



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 811**

51 Int. Cl.:
A61K 38/04 (2006.01)
A61K 31/336 (2006.01)
A61K 31/396 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05853385 .2**
96 Fecha de presentación : **07.12.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1819353**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.08.2007**

54 Título: **Composición para inhibición de proteasoma.**

30 Prioridad: **07.12.2004 US 634366 P**
23.02.2005 US 655930 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.06.2011

73 Titular/es: **PROTEOLIX, Inc.**
230 East Grand Avenue, Suite A
South San Francisco, California 94080, US

72 Inventor/es: **Lewis, Evan R.;**
Ho, Mark Nguyen y
Fonseca, Fabiana N.

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 360 811 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

Composición para inhibición de proteasoma

Antecedentes de la Invención

5 El proteasoma se ha validado como una diana terapéutica, como se ha demostrado mediante la aprobación reciente de la FDA de bortezomib, un inhibidor de proteasoma de ácido borónico, para el tratamiento de mieloma múltiple. Sin embargo, otros inhibidores más altamente específicos de proteasoma que podrían tener menos efectos secundarios tóxicos se han descubierto recientemente. Estos compuestos incluyen epoxi cetonas de péptidos tales como epoxomicina y péptido (b) descrito en la Patente de Estados Unidos N° 6.831.099 y el péptido (a) descrito en la Solicitud Provisional de los Estados Unidos N° 60/569.096, presentada el 7 de mayo de 2004 publicada como el documento WO 10 2005105827. Sin embargo, la baja solubilidad acuosa de algunos de estos compuestos hace difícil formular composiciones con biodisponibilidad óptima. Por tanto, se necesitan procedimientos adicionales de formulación de epoxi cetonas de péptido.

15 Los inhibidores de proteasoma peptídicos se describen en Elofsson M. y col.: Chemistry and Biology, Current Biology, Londres, GB, volumen 6, n° 11, 1995, páginas 811-822; Myung J. y col.: Molecular Cell, febrero de 2001, volumen 7, n° 2, febrero de 2001 (2001-02), páginas 411-420, Sin N. y col.: Bioorg. Med. Chem. Lett., 1999, Vol. 9, páginas 2283-2288 y en el documento WO01/28579.

20 Loftsson T. y col., J. Pharm. Sc., 1996, Vol. 85, páginas 1017-1025 y Thompson, D.O., Crit. Rev. Ther. Drug, Corr. Syst., 1997, Vol. 14, páginas 1-104 proporciona visiones de conjunto sobre aplicaciones farmacéuticas de ciclodextrinas. Strickley, G. R., Pharm. Res., 2004, 21(2), páginas 201-229 y Tong W. en: "Water Insoluble Drug Formation", R Lin, Ed., 2000, páginas 111-139 describe enfoques para la solubilización de compuestos de fármaco.

Sumario de la invención

Ahora se ha descubierto que la solubilidad de los inhibidores de proteasoma, tales como la epoxi cetona de péptido (a) como se define más adelante se mejora significativamente cuando se formulan con una ciclodextrina.

25 En una realización, la presente invención es una composición farmacéutica como se define en las reivindicaciones adjuntas que incluye el inhibidor de proteasoma (a), una ciclodextrina y opcionalmente un tampón. Tales composiciones farmacéuticas típicamente incluyen una cantidad farmacéuticamente eficaz del inhibidor de proteasoma, por ejemplo, que mejora los efectos de enfermedades neurodegenerativas (tal como enfermedad de Alzheimer), afecciones inmunológicas, enfermedades degenerativas del músculo, cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, enfermedad muscular, denervación, lesión de nervios y/o ayuno, entre otros, cuando se administra a un paciente.

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones antiinflamatorias que incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de inhibidor de proteasoma (a), una ciclodextrina y opcionalmente un tampón como se define en las reivindicaciones adjuntas.

35 Las composiciones de la invención son adecuadas para procedimientos que implican administrar o poner en contacto a un sujeto, una célula, un tejido, un órgano o un organismo con una cantidad eficaz de dicha composición. Estos procedimientos incluyen, aunque no están limitados a, inhibir o reducir infección por VIH en un sujeto; influir sobre el nivel de expresión génica viral en un sujeto; alterar la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma en un organismo; determinar si un proceso celular, de desarrollo o fisiológico o producción en un organismo está regulado por la actividad proteolítica de una hidrolasa Ntn particular; tratar enfermedad de Alzheimer en un sujeto; reducir el índice de degradación de proteínas en el músculo en una célula; reducir el índice de degradación de proteína intracelular en una célula; reducir el índice de degradación de proteína p53 en una célula; inhibir el crecimiento de cánceres relacionados con p53 en un sujeto; inhibir la presentación de antígeno en una célula; suprimir el sistema inmune de un sujeto (por ejemplo, afecciones tales como choque séptico, psoriasis, rechazo de injerto y artritis reumatoide); inhibir la degradación de I κ B- α en un organismo; reducir el contenido de NF- κ B en una célula, músculo, órgano o sujeto; influir sobre los ciclos celulares eucariotas dependientes de ciclina; tratar enfermedad proliferativa en un sujeto; influir sobre la regulación dependiente de proteasoma de oncoproteínas en una célula; tratar el crecimiento de cáncer en un sujeto; tratar apoptosis relacionada con p53 en un sujeto; y seleccionar proteínas procesadas por hidrolasas con nucleófilo N-terminal en una célula.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y de las reivindicaciones.

50 El péptido (a) se define en la reivindicación 1.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la solubilidad de péptido (a) a diversos valores de pH en soluciones acuosas de sulfobutil éter beta-ciclodextrina (SBECD) al 10% (p/v)/citrato de sodio 10 mM.

La Figura 2 muestra el porcentaje de péptido (a) restante en soluciones acuosas de SBECD al 10% (p/v)/citrato de sodio 10 mM a lo largo del tiempo a diversos valores de pH.

Descripción Detallada

5 Las composiciones farmacéuticas de la invención como se define en las reivindicaciones adjuntas incluyen un inhibidor de proteasoma prácticamente insoluble, una ciclodextrina y opcionalmente un tampón.

10 La cantidad de inhibidor de proteasoma que se puede solubilizar depende de varios parámetros. Un parámetro de este tipo es el pH. Como se muestra en la Figura 1, pH más elevados dan como resultado una solubilidad más baja de un compuesto básico y un pH más bajo se esperaría que disminuyera la solubilidad de un compuesto ácido, como se conoce bien en la técnica. Sin embargo, se debe seleccionar un pH para proporcionar estabilidad adecuada al inhibidor de proteasoma. Por ejemplo, el pH más bajo da como resultado la estabilidad química disminuida de un compuesto de este tipo, como se demuestra en la Figura 2. Los efectos del pH sobre la estabilidad y solubilidad de un compuesto se pueden determinar fácilmente usando procedimientos ampliamente conocidos en la técnica y descritos en el presente documento. Para formulaciones que se tienen que administrar a un mamífero, el pH preferentemente es de pH 2,5 a pH 9.

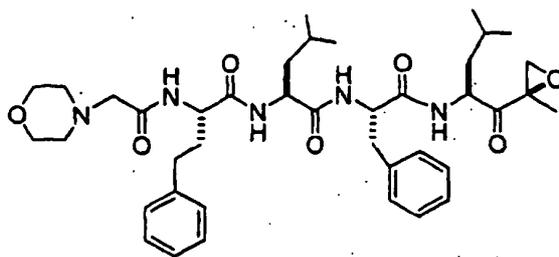
15 En muchas composiciones de la invención, la fuente principal de control de pH es el tampón. Típicamente, el tampón se presenta como un ácido o una base y su base o ácido conjugado, respectivamente. En una realización, el intervalo de sal tampón es 1-100 mM, preferentemente entre 5-50 mM, más preferentemente aproximadamente 10 mM (en formulaciones sólidas, la cantidad de tampón se selecciona para producir esta concentración después de la reconstitución/dilución). La concentración de tampón y el pH de la solución se escogen provechosamente para proporcionar un equilibrio óptimo de solubilidad y estabilidad.

Los ejemplos de tampones adecuados incluyen mezclas de ácidos débiles y sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio) de la base conjugada de ácidos débiles tales como tartrato de sodio y citrato de sodio. El tampón preferido es citrato de sodio/ácido cítrico.

25 Las ciclodextrinas de la invención son hidroxipropil beta-ciclodextrina (HPBCD) y sulfobutiléter beta-ciclodextrina (SBECD), preferentemente SBECD. En una realización, la ciclodextrina está presente, por ejemplo, desde el 5-20% (p/v). En una realización determinada, la cantidad preferida de una ciclodextrina es aproximadamente el 10% (p/v). Las ciclodextrinas sustituidas aumentan la solubilidad de la ciclodextrina y alivian los efectos tóxicos asociados con ciclodextrinas no sustituidas.

30 Una realización particular de la presente invención es una formulación farmacéutica que comprende de 1 a 5 mg/ml del inhibidor de proteasoma (a), del 5% al 25% (p/v) de una ciclodextrina seleccionada entre HPBCD o SBECD y 5 mM a 20 mM de un tampón que produce un pH de aproximadamente pH 3 a aproximadamente pH 6, por ejemplo, una solución de 2 mg/ml del inhibidor de proteasoma (péptido (a)), SBECD al 10% (p/v), citrato de sodio 10 mM, pH 3,5.

El inhibidor de proteasoma (a) tiene la siguiente estructura:



35 *Dispositivos Médicos*

Las composiciones de acuerdo con la invención se pueden incluir en un dispositivo médico. En una realización, la composición se incorpora dentro de un dispositivo médico. En determinadas realizaciones, el dispositivo médico es un gel que comprende una matriz de polímero o una matriz cerámica y un inhibidor. Dicho polímero puede ser de origen natural o sintético. En otra realización, dichos geles sirven como un fármaco de liberación prolongada, un adhesivo, una sutura, una barrera o un sellador.

Otro aspecto se refiere a un dispositivo médico que comprende un sustrato que tiene una superficie sobre la cual se dispone una composición de la presente invención. En una realización, el inhibidor se dispone directamente sobre un dispositivo médico. En otra realización, también se dispone un revestimiento, comprendiendo el revestimiento una matriz de polímero o matriz cerámica con una composición de la presente invención dispersa o disuelta en la misma.

45 En una realización, el dispositivo médico es una endoprótesis vascular coronaria, vascular, periférica o biliar. Más

particularmente, la endoprótesis vascular de la presente invención es una endoprótesis vascular expandible. Cuando se reviste con una matriz que contiene una composición de la invención, la matriz es flexible para adaptarse a los estados comprimido y expandido de una endoprótesis vascular expandible de este tipo. En otra realización, la endoprótesis vascular tiene al menos una parte que es insertable o implantable en el cuerpo de un paciente, en la que la parte tiene una superficie que está adaptada para exposición a tejido corporal y en la que al menos una parte de la superficie está revestida con una composición de la invención o un revestimiento que comprende una matriz que tiene una composición de la invención se dispersa o disuelve en la misma. Un ejemplo de una endoprótesis vascular adecuada se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.733.665.

En otra realización, el dispositivo médico es un implemento quirúrgico tal como un implante vascular, un dispositivo intraluminal, un sellador quirúrgico o un soporte vascular. Más particularmente, el dispositivo médico es un catéter, un puerto de acceso vascular implantable, un catéter venoso central, un catéter arterial, un injerto vascular, un balón de contrapulsación intraaórtico, una sutura, una bomba de ayuda ventricular, una barrera de elución de fármaco, un adhesivo, una envoltura vascular, un soporte extra/perivascular, un filtro sanguíneo o un filtro adaptado para despliegue en un vaso sanguíneo, revestido con una composición de la invención directamente o mediante una matriz que contiene una composición de la invención.

En determinadas realizaciones, el dispositivo médico intraluminal se reviste con una composición de la invención o un revestimiento que comprende una matriz biológicamente tolerada y una composición de la invención dispersa en el polímero, teniendo dicho dispositivo una superficie interior y una superficie exterior, que tiene el revestimiento aplicado a al menos una parte de la superficie interior, la superficie exterior o ambas.

En determinadas realizaciones, el dispositivo médico puede ser útil para prevenir reestenosis después de la angioplastia. El dispositivo médico también puede ser útil para el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones proporcionando administración localizada de una composición de la invención. Tales enfermedades y afecciones incluyen reestenosis, inflamación, artritis reumatoide, lesión de tejido debido a inflamación, enfermedades hiper proliferativas, psoriasis grave o artrítica, enfermedades degenerativas del músculo, enfermedades infecciosas crónicas, respuesta inmune anormal, afecciones que implican placas vulnerables, lesiones relacionadas con afecciones isquémicas e infección y proliferación viral. Los ejemplos de enfermedades y afecciones que están sujetos a tratamiento que incluyen los dispositivos médicos revestidos con fármacos de la presente invención incluyen aterosclerosis, síndrome coronario agudo, enfermedad de Alzheimer, cáncer, fiebre, desuso muscular (atrofia), denervación, oclusiones vasculares, apoplejía, infección por VIH, lesión del nervio, insuficiencia renal asociada con acidosis e insuficiencia hepática. Véase, por ejemplo, Goldberg, la Patente de Estados Unidos N° 5.340.736.

Como se usa en el presente documento, el término "inhibidor" tiene por objeto describir un compuesto que bloquea o reduce una actividad de una enzima (por ejemplo, inhibición de escisión proteolítica de sustratos de péptidos fluorogénicos convencionales tales como suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC y Z-LLE-AMC, inhibición de diversas actividades catalíticas del proteasoma 20S). Un inhibidor puede actuar con inhibición competitiva, acompetitiva o no competitiva. Un inhibidor se puede unir reversiblemente o irreversiblemente y por lo tanto el término incluye compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios en o cerca del sitio activo de la enzima o el mismo puede provocar un cambio conformacional en otro sitio en la enzima.

Como se usa en el presente documento, el término "péptido" incluye no sólo el enlace amida convencional con sustituyentes α convencionales, sino peptidomiméticos utilizados comúnmente, otros enlaces modificados, cadenas laterales que no son de origen natural y modificaciones de cadena lateral, como se detalla en el presente documento.

Los términos "policíclico" o "policíclico" se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos y/o heterocíclicos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos unidos, por ejemplo, los anillos son "anillos fusionados". Cada uno de estos anillos del policíclico puede ser sustituido o no sustituido.

La expresión "prácticamente insoluble" se refiere a inhibidores de proteasoma que generalmente tienen una solubilidad menor de 0,1 mg/ml en agua. La invención también abarca inhibidores de proteasoma que tienen una solubilidad en agua menor de 0,05 mg/ml e incluso menor de 0,01 mg/ml.

El término "prevenir" se reconoce en la técnica y cuando se usa en relación con una afección, tal como una recidiva local (por ejemplo, dolor), una enfermedad tal como cáncer, un síndrome complejo tal como insuficiencia cardíaca o cualquier otra afección médica, se comprende bien en la técnica e incluye la administración de una composición que reduce la frecuencia o retrasa la aparición de síntomas de una afección médica en un sujeto con relación a un sujeto que no recibe la composición. Por tanto, la prevención de cáncer incluye, por ejemplo, reducir el número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico con relación a una población de control no tratada y/o retrasar la aparición de crecimientos cancerosos detectables en una población tratada frente a una población de control no tratada, por ejemplo, mediante una cantidad estadísticamente y/o clínicamente significativa. La prevención de una infección incluye, por ejemplo, reducir el número de diagnósticos de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada y/o retrasar la aparición de síntomas de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada. La prevención de dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o como alternativa retrasar, las sensaciones de

dolor experimentadas por sujetos en una población tratada frente a una población de control no tratada.

La expresión tratamiento “profiláctico o terapéutico” se reconoce en la técnica e incluye la administración al huésped de una o más de las composiciones objeto. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección indeseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado indeseado del animal huésped) entonces el tratamiento es profiláctico, (es decir, el mismo protege al huésped frente al desarrollo de la afección indeseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la afección indeseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, tiene por objeto disminuir, mejorar o estabilizar la afección indeseada existente o los efectos secundarios de la misma).

El término “proteasoma” como se usa en el presente documento tiene por objeto incluir inmunoproteasomas y proteasomas constitutivos.

Una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto con respecto al procedimiento objeto de tratamiento, se refiere a una cantidad del compuesto o los compuestos en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación deseado (a un mamífero, preferentemente un ser humano) alivia un síntoma, mejora una afección o ralentiza la aparición de afecciones patológicas de acuerdo con normas clínicamente aceptables para el trastorno o afección que se tiene que tratar o el fin cosmético, por ejemplo, a una proporción razonable de beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico.

El término “tioéter” se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que tiene un resto de azufre unido al mismo. En realizaciones preferidas, el “tioéter” se representa mediante -S-alquilo. Los grupos tioéter representativos incluyen metiltio, etiltio y similares.

Como se usa en el presente documento, el término “tratar” o “tratamiento” incluye invertir, reducir o detener los síntomas, signos clínicos y patología subyacente de una afección de manera de mejorar o estabilizar la condición de un sujeto.

Usos de Composiciones

- Las consecuencias biológicas de la inhibición de proteasoma son numerosas. La inhibición de proteasoma se ha sugerido como una prevención y/o tratamiento de una multitud de enfermedades incluyendo, pero sin limitación, enfermedades proliferativas, enfermedades neurotóxicas/degenerativas, Alzheimer, afecciones isquémicas, inflamación, enfermedades autoinmunes, VIH, cánceres, rechazo de injerto de órganos, choque séptico, inhibición de presentación de antígenos, reducción de expresión génica viral, infecciones parasitarias, afecciones asociadas con acidosis, degeneración macular, afecciones pulmonares, enfermedades degenerativas del músculo, enfermedades fibróticas, enfermedades de crecimiento de huesos y pelo. Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas para compuestos muy potentes específicos de proteasoma, tales como la clase de moléculas de cetona epoxi, proporcionan un medio para administrar el fármaco al paciente y tratar estas afecciones.

A nivel celular, la acumulación de proteínas poliubiquitinadas, los cambios morfológicos celulares y la apoptosis se han informado tras el tratamiento de células con diversos inhibidores de proteasoma. La inhibición de proteasoma también se ha sugerido como una posible estrategia terapéutica antitumoral. El hecho de que la epoxomicina se identificó inicialmente en una exploración para compuestos antitumorales valida el proteasoma como una diana quimioterapéutica antitumoral. Por consiguiente, estas composiciones son útiles para tratar el cáncer. La inhibición de proteasoma también se ha asociado con inhibición de activación de NF- κ B y estabilización de niveles de p53. Por tanto, las composiciones de la invención también se pueden usar para inhibir la activación de NF- κ B y estabilizar los niveles de p53 en cultivo celular. Ya que NF- κ B es un regulador clave de la inflamación, es una diana atractiva para la intervención terapéutica antiinflamatoria. Por lo tanto, las composiciones de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento de afecciones asociadas con inflamación, incluyendo, aunque sin limitación, EPOC, psoriasis, bronquitis, enfisema y fibrosis quística.

Las composiciones descritas se pueden usar para tratar afecciones mediadas directamente por la función proteolítica del proteasoma tales como desgaste muscular o mediadas indirectamente a través de proteínas que se procesan por el proteasoma tales como NF- κ B. El proteasoma participa en la eliminación rápida y el procesamiento postraduccionales de proteínas (por ejemplo, enzimas) implicadas en la regulación celular (por ejemplo, ciclo celular, transcripción génica y rutas metabólicas), comunicación intercelular y la respuesta inmune (por ejemplo, presentación de antígenos). Los ejemplos específicos descritos más adelante incluyen proteína β -amiloides y proteínas reguladoras tales como ciclinas y factor de transcripción NF- κ B.

Las composiciones descritas en el presente documento se pueden usar para el tratamiento de enfermedades y afecciones neurodegenerativas, incluyendo, aunque sin limitación, apoplejía, daño isquémico al sistema nervioso, trauma neural (por ejemplo, daño cerebral percusivo, lesión de médula espinal y daño traumático al sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías mediadas por el sistema inmune (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda y Síndrome de Fisher), complejo de demencia VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, parasitaria, fúngica y viral, encefalitis, demencia vascular,

demencia multiinfarto, demencia por cuerpos de Lewy, demencia de lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tales como Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tales como afasia primaria), demencias tóxicas metabólicas (tales como hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12) y demencias provocadas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

5 La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por depósitos extracelulares de proteína β -amiloide (β -AP) en placas seniles y vasos cerebrales. β -AP es un fragmento peptídico de 39 a 42 aminoácidos obtenido a partir de un precursor de proteína amiloide (APP). Se conocen al menos tres isoformas de APP (695, 751 y 770 aminoácidos). El corte y empalme alternativo de ARNm genera las isoformas; el procesamiento normal influye en una parte de la secuencia de β -AP, evitando de ese modo la generación de β -AP. Se cree que el procesamiento de proteína anormal mediante el
10 proteasoma contribuye a la abundancia de β -AP en el cerebro con Alzheimer. La enzima de procesamiento de APP en ratas contiene aproximadamente diez subunidades diferentes (22 kDa-32 kDa). La subunidad de 25 kDa tiene una secuencia N-terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que es idéntica a la subunidad β de macropaína humana (Kojima, S. y col., Fed Eur. Biochem. Soc., (1992) 304: 57-60). La enzima de procesamiento de APP escinde en el enlace Gln¹⁵-Lys¹⁶, en presencia del ión calcio, la enzima también escinde en el enlace Met¹-Asp¹ y en los enlaces Asp¹-Ala² para liberar el dominio extracelular de β -AP.
15

Por lo tanto, las composiciones de la invención son adecuadas para un procedimiento para tratamiento de enfermedad de Alzheimer, que incluye administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una composición descrita en el presente documento. Tal tratamiento incluye reducir el índice de procesamiento de β -AP, reducir el índice de formación de placas de β -AP, reducir el índice de generación de β -AP y reducir los signos clínicos de enfermedad de Alzheimer.

20 Otras indicaciones para las composiciones de la invención se refieren a caquexia y enfermedades degenerativas del músculo. El proteasoma degrada muchas proteínas en reticulocitos en maduración y fibroblastos en crecimiento. En células privadas de insulina o suero, el índice de proteólisis casi se duplica. Inhibir el proteasoma reduce la proteólisis, reduciendo de ese modo tanto la pérdida de proteína muscular como la carga de nitrógeno en los riñones o hígado. Los inhibidores de la invención son útiles para tratar afecciones como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, desuso muscular (atrofia) y denervación, lesión del nervio, ayuno, insuficiencia renal asociada con acidosis e insuficiencia hepática. Véase, por ejemplo, Goldberg, Patente de Estados Unidos N° 5.340.736. Por lo tanto, las composiciones de la invención son útiles para: reducir el índice de degradación de proteína muscular en una célula; reducir el índice de degradación de proteína intracelular; reducir el índice de degradación de proteína p53 en una célula e inhibir el crecimiento de cánceres relacionados con p53. Cada uno de estos procedimientos incluye poner en contacto
25 una célula (*in vivo* o *in vitro*, por ejemplo, un músculo en un sujeto) con una cantidad eficaz de una composición farmacéutica desvelada en el presente documento.
30

La fibrosis es la formación excesiva y persistente de tejido cicatricial que se produce como resultado del crecimiento hiperproliferativo de fibroblastos y está asociada con la activación de la ruta de señalización de TGF- β . La fibrosis implica la deposición extensa de matriz extracelular y se puede producir dentro de prácticamente cualquier tejido o a través de varios tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteína de señalización intracelular (Smad) que activa la transcripción de genes diana tras la estimulación de TGF- β está regulado por la actividad de proteasoma (Xu y col.,
35 2000). Sin embargo, la degradación acelerada de los componentes de señalización de TGF- β se ha observado en cánceres y otras afecciones hiperproliferativas. Por tanto, las composiciones de la presente invención son útiles para un procedimiento para tratar afecciones hiperproliferativas tales como retinopatía diabética, degeneración macular, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, nefropatía de IgA, cirrosis, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congestiva, esclerodermia, fibrosis inducida por radiación y fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad vascular de colágeno, sarcoidosis, enfermedades pulmonares intersticiales y trastornos pulmonares extrínsecos). El tratamiento de víctimas de quemaduras con frecuencia se ve obstaculizado por la fibrosis, por tanto, una realización adicional de la presente invención es la administración tópica o sistémica de los inhibidores para tratar quemaduras. El cierre de
40 heridas después de cirugía con frecuencia está asociado con cicatrices desfigurantes, que se pueden evitar mediante la inhibición de fibrosis. Por lo tanto, las composiciones de la presente invención son útiles para un procedimiento para la prevención o reducción de formación de cicatrices.
45

Otra proteína procesada por el proteasoma es NF- κ B, un miembro de la familia de proteína Rel. La familia Rel de proteínas activadoras transcripcionales se puede dividir en dos grupos. El primer grupo requiere el procesamiento proteolítico e incluye p50 (NF- κ B1, 105 kDa) y p52 (NF- κ 2, 100 kDa). El segundo grupo no requiere procesamiento proteolítico e incluye p65 (RelA, Rel (c-Rel) y RelB). Tanto los homo como los heterodímeros pueden estar formados por miembros de la familia Rel; NF- κ B, por ejemplo, es un heterodímero p50-p65. Después de la fosforilación y ubiquitinación de I κ B y p105, las dos proteínas se degradan y procesan, respectivamente, para producir NF- κ B activa que se transporta del citoplasma al núcleo. La p105 ubiquitinada también se procesa mediante proteasomas purificados (Palombella y col., Cell (1994) 78: 773-785). La NF- κ B activa forma un complejo potenciador estereoespecífico con otros activadores transcripcionales y, por ejemplo, HMG I(Y), que inducen expresión selectiva de un gen particular.
50
55

NF- κ B regula los genes implicados en la respuesta inmune e inflamatoria y los acontecimientos mitóticos. Por ejemplo, NF- κ B es necesaria para la expresión del gen κ de cadena ligera de inmunoglobulina, el gen de cadena α del receptor

de IL-2, el gen del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y varios genes de citoquina que codifican, por ejemplo, IL-2, IL-6, factor estimulante de colonias de granulocitos e IFN- β (Palombella y col., Cell (1994) 78: 773-785). Las composiciones de la invención son útiles para procedimientos para influir en el nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF α , IFN- β o cualquiera de las otras proteínas mencionadas anteriormente, incluyendo cada procedimiento administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una composición desvelada en el presente documento. Los complejos que incluyen p50 son mediadores rápidos de respuestas inflamatorias e inmunes agudas (Thanos, d. y Maniatis, T., Cell (1995) 80: 529-532).

NK- κ B también participa en la expresión de los genes de adhesión celular que codifican E-selectina, P-Selectina, ICAM y VCAM-1 (Collins, T., Lab. Invest. (1993) 68: 499-508). Las composiciones de la invención son útiles para un procedimiento para inhibir la adhesión celular (por ejemplo, la adhesión celular mediada por E-selectina, P-Selectina, ICAM o VCAM-1), incluyendo poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de una composición farmacéutica desvelada en el presente documento.

Las lesiones de isquemia y reperfusión dan como resultado hipoxia, una afección en la que existe una deficiencia de oxígeno que llega a los tejidos del organismo. Esta afección provoca degradación aumentada de I κ -B α , dando como resultado, por lo tanto, la activación de NF- κ B (Koong y col., 1994). Se ha demostrado que la gravedad de la lesión que se produce como resultado en la hipoxia se puede reducir con la administración de un inhibidor de proteasoma (Gao y col., 2000; Bao y col., 2001; Pye y col., 2003). Por lo tanto, las composiciones de la invención son útiles para un procedimiento para tratar una afección isquémica o lesión de reperfusión que comprende administrar a un sujeto que necesita tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto desvelado en el presente documento. Los ejemplos de tales afecciones o lesiones incluyen, aunque sin limitación, síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad oclusiva arterial (oclusiones cardíaca, cerebral, arterial periférica y vascular), aterosclerosis (esclerosis coronaria, arteriopatía coronaria), infartos, insuficiencia cardíaca, pancreatitis, hipertrofia de miocardio, estenosis y reestenosis.

NF- κ B también se une específicamente al potenciador/promotor de VIH. Cuando se compara con el Nef de mac239, la proteína reguladora de VIH Nef de pbj 14 difiere en dos aminoácidos en la región que controla la unión de proteína quinasa. Se cree que la proteína quinasa señala la fosforilación de I κ B, desencadenando la degradación de I κ B a través de la ruta de ubiquitina-proteasoma. Después de la degradación, NF- κ B se libera en el núcleo, potenciando de esa manera la transcripción de VIH (Cohen, J., Science, (1995) 267: 960). Dos aplicaciones adecuadas de los compuestos de la invención son un procedimiento para inhibir o reducir infección por VIH en un sujeto y un procedimiento para disminuir el nivel de expresión génica viral, incluyendo cada procedimiento administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición desvelada en el presente documento.

La sobreproducción de citoquinas inducidas por lipopolisacárido (LPS) tales como TNF α se considera que es central a los procesos asociados con choque séptico. Adicionalmente, generalmente se acepta que la primera etapa en la activación de las células mediante LPS es la unión de LPS a receptores de membrana específicos. Las subunidades α y β del complejo de proteasoma 20S se han identificado como proteínas de unión a LPS, sugiriendo que la transducción de señal inducida por LPS puede ser una diana terapéutica importante en el tratamiento o prevención de sepsis (Qureshi, N. y col., J. Immun. (2003) 171: 1515-1525). Por lo tanto, las composiciones de la invención se pueden usar para la inhibición de TNF- α para prevenir y/o tratar choque séptico.

La proteólisis intracelular genera péptidos pequeños para presentación a linfocitos T para inducir respuestas inmunes mediadas por MHC de clase I. El sistema inmune selecciona las células autólogas que están infectadas viralmente o que han experimentado transformación oncogénica. Un uso adecuado para las composiciones es un procedimiento para inhibir la presentación de antígeno en una célula, incluyendo exponer la célula a una composición descrita en el presente documento. Un uso adecuado adicional para las composiciones es un procedimiento para suprimir el sistema inmune de un sujeto (por ejemplo, inhibir el rechazo de trasplante, alergia, asma), que incluye administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición descrita en el presente documento. Las composiciones de la invención también se pueden usar para tratar enfermedades autoinmunes tales como lupus, artritis reumatoide, esclerosis múltiple y enfermedades inflamatorias intestinales tales como colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn.

Otro uso adecuado adicional para las composiciones es un procedimiento para alterar el repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma u otros Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si la actividad PGPH de proteasoma 20S se inhibe selectivamente, se producirá un conjunto diferente de péptidos antigénicos por el proteasoma y se presentarán en moléculas de MHC en la superficie de las células que los que se producirían y presentarían sin ninguna inhibición enzimática, o con, por ejemplo, inhibición selectiva de la actividad similar a quimi tripsina del proteasoma.

Determinados inhibidores de proteasoma bloquean tanto la degradación como el procesamiento de NF- κ B ubiquitinada *in vitro* e *in vivo*. Los inhibidores de proteasoma también bloquean la degradación de I κ B- α y la activación de NF- κ B (Palombella, y col., Cell (1994) 78: 773-785; y Traenckner, y col., EMBO J. (1994) 13: 5433-5441). Un uso adecuado para las composiciones de la invención es un procedimiento para inhibir la degradación de I κ B- α , que incluye poner en contacto la célula con una composición descrita en el presente documento. Un uso adecuado adicional para las

composiciones es un procedimiento para reducir el contenido celular de NF- κ B en una célula, músculo, órgano o sujeto, que incluye poner en contacto la célula, músculo, órgano o sujeto con una composición descrita en el presente documento.

5 Otros factores de transcripción eucariotas que necesitan el procesamiento proteolítico incluyen el factor de transcripción general TFIIA, la proteína accesoria del virus del herpes simplex VP 16 (factor de célula huésped), la proteína del factor regulador de IFN 2 inducible por virus y la proteína de unión del elemento regulador de esteroide unido a membrana 1.

10 Las composiciones de la invención son útiles para procedimientos para influir los ciclos celulares eucariotas dependientes de ciclina, incluyendo la exposición a una célula (*in vitro* o *in vivo*) a una composición desvelada en el presente documento. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteasoma participa en la degradación de ciclinas. Los ejemplos de ciclinas incluyen ciclinas mitóticas, ciclinas G1 y ciclina B. La degradación de ciclinas posibilita a una célula salir de una fase del ciclo celular (por ejemplo, mitosis) y entrar a otra (por ejemplo, división). Se cree que todas las ciclinas están asociadas con proteína quinasa p34^{cdc2} o quinasas relacionadas. La señal de dirección de proteólisis se localiza en los aminoácidos 42-RAALGNISEN-50 (caja de destrucción). Existe evidencia de que la ciclina se convierte en una forma vulnerable bajo una ubiquitina ligasa o que una ligasa específica de ciclina se activa durante la mitosis (Ciechanover, A., Cell, (1994) 79: 13-21). La inhibición del proteasoma inhibe la degradación de ciclina, y, por lo tanto, inhibe la proliferación celular, por ejemplo, en cánceres relacionados con ciclinas (Kumatori y col., proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. (1990) 87: 7071-7075). Un uso adecuado para las composiciones de la presente invención es un procedimiento para tratar una enfermedad proliferativa en un sujeto (por ejemplo, cáncer, psoriasis, o reestenosis), que incluye administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición desvelada en el presente documento. La invención también permite su uso para tratar inflamación relacionada con ciclina en un sujeto, incluyendo la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición descrita en el presente documento.

25 Los usos adecuados adicionales son procedimientos para influir sobre la regulación dependiente de proteasoma de oncoproteínas y los procedimientos para tratar o inhibir el crecimiento del cáncer, incluyendo cada procedimiento exponer a una célula (*in vivo*, por ejemplo, en un sujeto o *in vitro*) a una composición desvelada en el presente documento. Las proteínas E6 obtenidas de HPV-16 y HPV-18 estimulan la conjugación dependiente de ATP y de ubiquitina y la degradación de p53 en lisados de reticulocitos brutos. El oncogén recesivo p53 se ha demostrado que se acumula a la temperatura no permisiva en una línea celular con una E1 termolábil mutada. Los niveles elevados de p53 pueden conducir a apoptosis. Los ejemplos de proto-oncoproteínas degradadas por el sistema de ubiquitina incluyen c-Mos, c-Fos y c-Jun. Las composiciones de la invención son útiles en un procedimiento para tratar apoptosis relacionada con p53, incluyendo administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una composición desvelada en el presente documento.

35 Las composiciones desveladas son útiles para el tratamiento de una infección parasitaria, tal como infecciones causadas por parásitos protozoarios. El proteasoma de estos parásitos se considera que está implicado principalmente en la diferenciación celular y las actividades de replicación (Paugam y col., Trends Parasitol. 2003, 19(2): 55-59). Adicionalmente, se ha demostrado que las especies de entamoeba pierden la capacidad de enquistación cuando se exponen a inhibidores de proteasoma (Gonzales, y col., Arch. Med. Res. 1997, 28, Spec N°: 139-140). Las composiciones desveladas son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en seres humanos provocadas por un parásito protozoario seleccionado entre *Plasmodium* sps. (incluyendo *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*, que provoca la malaria), *Trypanosoma* sps. (incluyendo *T. cruzi*, que provoca enfermedad de Chagas y *T. brucei* que provoca enfermedad del sueño africano), *Leishmania* sps. (que incluye *L. amazonensis*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. mexicana*, etc.), *Pneumocystis carinii* (un protozoario que se conoce que provoca la neumonía en pacientes de SIDA y otras inmunosupresiones), *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba invadens* y *Giardia lamblia*. En determinadas realizaciones, las composiciones desveladas son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en animales y ganado provocadas por un parásito protozoario seleccionado entre *Plasmodium hermani*, *Cryptosporidium* sps., *Echinococcus granulosus*, *Eimeria tenella*, *Sarcocystis neurona* y *Neurospora crassa*. Otros compuestos útiles como inhibidores de proteasoma en el tratamiento de enfermedades parasitarias se describen en el documento WO 98/10779.

50 Las composiciones desveladas inhiben la actividad del proteasoma irreversiblemente en un parásito. Tal inhibición irreversible ha demostrado inducir la interrupción de la actividad enzimática sin recuperación en glóbulos rojos y glóbulos blancos. La semivida larga de las células sanguíneas puede proporcionar protección prolongada con respecto a la terapia frente a exposiciones recurrentes a parásitos. La semivida prolongada de las células sanguíneas puede proporcionar protección prolongada con respecto a la quimioprofilaxis frente a infección futura.

55 También se ha demostrado que los inhibidores que se unen al proteasoma 20S estimulan la formación de hueso en cultivos de órganos óseos. Adicionalmente, cuando tales inhibidores se han administrado sistémicamente a ratones, determinados inhibidores de proteasoma aumentaron los índices de volumen óseo y de formación ósea por encima del 70% (Garrett, I. R y col., J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771-1782), sugiriendo de ese modo que la maquinaria ubiquitina-proteasoma regula la diferenciación de osteoblastos y la formación ósea. Por lo tanto, las composiciones desveladas pueden ser útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas con pérdida ósea, tales como

osteoporosis.

El tejido óseo es una fuente excelente de factores que tienen la capacidad de estimular las células óseas. Por tanto, los extractos de tejido óseo bovino contienen no sólo proteínas estructurales que son responsables de mantener la integridad estructural del hueso, sino también factores de crecimiento óseo biológicamente activos que pueden estimular a las células óseas a proliferar. Entre estos últimos factores existe una familia de proteínas descrita recientemente denominadas proteínas morfogenéticas óseas (BMP). Todos estos factores de crecimiento tienen efectos sobre otros tipos de células, así como sobre las células óseas, incluyendo Hardy, M. H., y col., *Trans Genet* (1992) 8: 55-61 describen evidencias de que las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) se expresan de forma diferencial en folículos pilosos durante el desarrollo. Harris, S. E., y col., *J Bone Miner Res* (1994) 9: 855-863 describen los efectos de TGF- β sobre la expresión de BMP-2 y otras sustancias en células óseas. La expresión de BMP-2 en folículos maduros también ocurre durante la maduración y después del periodo de proliferación celular (Hardy, y col. (1992, mencionado anteriormente)). Por tanto, los compuestos de la invención también pueden ser útiles para la estimulación del crecimiento de folículos pilosos.

Finalmente, las composiciones desveladas también son útiles como agentes de diagnóstico (por ejemplo, en kits de diagnóstico o para uso en laboratorios clínicos) para seleccionar proteínas (por ejemplo, enzimas, factores de transcripción) procesadas por las Ntn hidrolasas, incluyendo el proteasoma. Las composiciones desveladas también son útiles como reactivos de investigación para unirse específicamente a la subunidad X/MB1 o cadena α e inhibir las actividades proteolíticas asociadas con la misma. Por ejemplo, se puede determinar la actividad de (y los inhibidores específicos de) otras subunidades del proteasoma.

La mayoría de las proteínas celulares están sujetas a procedimientos proteolíticos durante la maduración o activación. Los inhibidores enzimáticos desvelados en el presente documento se pueden usar para determinar si un proceso o producción celular, del desarrollo o fisiológico está regulado por la actividad proteolítica de una Ntn hidrolasa particular. Un procedimiento de este tipo incluye obtener un organismo, una preparación de células intactas o un extracto celular; exponer el organismo, la preparación celular o el extracto de células a una composición desvelada en el presente documento; exponer el organismo, la preparación celular o el extracto celular expuesto al compuesto a una señal y supervisar el procedimiento o resultado. La selectividad elevada de los compuestos desvelados en el presente documento permite la eliminación rápida y precisa o la implicación de la Ntn (por ejemplo, el proteasoma 20S) en un proceso celular, de desarrollo o fisiológico dado.

Administración

Las composiciones preparadas como se ha descrito en el presente documento se pueden administrar de diversas formas, dependiendo del trastorno que se tiene que tratar y de la edad, condición y peso corporal del paciente, como se conoce bien en la técnica. Por ejemplo, cuando las composiciones se tienen que administrar por vía oral, las mismas se pueden formular como comprimidos, cápsulas, polvos o jarabes; o para administración parenteral, las mismas se pueden formular como inyecciones (intravenosa, intramuscular o subcutánea), preparaciones de infusión de goteo o supositorios. Para aplicación mediante la vía de la membrana mucosa oftálmica, las mismas se pueden formular como colirios o ungüentos oculares. Estas formulaciones se pueden preparar mediante medios convencionales junto con los procedimientos descritos en el presente documento y, si se desea, el ingrediente activo se puede mezclar con cualquier aditivo convencional o excipiente, tal como un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un correctivo, un agente solubilizante, una ayuda de suspensión, un agente emulsificante o un agente de revestimiento adicionalmente a una ciclodextrina y a un tampón. Aunque la dosis variará dependiendo de los síntomas, edad y peso corporal del paciente, la naturaleza y gravedad del trastorno que se tiene que tratar o prevenir, la vía de administración y la forma del fármaco, en general, una dosis diaria de 0,01 a 2000 mg del compuesto se recomienda para un paciente humano adulto y ésta se puede administrar en una dosis única o en dosis divididas. La cantidad del ingrediente activo que se puede combinar con un material de vehículo para producir una forma de dosificación única generalmente será esa cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. En general, las composiciones pretendidas para uso parenteral (por ejemplo, inyección intravenosa o subcutánea) incluyen una ciclodextrina sustituida. Las composiciones administradas a través de otras vías, particularmente la vía oral, incluyen una ciclodextrina sustituida o no sustituida.

El tiempo de administración exacto y/o la cantidad de la composición que producirá los resultados más eficaces en función de la eficacia del tratamiento de un paciente dado dependerá de la actividad, farmacocinética y biodisponibilidad de un compuesto particular, la condición fisiológica del paciente (incluyendo edad, sexo, tipo y fase de la enfermedad, condición física general, respuesta a una dosis dada y tipo de medicación), vía de administración, etc. Sin embargo, las directrices anteriores se pueden usar como la base para ajustar el tratamiento con más precisión, por ejemplo, determinar el tiempo y/o la cantidad óptimos de administración, lo cual necesitará no más que experimentación de rutina que consiste en supervisar al sujeto y ajustar la dosis y/o el tiempo.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del criterio médico, adecuados para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica excesivos u otro problema o complicación, en proporción con una relación beneficio/riesgo razonable.

La expresión “vehículo farmacéuticamente aceptable” como se usa en el presente documento significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación líquido o sólido. Cada vehículo tiene que ser “aceptable” en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no dañino para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata y β -ciclodextrina sustituida o no sustituida; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetil celulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorio; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógeno; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones de tampón fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son no pirógenas, es decir, no inducen elevaciones de temperatura significativas cuando se administran a un paciente.

La expresión “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a las sales de adición ácidas inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas del inhibidor o los inhibidores. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación final del inhibidor o inhibidores o sometiendo a reacción por separado un inhibidor o inhibidores purificados en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal formada de ese modo. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato y sales de aminoácido y similares. (Véase, por ejemplo, Berge y col. (1977) “Pharmaceutical Salts”, J. Pharm. Sci. 66: 1-19.)

En las composiciones también pueden estar presentes agentes humectantes, emulsificantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como también agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, edulcorantes, saporíferos y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes.

Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, propil galato, alfa-tocoferol y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiamina tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, grageas (usando una base saborizada, habitualmente sacarosa y un goma arábica o tragacanto), polvos, gránulos o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso o como una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite líquida o como un elixir o jarabe o como pastillas (usando una matriz inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica) y/o como enjuagues bucales y similares, cada uno conteniendo una cantidad predeterminada de un inhibidor o inhibidores como un ingrediente activo. Una composición también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

En formas de dosificación sólida para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o diluyentes, tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetil celulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábica; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol, (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tampón. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina suave y dura rellenas usando tales excipientes como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de peso molecular elevado y similares.

Un comprimido se puede preparar mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos preparados por compresión se pueden preparar usando agente aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetil celulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón de sodio o carboximetilcelulosa de sodio reticulada), tensioactivo o de dispersión. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del inhibidor o inhibidores en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ser opcionalmente ranurados o prepararse con revestimientos y capas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Los mismos también se pueden formular de forma de proporcionar liberación lenta o controlada del ingrediente activo en el mismo, usando, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Los mismos se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención de bacterias o incorporando agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición que los mismos liberen el ingrediente o los ingredientes activos únicamente, o preferentemente, en una determinada parte del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones para impregnar que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiada, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Adicionalmente al ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsificantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1-3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol de tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsificantes y de suspensión, edulcorantes, saporíferos, colorantes, perfumantes y agentes conservantes.

Las suspensiones, además del inhibidor o los inhibidores activos pueden contener agentes de suspensión tales, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, aga-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

Las formulaciones para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, que se puede preparar mezclando uno o más inhibidores con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados comprendiendo, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, que sea sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará el agente activo.

Las formulaciones que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones para pulverización que contienen tales vehículos como se conoce en la técnica que es apropiado.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un inhibidor o inhibidores incluyen polvos, pulverizaciones, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El componente activo se puede mezclar en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, tampón o propulsor que pueda ser necesario.

Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además del inhibidor o inhibidores, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc o mezclas de los mismos.

Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además de un inhibidor o inhibidores, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones adicionalmente pueden contener propulsores convencionales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

El inhibidor o los inhibidores se pueden administrar de forma alternativa mediante aerosol. Esto se consigue preparando un aerosol acuoso, preparación liposomal o partículas sólidas que contengan la composición. Se podría usar una suspensión no acuosa (por ejemplo, propulsor de fluorocarbono). Los nebulizadores sónicos se prefieren debido a que los mismos minimizan la exposición del agente a la rotura, lo cual podría dar como resultado la degradación del compuesto.

Normalmente, un aerosol acuoso se prepara formulando una solución acuosa o suspensión del agente junto con vehículos y estabilizantes farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizantes varían con los requerimientos de la composición particular, pero típicamente incluyen tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic, ésteres de sorbitán, lecitina, Cremóforos), co-disolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteínas inocuas como albúmina sérica, ésteres de sorbitán, ácido oleico, lecitina, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares o alcoholes de azúcares. Los aerosoles generalmente se preparan a partir de soluciones

isotónicas.

5 Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar el suministro controlado de un inhibidor o inhibidores al organismo. Tales formas de dosificación se pueden preparar disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del inhibidor o inhibidores a través de la piel. La velocidad de tal flujo se puede controlar proporcionando una membrana de control de velocidad o dispersando el inhibidor o inhibidores en una matriz polimérica o gel.

10 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para administración parenteral comprenden péptido (a) en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones farmacéuticamente aceptables estériles acuosas o no acuosas, o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones inyectables estériles o dispersiones inmediatamente antes del uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que vuelven a la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido o agentes de suspensión o espesantes.

15 Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

20 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsificantes y agentes de dispersión. La prevención de la acción de microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorbutanol, ácido sórbico de fenol y similares. También puede ser deseable incluir agentes de ajuste de la tonicidad, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares en las composiciones. Adicionalmente, se puede conseguir la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retardan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

25 En algunos casos, a fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

30 Las formas de liberación prolongada inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas de inhibidor o inhibidores en polímeros biodegradables, tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de fármaco a polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar el índice de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de liberación prolongada también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

35 Las preparaciones de agentes se pueden proporcionar por vía oral, por vía parenteral, por vía tópica o por vía rectal. Las mismas, por supuesto, se proporcionan mediante formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, las mismas se administran en forma de comprimidos o cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, infusión; por vía tópica mediante loción o ungüento y por vía rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración oral.

40 Las expresiones "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral" como se usan en el presente documento se refieren a modos de administración diferentes a la administración enteral y tópica, habitualmente mediante inyección e incluyen, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal e infusión.

45 Las expresiones "administración sistémica", "administrado por vía sistémica", "administración periférica" y "administrado por vía periférica" como se usan en el presente documento significan la administración de un ligando, fármaco u otro material de manera diferente a directamente en el sistema nervioso central, de forma que el mismo entra en el sistema del paciente y, por tanto, se somete al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

50 El inhibidor se puede administrar a seres humanos y otros animales para terapia mediante cualquier vía adecuada de administración, incluyendo por vía oral, por vía nasal, como mediante, por ejemplo, una pulverización, por vía rectal, por vía intravaginal, por vía parenteral, por vía intracisternal y por vía tópica, como por medio de polvos, ungüentos o gotas, incluyendo por vía bucal y por vía sublingual.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, el inhibidor, que se puede usar en una forma hidratada adecuada y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

Los niveles de dosis reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden variar de forma de obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxico para el paciente.

5 La concentración de un compuesto desvelado en una mezcla farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de varios factores, incluyendo la dosis del compuesto que se tiene que administrar, las características farmacocinéticas del compuesto o los compuestos empleados y la vía de administración. En general, las composiciones de la presente invención se pueden proporcionar en solución acuosa que contiene aproximadamente del 0,1-10% p/v de un compuesto desvelado en el presente documento, entre otras sustancias, para administración parenteral. Los intervalos de dosis típicos son de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día, proporcionados en 1-4 dosis divididas. Cada dosis dividida puede contener el mismo compuesto o compuestos diferentes de la invención. La dosis será una cantidad eficaz dependiendo de varios factores que incluyen la salud general de un paciente y la formulación y la vía de administración del compuesto o los compuestos seleccionados.

15 En una realización preferida, el inhibidor de proteasoma es un polvo seco antes de su adición a la solución de ciclodextrina. El procedimiento para disolver el fármaco en la solución de ciclodextrina se puede potenciar mezclando, revolviendo o agitando. En la realización más preferida, el disolvente en la solución de ciclodextrina es "agua para inyección" (API), lo que significa que está purificada, es estéril y baja en endotoxina. Esta formulación es adecuada para administración tanto parenteral como oral.

20 En otra realización preferida, la composición farmacéutica es una solución oral o una solución parenteral. Otra realización es una preparación liofilizada que se puede reconstituir antes de la administración. Como un sólido, esta formulación puede incluir también comprimidos, cápsulas o polvos.

Otro aspecto proporciona una terapia conjunta en la que se administran uno o más agentes terapéuticos diferentes con la composición de inhibidor del proteasoma. Tal tratamiento conjunto se puede conseguir por medio de la dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento.

25 En determinadas realizaciones, una composición de la invención se administra de forma conjunta con uno o más inhibidores de proteasoma diferentes.

30 En determinadas realizaciones, una composición se administra de forma conjunta con un quimioterapéutico. Los quimioterapéuticos adecuados pueden incluir, productos naturales tales como alcaloides de vinca (es decir, vinblastina, vincristina y vinorelbina), paclitaxel, epididodofilotoxinas (es decir, etopósido, tenipósido), antibióticos (dactinomicina (actinomicina D) daunorubicina, doxorubicina e idarrubicina), antraciclina, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina) y mitomicina, enzimas (L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente L-asparagina y priva las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agentes antiplaquetarios; agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas de nitrógeno (mecloretaminas, ciclosfosfamida y análogos, melfalan, clorambucil), etileniminas y metilmelaminas (hexametilmelamina y tiotepa), alquil sulfonatos (busulfan), nitrosoureas (carmustina (BCNU) y análogos, estreptozocina), trazenos dacarbazina (DTIC), antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como análogos de ácido fólico (metotrexato), análogos de pirimidina (fluorouracilo, floxuridina y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina); inhibidores de aromatasa (anastrozol, exemestano y letrozol); y complejos de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino), procarbazona, hidroxíurea, mitotano, aminoglutetimida; inhibidores de histona desacetilasa (HDAC) (tricotostatina, butirato de sodio, apicidan, ácido hidroxámico suberoil anilida); hormonas (es decir, estrógeno) y agonistas de hormonas tales como agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) (goserelina, leuprolide y triptorelina). Otros agentes quimioterapéuticos pueden incluir mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, navelbina o cualquier análogo o variante derivada de los anteriores.

35 40 45 En determinadas realizaciones, una composición de la invención se puede administrar en conjunto con una citoquina. Las citoquinas incluyen, pero sin limitación, Interferón- γ - α y - β , Interleuquinas 1-8, 10 y 12, factor Estimulante de Colonias de Monocitos y Granulocitos (GM-CSF), TNF- α y - β y TGF- β .

50 55 En determinadas realizaciones, una composición de la invención se puede administrar de forma conjunta con un esteroide. Los esteroides adecuados pueden incluir, aunque sin limitación, 21-aceoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluzacort, flucloronida, flumetasona, flunisolida, fluocinolona acetona, fluocinonida, butil fluocortina, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednido, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, tabonato de loteprednol, maziprednol, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicartrato, prednisolona, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, prednisolona fosfato de sodio, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, acetonide triamcinolona, benetonide triamcinolona, hexacetone triamcinolona y sales y/o derivados de los mismos.

En determinadas realizaciones, una composición de la presente invención se puede administrar de forma conjunta con un agente inmunoterapéutico. Los agentes inmunoterapéuticos pueden incluir, pero sin limitación, moduladores de MDR (verapamil, valsopodar, biricodar, tariquidar, laniquidar), ciclosporina, talidomida y anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden ser desnudos o conjugados tales como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetan, gemtuzumab ozogamicin, bevacizumab, cetuximab, erlotinib y trastuzumab.

Procedimientos de Preparación

Otro aspecto de la presente invención implica el procedimiento de preparar una composición farmacéutica de un inhibidor de proteasoma. El procedimiento comprende determinar el volumen deseado, preparar una solución de ciclodextrina que comprende la ciclodextrina y el tampón ácido en del 20% al 90% (por ejemplo, el 75%) del volumen final deseado de H₂O, suspender la cantidad apropiada del inhibidor de proteasoma en la solución de ciclodextrina y agitar hasta disolución, ajustar el pH (por ejemplo, con una solución de base, preferentemente una solución de hidróxido de sodio) y después añadir suficiente diluyente acuoso para conseguir el volumen final deseado.

Un aspecto adicional de la presente invención implica el procedimiento de preparar una composición farmacéutica de un inhibidor de proteasoma. El procedimiento determinar el volumen deseado, preparar una solución de ciclodextrina que comprende la ciclodextrina y el tampón base en el 20% al 90% (por ejemplo, el 75%) del volumen final deseado de H₂O, suspender la cantidad apropiada del inhibidor de proteasoma en la solución de ciclodextrina y agitar hasta disolución, ajustar el pH (por ejemplo, con una solución ácida) y después añadir suficiente diluyente acuoso para conseguir el volumen final deseado.

Un procedimiento alternativo para preparar una composición farmacéutica de la invención implica disolver un inhibidor de proteasoma en un disolvente apropiado (por ejemplo, un alcohol tal como etanol), disolver una ciclodextrina en un disolvente miscible, preferentemente el mismo, y mezclar los dos juntos. El disolvente después se retira, tal como mediante evaporación rotatoria, secado por pulverización o liofilización, para obtener un sólido. Después el sólido se disuelve en diluyente acuoso apropiado y después el pH se ajusta, si es necesario.

Puede haber un periodo entre la obtención del sólido y la redisolución del mismo en tampón acuoso. En un ejemplo, el sólido se esteriliza (por ejemplo, para permitir el almacenamiento y/o el envío, generalmente en un recipiente sin contaminantes y a prueba de contaminantes) y se disuelve inmediatamente antes del uso.

Las composiciones obtenidas anteriormente típicamente se esterilizan antes del uso, a menos que la preparación implique una etapa de esterilización y no ocurra contaminación antes del uso.

El inhibidor de proteasoma disuelto en tampón acuosos, preferentemente a continuación de la esterilización, opcionalmente se puede liofilizar (en un recipiente a prueba de y sin contaminantes) y reconstituir en un diluyente acuoso apropiado inmediatamente antes del uso. Siendo el diluyente preferido agua para inyección (API).

Ejemplificación

Ejemplo 1

Formulación de péptido (a)/SBECD

2 mg/ml de péptido (a) se formularon en solución acuosa que contenía el 10% (p/v) de SBECD y ácido cítrico 10 mM ajustado a pH 3,5 con hidróxido de sodio acuoso 0,1 M.

Se añadieron masas apropiadas de SBECD y ácido cítrico a un volumen de API correspondiente a aproximadamente el 75% del de la formulación final. Después esta mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que se logró la disolución completa del SBECD y del ácido cítrico. Después se añadió una masa apropiada de péptido (a) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente hasta que el péptido (a) añadido se hubo disuelto. Después se sumergió un electrodo de pH en la solución y, con agitación rápida, el pH se ajustó a 3,5 mediante adición lenta de hidróxido de sodio 0,1 M en API; la adición lenta de la solución de hidróxido de sodio con agitación adecuada fue necesaria para evitar la precipitación de péptido (a). Con la agitación rápida, la solución resultante después se diluyó con API hasta una concentración de péptido (a) final de 2,0 mg/ml. Después esta solución se esterilizó por filtración para producir la formulación final.

Se usaron varios valores de pH finales diferentes para las formulaciones de péptido (a)/SBECD. La Figura 1 muestra la solubilidad de péptido (a) a diversos valores de pH en soluciones acuosas de sulfobutil éter beta-ciclodextrina (SBECD) al 10% (p/v)/citrato de sodio 10 mM.

Adicionalmente, se determinó la estabilidad de péptido (a) en estas formulaciones. La Figura 2 muestra el porcentaje de péptido (a) restante en soluciones acuosas de SBECD al 10% (p/v)/citrato de sodio 10 mM a lo largo del tiempo a diversos valores de pH.

Ejemplo 2

Formulación de péptido(A) (3X)/SBECD, Liofilización de formulación y Reconstitución.

6 mg/ml de péptido (a) se formularon en solución acuosa que contenía SBECD al 30% (p/v) y ácido cítrico 30 mM ajustado a pH 3,5 con hidróxido de sodio acuoso 0,5 M.

- 5 Se añadieron masas apropiadas de SBECD y ácido cítrico a un volumen de API correspondiente al 70% del de la formulación final. Después esta mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que la disolución completa del SBECD y el ácido cítrico se hubo logrado. Después se añadió una masa apropiada de péptido (a) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente hasta que se hubo disuelto el péptido (a) añadido. Después se sumergió un electrodo de pH en la solución y, con agitación rápida, el pH se ajustó hasta 3,5 mediante adición lenta de hidróxido de sodio 0,5 M en API; la adición lenta de la solución de hidróxido de sodio con agitación adecuada fue necesaria para evitar la precipitación de péptido (a). Con agitación rápida, la solución resultante después se diluyó con API hasta una concentración de péptido (a) final de 6,0 mg/ml. Después esta solución se esterilizó por filtración hasta producir la formulación final.

- 15 Los viales que contienen el producto se cargaron en los estantes y la temperatura se ajustó a 5°C durante 2 h. Después los estantes se enfriaron a una velocidad de 30°C por hora hasta un punto de referencia diana de -45°C que después se mantuvo durante 4 horas para completar el congelamiento. El condensador se ajustó a por debajo de -50°C y la cámara se evacuó hasta una presión diana de 60 μ m Hg. La presión de la cámara se controló mediante purgado en Nitrógeno filtrado a 0,2 μ , de NF en la cámara. Después los estantes se calentaron hasta un punto de referencia diana de -18°C a una velocidad controlada promedio de 30°C por hora y se ajustó el control en ese punto de referencia para completar el secado primario. Después los estantes se calentaron hasta un punto de referencia diana de 30°C a una velocidad controlada promedio de 12°C por hora y el control en ese punto de referencia durante 12 h para completar el secado secundario.

Después la cámara se rellenó con Nitrógeno filtrado 0,2 μ , NF seguido por taponado del producto a 1 atm.

- 25 La reconstitución se logró mediante la adición de 9,75 ml de API, Farmacopea de los Estados Unidos, para producir el volumen de llenado deseado dentro del vial de 10,5 ml. El vial se invirtió varias veces. El tiempo de disolución fue menor de 2 minutos. Después el vial se dejó reposar durante varios minutos para permitir que las burbujas subieran a la superficie. Se produjo una solución incolora transparente libre de materia particulada visible. El pH medido fue $3,5 \pm 0,1$.

Ejemplo 3

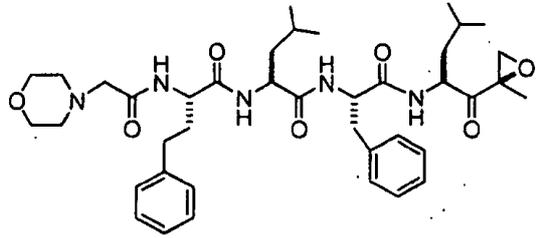
Formulación en polvo seco de péptido (a)/SBECD

- 30 El péptido (a) se formuló como un polvo seco en complejo con ciclodextrina para disolución en ácido cítrico 10 mM antes de administración IV.

- 35 Se añadieron masas apropiadas de péptido y SBECD a un volumen apropiado de etanol anhidro para producir una solución etanólica que contenía 4 mg/ml de péptido (a) y 200 mg/ml de SBECD. Esta solución se esterilizó por filtración (0,2 μ m) y después se evaporó (en condiciones estériles) hasta sequedad a temperatura ambiente bajo presión reducida para producir un sólido blanco a blanquecino. Después este sólido se trituroó (en condiciones estériles) para producir un polvo fluido. Una masa apropiada de este sólido se llenó de forma estéril en un vial estéril de tamaño apropiado. Después el vial se selló con un sistema de cierre de recipiente de tapón de elastómero perforable estéril/sello flip-off de aluminio. Un volumen apropiado de ácido cítrico 10 mM en API (pH ajustado a 3,2 con hidróxido de sodio 0,1 M en API) se añadió después a través una aguja y jeringa estéril a través del tapón de elastómero perforable y se agitó a temperatura ambiente hasta que todo el material sólido se disolvió para producir una solución final que contenía 2 mg/ml de péptido (a), 100 mg/ml de SBECD y ácido cítrico 10 mM/tampón de citrato de sodio pH 3,2 – 4,0.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de proteasoma que tiene la estructura



5 y una ciclodextrina seleccionada entre hidroxipropil beta-ciclodextrina (HPBCD) y sulfobutiléter beta-ciclodextrina (SBECD).

2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, comprendiendo además un tampón.

3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 ó 2, en la que la ciclodextrina es SBECD.

4. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el tampón es citrato de sodio/ácido cítrico.

10 5. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, que comprende 1 a 5 mg/ml del inhibidor de proteasoma, del 5-25% (p/v) de la ciclodextrina y 5-20 mM del tampón produciendo un pH en el intervalo de 3 a 6.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, que contiene SBECD al 10% (p/v) y ácido cítrico 10 mM con el pH ajustado a 3,5.

7. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que está en forma de un liofilizado.

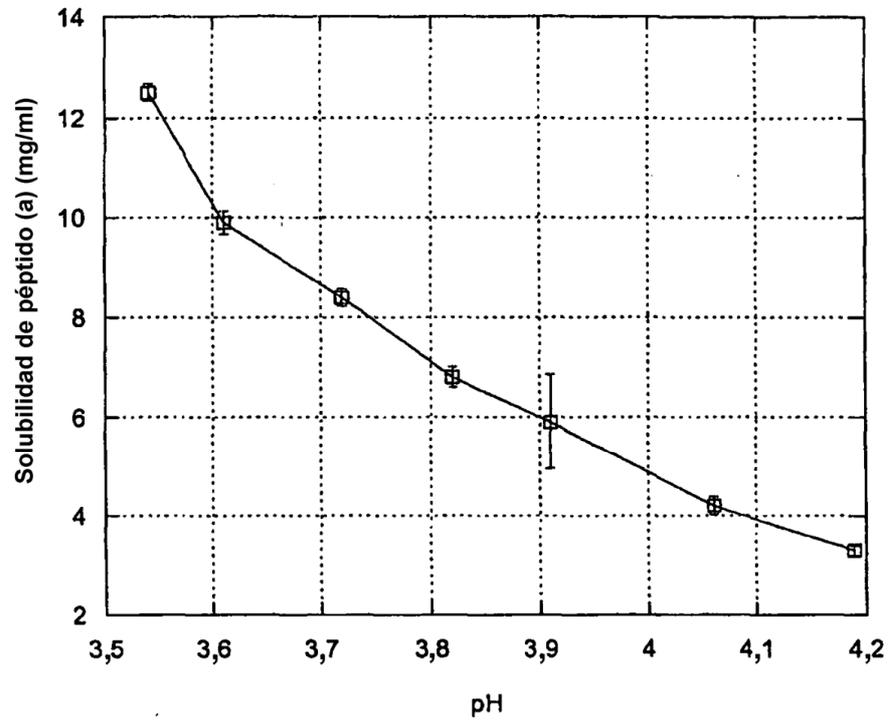


Figura 1

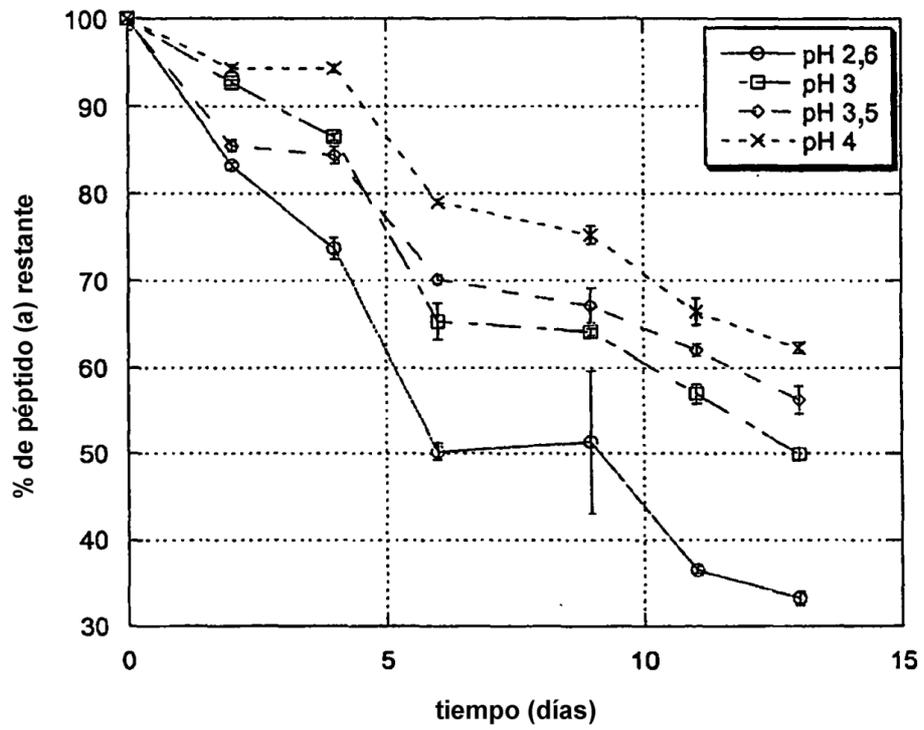


Figura 2