

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 478**

51 Int. Cl.:

A61L 27/34 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)
A61L 31/08 (2006.01)
A61L 31/10 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61M 31/00 (2006.01)
A61N 1/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2011 PCT/US2011/058349**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2012 WO12064526**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2011 E 11782504 (2)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.09.2017 EP 2637734**

54 Título: **Implantes cocleares liberadores de fármacos**

30 Prioridad:

02.09.2011 US 201161530698 P
09.11.2010 US 411631 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.11.2017

73 Titular/es:

TEPHA, INC. (100.0%)
99 Hayden Avenue, Suite 360
Lexington, MA 02421, US

72 Inventor/es:

LENARZ, THOMAS;
SCHMITZ, KLAUS-PETER;
BEHREND, DETLEF;
STERNBERG, KATRIN;
WILLIAMS, SIMON y
MARTIN, DAVID

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 644 478 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

Implantes cocleares liberadores de fármacos

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere generalmente a dispositivos de estimulación implantables, por ejemplo, implantes cocleares, y más específicamente a dispositivos de estimulación implantables que liberan fármacos. Los dispositivos incluyen polímeros de polihidroalcanoato y copolímeros capaces de eluir sustancias activas farmacológicamente de modo particular a partir de un implante coclear dentro del oído interno.

Antecedentes de la invención

Existe la necesidad de dispositivos de estimulación implantables, tales como implantes cocleares, que puedan eluir sustancias activas farmacológicamente después de la implantación. Tales dispositivos podrían, por ejemplo, mejorar la calidad de señal de un implante coclear.

Para muchos pacientes que padecen sordera profunda, su sordera es el resultado de la pérdida o ausencia de células pilosas en la cóclea que son necesarias para transducir señales acústicas (por ejemplo, energía sonora) en impulsos nerviosos auditivos. Estos pacientes tienen una pérdida de auditiva neurosensorial (al contrario de una pérdida auditiva conductiva que puede tratarse a menudo con ayudas auditivas convencionales). Sin células pilosas, los pacientes con pérdida auditiva neurosensorial son incapaces de generar impulsos nerviosos auditivos directamente a partir de sonidos.

Se han desarrollado muchos implantes cocleares para tratar pacientes con pérdida auditiva neurosensorial. Estos implantes son capaces de estimular directamente fibras nerviosas auditivas, evitando las células pilosas de las mismas y produciendo la percepción de sonido en el cerebro y por lo tanto, alguna sensación de audición. Tales implantes normalmente comprenden un conjunto de electrodos (una matriz de electrodos) que se implantan dentro de la cóclea. Estos electrodos están diseñados para responder a estímulos eléctricos externos, y a su vez, transmitir estos impulsos a las células ganglionares y las fibras nerviosas auditivas. En una situación ideal, los circuitos electrónicos en combinación con los electrodos del implante coclear separarían una señal acústica en bandas estrechas de frecuencias, y estas bandas de frecuencia se transmitirían de forma selectiva a las células nerviosas auditivas normalmente responsables de transmitir estas frecuencias al cerebro.

La matriz de electrodos de los implantes cocleares se implanta generalmente en la rampa vestibular, una de las tres rampas de la cóclea con forma de espiral, para mejores resultados. La matriz normalmente consiste en un portador fino, alargado, y flexible que contiene de seis a treinta contactos de electrodo separados y que se inserta por el cirujano dentro de la rampa vestibular timpánica. Cuando se suministran impulsos eléctricos a partir de los electrodos individuales a tejidos y fluidos en proximidad cercana, las células ganglionares y sus fibras nerviosas auditivas crean potenciales de acción.

A pesar el éxito tremendo en restaurar la sensación de sonido a pacientes que padecen sordera profunda con implantes cocleares, el rendimiento de los implantes puede a menudo ser subóptimo debido a (i) apoptosis y/o necrosis de tejido nervioso resultante del traumatismo de insertar la matriz de electrodos, y (ii) un aumento en impedancia de los electrodos después de la cirugía que se debe a la encapsulación de la matriz de electrodos por el crecimiento de una membrana fibrosa que reduce la eficacia de la estimulación eléctrica.

Los esfuerzos para abordar estas cuestiones incluyen una aplicación intracoclear intraoperativa de corticosteroides durante la implantación coclear para reducir las impedancias en los contactos de electrodos, y un patrón de superficie de la matriz de electrodos para reducir el crecimiento de células sobre la superficie del implante (véase Solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 20060020318 a Lenarz, et al., "Patterning of the surface of implantable devices for tissue growth management"). Además, la patente de Estados Unidos n.º 6.309.410 de Kuzma, et al., describe un electrodo coclear con un canal de suministro de fármacos incorporado para la aplicación de fármacos, y la solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 20070213799 a Jolly, et al., describe implantes cocleares con material en áreas del implante adaptadas para eluir fármacos. El documento US 2009/0292237 A1 desvela un sistema de suministro de fármacos modular para minimizar el traumatismo durante y después de la inserción de un plomo coclear. Existe, por lo tanto, la necesidad de desarrollar materiales que puedan minimizar la fuerza requerida para insertar una matriz de electrodos dentro de la cóclea y, por lo tanto, limitar el traumatismo a las células ganglionares en espiral.

También existe una necesidad adicional de desarrollar tecnología que permita que las sustancias activas farmacológicamente se suministren en el oído interno después de la implantación coclear, pero sin cirugía. El suministro de sustancias activas farmacológicamente en el oído interno después de una implantación coclear podría (a) proporcionar un tratamiento terapéutico al traumatismo resultante de la inserción de la matriz de electrodos y, (b), disminuir el crecimiento fibroso. Además, podría evitarse la infección o tratarse localmente con antibióticos.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar recubrimiento de polihidroalcanoato (PHA) para dispositivos de estimulación implantables, que incluye implantes cocleares, en el que el recubrimiento proporciona un electrodo con buena lubricidad para minimizar el traumatismo en los tejidos.

- 5 Es un objetivo adicional de la presente invención proporcionar dispositivos de estimulación implantables, que incluye implantes cocleares, que puedan suministrar sustancias activas farmacológicamente, y que comprendan polímeros y copolímeros de PHA.

10 Es otro objetivo de la presente invención proporcionar sistemas de suministro de fármacos de polímero y copolímero de PHA para dispositivos de estimulación implantables que puedan usarse para fabricar implantes cocleares con propiedades físicas y mecánicas excelentes y biocompatibilidad.

Sumario de la invención

15 La presente invención está definida por las reivindicaciones adjuntas. Los ejemplos, realizaciones o aspectos de la presente descripción que no están incluidos en el alcance de dichas reivindicaciones se proporcionan meramente con fines ilustrativos y no forman parte de la invención. Además, cualquier método quirúrgico, terapéutico o de diagnóstico que se presente en la presente descripción se proporciona con fines ilustrativos únicamente y no forma parte de la presente invención.

20 Se han desarrollado sistemas de suministro de fármacos y recubrimientos biocompatibles para su uso con dispositivos de estimulación implantables tales como implantes cocleares. Estos sistemas de suministro de fármacos y recubrimientos comprenden polímeros y copolímeros de polihidroalcanoato (PHA). Los sistemas de suministro de fármacos pueden usarse para suministrar sustancias activas farmacológicamente, por ejemplo, directamente a partir de un implante coclear al oído interno. Las sustancias activas pueden ser antibióticos, fármacos antiinflamatorios, agentes anti-apoptosis, anti-oxidantes, factores neurotróficos, agentes de genoterapia y otras sustancias que pueden evitar, por ejemplo, la formación de tejido fibroso, infección y apoptosis y/o necrosis de tejido nervioso. Los recubrimientos imparten buena lubricidad a los dispositivos cocleares para una más fácil inserción de los electrodos. En la realización preferida, el sistema de suministro de fármacos comprende un polímero de polihidroalcanoato y en la realización más preferida, el polímero de PHA comprende poli(4-hidroxi-butarato) (P(4HB)) o un copolímero del mismo. Una realización particularmente preferida es en la que funda de silicona de los electrodos del implante coclear se ha modificado en superficie y revestido con P(4HB), y el P(4HB) bien contiene una sustancia activa farmacológicamente o bien se ha revestido con tal sustancia.

Breve descripción de los dibujos

35 La figura 1 es un gráfico de la viabilidad de fibroblasto (NIH-3T3) y supervivencia de la célula ganglional en espiral (SGC) sobre silicona y polímeros biodegradables PLLA o P(4HB).

La figura 2 es un gráfico de los efectos de la dexametasona a concentraciones de entre 1×10^{-12} y 1×10^{-4} mol/L sobre la viabilidad del fibroblasto (NIH-3T3) y la célula ganglional en espiral (SGC).

40 La figura 3 es un gráfico del efecto de sirolimus sobre fibroblastos NIH-3T3 cultivados y células ganglionales en espiral (SGC). A una concentración de 10^{-5} mol/L la supervivencia de SGC se redujo.

La figura 4 es un gráfico *in vitro* de liberación de DMS a partir de recubrimiento de P(4HB) que contienen DMS sobre discos de silicona con un diámetro de 6 mm en una solución NaCl isotónica a 37 °C en condiciones casi estacionarias. Silicona con P(4HB) 85/15 % (p/p) (-■-); Silicona con P(4HB) 70/30 % (p/p) (-■-).

45 La figura 5 es un gráfico *in vitro* de liberación de fármaco a partir de portadores de silicona que contienen DMS con recubrimiento de fármacos de polímero en condiciones casi estacionarias.

Descripción detallada de la invención

50 I. Definiciones

"Poli(4-hidroxi-butarato)" tal y como se usa generalmente en el presente documento significa un homopolímero que comprende unidad de 4-hidroxi-butarato. Puede referirse en el presente documento como P(4HB) o biomaterial de TephaFLEX® (fabricado por Tepha, Inc., Lexington, MA).

55 "Poliláctido o ácido poliláctico" tal y como se usa generalmente en el presente documento significa un homopolímero de unidades de ácido láctico. Puede referirse en el presente documento como PLLA, PLA, o DL-PLA. (PLLA está fabricado por Boehringer-Ingelheim Pharma, Alemania.)

60 "Copolímeros de poli(4-hidroxi-butarato)" tal y como se usa generalmente en el presente documento significa cualquier polímero que comprende 4-hidroxi- butirato con uno o más unidades distintas de ácido hidroxi.

"Mezcla" tal y como se usa generalmente en el presente documento significa una combinación física de distintos polímeros, al contrario de un copolímero comprendido de dos o más monómeros distintos químicamente unidos juntos.

65

"Módulo de tracción" es la relación de tensión con respecto a la deformación para un material dado dentro de su límite proporcional.

5 "Resistencia" significa una propiedad de un material por virtud del cual puede absorber energía; el trabajo actual por volumen unitario o masa unitario de material que se requiere para romperlo. La resistencia normalmente es proporcional al área bajo la curva de elongación de carga tal como la curva tensión-deformación de resistencia. (Rosato's Plastics Encyclopedia and Dictionary, Oxford Univ. Press, 1993.)

10 "Elongación" o extensibilidad de un material significa la cantidad de aumento en longitud que resulta de, a modo de ejemplo, la tensión para romper un espécimen. Se expresa normalmente como un porcentaje de la longitud original. (Rosato's Plastics Encyclopedia and Dictionary, Oxford Univ. Press, 1993.)

15 "Peso molecular" tal y como se usa en el presente documento, salvo que se especifique otra cosa, se refiere al peso molecular ponderado medio (Mw), no al peso molecular promedio en número (Mn) y se mide mediante GPC en relación con los estándares de poliestireno.

20 "Absorbible" tal y como se usa generalmente en el presente documento significa que el material descompone en el organismo y se elimina posteriormente del organismo en cinco años.

"Biocompatible" tal y como se usa generalmente en el presente documento significa que la respuesta biológica al material o dispositivo es apropiada para la aplicación concebida del dispositivo *in vivo*. Cualquier metabolito de estos materiales también debe ser biocompatible.

25 "Citotoxicidad" se mide usando una prueba rápida, y estandarizada que es muy sensible y económica, para determinar si los materiales en un dispositivo médico consisten cantidades significativas de extraíbles dañinos y su efecto sobre componentes celulares. La evaluación se requiere para todo tipo de dispositivos médicos. La toxicidad celular se trata en ISO 10993-5. En el método de recubrimiento de agar, una fina capa de medio de agar se coloca sobre la parte superior de una monocapa de células L929, y se coloca una muestra sobre la parte superior del medio de agar, a continuación se incuba. Para el método de elución MEM, un extracto de la muestra dentro del medio esencial mínimo (MEM) se pone en contacto con la monocapa de células L929 y a continuación se incuba. En ambos métodos las células se puntúan para el efecto citopático.

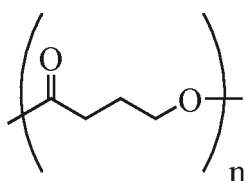
35 II. Composiciones

Se han desarrollado métodos para producir dispositivos de estimulación implantables que comprenden recubrimiento de PHA. Estos recubrimientos también pueden incorporar sustancias activas farmacológicamente. Estos métodos se han aplicado a dispositivos médicos, tales como implantes cocleares.

40 A. Polímeros

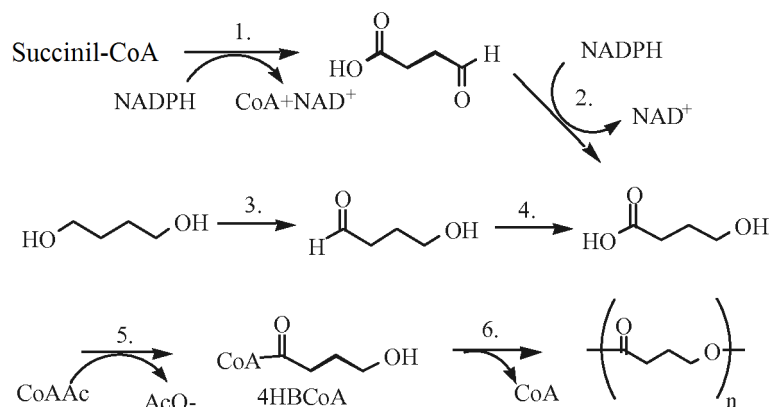
Los procesos descritos en el presente documento pueden usarse normalmente para aplicar recubrimientos de polímeros de polihidroalcanoato y más preferiblemente poli(4-hidroxiбутирато (P(4HB)) o un copolímero del mismo, a dispositivos de estimulación implantables y, más específicamente, implantes cocleares. Los copolímeros incluyen P(4HB) con 3-hidroxiбутирато, y P(4HB) con monómero de ácido glicólico. El P(4HB) y copolímeros del mismo pueden obtenerse a partir de Tephra, Inc. of Lexington, MA. Los polímeros de PHA preferidos tienen un peso molecular ponderado medio (Mw) adecuado para el procesamiento por solventes, y más preferiblemente un Mw de 50.000 a 1.200.000, e incluso más preferiblemente de 50.000 a 800.000. Si se desea, el polímero de PHA puede mezclarse con otro polímero de PHA antes de aplicarlo a un dispositivo de estimulación implantable, o mezclarse con un material sin PHA, que incluye otros polímeros biocompatibles absorbibles (por ejemplo, PLA), tintes y sustancias activas farmacológicamente (tales como moléculas de fármacos).

60 Puede producirse poli(4-hidroxiбутирато) (P(4HB)) y copolímeros del mismo usando métodos de fermentación transgénica, véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 6.548.569 a Williams et al., y se producen comercialmente, por ejemplo, por Tephra, Inc. (Lexington, MA). Poli(4-hidroxiбутирато) (P(4HB)), biomaterial TephraFLEX® es un poliéster fuerte, plegable termoplástico que, a pesar de su ruta biosintética, tiene una estructura relativamente simple.



60

El polímero pertenece a una clase más grande de materiales denominados polihidroalcanoatos (PHAs) que se producen mediante numerosos microorganismos (véase, por ejemplo, Steinbüchel A., et al. Diversity of Bacterial Polyhydroxyalkanoic Acids, FEMS Microbiol. Lett. 128:219-228 (1995)). En la naturaleza estos poliésteres se producen como gránulos de almacenamiento dentro de las células y sirven para regular la energía el metabolismo energético. También son de interés comercial por sus propiedades termoplásticas y relativa facilidad de producción. Se conocen actualmente varias rutas biosintéticas para producir P(4HB):



Este esquema muestra algunas de las trayectorias biosintéticas para la producción de P(4HB). Las enzimas de trayectoria son: 1. Semialdehído succínico deshidrogenasa, 2. 4-hidroxi-2-oxobutanoal deshidrogenasa, 3. diol oxidoreductasa, 4. aldehído deshidrogenasa, 5. Coenzima A transferasa y 6. PHA sinteasa.

Se ha intentado una síntesis química de P(4HB), pero ha sido imposible producir el polímero con un peso molecular suficientemente alto que es necesario para la mayoría de aplicaciones (Hori, Y., et al., Polymer 36:4703-4705 (1995)).

Las patentes de los Estados Unidos n.º 6.245.537, 6.623.748 y 7.244.442 describen métodos de fabricación de PHAs con pocas endotoxinas, que es adecuado para aplicaciones médicas. Las patentes de los Estados Unidos n.º 6.548.569, 6.838.493, 6.867.247, 7.268.205 y 7.179.883 describen el uso de PHAs para fabricar dispositivos médicos. Entre los copolímeros de P(4HB) se incluye 4-hidroxi-2-oxobutanoal copolimerizado con 3-hidroxi-2-oxobutanoal o ácido glicólico (solicitud de patente de los Estados Unidos n.º 20030211131 por Martin and Skraly, patente de Estados Unidos n.º 6.316.262 a Huisman, et al., y patente de Estados Unidos n.º 6.323.010 de Skraly, et al.). Se han desvelado métodos para controlar el peso molecular de polímeros de PHA en la Patente de Estados Unidos N.º 5.811.272 a Snell, et al.

PHAs con degradación controlada y degradación *in vivo* de menos de un año se desvelan en las Patentes de Estados Unidos N.º 6.548.569, 6.610.764, 6.828.357, 6.867.248 y 6.878.758 a Williams, et al. y WO 99/32536 a Martin, et al. Se han examinado aplicaciones de P(4HB) en Williams, S.F., et al., Polyesters, III, 4:91-127 (2002), y por Martin, D., et al. Medical Applications of Poly-4-hydroxybutyrate: A Strong Flexible Absorbable Biomaterial, Biochem. Eng. J. 16:97-105 (2003).

También se han desvelado dispositivos médicos y aplicaciones de P(4HB) por el documento WO 00/56376 a Williams, et al. Varias patentes entre las que se incluyen las Patentes de los Estados Unidos n.º 6.555.123, 6.585.994 y 7.025.980 describen el uso de PHAs en reparación de tejido e ingeniería. El documento WO 05/007195 a Hasirci, et al. describe matrices de P(4HB) para el suministro de fármacos sostenido, y el documento WO 05/020825 describe dispositivos de regeneración nerviosa de P(4HB). Los documentos WO 07/092418 y WO 10/017014 a Schmitz describe endoprótesis y recubrimientos liberadores de fármacos degradables poliméricos y el documento WO 09/158724 a Markland describe sistemas de suministros de fármacos que usan P(4HB) y copolímeros del mismo.

B. Sustancias fisiológicamente activas

Los polímeros de PHA aplicados a los dispositivos de estimulación implantables contienen o están recubiertos con sustancias fisiológicamente activas par proporciona una liberación controlada de una sustancia activa *in vivo*. En el caso de un dispositivo coclear implantable, la sustancia activa podría liberarse dentro del oído interno.

Las sustancias fisiológicamente activas pueden seleccionarse según la afección a tratar. Por ejemplo, pueden seleccionarse antibióticos para prevenir infecciones. Pueden tratarse traumatismos a tejidos mediante la selección de fármacos antiinflamatorios y agentes anti-proliferativos y se pueden usar agentes anti-apoptosis para controlar la apoptosis. Además, factores neurotróficos, agentes de genoterapia, antioxidantes y otras sustancias activas pueden

incorporarse al dispositivo de estimulación implantable para evitar la formación de tejido fibroso, inflamación, infección, apoptosis y/o necrosis de tejido nervioso, así como estimular la cicatrización y mejorar el rendimiento del dispositivo de estimulación implantable.

- 5 Si se desea, también es posible incorporar más de una sustancia fisiológicamente activa en el dispositivo de estimulación implantable. Por ejemplo, podrían incorporarse un agente antiinflamatorio y un antibiótico dentro del mismo dispositivo. La velocidad de liberación puede diferir según una función de concentración, distintas composiciones químicas y distintas solubilidades *in vivo*.
- 10 Sustancias fisiológicamente activas preferidas son agentes antiinflamatorios, agentes antiproliferativos, agentes anti-apoptosis, antibióticos y otras sustancias para evitar la formación de tejido fibroso e infección. Ejemplos de agentes antiinflamatorios preferidos son esteroides, tales como dexametasona, betametasona, clobetasol, diflorasona, fluocinolona, triamcinolona, o cualquier combinación de las mismas. Ejemplos de agentes antiproliferativos preferidos son fármacos limus, tales como Sirolimus.
- 15 CIPRODEX® Otic ((ciprofloxacina 0,3 % y dexametasona 0,1 %) está indicado para el tratamiento de infecciones causadas por aislados susceptibles de los microorganismos designados en Otitis Media Aguda en pacientes pediátricos (edad de 6 meses y mayores) con tubos de timpanostomía debido a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, y *Pseudomonas aeruginosa*.
- 20 ANTIBIOTIC® Ear; CORTISPORIN® contiene 3,5 mg de neomicina, polimixina B 10.000 unidades e hidrocortisona 10 mg por ml (10 ml). Ofloxacina (FLOXIN OTIC ®) se usa un antibiótico con quinilona para otitis media supurativa con membranas timpánicas perforadas. Estos fármacos deberían poder administrarse usando esta tecnología para reducir la infección y/o inflamación.
- 25 La velocidad de liberación del agente fisiológico activo puede seleccionarse para controlar la afección específica que se está tratando. En una realización preferida, la velocidad de liberación de dexametasona durante un periodo de 24 horas es de entre 0,1 y 1,0 µg.

C. Otros componentes

- 30 Los polímeros y copolímeros de PHA pueden contener otros materiales, entre los que se incluyen plastificantes, nucleantes, otros polímeros (incluidos polímeros absorbibles), aditivos, tintes y compatibilizantes. Ejemplos de plastificantes se describen por la Patente de los Estados Unidos n.º 6.905.987 a Noda, et al. Pueden añadirse otros componentes para impartir beneficios tales como, pero sin limitación, lubricidad aumentada, estabilidad aumentada, incluida estabilidad oxidativa, color, flexibilidad, firmeza y resistencia. Otros polímeros que pueden incluirse en las composiciones incluyen aquellos que comprenden los siguientes monómeros: ácido glicólico, ácido láctico, carbonato de trimetileno, p-dioxanona y caprolactona.

También puede ser ventajoso incluir agentes de contraste, marcadores radiopacos o sustancias radioactivas.

40

III. Métodos de fabricación de dispositivos de estimulación implantables

Los dispositivos de estimulación implantables liberadores de fármacos pueden prepararse recubriendo tales dispositivos con polímeros de PHA y fármacos.

45

En una realización preferida, el dispositivo de estimulación implantable se trata previamente para mejorar la adherencia del sistema de suministro de fármacos local a base de polímeros de PHA al dispositivo de estimulación implantable. Un método preferido de tratar previamente un implante coclear es activar la superficie de silicona. Esto puede lograrse, por ejemplo, usando un plasma de baja presión. Después del tratamiento con plasma, la superficie resultante puede derivatizarse con polímeros adecuados para aumentar la adhesión de los polímeros de PHA al dispositivo de estimulación implantable.

50

Después del tratamiento previo de la superficie del dispositivo de estimulación implantable, en caso de haberlo, puede aplicarse al dispositivo el sistema de suministro de fármaco de polímero de PHA. En una realización preferida, el sistema de suministro de fármaco de polímero de PHA se aplica al dispositivo de estimulación implantable mediante recubrimiento por pulverización. En una realización particularmente preferida, el polímero de PHA y el fármaco de disuelven en un disolvente y a continuación se recubren por pulverización sobre el dispositivo de estimulación implantable. De manera alternativa, la solución de polímeros de PHA que contiene el fármaco puede aplicarse mediante recubrimiento por inmersión. Los polímeros de PHA preferidos son P(4HB) y copolímeros de los mismos. En un método particularmente preferido, el P(4HB) y copolímeros del mismo, tienen pesos moleculares ponderados medios entre 50.000 y 800.000. Los disolventes preferidos son hidrocarburos clorados, tales como cloroformo y cloruro de metileno, y otros disolventes volátiles tales como acetona. La cantidad de fármaco y polímero de PHA aplicado a la superficie del dispositivo de estimulación implantable puede variarse para lograr el perfil de suministro de fármaco deseado.

65

Puede lograrse una optimización adicional del perfil de suministro de fármacos, mezclando otros polímeros con el polímero de PHA, particularmente polímeros absorbibles, así como mediante el recubrimiento de la parte superior del sistema de suministro de fármaco de polímero de PHA una vez se ha aplicado al dispositivo de estimulación implantable. Por ejemplo, en una realización preferida, un implante coclear recubierto con un polímero de PHA que
 5 contiene un fármaco puede recubrirse adicionalmente (recubrimiento final) con ácido poliláctico. El último puede aplicarse mediante recubrimiento por pulverización o recubrimiento por inmersión.

Otro modo prometedor de tratamiento previo de superficie del dispositivo de estimulación implantable es unir un recubrimiento subyacente polimérico (polímeros de PHA), como un cebador, a la superficie. Después, los
 10 recubrimientos de PHA con fármacos incorporados se aplican al IC mediante una técnica de recubrimiento por pulverización.

La presente invención se entenderá en más detalle con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

15 **Ejemplo 1. Medición de viabilidad celular usando ensayo de rojo neutro.**

Se midió la supervivencia celular y viabilidad de los fibroblastos NIH-3T3 usando un ensayo de rojo neutro. Los fibroblastos NIH-3T3 se sembraron en placas de cultivo celular de 96 pocillos a una densidad de 10^4 células/pocillo en el medio Eagle modificado de Dulbecco suplementado con un 10 % de suero de ternero fetal. Después de 48
 20 horas, las células se mancharon usando un ensayo de rojo neutro. El rojo neutro solo se toma por las células vivas.

Después de una incubación durante 3 horas y varias etapas de lavado, las células se permeabilizaron y el rojo neutro se solubilizó en el sobrenadante. La absorción medida a 570 nm es proporcional al número de células vivas. Las mediciones se llevaron a cabo por cinco veces y se ponderaron los resultados. El ejemplo se repitió al menos
 25 cuatro veces.

Ejemplo 2. Adsorción celular y cuantificación de células ganglionales en espiral mediante evaluación de tinción de anticuerpos y microscópica.

Las células ganglionales en espiral se recién aislaron a partir de ratas Sprague-Dawley (p3-5). Las células viables se suspendieron en el medio Eagle modificado de Dulbecco suplementadas con un 10 % de suero de ternero fetal y 50 ng/ml de BDNF y se sembraron sobre placas de cultivo celular recubiertas con laminina y ornitina a una densidad de $1,5 \times 10^4$ células/pocillo. Después de un tiempo de cultivo de 48 horas, las células se mancharon con anticuerpo antineurofilamento y se contaron bajo un microscopio. Todos los experimentos se realizaron por cuatro veces y el
 30 experimento se repitió cuatro veces.

Ejemplo 3. Supervivencia *in vitro* de fibroblastos y células ganglionales en espiral sobre P(4HB) y PLLA contra silicona.

Con el fin de evaluar el uso potencial de P(4HB) y PLLA como portadores de fármacos para dispositivos de estimulación implantables, se investigaron las tasas de supervivencia del uso potencial de P(4HB) y PLLA sobre
 40 estos dos polímeros.

Se colocaron discos (0,1 mm de espesor y 6 mm de diámetro) de poli(L-lactida) (PLLA, Resomer L214, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim, Alemania), poli(4-hidroxibutirato) (P(4HB), Tephra, Inc., Lexington, MA, EE.UU.) y silicona en la parte inferior de placas de cultivo de tejido de 96 pocillos estándar. Sirvieron como controles placas de microtitulación sin adiciones de material. Las células se sembraron dentro de cada uno de los distintos pocillos de cultivo celular y los ensayos se llevaron a cabo tal y como se describe anteriormente en los
 45 ejemplos 1 y 2. Para las mediciones de absorción cuando se usan células NIH-3T3 y la prueba de rojo neutro, el sobrenadante de todos los pocillos se transfirió dentro de nuevos pocillos tras la permeabilización de las células. Las células ganglionales en espiral superviviente se mancharon directamente sobre los discos de polímero y se contaron.

Los resultados de viabilidad celular en relación con el control (células sembradas sobre material de placa de cultivo celular a base de poliestireno) se muestran en la figura 1. El crecimiento de fibroblastos sobre P(4HB) era comparable al de sobre silicona mientras que el crecimiento celular de PLLA fue similar al de sobre material de placa de cultivo celular (Figura 1). Los experimentos con células ganglionales en espiral recién aisladas, no mostraron ninguna influencia de polímeros biodegradables sobre la supervivencia celular en comparación con la silicona. Sin embargo, la viabilidad de los SGCs se redujo por un 30 a 40 % sobre todos los tres polímeros en comparación con el
 50 material de placa de cultivo celular (Figura 1).

Estos datos muestran que los fibroblastos NIH-3T3 crecen tanto sobre discos de P(4HB) como sobre silicona. La viabilidad de las células ganglionales en espiral de rata sobre cada material es comparable para los polímeros evaluados.
 65

Ejemplo 4: Viabilidad celular y supervivencia de fibroblastos y células neuronales en presencia de dexametasona y sirolimus

5 Con el fin de evaluar el uso potencial de dexametasona (DMS) y sirolimus (SIR) sobre dispositivos de estimulación implantables, se investigó el efecto de dependencia de dosis de estos dos fármacos sobre la viabilidad de fibroblastos y células ganglionales en espiral.

10 Los fibroblastos NIH-3T3 se cultivaron y evaluaron con rojo neutro según el ejemplo 1, excepto que se añadieron dexametasona o sirolimus al cultivo celular en concentraciones de entre 10^{-12} y 10^{-4} mol/L. El porcentaje de células NIH-3T3 viables se evaluó en relación con el control (sin fármacos) y los resultados se muestran en las figuras 2 (dexametasona) y 3 (sirolimus).

15 Las células ganglionales en espiral se aislaron, cultivaron y cuantificaron como se describe en el ejemplo 2, excepto que se añadieron dexametasona y sirolimus al cultivo celular en concentraciones de entre 10^{-12} y 10^{-4} mol/L. El porcentaje de células de SGC viables se evaluó en relación con el control (sin fármacos) y los resultados se muestran en las figuras 2 (dexametasona) y 3 (sirolimus). La dexametasona no mostró efectos tóxicos sobre la viabilidad células de NIH-3T3 ni de células ganglionales en espiral en las concentraciones y condiciones evaluadas. Por el contrario, la presencia de dexametasona a concentraciones de entre 10^{-11} a 10^{-7} mol/L resultó en aproximadamente un aumento del 20 % de la viabilidad de células ganglionales en espiral (Fig. 2).

20 El sirolimus ejerce solo una pequeña disminución en la viabilidad de células de NIH-3T3 en el intervalo de concentración evaluado. Por el contrario, a una alta concentración de 10^{-5} mol/L, la viabilidad de células ganglionales en espiral se redujo sustancialmente (Fig. 3).

25 Estos datos muestran que la presencia de dexametasona o sirolimus a concentraciones de entre 10^{-12} y 10^{-6} mol/L no tienen un efecto adverso sobre la viabilidad de crecimiento de células de SGC y NIH-3T3 en el cultivo celular.

Ejemplo 5: Activación química de silicona como material del portador de electrodos de IC y aplicación química en mojado de recubrimientos subyacentes de polímeros de PHA

30 La superficie de silicona se activó usando procesos por plasma químico y se derivatizaron a mejorar las adhesiones de polímeros de PHA como sigue.

35 Antes de la activación por plasma químico de la silicona (NuSil MED-4234, NuSil Technology Europe, Mougins, Francia) los discos se enjuagaron con etanol para la limpieza. Las activaciones por plasma químico se llevaron a cabo sobre un sistema de plasma que estaba equipado con un generador de radiofrecuencia de 300 W. Inicialmente, la cámara se evacuó a una presión de 0,09 mbar. A continuación se aplicó una presión de oxígeno (O_2) de 0,30 mbar. El plasma de (O_2) se ejecutó durante 1 minuto a 45 % de energía del generador. Después, la cámara se ventiló con aire. Posteriormente, los discos de silicona activados con plasma de O_2 se sumergieron dentro de una solución (10 % v/v) de 3-aminopropil-trietoxisilano (APTES) en etanol. Los discos se dejaron reaccionar al menos 2 horas a 50 °C. A continuación, los discos de silicona con la superficie químicamente modificada se retiraron de la solución, enjuagaron con etanol y se secaron al vacío a 40 °C. De forma alternativa, podría generarse grupos amino reactivos sobre la superficie de silicona usando un plasma de NH_3 .

45 Para mejorar la adhesión de los recubrimientos de polímero que contienen fármaco a la silicona, se aplicó un recubrimiento subyacente del polímero P(4HB) a la superficie de silicona. Las superficies de silicona modificadas químicamente o por plasma de antes se activaron y unieron con P(4HB) mediante inmersión de los discos de silicona dentro de una solución de N-hidroxisuccinimida, 1-[3-(dimetilamino) propil]-3-etilcarbodiimida hidrocloreto (1,8 g/L) y P(4HB) (18,2 g/L) en 1,2-dicloroetano ($EtCl_2$) y agitado durante 8 h a 55 °C. Después, las muestras de silicona se enjuagaron con $EtCl_2$ y secaron en una cabina de secado al vacío a 40 °C durante al menos 16 h.

Ejemplo 6: Recubrimiento de silicona con composiciones de fármaco de polímero de PHA

55 Los recubrimientos de polímero que contienen fármacos se aplicaron a fibras de silicona usando un dispositivo de recubrimiento por pulverización fabricado por el IIB e.V. (Instituto de Tecnología de implantes y Biomateriales, Rostock-Warnemünde, Alemania). Las soluciones de pulverización contenían 2,3 g/L de P(4HB) en 1,2-dicloroetano. A la solución de polímeros se añadió una solución de dexametasona en metanol (15 g/L) para proporcionar un polímero a la relación de dexametasona de 70/30 o 85/15 (% p/p). A cada fibra se aplicó un recubrimiento de polímero/fármaco con una masa absoluta de ~225 µg. Las fibras se secaron en un desecador durante al menos 24 horas a 40 °C. La masa del recubrimiento de polímero/fármaco se determinó mediante el uso de una Ultra-micro báscula MettlerToledo UMX 5.

65 Estudios de microscopio electrónico de barrido ambiental (ESEM) de las fibras de silicona recubiertas con polímero mostraron que la fibra recubierta con P(4HB) tiene un aspecto de superficie más suave que la fibra de silicona no recubierta.

Ejemplo 7: Liberación de fármacos *in vitro* a partir de recubrimientos de fármacos de polímeros de PHA en condiciones casi estacionarias

5 Para evaluar la liberación *in vitro* de dexametasona a partir de recubrimientos de P(4HB)/DMS, se realizaron estudios sobre la liberación de fármacos *in vitro* usando un modelo de liberación casi estacionario para la simulación de las condiciones del oído interno.

10 Se colocó un disco de silicona recubierto con P(4HB) que contenía DMS (preparado como se describe en el ejemplo 6) en un vial de vidrio cerrado que contenía 500 μL de cloruro sódico isotónico (NaCl, 0,9 %) como el medio de elución. El vial se colocó dentro de un horno a 37 °C sin agitación. Tras un periodo de tiempo determinado, se retiraron 100 μL del medio de elución del vial y se sometió a análisis HPLC sobre una columna Chromolith® FastGradient RP-18e 50-2. Para realizar la cromatografía, se ejecutó isocráticamente una mezcla (50/50 % v/v) de metanol y agua ultra pura ($\sigma = 0,05 \mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C) a 23 °C como fase móvil. El caudal era de 0,4 ml/min y la longitud de onda de detección se ajustó a 254 nm. Los estándares de dexametasona se usaron con concentraciones de 0,1, 0,5, 1,0, 2,0, 5,0 y 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la calibración. Otros 100 μL de solución de NaCl isotónica se suministraron dentro del vial de cristal para recargar el medio de elución y el vial se colocó de nuevo en el horno. Las muestras se retiraron y analizaron como anteriormente sobre 400 horas. En las primeras 24 h, los recubrimientos de P(4HB)-DMS mostraron una liberación de explosión diferente en donde se liberaron de 35 a 40 μg del DMS incorporado. Puesto que la cantidad de fármaco contenida en el recubrimiento con 15 % de DMA estaba casi agotada después de este tiempo, la última liberación de fármaco fue mínima para este recubrimiento. Por el contrario, el recubrimiento (30 % de DMS) de P(4HB) con más carga mostró una liberación continuada más allá de la fase de liberación de explosión inicial extendiéndose hasta al menos 120 h antes de que el fármaco se agotase (Fig. 4).

25 Estos datos mostraron un perfil de liberación prolongado de DMA a partir del recubrimiento de P(4HB)/DMS y que todo el fármaco se libera del recubrimiento.

Ejemplo 8: Implantación simulada de IC recubierto con fármacos de polímero de PHA

30 Para evaluar la adhesión y estabilidad mecánica de recubrimientos de P(4HB)/DMS sobre el portador de electrodo a base de silicona del IC, se simuló el proceso de implantación usando un explante humano de la parte petrosa del hueso temporal.

35 Para la implantación simulada, se usó CI Nucleus® 24 Contour Advance™ Practice Electrodes (Cochlear Ltd, Lane Cove, NSW, Australia). Se aplicó un recubrimiento de polímero de 200 μg que contenía P(4HB)/DMS 85/15 (% p/p) se al implante. El IC recubierto se introdujo dentro de la cavidad timpánica y se insertó dentro de la cóclea a través de la venta oval. Posteriormente, el IC se retiró. La morfología superficial se inspeccionó antes y después del proceso de implantación mediante ESEM.

40 El procedimiento de implantación simulado no dañó el recubrimiento de P(4HB)/DMS 85/15 (% p/p) sobre el IC. La examinación con ESEM mostró que el recubrimiento recubrió completamente el IC antes y después del procedimiento de implantación simulado. Después de la implantación alguna contaminación es visible sobre la superficie, pero a parte de algunas pequeñas arrugas en el recubrimiento de P(4HB), el recubrimiento permaneció intacto.

45 Estos datos muestran que el recubrimiento de P(4HB)/DMS es robusto y permanece intacto durante un procedimiento de implantación simulado.

Ejemplo 9: Activación química de silicona que contiene DMS como material del portador de electrodos de IC y aplicación química en mojado de recubrimientos subyacentes de polímeros de PHA

50 La superficie de silicona se activó usando procesos por plasma químico y se derivatizaron a mejorar las adhesiones de polímeros de PHA como sigue.

55 Antes de la activación por plasma químico de la silicona que contiene DMS (NuSil MED-4234, NuSil Technology Europe, Mougins, Francia) los discos se enjuagaron con etanol para la limpieza. Las activaciones por plasma químico se llevaron cabo sobre un sistema de plasma que estaba equipado con un generador de radiofrecuencia de 300 W. Inicialmente, la cámara se evacuó a una presión de 0,09 mbar. A continuación se aplicó una presión de amonio (NH_3) de 0,3 mbar. El plasma de NH_3 se ejecutó durante 1 minuto a 15 % de energía del generador. Después, la cámara se ventiló con aire.

60 Para mejorar la adhesión de los recubrimientos de polímero que contienen fármaco a la silicona cargada con DMS, se aplicó un recubrimiento subyacente del polímero P(4HB) a la superficie de silicona. Las superficies de silicona modificadas por plasma de antes se activaron y unieron con P(4HB) mediante inmersión de los discos de silicona dentro de una solución de N-hidroxisuccinimida, 1-[3-(dimetilamino) propil]-3-etilcarbodiimida hidroclicloruro (1,8 g/L) y P(4HB) (18,2 g/L) en EtCl_2 y agitado durante 5 min a 55 °C. Después, las muestras de silicona se enjuagaron con EtCl_2 y secaron en una cabina de secado al vacío a 40 °C durante al menos 16 h.

Ejemplo 10: Liberación de fármacos *in vitro* a partir de recubrimientos de fármacos de polímero de PHA en condiciones casi estacionarias

5 Para evaluar la liberación de fármacos *in vitro* a partir de portadores de silicona que contienen DMS equipados con recubrimientos de P(4HB)/DMS, se realizaron estudios sobre la liberación de fármacos *in vitro* usando un modelo de liberación casi estacionario para la estimulación de las condiciones del oído interno.

10 La liberación de fármacos *in vitro* se llevó a cabo como se describe en el ejemplo 7 durante un periodo de 45 días. En las primeras 24 h, el portador de silicona que contiene DMS con recubrimientos de P(4HB)-DMS mostraron una liberación de explosión diferente en donde se liberaron de 34 a 48 µg del DMS incorporado.

15 Los portadores de silicona con un 1 % de DMS casi se agotó después de la fase de liberación de explosión inicial, mientras que los portadores de silicona que contenían un 5 % de DMS mostraron una liberación continuada más allá de la fase de liberación de explosión inicial extendiéndose al menos 45 días. En cada caso, la cantidad de DMS liberada absoluta depende principalmente de la composición de los recubrimientos de P(4HB)/DMS (Figura 5).

Ejemplo 11: Biofuncionalización de portadores de silicona que contienen recubrimientos de fármaco de polímero de PHA

20 Se activaron portadores de silicona que contenía recubrimientos de fármaco de polímero P(4HB) usando procesos por plasma químico y se funcionalizaron adicionalmente con un factor de crecimiento nervioso, tal como factor neurotrófico derivado del cerebro (FNDK).

25 Antes de la activación por plasma químico, los discos (preparados como se describe en el ejemplo 6) de silicona recubiertos con P(4HB) que contienen DMS se enjuagaron con etanol para la limpieza. Las activaciones por plasma químico se llevaron cabo sobre un sistema de plasma que estaba equipado con un generador de radiofrecuencia de 300 W. Inicialmente, la cámara se evacuó a una presión de 0,09 mbar. A continuación se aplicó una presión de amonio (NH₃) de 0,3 mbar. El plasma de NH₃ se ejecutó durante 3 minutos a 60 % de energía del generador. Después, la cámara se ventiló con aire. De manera alternativa, se podrían generar grupos de oxígeno reactivo
30 usando plasma de O₂ (6 minutos a 40 % energía de generador). Los discos de silicona recubiertos con P(4HB) que contienen DMS activados resultantes se colocaron en un vial de cristal cerrado que contenía 4 ml BDNF (1000 ng/L) in Diluent B (RayBio®, Human BDNF ELISA Kit). Los discos se agitaron durante 16 h a 4 °C. Después, las muestras de silicona se enjuagaron con una solución de Tween 20 (0,05 % (p/p)) en solución salina tamponada con fosfato y se almacenó a -20 °C. El contenido de BDNF sobre los discos de silicona recubiertos con P(4HB) se cuantificó
35 usando una prueba de inmunoabsorción enzimática (RayBio®, Human BDNF ELISA Kit).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un dispositivo de estimulación neuronal implantable que comprende un polímero de polihidroxialcanoato (PHA), un fármaco y una superficie de silicona, **caracterizado por que** el polímero de PHA tiene un peso molecular ponderado medio de entre 50.000 y 1.200.000 en relación con los controles de poliestireno, y el polímero de PHA y el fármaco están recubiertos sobre una superficie de silicona activada por plasma de modo que el recubrimiento de polímero de PHA imparte lubricidad al dispositivo durante la implantación.
- 10 2. El dispositivo de la reivindicación 1 que se puede obtener mediante un proceso que comprende tratar previamente la superficie de silicona activada por plasma del dispositivo para unir un recubrimiento subyacente de polímero de PHA, como un cebador, a la superficie y, a continuación del mismo aplicar un recubrimiento del polímero de PHA con el fármaco incorporado.
- 15 3. El dispositivo de la reivindicación 1 en el que el polímero de PHA es poli(4-hidroxibutirato) o un copolímero del mismo.
- 20 4. El dispositivo de la reivindicación 2 en el que el polímero de PHA en el recubrimiento subyacente y/o el recubrimiento de polímero de PHA en el que está incorporado el fármaco es poli(4-hidroxibutirato) o un copolímero del mismo.
- 25 5. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, en el que el polímero de PHA se aplica al dispositivo de estimulación implantable mediante recubrimiento por pulverización o recubrimiento por inmersión.
- 30 6. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, en el que el fármaco se selecciona a partir del grupo que comprende agentes antiinflamatorios, agentes antiproliferativos, agentes anti-apoptosis, antibióticos, factores neurotróficos y agentes de genoterapia.
- 35 7. El dispositivo de la reivindicación 6 en el que el fármaco es dexametasona o sirolimus.
- 40 8. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, en donde el dispositivo es un implante coclear.
- 45 9. Un método de producción de un dispositivo de estimulación implantable que comprende un polímero de polihidroxialcanoato (PHA) y un fármaco sobre una superficie de silicona, en el que la silicona del dispositivo de estimulación implantable se activa con plasma, se derivatiza y se recubre por pulverización o inmersión con una solución de polímero de PHA que contiene el fármaco, para producir de este modo el dispositivo de estimulación implantable que tiene un recubrimiento de polímero de PHA de modo que el recubrimiento de polímero de PHA imparte lubricidad al dispositivo durante la implantación.
- 50 10. El método de la reivindicación 9, que comprende adicionalmente la etapa de tratamiento previo de la superficie de silicona activada por plasma con un recubrimiento subyacente de polímero de PHA, antes de recubrir por pulverización o por inmersión el dispositivo con una solución de polímero de PHA que contiene el fármaco.
11. El método de las reivindicaciones 9 o 10, en el que el dispositivo producido de este modo es un dispositivo como se define por una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
12. El uso de un polímero de polihidroxialcanoato (PHA) que tiene un peso molecular ponderado medio de entre 50.000 y 1.200.000 en relación con los controles de poliestireno, para mejorar la lubricidad de la superficie de un dispositivo de estimulación neuronal implantable, en donde el dispositivo de estimulación neuronal implantable comprende una superficie de silicona y en donde el uso comprende recubrir la superficie de silicona con el polímero de PHA, en donde opcionalmente el recubrimiento de polímero de PHA contiene adicionalmente un fármaco.

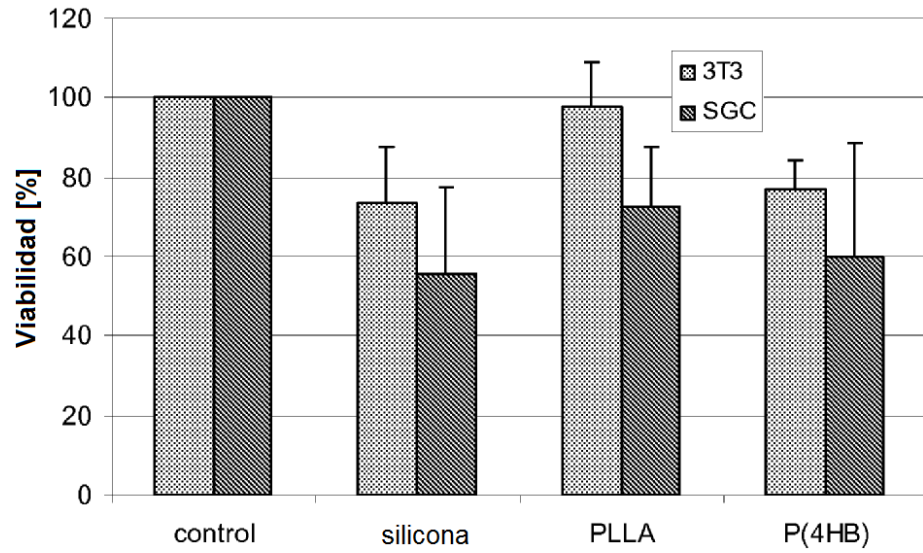


Figura 1

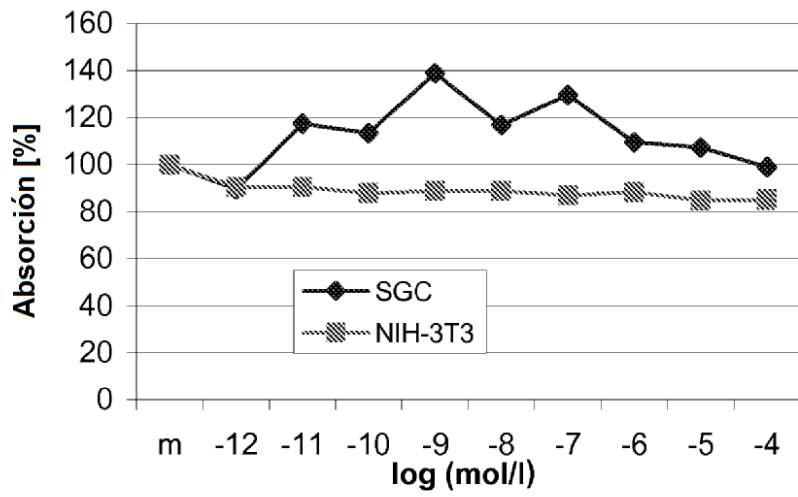


Figura 2

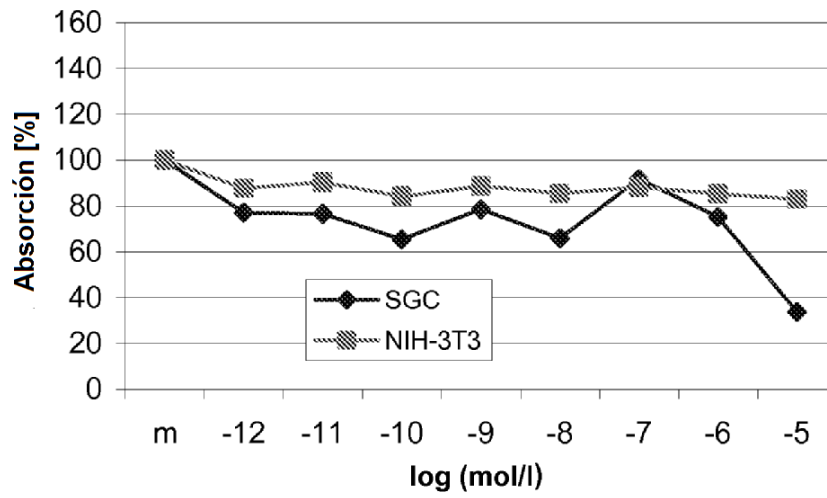


Figura 3

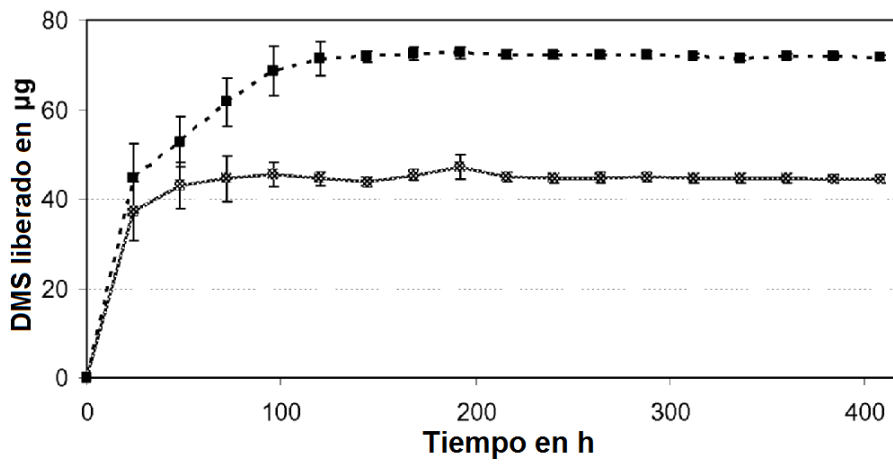


Figura 4

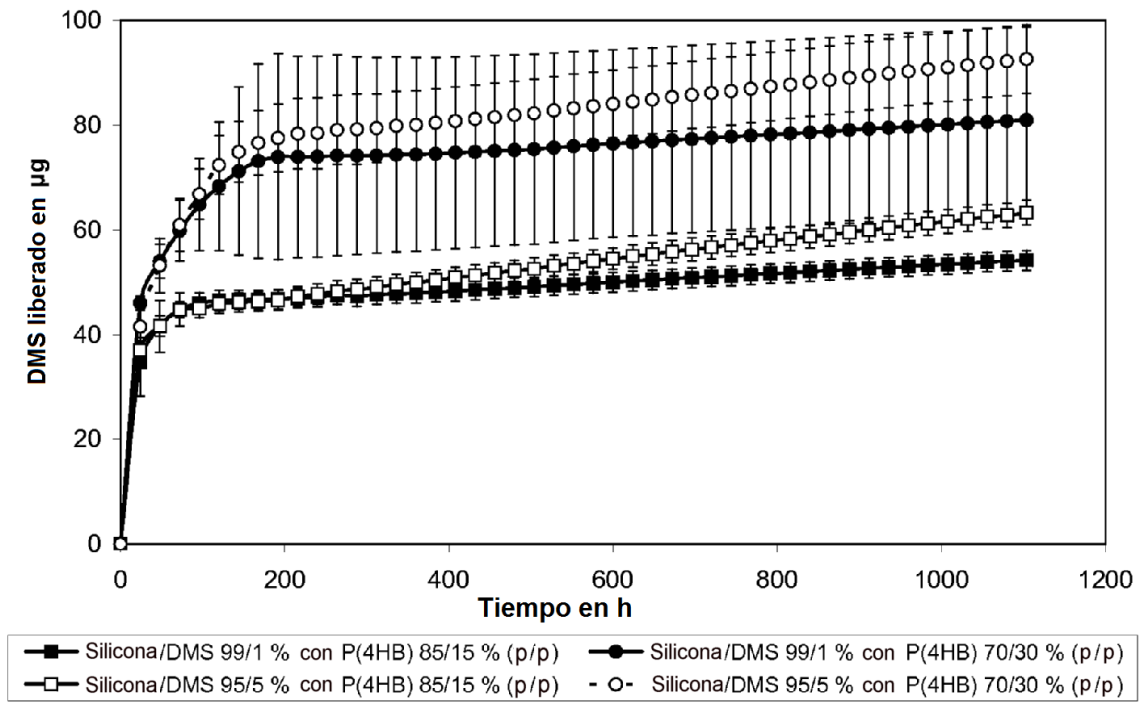


Figura 5