de los mismos, un sistema de administración de fármacos, tal como un implante extruido, puede también opcionalmente comprender un polímero reabsorbible tal como PEG 3350. La cantidad de PEG 3350 en un implante puede variar, por ejemplo, de 1 % a 20 % en peso del peso total del implante (% p/p).

Un sistema de administración de fármacos biodegradable, como se describe en la presente memoria, puede estar en forma de un filamento extruido, que puede dimensionarse (por ejemplo, cortarse a una longitud adecuada) para su colocación (implante) en una región ocular del ojo, tal como la cámara anterior, espacio subtenoniano, cuerpo vítreo o espacio subconjuntival.

Debe entenderse que el componente polimérico de los presentes sistemas está asociado con la proteína de manera que la liberación de la proteína dentro del ojo u otro tejido del cuerpo es mediante uno o más de difusión, erosión, disolución y ósmosis. Como se expone en la presente memoria, la matriz de polímero de un sistema de administración de fármacos puede liberar proteína a una velocidad eficaz para sostener la liberación de una cantidad terapéuticamente eficaz de proteína (y, por lo tanto, de proteína en forma biológicamente activa) durante más de un mes, dos meses, tres meses, o cuatro meses después de la inserción dentro del ojo. La liberación de proteína desde un implante que comprende una matriz de polímero biodegradable puede incluir una ráfaga inicial de liberación seguida de un aumento gradual en la cantidad de proteína liberada, o la liberación puede incluir un retardo inicial en la liberación de la proteína seguido de un aumento en la liberación. Cuando el sistema se degrada sustancialmente por completo, el porcentaje de la proteína que se ha liberado es de aproximadamente cien. Ráfaga se refiere a la cantidad del medicamento (por ejemplo proteína) que se libera durante el primer día tras la colocación de un implante en un mamífero o un medio líquido (tal como un tampón acuoso o una solución salina). El retardo se refiere

a un período en el que se libera poco o ningún fármaco con respecto a la velocidad de liberación durante cualquier otro período. Una ráfaga de liberación del fármaco puede ser útil en determinadas afecciones oculares tales como la neovascularización coroidea (CNV del inglés "choroidal neovascularization"), donde puede haber una cantidad excesiva del VEGF que deba bloquearse o inhibirse eficazmente con el fármaco. Un retardo en la liberación puede ser útil como forma de prolongar la duración de la liberación.

Los sistemas de administración de fármacos poliméricos utilizados en el presente método pueden ser monolíticos, es decir, que tienen la proteína homogéneamente distribuida por toda la matriz de polímero.

Antes de usar en un sujeto, un implante se puede esterilizar con una dosis adecuada de radiación gamma o beta. Preferiblemente, el método de esterilización no reduce la actividad ni biológica ni terapéutica de los agentes terapéuticos de los presentes sistemas. Como ejemplo, el implante se puede esterilizar con 5-25 kGy de irradiación gamma o beta. En algunos casos, se puede usar 10 a 15 kGy de irradiación gamma o beta.

Una realización de la presente invención es un método para tratar una afección ocular en un paciente que lo necesita, comprendiendo el método introducir un implante intraocular biodegradable en un ojo del paciente, en el que el implante comprende una matriz de polímero biodegradable y una proteína eficaz para el tratamiento de la afección ocular. El implante puede ser un filamento extruido y la proteína puede estar asociada con la matriz de polímero biodegradable. El implante se puede colocar en la cámara anterior, el cuerpo vítreo, el espacio subconjuntival o el espacio subtenoniano del ojo para así tratar la afección ocular durante un período prolongado, tal como uno, dos, tres o cuatro meses o más.

Otra realización de la presente invención es un método para tratar una afección intraarticular en un paciente que lo necesita, comprendiendo el método introducir un implante intraocular biodegradable en una articulación del paciente, en el que el implante comprende una matriz de polímero biodegradable y una proteína eficaz para el tratamiento de la afección intraarticular. El implante puede ser un filamento extruido y la proteína puede estar asociada con la matriz de polímero biodegradable.

Los implantes de la presente invención pueden insertarse en una región ocular del ojo o en una región intraarticular del cuerpo según una variedad de métodos, que incluyen colocación con pinzas, jeringa (provista de una cánula o aguja), trocar, u otro dispositivo adecuado. Los dispositivos adecuados (aparatos) incluyen los descritos en la publicación de patente US-2004/0054374 y en la patente US6.899.717.

Se puede usar eficazmente un aparato de jeringa que incluye una aguja de tamaño adecuado, por ejemplo, una aguja de calibre 22, una aguja de calibre 27 o una aguja de calibre 30, para inyectar un implante en un ojo de un ser humano o animal. En muchas ocasiones no es necesario repetir las inyecciones debido a la liberación prolongada de la proteína desde los implantes. Esto puede ser de valor especial para el tratamiento de degeneración macular relacionada con la edad donde las inyecciones frecuentes a veces son necesarias para mantener niveles terapéuticamente eficaces de la proteína.

Ejemplo 1

Formulaciones

Solamente las formulaciones 2, 3, 5 y 6 son según la invención, las otras son formulaciones de referencia.

Los anticuerpos monoclonales se incorporaron a implantes de PLGA o PLA mediante extrusión. La composición de AVASTIN®, un anticuerpo monoclonal comercialmente disponible, es bevacizumab 25 mg/ml, α,α -trehalosa dihidratada 60 mg/ml, fosfato sódico 51 mM pH 6,2 y polisorbato 20 al 0,04 %. El intercambio de tampón se realizó en una columna de centrifugado Zeba con desalación para reformular la composición de AVASTIN® con diversos tipos y cantidades de carbohidratos, sales y tensioactivos. La composición reformulada se liofilizó a continuación para formar un polvo. Si se desea, pueden añadirse excipientes adicionales tales como componentes potenciadores de la solubilidad, moduladores de liberación y conservantes, que se pueden liofilizar conjuntamente con la composición de proteína. El polvo liofilizado se mezcló con polímeros y excipientes a las relaciones adecuadas con un agitador Turbula. Los componentes pueden molerse individual o colectivamente con un Retsch M200. La mezcla de polvo se extruyó a continuación en filamentos con diferentes dimensiones de diámetro y posteriormente se cortó en implantes con una gama de longitudes. Se fabricaron varios implantes de PLGA/PLA-anticuerpo monoclonal como se describe en los ejemplos siguientes. La liberación de anticuerpos monoclonales de implantes se evaluó *in vitro*.

Los implantes se colocaron en viales que contenían medio de liberación (PBS con azida de sodio a 0,01 %) y se agitaron a 37 °C. En los puntos temporales adecuados, se tomó una muestra del medio de liberación para su análisis, y el medio se sustituyó totalmente por medio nuevo para mantener las condiciones de sumidero. El anticuerpo intacto de la muestra se analizó mediante SEC-HPLC y el porcentaje de liberación acumulado del fármaco desde el implante se anotó en función del tiempo. La actividad del anticuerpo se determinó por ELISA.

Ejemplo 2

Fabricación y ensayo de los implantes que contienen un anticuerpo monoclonal y un polímero biodegradable

El anticuerpo monoclonal de longitud completa, bevacizumab, se reformuló a partir de su composición original (AVASTIN®) con una columna de centrifugado Zeba con desalación (Thermo scientific), como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1. Las cantidades relativas de excipientes y agente tamponador en la formulación de AVASTIN® se variaron dentro de un intervalo de concentraciones de fosfato sódico (0 a 51 mM, que comprende fosfato monosódico y disódico a un pH antes de la liofilización de aproximadamente 6-7), α,α -trehalosa dihidratada (0 a 60 mg/ml) y polisorbato 20 (0 a 0,04 %) y se liofilizó conjuntamente con el anticuerpo bevacizumab. Si se desea, pueden añadirse excipientes adicionales tales como PEG 3350 (0 a 10 mg/ml) y liofilizarse conjuntamente. El polvo liofilizado se obtuvo en un FTS Lyostar utilizando un ciclo de liofilización adecuado para proteínas.

El contenido de humedad del polvo seco se midió para que estuviera incluido en el intervalo de 3-6 % por análisis termogravimétrico (TGA del inglés "thermogravimetric análisis") y la pureza del anticuerpo se determinó comprendida en 70-100 % por cromatografía HPLC con exclusión molecular (SEC-HPLC).

Para la separación se usó una columna de TSKgel G3000SWxl (7,8 mm x 30 cm). La SEC-HPLC se realizó en modo isocrático con un caudal de 0,5 ml/min durante un tiempo de ejecución de 30 minutos. El detector se configuró a una longitud de onda de 280 nm.

Se obtuvieron composiciones poliméricas diferentes de Boehringer Ingelheim Corp, que incluyen los productos RESOMER® RG502H, RG503H, RG504H, RG502, RG503, RG504, RG752S, RG753S, RG755S, R203S, y R203H. Los componentes poliméricos, excipientes adicionales, en su caso, y polvo liofilizado se mezclaron en relaciones adecuadas utilizando un agitador tipo Turbula T2F (Glenn Mills) durante 10 minutos a 96 rpm (dos veces) o se molieron con un Retsch modelo MM200 a 20 cpm durante 10 minutos (dos veces). La mezcla de polvo se compactó en un cilindro de acero inoxidable con un compactador de polvo de accionamiento neumático modificado (Janesville Tool) ajustado a 50 Pa (50 psi). La mezcla de polvo se extruyó con un extrusor de pistón personalizado. Los parámetros del proceso se seleccionaron en función de la composición de la formulación y la dimensión deseada para el diámetro. El diámetro de la boquilla osciló de 400 a 480 μ m. La temperatura de extrusión osciló de 60 a 90 °C. El sistema se dejó equilibrar durante 20 minutos antes de la extrusión a una velocidad de 0,0064 cm/min (0,0025 pulgadas/min). Se desechó el primer tramo de extruido de 5-10 centímetros (2-4 pulgadas). Posteriormente, se cortaron piezas de 8-13 centímetros (3-5 pulgadas) que se introdujeron en un tubo de centrifuga. Las muestras se etiquetaron y almacenaron en una bolsa de aluminio sellada con desecante.

Se cortaron seis muestras de 5-6 mm de longitud (1 a 1,5 mg) de cada formulación. Las muestras se pesaron y se colocaron en un vial de vidrio de 4 ml. Se añadieron dos mililitros de medio de liberación (solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco con 0,2 mg/ml de azida de sodio) a cada vial. Cada vial se tapó con Parafilm y se colocó en un baño de agua con agitación a 37 °C y 50 rpm. En cada punto temporal, se tomó una muestra del medio de liberación para su análisis, y el medio se sustituyó totalmente con 2 ml de medio nuevo. Las muestras se analizaron con un módulo de separación Waters 2690 y un detector de absorbancia de doble longitud de onda Waters 2487. Para la separación se usó una columna de gel G3000SWxl de TSK (7,8 mm x 30 cm). Las velocidades de liberación se pueden determinar calculando la cantidad de anticuerpo que se libera en un volumen determinado de medio a lo largo del tiempo. Se analizaron muestras seleccionadas para determinar la actividad mediante un ensayo de inmunoenzimático de absorción (ELISA) utilizando un VEGF-A recombinante humano como anticuerpo de captura y un anticuerpo contra FC/HRP humano como anticuerpo de detección. La Tabla 1 enumera ejemplos de implantes intraoculares que contienen anticuerpo (filamentos extruidos) producidos según este proceso. Los polímeros RESOMER® PLGA y PLA incluidos en cada formulación se identifican por el número de polímero en la parte superior de la tabla. La velocidad y duración de la liberación del anticuerpo desde estos implantes *in vitro* se muestran en las Figuras 1-6 y 8 y se describen más adelante.

Tabla 1: Implantes biodegradables que contienen proteína (filamentos extruidos)

Formulación n.º	Composición (% en peso)						
	Proteína	Excipiente (s)	RG503H	RG502H	RG752S	RG753S	R203H
1	10 bevacizumab	6 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico	82,5				
2	10 bevacizumab	6 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico		8,2		74,3	
3	10 bevacizumab	0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico		8,8	79,7		

4	5 Bevacizumab	12 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico			81,5		
5	5 Bevacizumab	12 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico		8,1	73,4		
6	5 Bevacizumab	12 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico		40,7	40,8		
7	5 Bevacizumab	8 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico			85,5		
8	5 Bevacizumab	4 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico			89,5		
9	20 bevacizumab	6 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico	72,5				
10	5 Bevacizumab	12 Trehalosa 0,1 Polisorbato 20 1,4 Fosfato sódico					81,5

La Figura 1 muestra la liberación *in vitro* de bevacizumab desde un implante de PLGA-bevacizumab 10 que comprende 82,5 % en peso de RG503H, 10 % en peso de bevacizumab, 6 % en peso de trehalosa, 1,4 % en peso de fosfato sódico, y 0,1 % en peso de polisorbato 20 (Formulación n.º 1). La gráfica muestra que aproximadamente 10 % del anticuerpo monoclonal se libera del implante polimérico dentro del primer día. Se observó una velocidad de liberación relativamente constante durante los primeros 28 días, con una liberación de fármaco acumulada de 45 % en el día 28. A los 35 días, se liberó una cantidad poco importante del anticuerpo intacto. De forma importante, se observaron perfiles de liberación comparables según SEC-HPLC y ELISA, lo que ilustra que el anticuerpo monoclonal mantuvo su actividad biológica después de su incorporación y liberación desde el polímero biodegradable.

La Figura 2 ilustra la capacidad de aumentar la duración de la liberación del fármaco desde los implantes de PLGA mediante la selección del polímero. Al mezclar RG753S y RG502H en una relación de 90 a 10 (Formulación n.º 2), el implante de PLGA-bevacizumab muestra una mayor duración de la liberación, desde 1 mes hasta 2 meses.

La Figura 3 ilustra la capacidad de aumentar la duración sostenida durante al menos 3 meses (aproximadamente 90 días) cuando se altera la composición de la formulación. En este ejemplo, el excipiente de trehalosa se eliminó, y el polímero es una mezcla de RG752S y RG502H en una relación de 90 a 10 (Formulación n.º 3).

La Figura 4 muestra la capacidad de modular la liberación de bevacizumab desde los implantes de PLGA-bevacizumab cuando se altera la composición polimérica, específicamente con el mezclado de polímeros (p. ej., RG752S y RG502H). La incorporación de RG502H (50:50 lactida:glicólido con un grupo ácido terminal) puede aumentar la absorción de agua y por tanto facilitar la liberación en implantes compuestos por una mezcla de RG752S y RG502H, en la Figura 4. La Figura 4 compara la liberación *in vitro* del anticuerpo bevacizumab desde implantes que tienen las Formulaciones n.º 4, 5 y 6.

La Figura 5 muestra la capacidad de modificar la liberación de bevacizumab desde los implantes de PLGA-bevacizumab cuando se altera la carga del excipiente, específicamente, el contenido de trehalosa. La incorporación de un carbohidrato soluble en agua tal como trehalosa puede aumentar la absorción de agua y crear canales porosos y por tanto facilitar la liberación. La Figura 5 compara la liberación *in vitro* del anticuerpo bevacizumab desde implantes que tienen las Formulaciones n.º 4, 7 y 8.

La Figura 6 ilustra el efecto de la carga de fármaco sobre el perfil de liberación de los implantes de PLGA-bevacizumab. A medida que la carga del fármaco aumenta, la ráfaga inicial aumenta y la duración disminuye. La Figura 6 compara la liberación *in vitro* del anticuerpo bevacizumab desde implantes que tienen las Formulaciones n.º 1 y 9.

La Figura 8 muestra un perfil de liberación de tipo ráfaga-meseta desde un implante que tiene la Formulación n.º 10, con ~65 % de liberación de bevacizumab el día 1 y una liberación acumulada ~70 % en el día 7. No se observó liberación, o una liberación mínima, después del día 7.

Ejemplo 3

Ensayo *in vivo* de un implante que contiene anticuerpo

5 La Figura 7 muestra el resultado de un ensayo *in vivo* en el cual un implante extruido (Formulación n.º 1) se coloca quirúrgicamente dentro del vítreo de un ojo de un conejo. En este modelo farmacodinámico, el conejo se estimula con VEGF para inducir la rotura de la barrera hematorretiniana en intervalos de dos semanas y las imágenes se capturan mediante angiografía con fluoresceína para evaluar la eficacia del fármaco liberado desde el implante para desactivar la rotura. Las imágenes de fluoresceína muestran que el implante de PEGA-bevacizumab (DDS, sistema de administración de fármacos) en comparación con el implante de PLGA (placebo) fue eficaz para desactivar la
10 rotura a 2 y 4 semanas, lo que indica la liberación sostenida durante al menos un mes.

Este resultado es significativo porque demuestra que las macromoléculas grandes, tales como un anticuerpo monoclonal de longitud completa, pueden retener su estructura terciaria durante la liofilización, pueden incorporarse a un sistema de administración de fármacos (DDS) polimérico que se procesa a temperaturas elevadas, y puede liberarse desde un suministro de fármaco polimérico en una forma biológicamente activa.
15

Estas figuras y ejemplos demuestran la capacidad para formular diferentes formulaciones de bevacizumab para obtener diferentes duraciones de liberación sostenida. Además, estos ejemplos ilustran que las macromoléculas grandes pueden retener su estructura y actividad durante la totalidad del proceso de fabricación (liofilización y extrusión a temperatura elevada) y la liberación del polímero. Estos resultados son significativos porque demuestran la capacidad para administrar satisfactoriamente un anticuerpo monoclonal activo desde un implante polimérico durante varios meses.
20

REIVINDICACIONES

1. Un implante intraocular biodegradable extruido que comprende una matriz de polímero biodegradable y una proteína asociada con la matriz de polímero biodegradable, en el que la matriz de polímero biodegradable comprende un primer poli(D,L-lactida-co-glicólido) y un segundo poli(D,L-lactida-co-glicólido), teniendo el primer poli(D,L-lactida-co-glicólido) un grupo éster terminal y una relación D,L-lactida:glicólido de 75:25, y teniendo el segundo poli(D,L-lactida-co-glicólido) un grupo ácido terminal y una relación D,L-lactida:glicólido de 50:50, en el que el implante proporciona liberación continua de la proteína en una forma biológicamente activa durante al menos dos meses después de la colocación del implante en un ojo de un mamífero.
2. El implante de la reivindicación 1, en el que la relación ponderal del primer poli(D,L-lactida-co-glicólido) al segundo poli(D,L-lactida-co-glicólido) es 90:10.
3. Un implante según la reivindicación 2, en el que la proteína es terapéuticamente eficaz para reducir al menos un síntoma de una afección ocular seleccionada del grupo que consiste en neovascularización ocular, neovascularización coroidea, degeneración macular, y edema macular.
4. Un implante según la reivindicación 3, en el que la proteína es un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, DARPin, o anticalina que se une al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) o al factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).
5. Un implante según la reivindicación 4, en el que la proteína es un anticuerpo que se une al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) o al factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), y en el que el implante inhibe o reduce eficazmente la actividad de VEGF o PDGF *in vivo* en un ojo de un mamífero durante al menos 4 semanas después de la colocación del implante en un ojo de un mamífero.
6. Un implante intraocular biodegradable extruido según la reivindicación 1, en el que el implante comprende 8,8 % en peso de RG502H, que es un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo ácido terminal, una viscosidad inherente de 0,16-0,24 dl/g (0,1 % en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de 50:50; 79,7 % en peso de RG752S, que es un poli(D,L-lactida-co-glicólido) que tiene un grupo éster terminal, una viscosidad inherente de 0,16-0,24 dl/g (0,1 % en cloroformo a 25 °C), y una relación D,L-lactida:glicólido de 75:25; 10 % en peso de un anticuerpo que se une al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF); 0,1 % en peso de polisorbato 20; y 1,4 % en peso de fosfato sódico, en el que el implante inhibe o reduce eficazmente la actividad de VEGF *in vivo* en un ojo de un mamífero durante al menos 4 semanas después de la colocación del implante en un ojo de un mamífero.
7. Un aparato para inyectar un implante intraocular dentro del ojo de un mamífero, comprendiendo dicho aparato i) un alojamiento alargado que tiene un eje longitudinal; y ii) una cánula que se extiende longitudinalmente desde el alojamiento, teniendo dicha cánula un extremo proximal, un extremo distal afilado, y una luz que se extiende a través de la misma, comprendiendo la cánula además un implante como se define en la reivindicación 1, en el que el implante está situado dentro de la luz de la cánula.
8. Un implante según la reivindicación 1 para su uso en un método para tratar una afección ocular en un ojo de un mamífero que lo necesite.
9. El implante para el uso de la reivindicación 8, en el que la afección ocular es neovascularización ocular, neovascularización coroidea, degeneración macular, o edema macular.
10. El implante para el uso de la reivindicación 9, en el que el implante se coloca en el cuerpo vítreo del ojo.
11. El implante para el uso de la reivindicación 10, en el que el mamífero es un ser humano.
12. El implante para el uso de la reivindicación 11, en el que el implante trata eficazmente la afección ocular durante al menos aproximadamente 4 semanas después de colocarse el implante en el ojo.
13. Un método para fabricar el implante intraocular biodegradable de la reivindicación 1, comprendiendo el método:
 - a) proporcionar un polvo seco que comprende una o más proteínas y, opcionalmente, uno o más excipientes, sales, agentes tamponadores, conservantes, polielectrolitos, o combinaciones de los mismos;
 - b) mezclar el polvo seco con una matriz de polímero biodegradable para formar una mezcla, en el que la matriz de polímero biodegradable comprende un primer poli(D,L-lactida-co-glicólido) y un segundo poli(D,L-lactida-co-glicólido), teniendo el primer poli(D,L-lactida-co-glicólido) un grupo éster terminal y una relación D,L-lactida:glicólido de 75:25, y teniendo el segundo poli(D,L-lactida-co-glicólido) un grupo ácido terminal y una relación D,L-lactida:glicólido de 50:50;

- c) extruir la mezcla a una temperatura entre 60 °C y 90 °C para formar un filamento;
 - d) cortar el filamento para formar un implante de 0,5 a 10 mm de longitud adecuado para su colocación en una región ocular de un ojo.
- 5

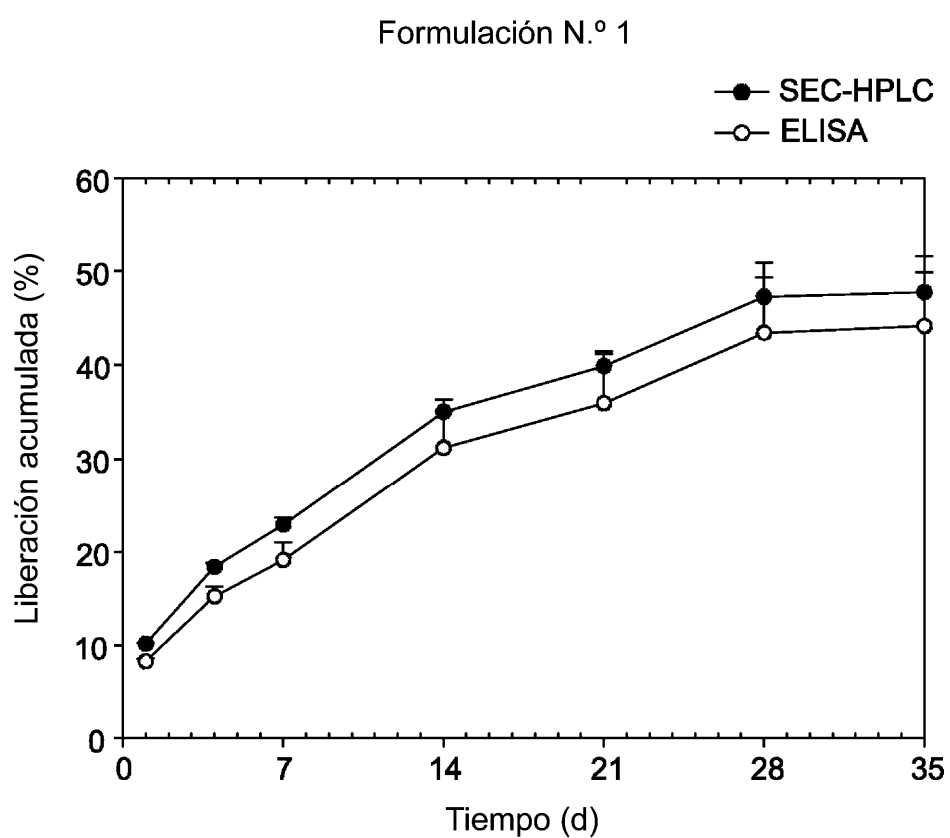


FIG. 1

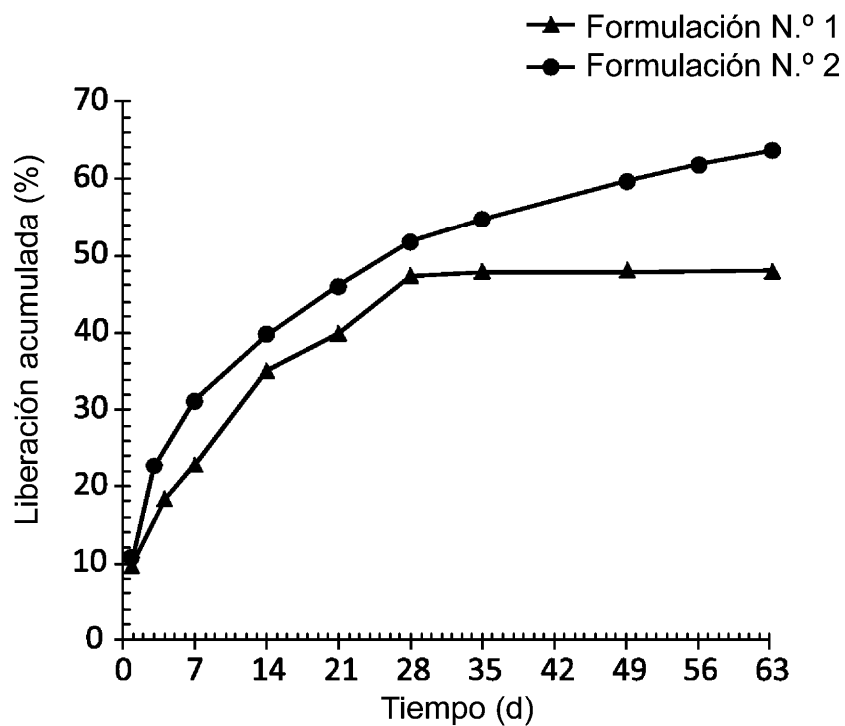


FIG. 2

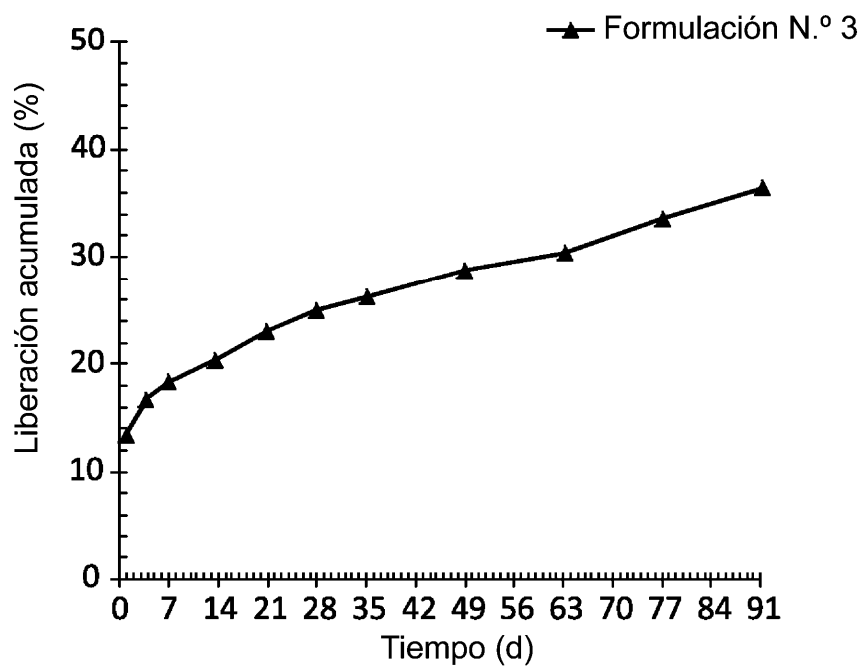


FIG. 3

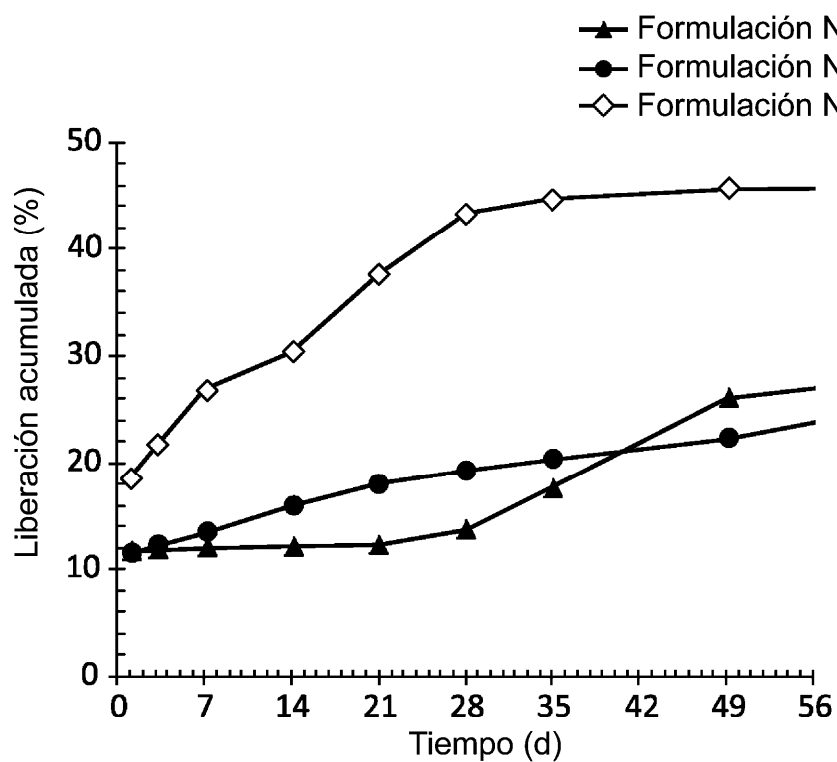


FIG. 4

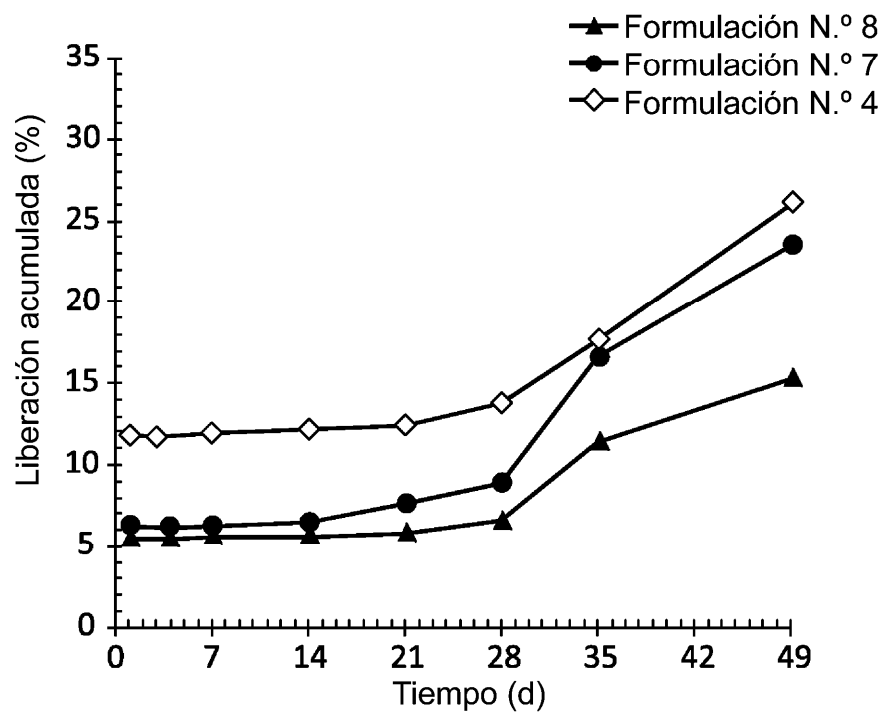
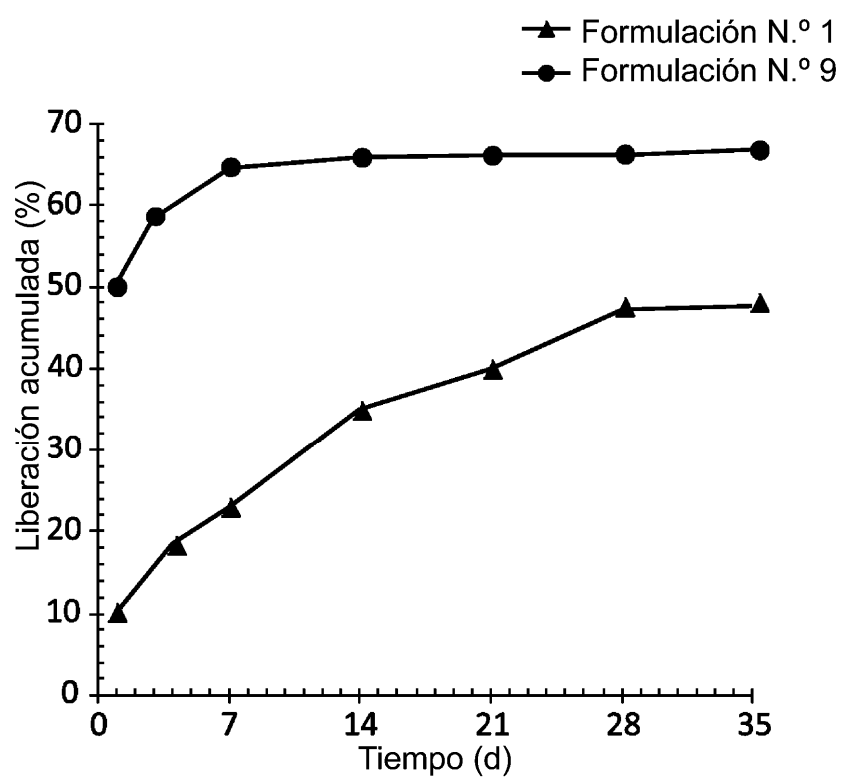


FIG. 5

**FIG. 6**

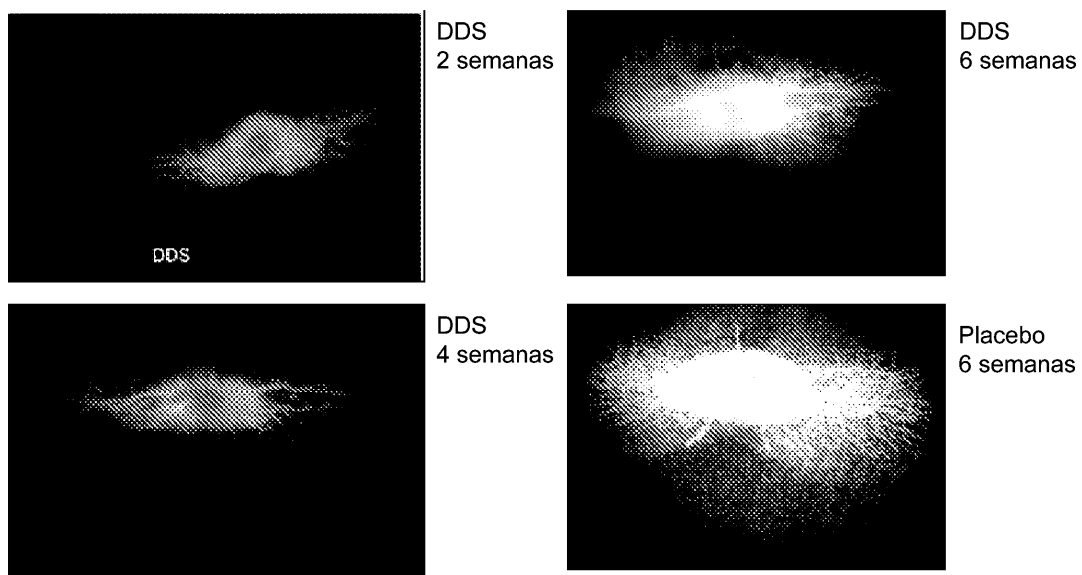


FIG. 7

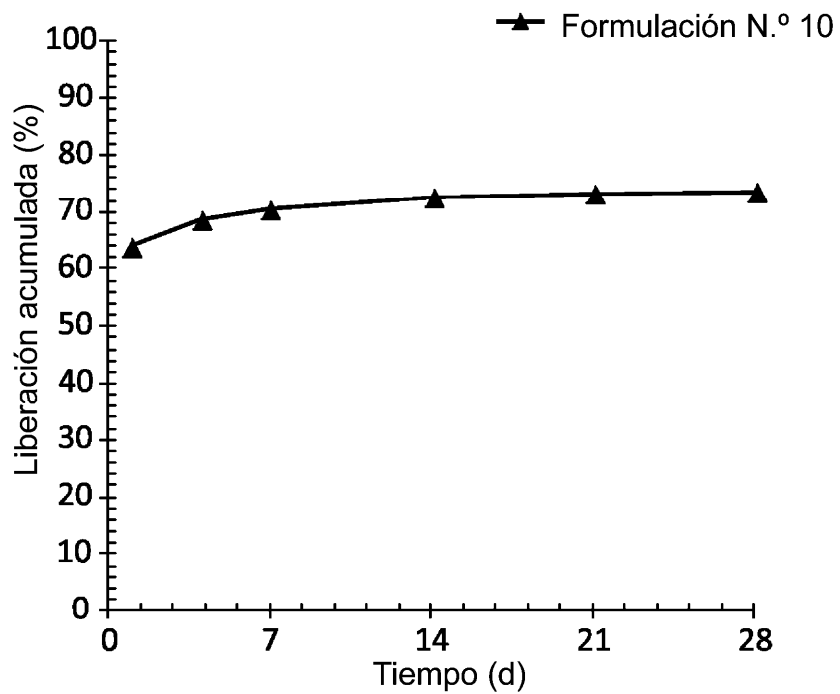


FIG. 8