



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 300 268**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 38/27 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **00946088 .2**

86 Fecha de presentación : **11.07.2000**

87 Número de publicación de la solicitud: **1194170**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **10.04.2002**

54 Título: **Formulaciones de las hormonas de crecimiento.**

30 Prioridad: **12.07.1999 GB 9916252**
12.08.1999 GB 9918902

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2008

73 Titular/es: **SANDOZ AG.**
Lichtstrasse 35
4002 Basel, CH

72 Inventor/es: **Siebold, Bernhard y**
Stevens, John

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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

Formulaciones de las hormonas de crecimiento.

5 La presente invención se relaciona con formulaciones líquidas de la hormona de crecimiento (GH) apropiadas para la administración al cuerpo humano o animal. Más particularmente, la invención se relaciona con formulaciones líquidas de hormona de crecimiento humana (hGH) que son farmacéuticamente más aceptables y se prefiere y no obstante se pueden someter a una serie de etapas del proceso de fabricación, sin pérdida apreciable de la actividad o pérdida apreciable de la estabilidad.

10 La hGH nativa es una proteína de cadena polipeptídica sencilla que consiste de 191 aminoácidos. La proteína se liga en cruz internamente por dos puentes bisulfuro y en forma monomérica presenta un peso molecular de 22kDa. La HG de especie animal es estrechamente homóloga en la secuencia de aminoácidos a aquellas de humanos y es por consiguiente muy similar en sus características.

15 Un principal efecto biológico de la HG es promover el crecimiento a través de un rango de órganos y tejidos en el cuerpo. Los órganos o tejidos sensibles a la HG incluyen el hígado, intestino, riñones, músculos, tejido conjuntivo y el esqueleto.

20 El enanismo hipopituitario es una condición que se trata fácilmente, mediante la administración de la HG a un individuo que adolece de la condición. Antes de la producción de grandes cantidades de hGH por métodos recombinantes, solo se podrían preparar cantidades limitadas de hGH, mediante extracción laboriosa de las glándulas pituitarias de cadáveres humanos. Esta práctica llevó a que los riesgos asociados con agentes infecciosos, por ejemplo, el agente responsable de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), y que estos agentes se podrían pasar al paciente que recibe la HG. El aislamiento del gen hGH y la construcción de transformadas células huésped que expresan la hGH en el cultivo celular, ha abierto no solo un tratamiento más confiable, seguro y más rentable de enanismo hipopituitario, pero la posibilidad de utilizar la hGH para el tratamiento de otras enfermedades y condiciones también.

30 Un problema apreciado durante mucho tiempo con formulaciones líquidas acuosas de proteínas farmacéuticas, no solo la hGH, ha hecho que la inestabilidad durante el almacenamiento por un periodo de tiempo. Se conoce que la hGH en solución acuosa experimenta una diversidad de alteraciones de degradación.

35 Las alteraciones químicas, tales como la desaminación que se produce y esto se puede relacionar con el pH de la solución durante el almacenamiento. La oxidación de los residuos de metionina puede ocurrir. También existe la posibilidad de un recorte del esqueleto del péptido que ocurre debido a las reacciones de hidrólisis. También existen cambios físicos que pueden incluir la acumulación por ejemplo resultante en la formación de insolubles.

40 Una sugerencia temprana de cómo tratar con los problemas de inestabilidad registradas arriba fue liofilizar pero esto por supuesto significa que el producto liofilizado resultante necesita la reconstitución inmediatamente o en poco tiempo antes de la administración. En las circunstancias de auto-administración rutinaria para un paciente en casa, esto normalmente significa que el paciente tiene la tarea de reconstituir la preparación liofilizada en una solución acuosa. Esto es un inconveniente para el paciente y conlleva un riesgo de la reconstitución inapropiada debido a la falta de cuidado, falta de atención al detalle y las instrucciones o simplemente la mala interpretación.

45 US 4 968 299 (Kabi Pharmacia) describe un dispositivo para que un paciente utilice para realizar la reconstitución de una preparación liofilizada, por consiguiente buscando reducir la posibilidad de errores en la reconstitución. Aún así, la necesidad de reconstitución por sí misma es un inconveniente para el paciente y la hGH reconstituida solamente es estable por 3 semanas cuando se almacena a 2-8°C. La administración efectiva por el paciente durante un periodo de meses, por consiguiente, aún exige una atención cuidadosa a los detalles e instrucciones y todavía así existen serios riesgos de incumplimiento en el régimen del tratamiento.

En cualquier caso, la liofilización tiene la desventaja de ser una etapa de fabricación costosa y que consume tiempo.

55 Los esfuerzos para simplificar la auto-administración por los pacientes, por consiguiente, se han centrado en las formas para suministrar las formulaciones acuosas de hGH suficientemente estables, en una forma lista para su uso.

La inestabilidad de la proteína en solución acuosa se apreció por ser un fenómeno general, no asociado particularmente con la hGH.

60 EP-A-0 131 864 (Hoechst Aktiengesellschaft) describe la prevención de acumulación en proteínas de más de 8,5 kDa en solución acuosa, mediante el uso agentes tensoactivos.

65 EP-A-0 211 601 (International Minerals & Chemical Corporation) aunque tal vez compete en primer lugar con formulaciones de liberación controlada, describe como la HG se puede estabilizar en solución como un líquido, mediante la formulación de esta con agentes tensoactivos no-iónicos, en particular ciertos copolímeros de bloqueo polioxietileno-polioxipropileno, por ejemplo copolímero de bloqueo PLURONIC (marca comercial de BASF) o GENAPOL (marca comercial de Hoechst).

ES 2 300 268 T3

WO 94/03198 (Genentech) es otra divulgación que sigue la instrucciones previas sobre el uso de un agente tensoactivo no-iónico, como un estabilizador de hGH en formulaciones líquidas. El rango 0,1-5% (w/v) del agente tensoactivo no-iónico en la formulación se dice que permite, que la formulación se exponga a estrés de privación y superficial, sin causar la desnaturalización de la proteína de HG. En particular, las formulaciones que contienen el agente tensoactivo, se considera que son útiles armas en las dosificaciones pulmonares y en el inyector a presión sin aguja.

Sin embargo, los agentes tensoactivos son sustancias tóxicas, y su uso debería ser evitado o al menos minimizado, en la medida que sea posible. Esto es especialmente así, cuando las formulaciones son para ser administradas diariamente o muy frecuente, particularmente cuando se refiere a tratamientos de niños y crónicos. Se han propuesto, una diversidad de otras formas de estabilizar las formulaciones acuosas de hGH. WO 89/09614 (Genentech) explica una formulación de hGH que comprende glicina, manitol y una solución reguladora, que tenían una relación molar hGH: glicina de 1:50 a 1:200.

EP-A-0 303 746 (International Minerals y Chemical Corporation) explica que la HG acuosa se puede estabilizar, mediante la formulación de esta con un poliol, por ejemplo azúcares no reductores, alcoholes de azúcar, ácidos de azúcar, lactosa, pentaeritritol, dextranes solubles en agua y Ficoll; un aminoácido, por ejemplo glicina, arginina y betaina; un polímero de aminoácido que tiene un grupo lateral cargado de pH fisiológico; y finalmente un derivado de colina, por ejemplo cloruro de colina, citrato dihidrógeno de colina o dicolina mucato. Muchos de los materiales poliméricos mencionados anteriormente, pueden llevar algún riesgo en la administración a pacientes. Los requisitos reguladores farmacéuticos dictaminan que cualesquiera aditivos innecesarios, en particular aditivos sintéticos (por ejemplo penta-eritritol) se deben evitar con el fin de reducir riesgos a los pacientes. Muchos de los estabilizadores sugeridos en la divulgación no deberían presentarse clínicamente aceptables y por consiguiente no se debería permitir, que se haga una formulación farmacéuticamente aceptable.

WO 92/17200 (Genentech) se refiere a la estabilización de hGH, no solo en líquido, sino también en preparaciones liofilizadas. La sugerencia es que se produzcan, dímeros estables de zinc:hGH. Los dímeros de zinc:hGH se constituyen de dos iones de zinc y dos moléculas de hGH.

WO 93/12811 (Novo Nordisk) revela una formulación de hGH líquida en la cual asparagina se utiliza como la sustancia estabilizante y reguladora,

WO 93/19776 (Kabi Pharmacia) explica el completamente inesperado hallazgo de que cuando un producto hGH acuoso se formula con la solución reguladora de citrato, luego es más estable que cuando se formula con la solución reguladora de fosfato.

Un objeto de la presente invención es suministrar una formulación de hGH suficientemente estable, usable instantáneamente por los pacientes sin la necesidad de cualesquiera procedimientos de preparación o reconstitución particular. Otro objeto de la invención es suministrar una formulación que se puede almacenar en casa en un refrigerador doméstico, por al menos unos pocos meses. Otro objeto de la invención es suministrar una formulación líquida a granel que se pueda dispensar y llenar en cartuchos para el uso del paciente sin pérdidas inaceptables de la actividad de la HG o inestabilidad inaceptable, en particular sin que la acumulación inaceptable ocurra. Aún otro objeto de la invención es suministrar una formulación líquida suficientemente estable que evita o minimiza el uso de componentes farmacéuticamente inaceptables o indeseables, en otras palabras, suministrar, incluso una formulación más aceptable farmacéuticamente.

No obstante otro objeto de la invención es suministrar formulaciones líquidas que eviten el problema de formación de cristal cuando se almacena en el refrigerador por largos periodos, por ejemplo hasta 6 o 18 meses, o si se almacena por periodos de tiempo fuera de un refrigerador, por ejemplo periodos de varios días, semanas o meses.

Completamente contrario al sentido común en el oficio, los inventores presentes han descubierto sorprendentemente, que no es actualmente necesario emplear una diversidad de agentes estabilizantes adicionales en solución, citados anteriormente y más allá de simplemente la hGH y una solución reguladora de fosfato, con el fin de lograr los objetivos anteriormente mencionados. Adicionalmente, la presente invención surge en el frente de las indicaciones del oficio precedente acerca de cómo los agentes tensoactivos son esenciales para la estabilidad de soluciones acuosas de HG y también cómo las soluciones reguladoras de fosfato caen, para dar una buena estabilidad en comparación con la solución reguladora de citrato.

Ventajosamente, las formulaciones antes mencionadas que carecen de conservante, cuando se almacenan en ampollas proporcionan una manera conveniente de preservar las dosificaciones de una sola inyección. Para las dosificaciones multi-inyección se prefiere, la presencia de un conservante.

Una ventaja hasta ahora poco apreciada y ciertamente sorprendente de todas las formulaciones antes mencionadas, es que son estables en almacenamiento a temperaturas de refrigeración en el rango de 2-8°C. Se puede utilizar, una diversidad de procedimientos de prueba para evaluar la estabilidad de las formulaciones durante el tiempo. Ejemplos representativos de los procedimientos de prueba se dan aquí, en el Ejemplo 3 y también en WO 94/03198 pero estos procedimientos no son de ninguna manera minuciosos o integrales de las pruebas, que se pueden emplear para evaluar la estabilidad.

ES 2 300 268 T3

El llenado de los envases de dosificación con las formulaciones de la hormona de crecimiento que carecen de cualquier agente tensoactivo no-iónico y utilizando equipos de llenado disponibles comercialmente, se han encontrado que resulta en niveles inaceptables de acumulación de la hormona de crecimiento. Sin embargo, siempre que las presiones del fluido y el estrés de cizalla se minimicen durante los procedimientos de llenado (ya sea utilizando
5 equipos de llenado comerciales o no) entonces, los niveles de agente tensoactivo se pueden minimizar o eliminarse por completo. El balance actual necesario para que se logre entre el estrés de llenado físico y la concentración de agente tensoactivo es una cuestión para la determinación empírica rutinaria por alguien de habilidad promedio en el oficio.

Dependiendo de los niveles de estrés físico o fuerzas de cizalla, que incrementan durante el llenado y donde un
10 agente tensoactivo no-iónico se necesite para evitar una acumulación significativa, entonces las concentraciones del agente tensoactivo no-iónico pueden ser tan bajas como cerca de 0,2% (w/v), generalmente menos del 0,05% (w/v), preferiblemente menos del 0,04% (w/v), más preferiblemente menos del 0,01% (w/v), o aún más preferiblemente menos del 0,001% (w/v).

15 Los agentes tensoactivos no-iónicos, pueden incluir un polisorbato, tal como polisorbato 20 o 80, etc., y los poloxámeros, tal como poloxámero 184 o 188, Pluronic® polioles, y otros polímeros de bloqueo etileno/polipropileno.

Inesperadamente, los inventores han encontrado, que la solución reguladora de fosfato se puede utilizar en las formulaciones de HG y es sorprendentemente bueno en la estabilización de las formulaciones resultantes, ya sea
20 durante el proceso tal como envases de llenado, o durante el almacenamiento.

La ausencia o el uso de sólo una muy baja concentración de agente tensoactivo no-iónico también se ha encontrado sorprendentemente, que no afecta adversamente la estabilidad de la formulación de HG almacenada en envases a temperaturas de refrigeración (en el rango de 2-8°C por ejemplo). El almacenamiento por al menos tres meses y a
25 más largo plazo, al menos 6 meses o 12 meses es posible sin que afecte indebidamente la eficacia o aceptabilidad farmacéutica de las formulaciones de HG.

En un aspecto la invención proporciona una formulación de hormona de crecimiento líquida que comprende la hormona de crecimiento en solución reguladora de fosfato, como se define en la reivindicación 1.
30

En el aspecto antes mencionado de la invención, la solución reguladora de fosfato es isotónica. La isotonicidad se puede proporcionar por una sal neutra, por ejemplo NaCl; o monosacárido, por ejemplo lactosa; un disacárido por ejemplo sacarosa o un alcohol de azúcar, por ejemplo manitol.

35 Los inventores también han encontrado, que ciertos compuestos se pueden utilizar ventajosamente, en lugar de sal neutra con el fin de suministrar las formulaciones de HG isotónicas.

De esta manera, en otro aspecto la invención proporciona una formulación de hormona de crecimiento líquida como se define en la reivindicación 1, siendo seleccionado el compuesto que confiere la isotonicidad de uno o más de
40 monosacáridos, por ejemplo lactosa; disacáridos, por ejemplo sacarosa; alcoholes de azúcar, por ejemplo manitol.

En cuanto al pH, las formulaciones caen dentro del rango de pH 6.15 a 6.5.

Sorprendentemente, y para todas las formulaciones descritas aquí, los inventores han encontrado que el problema
45 de cristalización en las formulaciones se puede evitar o minimizar, asegurando un pH cercano a 6.2 o más.

Preferiblemente el pH de las formulaciones esta en el rango 6.2 a 6.5 para evitar o minimizar la cristalización.

Por lo tanto, la invención incluye las formulaciones líquidas, como se describe aquí que tiene cristalización no detectable en el almacenamiento. El almacenamiento puede ser al menos un mes, preferiblemente seis semanas, más preferiblemente un periodo en el rango de cerca de 1 mes a 4 meses, más preferiblemente 3 meses. La temperatura de almacenamiento pueden ser cerca de 2°C o mayor, preferiblemente cerca de 4°C o mayor, más preferiblemente una temperatura en el rango de cerca de 2°C a menos del 40°C, aún más preferiblemente una temperatura en el rango de
50 cerca de 2°C a 25°C, más preferiblemente 15°C.

55 La cristalización es preferiblemente, aquella de la hormona de crecimiento. Preferiblemente cualquier cristalización en la formulación líquida se detecta directamente a simple vista, más preferiblemente bajo el microscopio óptico a una amplificación de 5x, aún más preferiblemente bajo el microscopio óptico con una amplificación de 10x. Antes de la observación, bajo el microscopio óptico las formulaciones se pueden filtrar y la presencia o ausencia de los cristales en el filtro determinado. Cuando se observa bajo el microscopio óptico, el filtro puede tener un tamaño de poro de cerca de 5 µm.

Una prueba preferida particularmente, para la cristalización es almacenar la formulación por 3 meses a 15°C y observar la presencia o ausencia de cristales a simple vista.
65

En cuanto a este conservante, se selecciona preferiblemente de uno o más de fenol, alcohol bencílico, meta-cresol, metilparabeno, propilparabeno y cloruro de benzalconio aunque cualquier otro compuesto conservante o antibacteriano se puede utilizar a una concentración apropiada, tal que la formulación permanece farmacéuticamente aceptable.

ES 2 300 268 T3

En las modalidades preferidas, la solución reguladora de fosfato se constituye de cantidades apropiadas de formas hidratadas apropiadas de NaH_2PO_4 y Na_2HPO_4 necesitadas para lograr la concentración y el pH deseados de la solución reguladora, como será fácilmente reconocido y conocido por alguien de habilidad promedio en el oficio.

5 La hormona de crecimiento es humana.

En particular las formulaciones preferidas, la hormona de crecimiento presenta menos del 0,01% de acumulación, preferiblemente menos del 0,1%, más preferiblemente menos del 1%, aún más preferiblemente menos del 10% de acumulación. La acumulación se puede medir por la prueba de HPLC de exclusión estándar refiriéndose con mayor
10 detalle más adelante, pero puede ser empleado cualquier método apropiado de medición de la acumulación.

La invención también incluye dispositivos para la administración de un líquido a un individuo, por inyección y la carga para utilizar con al menos una unidad de dosificación de cualquiera de las formulaciones líquidas de la hormona de crecimiento, descritas anteriormente en el texto. Un ejemplo de este tipo de dispositivo, es un dispositivo inyector
15 de tipo pluma. El individuo es preferiblemente un humano.

También se proporcionan por la invención, los kits que contienen un dispositivo de inyección y un contenedor separado de cualquiera de las formulaciones líquidas de la hormona de crecimiento según lo descrito anteriormente en el texto. El contenedor preferiblemente se adapta para interconectar con el dispositivo de inyección, tal que en uso la
20 formulación líquida en el contenedor está en la conexión del fluido con la salida del dispositivo de inyección.

En particular las modalidades preferidas, el dispositivo de inyección es un inyector de tipo pluma y el contenedor es un cartucho.

25 Adicionalmente, la invención proporciona un cartucho que contiene cualquiera de las formulaciones líquidas según lo descrito anteriormente en el texto, para utilizar con un dispositivo inyector de tipo pluma.

Otro descubrimiento sorprendente producido por los inventores es que si los envases de HG se llenan y cierran, de modo que no haya espacio de aire o acceso al aire, entonces no solo hay esterilidad de los contenidos de los envases
30 más de fuente confiable sino que este factor también contribuye a minimizar o evitar la acumulación de la HG.

De esta manera, no obstante otro aspecto de la invención incluye envases sellados de formulaciones de HG líquidas en los cuales sustancialmente no hay espacio de aire en los envases llenos.

35 La hormona de crecimiento humana preferida particularmente, se produce por métodos recombinantes, por ejemplo como se explica en EP-A-0 217 822 (SCIOS NOVA). Las variantes de la hormona de crecimiento humana que se pueden utilizar de acuerdo con la invención, solas o en combinación con otras hormonas y la hormona nativa incluyen la especie de 191 aminoácidos conocida como somatropin y la especie N-terminal 192 aminoácido metionina (met) conocida como somatrem. También existe la variante conocida como hGH-V encontrada naturalmente en la placenta
40 durante el embarazo y para los cuales se conoce el gen y la proteína recombinante ha sido preparada.

La cantidad de hGH en la formulación líquida de la invención depende del volumen de la formulación y el número de dosis de hGHn de ese volumen que se pretende suministrar. Un volumen de dosificación preferido es 0,4 ml pero, se pueden utilizar volúmenes en el rango 0,01 ml a 1,0 ml. Otros volúmenes de dosificación preferidos pueden caer en
45 el rango de 0,1 ml a 0,6 ml.

En una dosificación por unidad preferida, para una administración diaria de la cantidad de hGH administrada, es 1,3 mg aunque la cantidad de dosificación precisa puede variar dependiendo del sujeto particular. Se pueden emplear cantidades de dosificación en el rango 0,033 mg a 3,33 mg de hGH, preferiblemente dosificaciones en el rango 0,33
50 mg a 2,0 mg. Los incrementos de las cantidades de dosificación son apropiados cuando la frecuencia de administración se reduce.

Los volúmenes y/o las cantidades de dosificación pueden variar de individuo a individuo de acuerdo con la recomendación específica del clínico encargado.
55

Generalmente, las formulaciones de acuerdo con la invención pueden contener hGH en el rango de 0,5 mg/ml a 20 mg/ml, preferiblemente de 1 mg/ml a 15 mg/ml, más preferiblemente de 2 mg/ml a 10 mg/ml, aún más preferiblemente de 3 mg/ml a 5 mg/ml.

60 La invención también incluye kits que contienen un dispositivo de inyección y un contenedor separado de la formulación de hormona de crecimiento líquida según lo descrito anteriormente en el texto. Cuando el dispositivo de administración es simplemente una jeringa hipodérmica, entonces el kit puede contener la jeringa, una aguja y un frasco o ampolla que contiene la formulación de hGH para utilizar con la jeringa. En otras modalidades preferidas el dispositivo de inyección es diferente de una simple jeringa hipodérmica y de tal manera que el contenedor separado se
65 adapta para interconectar con el dispositivo de inyección tal que en uso la formulación líquida en el contenedor esta en conexión del fluido con la salida del dispositivo de inyección.

ES 2 300 268 T3

Ejemplos de dispositivos de administración incluyen jeringas hipodérmicas y dispositivos de inyector de tipo pluma.

Los dispositivos de inyección particularmente preferidos son los inyectores de tipo pluma en cuyo caso el contenedor es un cartucho, preferiblemente un cartucho desechable.

En otro aspecto la invención proporciona un cartucho que contiene una formulación de crecimiento líquida según lo descrito anteriormente en el texto para utilizar con un dispositivo inyector de tipo pluma. El cartucho puede contener una dosis única o multiplicidad de dosis de hormona de crecimiento.

Las modalidades preferidas de la invención ahora se describirán por medio de los siguientes ejemplos con referencia a los dibujos en los que:

Figura 1 es un registro de los datos de estabilidad comparativos a 2-8°C para las formulaciones de hGH, que adicionalmente contiene una solución reguladora de fosfato a pH 5.6, cloruro de sodio y alcohol bencílico. La comparación es de estas formulaciones con y sin agente tensoactivo Plurónico. El tiempo en semanas se registra contra el log% de pureza de hGH.

Figura 2 es un registro de los datos de estabilidad comparativos a 2-8°C para las formulaciones de hGH adicionalmente que contiene cloruro de sodio y alcohol bencílico a pH 6.0. La comparación es de estas formulaciones que contienen solución reguladora de fosfato o citrato. El tiempo en semanas se registra contra el log% de pureza de hGH.

Figura 3 es un registro de datos de la estabilidad comparativa a 2-8°C para las formulaciones de hGH. La comparación es entre las formulaciones de hGH que contiene solución isotónica reguladora de citrato y agente tensoactivo Plurónico con formulaciones de hGH que contiene sólo solución isotónica reguladora de fosfato y no agente tensoactivo.

Ejemplo 1

Preparación y purificación de hGH recombinante a granel

La hGH recombinante se produce en cultivos celulares de células CHO transformadas con el gen hGH para expresar la proteína de hGH bajo condiciones de cultivo. Los detalles de cómo las células se producen y cultivan se describen en EP-A-0 217 822 (SCIOS NOVA). La modificación de las condiciones de cultivo para el crecimiento de los cultivos a una escala industrial o comercial, está bien dentro de las habilidades de alguien de habilidad promedio en el oficio.

Una vez producidas por las células en el cultivo, la hGH necesita que sea extraída y purificada en una forma apropiada para uso farmacéutico. Esto se realiza de acuerdo con los procedimientos descritos en AU 629177 (University of New South Wales & Garvan Institute of Medical Research).

Ejemplo 2

Preparación de formulación líquida estable

La formulación a granel se prepara mezclando los diversos componentes juntos. El orden de mezclado de los componentes no es crítico. También, el estado o forma precisa de los diversos componentes inmediatamente antes del mezclado tampoco es crítica. En la forma preferida de preparar la formulación, los componentes antes del mezclado están en el estado más conveniente para el mezclado y el orden y modo de mezclado también se selecciona para ser el más conveniente. Particularmente los ejemplos preferidos de las formulaciones se dan abajo:

Formulación I Referencia

hGH	3,33 mg/ml	(10 IU/ml)
NaH₂PO₄·2H₂O	1,05 mg/ml	} Sol. reguladora de fosfato 10 mM (i.e. 0,59 % w/v) (i.e. 0,9 % w/v)
Na₂HPO₄·7H₂O	0,17 mg/ml	
NaCl	5,85 mg/ml	
Alcohol bencílico	9,00 mg/ml	
Agua para inyección	q.s.	
pH 6,0		

Formulación II Referencia

5	hGH	3,33 mg/ml	(10 IU/ml)
	NaH₂PO₄·2H₂O	1,05 mg/ml	} Sol. reguladora
	Na₂HPO₄·7H₂O	0,17 mg/ml	
	Agua para inyección	q.s.	
10	pH 6,0		de fosfato 10 mM

Formulación III Referencia

20	hGH	3,33 mg/ml	(10 IU/ml)
	NaH₂PO₄·2H₂O	1,05 mg/ml	} Sol. reguladora
	Na₂HPO₄·7H₂O	0,17 mg/ml	
	NaCl	5,85 mg/ml	
25	Agua para inyección	q.s.	(ie 0,59 % w/v)
	pH 6,0		

Formulación IV Referencia

35	hGH	3,33 mg/ml	(10 IU/ml)
	NaH₂PO₄·2H₂O	1,05 mg/ml	} Sol. reguladora
	Na₂HPO₄·7H₂O	0,17 mg/ml	
	Alcohol bencílico	9,00 mg/ml	
40	Agua para inyección	q.s.	(ie 0,9 % w/v)
	pH 6,0		

Formulación V Referencia

50	hGH	3,33 mg/ml	(10 IU/ml)
	NaH₂PO₄·2H₂O	1,05 mg/ml	} Sol. reguladora
	Na₂HPO₄·7H₂O	0,17 mg/ml	
	Manitol	35 mg/ml	
	Pluronic F-68	2 mg/ml	(3,5 % w/v)
55	Alcohol bencílico	9,00 mg/ml	(0,2 % w/v)
	Agua para inyección	q.s.	(0,9 % w/v)
	pH 6,0		

Formulación VI

hGH	3,33 mg/ml	(10 IU/ml)
NaH₂PO₄·2H₂O	0,85 mg/ml	} Sol. reguladora
Na₂HPO₄·7H₂O	0,31 mg/ml	
Manitol	35 mg/ml	(3,5 % w/v)
Pluronic F-68	2 mg/ml	(0,2 % w/v)
Alcohol bencílico	9,00 mg/ml	(0,9 % w/v)
Agua para inyección	q.s.	
pH 6,0		

Se prepararon las formulaciones ilustradas anteriormente:

1. Una solución excipiente de fuerza doble se prepara disolviendo todos los excipientes necesarios en agua para inyección, y ajustando el pH a aquel necesario utilizando soluciones molares de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.

2. la solución de la hormona de crecimiento a granel se coloca en un recipiente y la solución del excipiente se adiciona con cuidadosa agitación.

3. El pH se reajusta si es necesario, y la solución se lleva a volumen final por el llenado de cartuchos para utilizar con inyectores de tipo pluma, la solución se filtra a través de un filtro de esterilización y se llena en los cartuchos de inyección sellados en un extremo con un émbolo movable, y en el otro con un aluminio sellado que contiene un septo de caucho.

Otras formulaciones de prueba usualmente, se prepararon de esta manera y los detalles de estas formulaciones se dan en el ejemplo abajo.

Ejemplo 3

Experimentación para la estabilidad de la formulación de hGH acuosa

Las muestras del producto se almacenaron bajo condiciones controladas a 2-8°C, y se analizaron a diversos puntos de tiempo. La estabilidad del producto se determinó mediante el uso de dos métodos de HPLC, ambos de acuerdo con la monografía de la Farmacopea Europea para SOMATROPIN FOR INJECTION. Lo primero es un método de HPLC de fase reversa para la determinación de las proteínas relacionadas, i.e. los productos de degradación formados por la desaminación y oxidación. Lo segundo es un método de HPLC de exclusión para la determinación del dímero y las sustancias relacionadas de masa molecular alta.

El método HPLC de fase reversa, se utilizó para determinar la desaminación y oxidación de un número de diferentes formulaciones durante un periodo de hasta 65 semanas se almacena a 2-8°C. Los datos se muestran en las tablas 1 a 3 abajo y gráficamente en las Figuras 1 a 3.

La Tabla 4 muestra los resultados de los estudios de estabilidad realizadas a la Formulación V almacenada a 2-8°C.

El método HPLC de exclusión mencionado anteriormente (los datos no se muestran) se utilizó para la prueba de acumulación. En ningún caso, durante los estudios se midieron las cantidades de dímeros y sustancias relacionadas de masa molecular alta encontrados, En todas las formulaciones hubo menos del 1% de acumulación (de hecho, este es el límite de cuantificación confiable en la prueba), i.e. no se vio ninguna acumulación.

Los resultados mostraron claramente, que la solución reguladora de fosfato es mejor que la solución reguladora de citrato en términos de estabilización de las formulaciones y también que la falta del agente tensoactivo Pluronic da lugar a una mayor estabilidad.

ES 2 300 268 T3

TABLA 1

5

Estudio de estabilidad (2-8°C)

Formulación A Comparativa (con pluronico, solución reguladora de fosfato, pH 5,6)

10

hGH 3,33 mg/ml

Plurónico 0,8 mg/ml

Solución reguladora de fosfato 10 mM

Cloruro de sodio 5,9 mg/ml

15

Alcohol bencílico 9 mg/ml

Tiempo semanas % pureza de hGH Log % pureza de hGH

0 98,90 1,9952

3 98,35 1,9928

20

9 97,84 1,9905

13 97,05 1,9870

30 96,26 1,9834

25

k día-1 x 10⁴ -1,253

Formulación B Comparativa (sin pluronico, solución reguladora de fosfato, pH 5,6)

hGH 3,33 mg/ml

Solución reguladora de fosfato 10 mM

30

Cloruro de sodio 5,9 mg/ml

Alcohol bencílico 9 mg/ml

Tiempo (semanas) % pureza de hGH log % pureza de hGH

0 96,28 1,9835

0 95,88 1,9817

4 95,45 1,9798

4 95,80 1,9814

40

15 95,67 1,9808

15 95,89 1,9818

26 94,46 1,9752

45

26 93,94 1,9729

39 94,15 1,9738

52 93,21 1,9695

50

k día-1 x 10⁴ -0,8272

55

60

65

ES 2 300 268 T3

TABLA 2

Estudio de estabilidad (2-8°C)

hGH 3,33 mg/ml

Plurónico 0,8 mg/ml

Solución reguladora de citrato 10 mM

Cloruro de sodio 5,9 mg/ml

Alcohol bencílico 9 mg/ml

Formulación C Comparativa (pH 5,6 solución reguladora de citrato + plurónico)

Tiempo (semanas)	hGH+	log hGH+
0	97,89	1,9907
0	97,93	1,9909
4	97,12	1,9873
4	96,80	1,9859
13	95,44	1,9797
13	94,85	1,9770
26	93,19	1,9694
26	93,60	1,9713
52	91,32	1,9606
52	91,08	1,9593
0	97,48	1,9889
0	97,71	1,9899
4	96,93	1,9865
4	96,92	1,9864
13	94,89	1,9772
13	95,38	1,9795
26	92,59	1,9666
26	92,65	1,9668
52	90,69	1,9576
52	91,11	1,9596
k día-1 X 10 ⁴		-1,954

ES 2 300 268 T3

TABLA 3

5	Estudio de estabilidad (2-8°C)		
	Formulación D		
	hGH	3,33 mg/ml	
10	Solución reguladora de fosfato	10 mM, pH 6,0	
	Cloruro de sodio	5,9 mg/ml	
	Alcohol Bencílico	9 mg/ml	
15	Tiempo Semanas	% pureza de hGH log	% pureza de hGH
	0	98,47	1,9933
	4	97,82	1,9904
	9	97,44	1,9887
20	k día-1 X 10 ⁴		-1,65
	Estudio de estabilidad (2-8°C)		
	Formulación E Comparativa (solución reguladora de citrato pH 6,0, con pluronico)		
25	hGH	3,33 mg/ml	
	Plurónico	0,8 mg/ml	
	Solución reguladora de citrato	10 mM, pH 6,0	
	Cloruro de sodio	5,9 mg/ml	
30	Alcohol Bencílico	9 mg/ml	
	Tiempo (semanas)	% pureza de hGH log	% pureza de hGH
	0	97,75	1,9901
35	0	97,56	1,9893
	5	96,05	1,9825
	5	96,95	1,9865
	9	96,29	1,9836
40	9	96,12	1,9828
	0	97,96	1,9910
	0	97,93	1,9909
45	5	97,09	1,9872
	9	96,52	1,9846
	9	96,51	1,9646
	0	98,54	1,9936
50	0	98,47	1,9933
	5	97,68	1,9898
	5	97,43	1,9887
55	9	96,67	1,9853
	9	96,77	1,9857
	k día-1 X 10 ⁴		-2,55

TABLA 4

	Tiempo Semanas	% pureza de hGH	log % pureza de hGH
5	0	97,21	1,988
	0	97,23	1,988
	4,5	96,50	1,985
	4,5	96,65	1,985
10	9	95,18	1,979
	9	95,19	1,979
	13	95,23	1,979
15	13	95,32	1,979
	26	94,64	1,976
	26	94,41	1,975
20	k día-1 X 10 ⁴		-2,489

Ejemplo 4

Evasión de cristalización mediante el ajuste de pH de las formulaciones líquidas

Una serie de variantes del pH de la formulación VI (incrementos de 0,1 unidades) se hicieron, ajustando las cantidades respectivas de los componentes de la solución reguladora de fosfato. Alícuotas de 1,5 ml de las formulaciones se llenaron en las cápsulas respectivas para utilizar en Inyectores de pluma. Las cápsulas se almacenaron a 15°C hasta por 3 meses. La presencia o ausencia de cristales en las cápsulas se determinó a simple vista durante el periodo de almacenamiento.

Se observó cristalización en las formulaciones de pH inferior a 6,2. i.e. a pH 6,1. No se observó cristalización en las formulaciones de pH 6,2 y superiores.

A modo de comparación, cuando se almacena a 15°C o 25°C, la formulación V (pH 6,0) hasta por 6 semanas mostró cristalización. También, la formulación V (pH 6,0) mostró cristalización en unos 2-3 meses cuando se almacena a 2-8°C.

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citadas por el aspirante es solamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente Europea. Aún cuando se ha tenido gran cuidado en recopilar las referencias, los errores u omisiones no se pueden excluir y la EPO desconoce toda responsabilidad a este respecto.

Documentos patentes citados en la descripción

- US 4968299 A [0008]
- EP 0131864 A [0012]
- EP 0211601 A [0013]
- WO 9403198 A [0014] [0024]
- WO 8909614 A [0015]
- EP 0303746 A [0016]
- WO 9217200 A [0017]
- WO 9312811 A [0018]
- WO 9319776 A [0019]
- EP 0217822 A [0050] [0060]
- AU 629177 [0061].

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de hormona de crecimiento líquida que comprende una hormona de crecimiento humana en solución reguladora de fosfato isotónica, un conservante y un agente tensoactivo no-iónico, en donde la isotonicidad se proporciona por una sal neutra, un monosacárido, un disacárido o un alcohol de azúcar, el pH esta en el rango de 6,15 a 6,5 y la formulación líquida no tiene cristalización detectable en el almacenamiento.

2. La formulación como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el almacenamiento es por lo menos un mes, preferiblemente seis semanas, más preferiblemente en el rango de 1 mes a 4 meses, más preferiblemente 3 meses.

3. La formulación como se reivindica en la reivindicación 1 ó 2, en donde la temperatura de almacenamiento es aproximadamente 2°C o más, preferiblemente 4°C o más, más preferiblemente una temperatura en el rango de 2°C a menos de 40°C, aún más preferiblemente una temperatura en el rango de 2°C a 25°C, más preferiblemente 15°C.

4. La formulación como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la cristalización se detecta a simple vista, preferiblemente bajo el microscopio óptico con una amplificación de 5x, más preferiblemente bajo el microscopio óptico con una amplificación de 10x.

5. La formulación como se reivindica en cualquier reivindicación precedente, que tiene un pH de 6,2.

6. La formulación como se reivindica en cualquier reivindicación precedente, en donde la isotonicidad se proporciona mediante el manitol.

7. La formulación como se reivindica en cualquier reivindicación precedente, en donde el conservante se selecciona de fenol, alcohol bencílico, meta-cresol, metilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio y cloruro de benzetonio.

8. La formulación como se reivindica en cualquier reivindicación precedente, en donde el agente tensoactivo no-iónico es un polisorbato o un poloxámero.

9. La formulación como se reivindica en la reivindicación 8, en donde el agente tensoactivo no-iónico es el poloxámero 188.

10. La formulación como se reivindica en cualquier reivindicación precedente, en donde la concentración del agente tensoactivo no-iónico es 0,2% (w/v).

11. La formulación como se reivindica en la reivindicación 1 en la siguiente composición:

hGH	3,33 mg/ml	(10 IU/ml)
NaH₂PO₄·2H₂O	Sol. reguladora de fosfato 10 mM	
Na₂HPO₄·7H₂O		
Manitol	35 mg/ml	(3,5 % w/v)
Poloxámero 188	2 mg/ml	(0,2 % w/v)
Alcohol bencílico	9 mg/ml	(0,9 % w/v)
Agua para inyección	q.s.	
pH 6,2		

12. La formulación como se reivindica en la reivindicación 11 de la siguiente composición:

hGH	3,33 mg/ml	(10 IU/ml)
NaH₂PO₄·2H₂O	0,85 mg/ml	
Na₂HPO₄·7H₂O	0,31 mg/ml	
Manitol	35 mg/ml	(3,5 % w/v)
Poloxámero 188	2 mg/ml	(0,2 % w/v)
Alcohol bencílico	9 mg/ml	(0,9 % w/v)
Agua para inyección	q.s.	
pH 6,2		

ES 2 300 268 T3

13. Un dispositivo para la administración de un líquido a un individuo humano mediante la inyección y carga para utilizar con al menos una unidad de dosificación de la formulación líquida de hormona de crecimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

5 14. Un dispositivo como se reivindica en la reivindicación 13 que es un dispositivo inyector de tipo pluma.

15. Un kit que comprende un dispositivo de inyección y un contenedor separado de una formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

10 16. El kit como se reivindica en la reivindicación 15, en donde el contenedor se adapta para interconectar con el dispositivo de inyección tal que, en uso la formulación en el contenedor está en conexión del fluido con la salida del dispositivo de inyección.

15 17. El kit como se reivindica en la reivindicación 16, en donde el dispositivo de inyección es un inyector de tipo pluma y el contenedor es un cartucho.

18. Un cartucho que contiene una formulación líquida de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para utilizar con un dispositivo inyector de tipo pluma.

20

25

30

35

40

45

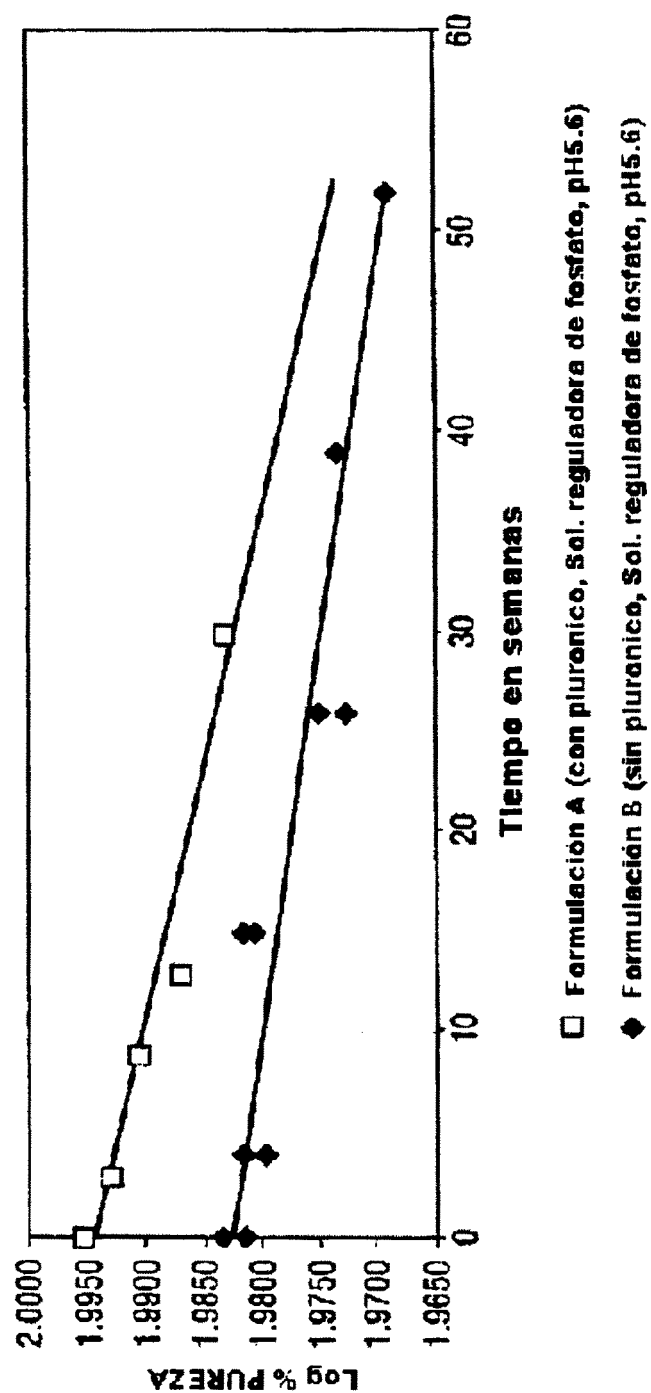
50

55

60

65

FIG. 1 Estabilidad(2-8°C)de hormona de crecimiento con solución reguladora de fosfato con y sin pluronico pH 5.6



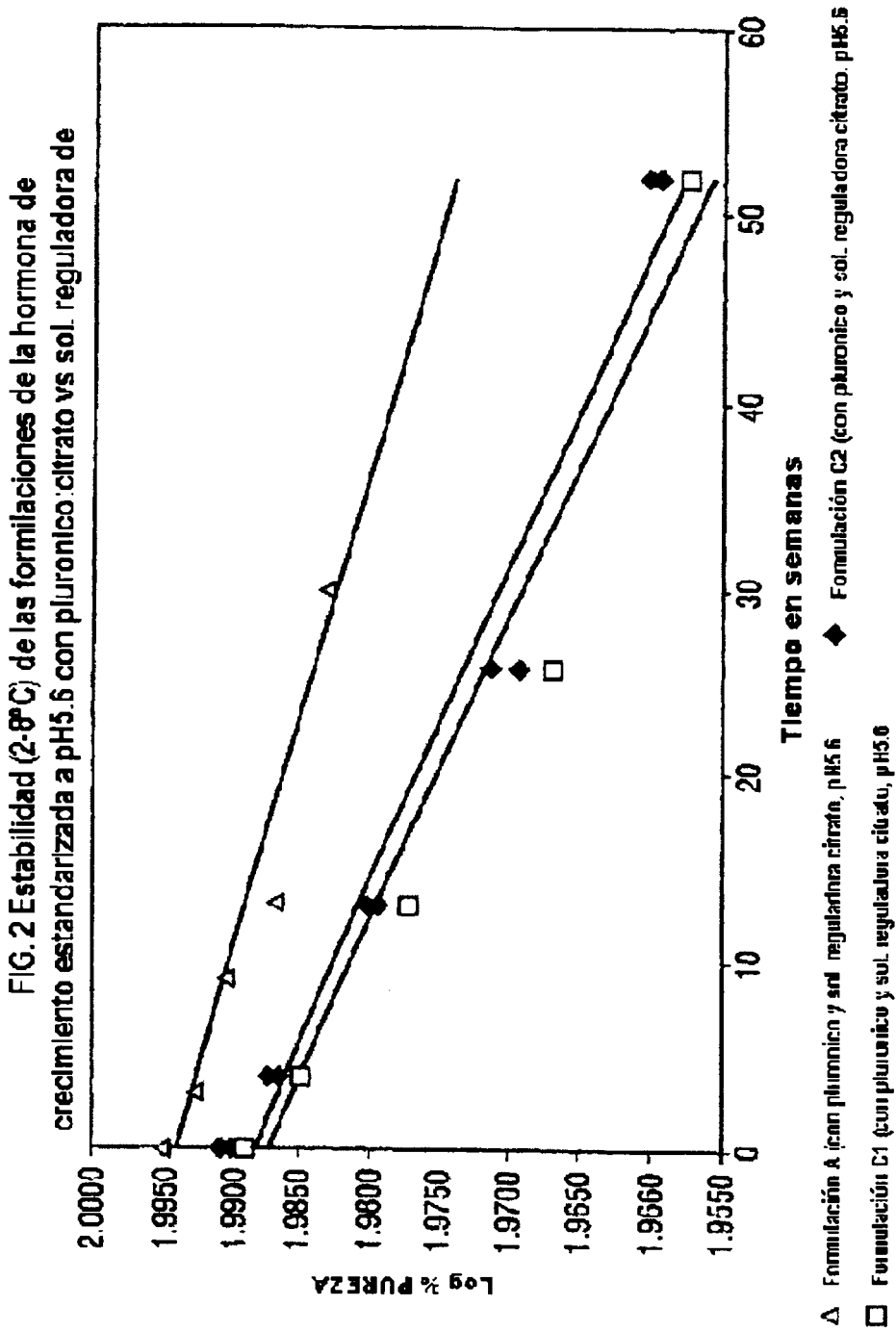


FIG. 3 Estabilidad (2-8°C) de formulación hormona de crecimiento (pH6.0), citrato con pluronico vs fosfato sin pluronico

