

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 424 255**

51 Int. Cl.:

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2005 E 05851355 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.05.2013 EP 1809279**

54 Título: **Composiciones particuladas de inhibidores de tubulina**

30 Prioridad:

08.11.2004 US 626036 P

11.01.2005 US 642878 P

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

30.09.2013

73 Titular/es:

BAXTER INTERNATIONAL INC. (50.0%)

**One Baxter Parkway
Deerfield, Illinois 60015, US y**

BAXTER HEALTHCARE S.A. (50.0%)

72 Inventor/es:

PAPADOPOULOS, PAVLOS;

DOTY, MARK;

KIPP, JAMES E. y

ROESSLER, BERTHOLD

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 424 255 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

Composiciones particuladas de inhibidores de tubulina

5 La presente invención se refiere a formulaciones en nanopartículas y micropartículas de inhibidores de la tubulina basados en indol, a procedimientos para su preparación y a métodos de uso. Los inhibidores de la tubulina basados en indol preferentes comprenden indol-3-glioxiamidas N-sustituídas y, de forma especialmente preferente, amida de ácido N-(piridin-4-il)-[1-(4-clorobencil)indol-3-il]glioxílico (D-24851), también conocida como "indibulina". Aunque es posible preparar composiciones particuladas de inhibidores de tubulina basados en indol mediante diversos métodos, los métodos preferentes implican la precipitación del compuesto inhibidor de tubulina en un medio acuoso en presencia de uno o más agentes tensioactivos para formar una presuspensión, seguida de aportación de energía para obtener la distribución granulométrica deseada de nanopartículas en suspensión. Las composiciones son útiles para diversos tratamientos, preferentemente para el tratamiento de cánceres resistentes a agentes antitumorales y otras enfermedades.

Antecedentes de la invención

A. Antecedentes relativos a nanopartículas de fármacos poco solubles

15 Existe un número cada vez mayor de formulaciones de fármacos que son poco solubles o insolubles en soluciones acuosas. Estos fármacos constituyen un desafío para ser formulados en una forma inyectable de administración parenteral. Sin embargo, los fármacos insolubles en agua pueden proporcionar la importante ventaja de ser estables cuando se formulan como suspensión de partículas submicrónicas en medios acuosos. Para un uso seguro y eficaz de estas formulaciones es esencial el control preciso del tamaño de partícula. En general, las partículas deben tener un diámetro inferior a siete micrómetros para atravesar de forma segura los capilares sin provocar embolias (Allen y col., 1987; Davis y Taube, 1978; Schroeder y col., 1978; Yokel y col., 1981).

25 La Patente US nº 2.745.785 da a conocer una propuesta para administrar un fármaco insoluble. Dicha patente proporciona un método para preparar cristales tabulares o en forma de placa de sales de penicilina G, N,N'-dibenciletiliden-diamina adecuadas para la administración parenteral. El método incluye el paso de recristalizar la penicilina G de una solución de formamida mediante la adición de agua para reducir la solubilidad de la penicilina G. La patente 785' también prevé que las partículas de sal de penicilina G puedan revestirse con agentes humectantes como lecitina, emulsionantes, tensioactivos, antiespumantes, sorbitán ésteres parciales de ácidos grasos superiores, sus derivados polioxialquilenos y arilalquil poliéter alcoholes o sus sales. La patente 785' también se refiere a la micronización de la penicilina G con un chorro de aire a presión para formar cristales con un tamaño de entre aproximadamente 5 y 20 micras.

35 Otra propuesta, dada a conocer en la Patente US nº 5.118.528, describe un proceso para preparar nanopartículas. El proceso incluye los pasos de: (1) preparar una fase líquida de una sustancia en un disolvente o en una mezcla de disolventes a la que se pueden añadir uno o más agentes tensioactivos; (2) preparar una segunda fase líquida de un material no disolvente o una mezcla de materiales no disolventes, siendo el material no disolvente miscible con el disolvente o la mezcla de disolventes para la sustancia; (3) reunir las soluciones (1) y (2) bajo agitación; y (4) retirar los disolventes no deseados para producir una suspensión coloidal de nanopartículas. La patente 528' proporciona partículas con un tamaño inferior a 500 nm sin aportar energía. En particular, la patente 528' señala que no es recomendable utilizar equipos de alta energía como baños de ultrasonidos y homogeneizadores.

40 La Patente US nº 4.826.689 da a conocer un método para producir partículas de tamaño uniforme a partir de fármacos insolubles en agua u otros compuestos orgánicos. En primer lugar, un compuesto orgánico sólido adecuado se disuelve en un disolvente orgánico y la solución se puede diluir con un material no disolvente. Después se añade por infusión un líquido de precipitación acuoso, con lo que precipitan aquellas partículas no agregadas con un diámetro medio esencialmente uniforme. Después, las partículas se separan del disolvente orgánico. De acuerdo con la invención, los parámetros de temperatura, proporción del material no disolvente con respecto al disolvente orgánico, velocidad de infusión, velocidad de agitación y volumen se pueden variar dependiendo del compuesto orgánico y el tamaño de partícula deseado. Este proceso produce un fármaco en un estado metaestable que es termodinámicamente inestable y que finalmente pasa a un estado cristalino más estable. El fármaco está atrapado en un estado metaestable en el que su energía libre oscila entre la de la solución de fármaco inicial y la de la forma cristalina estable. La patente 689' da a conocer la utilización de inhibidores de cristalización (por ejemplo polivinilpirrolidona) y agentes tensioactivos (por ejemplo poli(oxietileno)-co-oxipropileno) para volver el precipitado lo suficientemente estable como para aislarlo por centrifugación, filtración con membrana u ósmosis inversa.

55 Las Patentes US nº 5.091.188, 5.091.187 y 4.725.442 dan a conocer (a) el revestimiento de pequeñas partículas de fármacos con fosfolípidos naturales o sintéticos o (b) la disolución del fármaco en un soporte lipófilo adecuado y la formación de una emulsión estabilizada con fosfolípidos naturales o semisintéticos. Una desventaja de estas propuestas es que dependen de la calidad de la materia prima del fármaco y no proporcionan pasos para cambiar la morfología de la materia prima con el fin de que el material adquiera una forma friable, más fácil de procesar.

5 En la Patente US nº 5.145.684 se da a conocer otra propuesta para obtener formulaciones de fármacos insolubles para administración parenteral. La patente 684' se refiere a la molienda en húmedo de un fármaco insoluble en presencia de un modificador superficial para obtener una partícula de fármaco con un tamaño de partícula efectivo medio inferior a 400 nm. El modificador superficial se adsorbe sobre la superficie de la partícula del fármaco en una cantidad suficiente para evitar su aglomeración en partículas de mayor tamaño.

10 La Patente US nº 5.922.355 da a conocer otro intento más para la obtención de formulaciones de fármacos insoluble para la administración parenteral. La patente 355' se refiere a la obtención de partículas de fármacos insolubles con tamaños submicrónicos empleando una combinación de modificadores superficiales y fosfolípidos, seguida de reducción del tamaño de partícula utilizando técnicas tales como baño de ultrasonidos, homogeneización, molienda, microfluidización, precipitación o recristalización. En la patente 355' no se da a conocer ningún cambio de las condiciones de proceso para que los cristales adquieran una forma más friable.

15 La Patente US nº 5.780.062 proporciona un método para preparar partículas pequeñas de fármacos insolubles que consiste en (1) disolver el fármaco en un primer disolvente miscible con agua; (2) preparar una segunda solución de un polímero y un anfífilo en un segundo disolvente acuoso en el que el fármaco es esencialmente insoluble, formándose un complejo polímero/anfífilo; y (3) mezclar las soluciones del primer y el segundo paso para precipitar un agregado del fármaco y el complejo polímero/anfífilo.

20 La Patente US nº 5.858.410 proporciona una nanosuspensión farmacéutica adecuada para administración parenteral. La patente 410' describe un método consistente en someter al menos un compuesto sólido terapéuticamente activo disperso en un disolvente a una homogeneización a alta presión en un homogeneizador de pistón-gap. Las partículas formadas tienen un diámetro medio de 10 nm a 1.000 nm, determinado por espectroscopía de correlación de fotones (PCS), siendo la proporción de partículas superiores a 5 micrómetros en la población total inferior al 0,1% (distribución numérica determinada mediante un contador Coulter), sin conversión previa en una masa en fusión. Los ejemplos de la patente 410' se refieren a una molienda por chorro antes de la homogeneización. El uso de disolventes se desaconseja, ya que dicho uso conduce a la formación de cristales demasiado grandes.

25 El documento US nº 4.997.454 proporciona un método para producir partículas de tamaño uniforme a partir de compuestos sólidos. El método incluye los pasos de disolver el compuesto sólido en un disolvente adecuado y después añadir por infusión un líquido de precipitación, con lo que precipitan partículas no agregadas con un diámetro medio esencialmente uniforme. Luego se separan las partículas del disolvente. La patente 454' desaconseja la formación de partículas en estado cristalino, ya que durante el procedimiento de precipitación el cristal se puede disolver y recristalizar, ampliando así los márgenes de distribución granulométrica. La patente 454' aconseja atrapar las partículas en un estado de partícula metaestable durante el procedimiento de precipitación.

30 La Patente US nº 5.605.785 da a conocer un proceso para formar dispersiones nanoamorfos de compuestos útiles fotográficamente. El proceso para formar dispersiones nanoamorfos incluye cualquier procedimiento de emulsión conocido que produzca una fase dispersa con partículas amorfas.

35 El documento US 2002/0127278A1 da a conocer un método para preparar partículas submicrónicas de compuestos orgánicos.

40 La Patente US nº 6.607.784 proporciona un método para preparar partículas submicrónicas de un compuesto orgánico cuya solubilidad es mayor en un primer disolvente miscible con agua que en un segundo disolvente que es acuoso, incluyendo el proceso los pasos de (i) disolver el compuesto orgánico en el primer disolvente miscible con agua para formar una solución; (ii) mezclar la solución con el segundo disolvente para definir una presuspensión; y (iii) aportar energía a la presuspensión para formar partículas con un tamaño de partícula efectivo medio de 400 nm a 2 micras.

B. Antecedentes relativos a los derivados de indol y su utilización como agentes antitumorales

La Publicación US nº 2002/0091124 A1 da a conocer derivados de indol y heteroindol y su utilización como agentes antitumorales.

45 Las Patentes US nº 6.008.231, 6.232.327 y 6.693.119 proporcionan indol-3-glioxilamidas N-sustituidas, métodos para su preparación y su utilización para el tratamiento del cáncer, asma, alergias, así como su uso como inmunosupresores. Los compuestos son particularmente útiles en el tratamiento de tumores resistentes a agentes antitumorales, carcinomas metastásicos, incluyendo el desarrollo y la propagación de metástasis, tumores sensibles a los inhibidores de la angiogénesis o tumores que son tanto resistentes a los agentes antitumorales como sensibles a los inhibidores de la angiogénesis.

50 La Publicación US nº 2003/0195244 A1 da a conocer compuestos indólicos y su utilización para el tratamiento del cáncer y trastornos relacionados con la angiogénesis. En el documento 2003/0195244 A1 no se describe la preparación o el uso de formulaciones en nanopartículas de estos derivados.

La Publicación US nº 2004/0033267 A1 describe composiciones nanoparticuladas que comprenden inhibidores de la angiogénesis.

C. Antecedentes relativos a los inhibidores de la tubulina

- 5 Durante la mitosis el ADN de una célula se replica y ésta se divide después en dos células nuevas. El proceso de separación de los cromosomas recién replicados en las dos células en formación implica a fibras fusiformes construidas con microtúbulos, formados a su vez por cadenas largas de subunidades proteínicas más pequeñas denominadas tubulinas. Los microtúbulos fusiformes se unen a los cromosomas replicados y sacan una copia a cada lado de la célula en división. Sin estos microtúbulos, la división celular es imposible (véase Cancerquest (2003): "Cancer Treatments-Chemotherapy" www.cancerquest.org/index.cfm?page=520 o sitios web similares).
- 10 Por consiguiente, los microtúbulos se encuentran entre los objetivos subcelulares más importantes de la quimioterapia anticancerosa, ya que están presentes en todas las células y son necesarios para las funciones mitóticas, de interfase y de mantenimiento celular (por ejemplo transporte intracelular, desarrollo y mantenimiento de la forma celular, movilidad celular y posiblemente distribución de moléculas en las membranas celulares). Los compuestos que interactúan con la tubulina pueden interferir en el ciclo celular provocando la precipitación y secuestro de la tubulina, interrumpiendo así
- 15 muchas funciones biológicas importantes que dependen de la clase microtubular de orgánulos subcelulares. Por ello, estos compuestos pueden inhibir potencialmente la proliferación de líneas celulares tumorales derivadas de diversos órganos (véase, por ejemplo, Bacher y col. (2001) *Pure Appl. Chem.* 73:91459-1464 y Rowinsky & Donehower (1991) *Pharmac. Ther.* 52:35-84).
- 20 Un tipo de fármacos antimitóticos bien caracterizados y utilizados clínicamente es de origen natural: los taxanos (paclitaxel, docetaxel), alcaloides de vinca (vincristina, vinblastina, vinorelbina) y podofilotoxinas/colchicina. Estos agentes inhiben la polimerización de la tubulina (alcaloides de vinca/colchicina) o impiden el desmontaje de los microtúbulos (taxanos). Una desventaja importante de los taxanos y los alcaloides de vinca es el desarrollo de neurotoxicidad, ya que los fármacos interfieren con la función de los microtúbulos en los axones, que median en el transporte vesicular neuronal.
- 25 Las epotilonas A y B y sus análogos tienen una alta citotoxicidad y una buena estabilización de los microtúbulos. Estos productos naturales se aislaron originalmente a partir de mixobacterias. Su capacidad única para inhibir líneas celulares tumorales resistentes al taxol y su buena solubilidad son las mayores ventajas en comparación con los taxanos. Sin embargo, las estructuras químicas complicadas y el acceso limitado a los recursos naturales, en combinación con el desarrollo de resistencia al fármaco, limitan el potencial de estos productos naturales en general.
- 30 Otros productos naturales o análogos derivados se caracterizan por una mayor solubilidad o potencia, pero siguen presentando una estructura química complicada.

D. Antecedentes relacionados con la indibulina

- 35 Unas entidades químicas sintéticas nuevas, de moléculas pequeñas, que se unieran a la tubulina pero que no fueran un sustrato de bombas transmembrana ni interfirieran con la función de los microtúbulos axonales aumentarían en gran medida el índice terapéutico en el tratamiento de tumores malignos.

Actualmente está siendo evaluadas en etapa preclínica o clínica temprana diversas moléculas sintéticas que se unen a la tubulina. Entre éstas se encuentra el compuesto sintético amida de ácido *N*-(piridin-4-il)-[1-(4-clorobencil)indol-3-il]-gloxílico, designado D-24851, y también conocido como "indibulina".

- 40 La D-24851 es un inhibidor de la tubulina indólico sintético de moléculas pequeñas con una actividad antitumoral significativa *in vitro* e *in vivo*. Desestabiliza los microtúbulos en las células tumorales y también en sistemas libres de células. El sitio de unión de la D-24851 no parece superponerse con los sitios de unión de la tubulina de los agentes desestabilizadores de microtúbulos vincristina y colchicina, bien caracterizados. Además, la molécula bloquea selectivamente el progreso del ciclo celular en la metafase.

- 45 *In vitro*, la D-24851 ejerce una actividad antitumoral significativa contra diversos tumores malignos (por ejemplo, de próstata, cerebro, mama, páncreas y colon). La D-24851 tiene una alta eficacia antineoplásica *in vivo* en animales. En base a su mecanismo de acción, se espera que se dirija a todos los tipos de tumores sólidos. También se espera que presente efectos antiasmáticos, antialérgicos, inmunosupresores e inmunomoduladores. En la experimentación con animales no se ha hallado hasta la fecha ningún síntoma neurológico. En experimentos preclínicos con roedores, los animales toleraron muy bien el compuesto con dosis altamente eficaces. Otra ventaja para seguir desarrollándola es su
- 50 facilidad de síntesis, a diferencia de otros compuestos inhibidores de la tubulina.

También se han identificado otros compuestos inhibidores de la tubulina de la clase química del indol como candidatos potenciales a fármacos con modos de acción similares al de la indibulina, incluyendo la D-64131, un derivado de 2-arilindol, tal como se describe en "New Small-Molecule Tubulin Inhibitors", *Pure Appl. Chem.*, Vol. 73, No. 9, 2001.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona una composición particulada de acuerdo con la reivindicación 1 y un método para preparar la composición particulada de acuerdo con la reivindicación 26.

5 La presente invención se refiere a composiciones particuladas de inhibidores de la tubulina específicos basados en indol. Composiciones preferentes comprenden una suspensión acuosa de nanopartículas de inhibidores de la tubulina basados en indol revestidas con al menos un agente tensioactivo seleccionado de entre agentes tensioactivos iónicos, no iónicos, zwitteriónicos, agentes tensioactivos derivados biológicamente y aminoácidos.

10 La formulación puede administrarse a animales, en particular a seres humanos. Las composiciones y sus métodos de administración asociados proporcionan numerosas ventajas, incluyendo la facilidad para suministrar las composiciones por administración parenteral u oral, toxicidad reducida y mayor biodisponibilidad. Además, dado que las partículas (por ejemplo nanopartículas) de la presente invención incluyen una alta proporción de agentes antitubulina, las nanosuspensiones de la presente invención reducen considerablemente la concentración de excipientes, tales como tensioactivos y otros solubilizantes, que en otro caso serían necesarios en grandes cantidades con el fin de solubilizar el agente para su administración. La reducción de los niveles de excipientes permite una dosificación considerablemente más alta del principio activo (ya que las complicaciones provocadas por los excipientes se reducen con las menores concentraciones de excipientes). Además, las suspensiones preferentes de la presente invención contienen muy poco o nada de disolvente, lo que posibilita una mayor dosificación del principio activo mientras se reduce la toxicidad debida a los disolventes para el sujeto.

20 Mediante las presentes formulaciones se pueden evitar muchas desventajas del estado anterior de la técnica. Estas desventajas incluyen toxicidad, ineficacia contra tumores multirresistentes (MDR), baja tasa de absorción, mala biodisponibilidad y estructura química complicada (que dificulta la síntesis).

25 La presente invención también se refiere a procedimientos para producir las composiciones particuladas de los inhibidores de tubulina mediante la preparación de partículas de al menos un compuesto inhibidor de la tubulina y, opcionalmente, al menos un agente tensioactivo, y para formular las partículas resultantes en un vehículo adecuado para su administración. Métodos preferentes se refieren a la preparación de nanosuspensiones acuosas de inhibidores de la tubulina para su administración parenteral.

30 La composición de la invención puede utilizarse para el tratamiento de mamíferos, preferentemente seres humanos, mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de la suspensión antitubulina. Preferentemente, la composición administrada presentará actividad anticancerosa, antiasmática, antialérgica, inmunosupresora o inmunomoduladora. Los usos especialmente preferentes se refieren a la administración de nanosuspensiones de indibulina para el tratamiento del cáncer.

Otras ventajas y aspectos de la presente invención se evidenciarán a partir de la lectura de la siguiente descripción detallada de la invención.

Breve descripción de las figuras

- 35 FIG. 1: gráfico donde se comparan los niveles plasmáticos de D-24851 después de la inyección intravenosa de las Composiciones 4 y 5.
- FIG. 2: gráfico que muestra las concentraciones plasmáticas medias de D-24851 después de la inyección intravenosa en perros - día 1 (Composición 4).
- 40 FIG. 3: gráfico que muestra las concentraciones plasmáticas medias de D-24851 después de la inyección intravenosa en perros - día 27 (Composición 4).
- FIG. 4: representa el Método "A", un proceso preferente para preparar suspensiones de partículas.
- FIG. 5: representa esquemáticamente el Método "B", un proceso preferente para preparar suspensiones de partículas.
- 45 FIG. 6: gráfico que compara la dependencia de la dosis de una nanosuspensión de D-24851 (Composición 4) con una solución de control en un modelo de tumor AH13 en ratas.
- FIG. 7: gráfico que muestra las concentraciones plasmáticas después de la administración intravenosa de diferentes dosis de nanosuspensión de D-24851 (Composición 4) en ratas.
- FIG. 8: gráfico que muestra las concentraciones plasmáticas el día 1 y el día 15 después de la administración intravenosa de una nanosuspensión de D-24851 (Composición 4) en ratas.

50 Descripción detallada de la invención

La presente invención se describe aquí utilizando diversas definiciones, tal como se exponen más abajo y en toda la solicitud.

El concepto "aproximadamente" será entendido por el experto medio en la técnica y variará en cierta medida dependiendo del contexto donde se utilice. Si hay usos del término que no sean claros para el experto en la técnica en el contexto donde es utilizado, "aproximadamente" significará hasta más o menos el 10% del término particular.

5 Habitualmente, en la técnica, el término "biodisponibilidad" en relación con el rendimiento farmacocinético de composiciones farmacéuticas se utiliza para describir el rendimiento *in vivo* de una formulación. Los parámetros normalmente utilizados en la técnica para describir el rendimiento *in vivo* de una formulación (o su biodisponibilidad) son $C_{m\acute{a}x}$, la concentración máxima de principio activo en sangre; $T_{m\acute{a}x}$, el tiempo transcurrido desde la dosificación hasta que el fármaco alcanza la $C_{m\acute{a}x}$; y AUC (el área bajo la curva), una medida de la cantidad total de fármaco absorbida por el paciente. Por consiguiente, el concepto "mayor biodisponibilidad" en relación con una nanosuspensión de la presente invención se refiere a un mayor rendimiento (por ejemplo, mayor $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, AUC u otros criterios de rendimiento) de dicha nanosuspensión con respecto a otras composiciones diferentes de las composiciones de nanopartículas para un determinado inhibidor de la tubulina basado en indol de la presente invención. Esta mayor biodisponibilidad también es aplicable a regímenes de múltiples dosis de las nanosuspensiones de la presente invención con respecto a regímenes de múltiples dosis de otras formulaciones que contienen el mismo fármaco. Dependiendo del fármaco dosificado, el paciente que recibe la dosis y la gravedad de la enfermedad del paciente a tratar, los valores de $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, AUC u otros criterios de rendimiento se pueden aumentar o reducir para lograr una mayor biodisponibilidad. Por ejemplo, si es necesario reducir la $C_{m\acute{a}x}$ de un fármaco dado para mejorar su efectividad (es decir, su eficacia y seguridad), las nanosuspensiones de la presente invención que al ser administradas reduzcan la $C_{m\acute{a}x}$ con respecto a otras formulaciones administradas que contienen el mismo fármaco tendrán una mayor biodisponibilidad. Del mismo modo, si es necesario aumentar el $T_{m\acute{a}x}$ para mejorar la efectividad de un fármaco, las nanosuspensiones de la presente invención que aumenten dicho parámetro tendrán una mayor biodisponibilidad.

25 El concepto "revestido" en relación con un agente tensioactivo u otro excipiente de una composición particulada (por ejemplo nanopartículas o micropartículas) se refiere a la presencia de dicho compuesto en la superficie o aproximadamente sobre la superficie de la partícula. Una partícula "revestida" con dicho compuesto puede estar parcial o totalmente recubierta por el compuesto, pudiendo estar o no dicho compuesto parcialmente incluido dentro de la partícula.

El concepto "friable" se refiere a partículas que son frágiles y que se desmenuzan con facilidad en partículas más pequeñas.

30 El concepto "microsuspensión" se refiere a una suspensión de micropartículas, refiriéndose "micropartículas" a partículas de principio activo que tienen un tamaño medio de partícula de entre aproximadamente 200 nm y aproximadamente 5 micrómetros, a no ser que se especifique de otra manera.

35 El concepto "nanosuspensión" se refiere a una suspensión de nanopartículas, refiriéndose "nanopartículas" y "en nanopartículas" a partículas de principio activo que tienen un tamaño medio de partícula de entre aproximadamente 15 nm y aproximadamente 2 micrómetros, a no ser que se especifique de otra manera. El concepto "suspensión de partículas" se refiere a una suspensión de partículas que puede tener diversas distribuciones de tamaños.

40 Tal como se utilizan aquí, el "tamaño de partícula" o el "tamaño" (en relación con partículas) se determina en base al tamaño medio de partícula por peso específico medido por técnicas de medición granulométrica convencionales bien conocidas por el especialista. Estas técnicas incluyen, por ejemplo, fraccionamiento en campo de flujo de sedimentación, espectroscopía de correlación de fotones, dispersión luminosa, centrifugación en disco, microscopía óptica o microscopía electrónica.

El concepto "presuspensión" se refiere a una dispersión de un sólido que puede ser amorfo, semicristalino o cristalino y cuyo tamaño no se ha reducido suficientemente a los márgenes deseados y/o que requiere una aportación de energía para estabilizar la dispersión del sólido.

45 El concepto "poco soluble en agua" significa que la solubilidad en agua del compuesto es inferior a aproximadamente 10 mg/ml.

En relación con las partículas de fármaco estables, el concepto "estable" significa que las partículas inhibidoras de la tubulina no se floculan, aglomeran o aumentan de tamaño de otro modo de forma perceptible.

50 El concepto "liberación sostenida" se refiere a la administración de una nanosuspensión de la presente invención, manteniéndose la concentración efectiva del ingrediente activo farmacéutico en la corriente sanguínea durante un período de tiempo relativamente largo después de la administración, o durante un período más largo que el período de concentración efectiva después de la administración de otras formulaciones que contienen el mismo ingrediente activo farmacéutico.

55 El concepto "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a cantidades de dosificación de fármaco que generalmente producen un efecto de mejoría del sujeto tratado. Se ha de subrayar que, debido a la variabilidad del estado de la enfermedad y de la respuesta individual, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de una composición de la presente

invención administrada a un sujeto particular en un caso particular no siempre será eficaz para tratar las enfermedades aquí descritas, aunque sea considerada por los especialistas como una "cantidad terapéuticamente eficaz". También se ha de entender que, en casos particulares, las dosis de fármaco se miden como dosis parenterales u orales, o con referencia a los niveles de fármaco medidos en sangre o plasma.

- 5 El concepto "tolerabilidad" se refiere a la capacidad de un individuo para recibir la administración de una nanosuspensión de la presente invención (que contiene un ingrediente farmacéuticamente activo) de forma continua, en bolo, en múltiples dosis o en dosis mayores que las administradas mediante otras formulaciones del mismo ingrediente farmacéuticamente activo, sin efectos perjudiciales o no deseados, o con efectos perjudiciales o no deseados reducidos en comparación con los efectos de la administración de dichas otras formulaciones en el individuo, independientemente de que las formulaciones se administren de forma continua, en bolo o en un régimen de dosificación múltiple.

Compuestos / partículas

En la descripción de la invención, los siguientes términos tienen el siguiente significado:

- 15 El concepto "grupo hidroxilo libre" significa un grupo OH. El concepto "grupo hidroxilo modificado funcionalmente" significa un grupo OH que ha sido funcionalizado para formar: un éter donde el hidrógeno se ha reemplazado por un grupo alquilo, arilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, alqueno, cicloalqueno, heterocicloalqueno, acilalquilo, alquinilo o heteroarilo; un éster donde el hidrógeno se ha reemplazado por un grupo; un carbamato donde el hidrógeno se ha reemplazado por un grupo aminocarbonilo; o un carbonato donde el hidrógeno se ha reemplazado por un grupo arilo, heteroarilo, alcoxilo, cicloalcoxilo, heterocicloalcoxilo, alquenoilo, cicloalquenoilo, heterocicloalquenoilo o alquinoilo-carbonilo. Algunas fracciones preferentes incluyen OH, OCH₂C(O)CH₃, OCH₂C(O)C₂H₅, OCH₃, OCH₂CH₃, OC(O)CH₃ y OC(O)C₂H₅.

20 El término "acilo" representa un grupo unido a través de un átomo de carbono que tiene un enlace doble con un átomo de oxígeno y un enlace simple con otro átomo de carbono.

- 25 El término "alquilo" incluye grupos hidrocarburo alifáticos de cadena lineal o ramificada saturados, es decir sin enlaces dobles carbono-carbono. Los grupos alquilo pueden estar interrumpidos por uno o más heteroátomos, como oxígeno, nitrógeno o azufre, y pueden estar sustituidos por otros grupos, como halógeno, hidroxilo, arilo, cicloalquilo, arilo o alcoxilo. Los grupos alquilo lineales o ramificados preferentes incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo y t-butilo.

El concepto "grupo carbonilo" se refiere a un átomo de carbono unido mediante un enlace doble a un átomo de oxígeno, teniendo el átomo de carbono dos valencias libres.

- 30 El término "halógeno" representa flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "arilo" se refiere a anillos aromáticos basados en carbono. Los anillos pueden estar aislados, como fenilo, o fusionados, como naftilo. Los hidrógenos del anillo pueden estar sustituidos por otros grupos, como alquilo, halógeno, hidroxilo libre o funcionalizado, trihalometilo, etc.

- 35 Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo y grupos fenilo sustituidos, como 2-, 3- o 4-halofenilo, alquilfenilo y 3-(trifluorometil)fenilo.

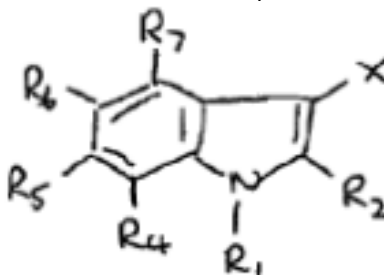
El término "arilalquilo" se refiere a un grupo alquilo donde al menos uno de los hidrógenos del sustituyente alquilo se ha reemplazado por un grupo arilo. Los ejemplos incluyen grupos bencilo y grupos bencilo sustituidos, como 2-, 3- o 4-(halofenil)metilo y 4-(alquilfenil)metilo.

- 40 El término "heteroarilo" se refiere a anillos hidrocarburo aromáticos que contienen al menos un heteroátomo, tal como O, S o N, en el anillo. Los anillos heteroarilo pueden estar aislados, con 5 a 6 átomos de anillo, o fusionados, con 8 a 10 átomos. Los hidrógenos o heteroátomos del anillo(s) heteroarilo con valencia abierta pueden estar sustituidos por otros grupos, como alquilo o halógeno. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen imidazol, piridina, indol, quinolina, furano, tiofeno, benzotiofeno, pirrol, pirazol, oxazol, isoxazol, tiazol, tetrahydroquinolina, benzofurano, dihydrobenzofurano y dihydrobenzindol.

- 45 Los términos "arilo", "heteroarilo", "alcoxilo", "cicloalcoxilo", "heterocicloalcoxilo", "alquenoilo", "cicloalquenoilo" y "heterocicloalquenoilo" representan un grupo arilo, heteroarilo, alquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, alqueno, cicloalqueno, heterocicloalqueno o alquinilo, respectivamente, unido a través de un enlace de oxígeno.

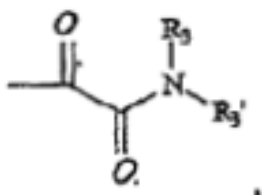
- 50 Los términos "alcoxilcarbonilo", "ariloxilcarbonilo", "heteroariloxilcarbonilo", "cicloalcoxilcarbonilo", "heterocicloalcoxilcarbonilo", "alquenoiloxilcarbonilo", "cicloalquenoiloxilcarbonilo" y "heterocicloalquenoiloxilcarbonilo" representa un alcoxilo, arilo, heteroarilo, cicloalcoxilo, heterocicloalcoxilo, alquenoilo, cicloalquenoilo o heterocicloalquenoilo, respectivamente, unido desde su átomo de oxígeno al carbono de un grupo carbonilo, estando unido el propio grupo carbonilo a otro átomo a través de su átomo de carbono.

Los compuestos inhibidores de la tubulina basados en indol de la presente invención tienen la Fórmula general (1):



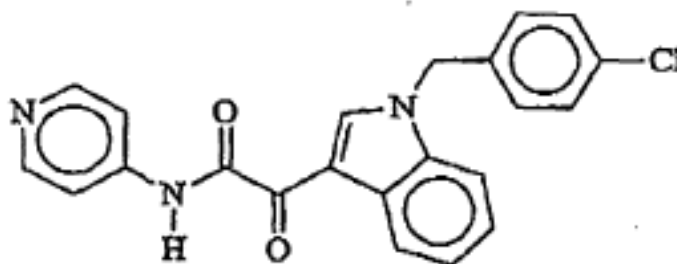
Fórmula (1)

donde:



- 5 X es
- R₃ es arilo o heteroarilo, R_{3'} es hidrógeno,
- R₄, R₅, R₆ y R₇ son, independientemente, hidrógeno, halógeno o alquilo;
- R₁ es arilalquilo; y
- 10 R₂ es hidrógeno, alquilo, acilo, arilo, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, heteroariloxicarbonilo, cicloalcoxycarbonilo, heterocicloalcoxycarbonilo, alqueniloxicarbonilo, cicloalqueniloxicarbonilo y heterocicloalqueniloxi-carbonilo.
- Preferentemente, R₁ es un grupo bencilo sustituido, de forma especialmente preferente un grupo bencilo halogenado (2-, 3- o 4-(halofenil)metilo) y de forma totalmente preferente un grupo 4-(clorofenil)metilo.
- Preferentemente, R₄, R₅, R₆ y R₇ son átomos de hidrógeno.
- 15 Preferentemente, R₃ es un grupo piridinilo (anillo de piridina). De forma especialmente preferente, R₃ es un grupo 4-piridinilo.
- Una especie preferente de inhibidores de la tubulina basados en indol de la presente invención es la descrita en la Patente US nº 2003/0195244 (en particular N-sustituidos y 3-sustituidos).
- Una especie preferente de inhibidores de la tubulina basados en indol de la presente invención es la descrita en la Patente US nº 2002/0091124A1 (2-acilindoles).
- 20 Una especie particularmente preferente de indoles de la presente invención es la descrita en las Patentes US nº 6.008.231, 6.232.327 y 6,693,119 (indol-3-glioxilamidas N-sustituidas).

El indol totalmente preferente de la presente invención es D-24851, que tiene la estructura química de Fórmula 2:



Fórmula (2)

- 25 Los indoles de la presente invención se pueden sintetizar por métodos conocidos por los especialistas y dados a conocer en las patentes y publicaciones arriba indicadas.

Una composición de la presente invención contiene uno o más inhibidores de la tubulina en una cantidad de entre aproximadamente el 0,01% y el aproximadamente el 20% en peso por volumen (p/v), preferentemente entre aproximadamente el 0,05% y aproximadamente el 15% p/v y de forma especialmente preferente entre aproximadamente el 0,1% y aproximadamente el 10% p/v.

- 5 La distribución granulométrica de la presente invención variará en función de diversos factores, incluyendo el principio activo, los agentes tensioactivos presentes, la vía de administración y el régimen de dosificación. En general, las partículas tendrán una distribución granulométrica entre aproximadamente 15 nm y 50 micras, preferentemente entre aproximadamente 50 nm y 10 micras y de forma especialmente preferente entre aproximadamente 50 nm y 2 micras. Cuando las partículas se preparan para la administración inyectable, tendrán un tamaño de partícula eficaz. Preferentemente, estas partículas tendrán un tamaño inferior a aproximadamente 5 micras (micropartículas) y de forma especialmente preferente inferior a aproximadamente 2 micras (nanopartículas).

Agentes tensioactivos/suspensiones

- 15 Los agentes tensioactivos para revestir las partículas en la presente invención se pueden seleccionar de entre agentes tensioactivos iónicos, no iónicos, zwitteriónicos, fosfolípidos, agentes tensioactivos derivados biológicamente o aminoácidos y sus derivados. Los agentes tensioactivos iónicos pueden ser aniónicos o catiónicos. Los agentes tensioactivos están presentes en las composiciones en una cantidad entre aproximadamente el 0,01% y el 10% p/v, preferentemente entre aproximadamente el 0,05% y aproximadamente el 5% p/v.

- 20 Los agentes tensioactivos aniónicos incluyen: alquil sulfonatos, aril sulfonatos, alquil fosfatos, alquil fosfonatos, laurato de potasio, lauril sulfato de sodio, dodecilsulfato de sodio, alquil polioxietilén sulfatos, alginato de sodio, ácido fosfatídico y sus sales, carboximetilcelulosa sódica, ácidos biliares y sus sales (por ejemplo, sales de los ácidos cólico, desoxicólico, glicocólico, taurocólico y glicodesoxicólico) y carboximetilcelulosa de calcio, ácido esteárico y sus sales (por ejemplo, estearato de sodio y calcio), fosfatos, dodecilsulfato de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, dioctil sodio sulfosuccinato (DOSS), dialquilésteres de ácido sulfosuccínico-sodio, lauril sulfato de sodio y fosfolípidos.

- 25 Los agentes tensioactivos catiónicos adecuados incluyen: compuestos de amonio cuaternarios, cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio, quitosano, cloruro de laurildimetilbencilamonio, clorhidratos de acilcarnitina, haluros de alquilpiridinio, cloruro de cetilpiridinio, lípidos catiónicos, bromuro de polimetilmetacrilato-trimetilamonio, compuestos sulfonio, polivinilpirrolidona-2-dimetilaminoetil metacrilato dimetil sulfato, bromuro de hexadeciltrimetil-amonio, compuestos fosfonio, bromuro de bencil-di(2-cloroetil)etilamonio, cloruro de coco trimetilamonio, bromuro de coco trimetilamonio, cloruro de coco metil-dihidroxietil-amonio, bromuro de coco metil-dihidroxietil-amonio, cloruro de deciltriethyl-amonio, cloruro de decil-dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de decil-dimetil-hidroxietil-amonio, cloruro de C₁₂₋₁₅-dimetilhidroxietil-amonio, bromuro de C₁₂₋₁₅-dimetilhidroxietil-amonio, cloruro de coco dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de coco dimetil-hidroxietil-amonio, miristil-trimetil-amonio metilsulfato, cloruro de lauril dimetil-bencil-amonio, bromuro de lauril dimetil-bencil-amonio, cloruro de lauril dimetil-(etenoxi)₄-amonio, bromuro de lauril dimetil-(etenoxi)₄-amonio, cloruro de N-alkil(C₁₂₋₁₈)dimetilbencil-amonio, cloruro de N-alkil(C₁₄₋₁₈)dimetilbencil-amonio, monohidrato de cloruro de N-tetradecildimetilbencil-amonio, cloruro de dimetildidecil-amonio, cloruro de N-alkil(C₁₂₋₁₄)dimetil 1-naftilmetil-amonio, sales trimetilamónicas de haluros de alquiltrimetil-amonio, sales de dialquildimetilamonio, cloruro de lauriltrimetil-amonio, sales de alquilamidoalquil-amonio etoxiladas, sales de dialquilamonio etoxiladas, cloruro de dialquibenceno-dialquilamonio, cloruro de N-didecildimetil-amonio, monohidrato de cloruro de N-tetradecildimetilbencil-amonio, cloruro de N-alkil(C₁₂₋₁₄)dimetil-1-naftilmetil-amonio, cloruro de dodecildimetilbencil-amonio, cloruro de dialquibencenoalquil-amonio, cloruro de lauriltrimetil-amonio, cloruro de alquilbencilmetil-amonio, bromuro de alquilbencilmetil-amonio, bromuros de C₁₂ trimetil-amonio, bromuros de C₁₅ trimetil-amonio, bromuros de C₁₇ trimetil-amonio, cloruro de dodecibencil-trietil-amonio, cloruro de poli-dialildanetilamonio (DADMAC™), cloruros de dimetilamonio, haluros de alquildimetilamonio, cloruro de tricetilmetil-amonio, bromuro de deciltrimetilamonio, bromuro de dodeciltrietilamonio, bromuro de tetradeciltrimetilamonio, cloruro de metiltriocetilamonio, "POLYQUAT 10" (una mezcla de compuestos amonio cuaternarios poliméricos), bromuro de tetrabutilamonio, bromuro de benciltrimetilamonio, ésteres de colina, cloruro de estearalconio, bromuro de cetilpiridinio, cloruro de cetilpiridinio, sales de haluros de polioxietilalquilaminas cuaternizadas, sales de alquilpiridinio, aminas, sales amínicas, sales de imidazolinio, acrilamidas cuaternarias protonadas, polímeros cuaternarios metilados, goma guar catiónica, bromuro de dedodeciltrimetil-amonio, trietanolamina y poloxaminas.

- 55 Los agentes tensioactivos no iónicos adecuados incluyen: polioxietilén éteres de alcohol graso, polioxietileno-sorbitano ésteres de ácido graso, polioxietilén ésteres de ácido graso, ésteres de sorbitano, gliceril ésteres, monostearato de glicerilo, polietilenglicoles, polipropilenglicoles, polipropilenglicol ésteres, alcohol cetílico, alcohol cetosteárico, alcohol estearílico, arilalquil-poliéter-alcoholes, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno, poloxámeros, poloxaminas, metilcelulosa, hidroxilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, polisacáridos, almidón, hidroxietilalmidón, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, trietanolamina estearato, óxidos de amina, dextrano, glicerol, goma acacia, colesterol, tragacanto, cera emulsionante de cetomacrogol, ésteres de sorbitano, polioxietilén-alkil éteres, estearatos de polioxietileno, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol con óxido de etileno y formaldehído, poloxámeros, alquil-aril-poliéter

5 sulfonatos, mezclas de estearato de sacarosa y diestearato de sacarosa, $C_{18}H_{37}CH_2C(O)N(CH_3)CH_2(CHOH)_4(CH_2OH)_2$, p-isononilfenoxipoli(glicidol), decanoil-N-metilglucamida, n-decil-B-D-glucopiranosido, n-decil-B-D-maltopiranosido, n-dodecil-B-D-glucopiranosido, n-dodecil-B-D-maltósido, heptanoil-N-metilglucamida, n-heptil-B-D-glucopiranosido, n-heptil-B-D-tioglucoósido, n-hexil-B-D-glucopiranosido; nonanoil-N-metilglucamida, n-nonil-B-D-glucopiranosido, octanoil-N-metilglucamida, n-octil-B-D-glucopiranosido, octil-B-D-tioglucopiranosido, PEG-colesterol, PEG-vitamina A, PEG-vitamina E y copolímeros aleatorios de acetato de vinilo y vinilpirrolidona.

10 Los agentes tensioactivos zwitteriónicos son eléctricamente neutros, pero poseen cargas positivas y negativas locales dentro de la misma molécula. La carga neta de la molécula puede depender de pH y, en consecuencia, a pH bajo algunos agentes tensioactivos zwitteriónicos pueden actuar como agentes tensioactivos catiónicos, mientras que a pH alto también pueden actuar como agentes tensioactivos aniónicos. Los agentes tensioactivos zwitteriónicos adecuados incluyen fosfolípidos zwitteriónicos. Estos fosfolípidos incluyen fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, dimiristoilglicero-
15 fosfoetanolamina (DMPE), dipalmitoil-glicero-fosfoetanolamina (DPPE), diestearoil-glicero-fosfoetanolamina (DSPE) y dioleoil-glicero-fosfoetanolamina (DOPE), fosfolípidos pegilados, PEG-fosfatidilcolina, PEG-diacil-glicero-fosfoetanolamina, PEG-fosfatidiletanolamina, PEG-dimiristoil-glicero-fosfoetanolamina, PEG-dipalmitoil-glicero-fosfoetanolamina, PEG-diestearoil-glicero-fosfoetanolamina, PEG-dioleoil-glicero-fosfoetanolamina, metoxi polietilenglicol (mPEG)-fosfolípidos, mPEG-fosfatidilcolina, mPEG-fosfatidiletanolamina, mPEG-diacil-glicero-fosfoetanolamina, mPEG-dimiristoil-glicero-fosfoetanolamina, mPEG-dipalmitoil-glicero-fosfoetanolamina, mPEG-diestearoil-glicero-fosfoetanolamina y mPEG-dioleoil-glicero-fosfoetanolamina.

20 En esta invención también se pueden utilizar mezclas de fosfolípidos que incluyen fosfolípidos aniónicos y zwitteriónicos. Estas mezclas incluyen lisofosfolípidos, fosfolípidos de huevo o soja y cualquier combinación de los mismos.

Los agentes tensioactivos derivados biológicamente adecuados incluyen: lipoproteínas, gelatina, caseína, lisozima, albúmina, caseína, heparina, hirudina u otras proteínas.

25 Un agente tensioactivo iónico es una sal biliar, siendo una sal biliar preferente el desoxicolato de sodio. Un agente tensioactivo no iónico preferente es un polialcoxiéter, siendo poliacoxiéteres preferentes copolímeros tribloque de polioxitileno-polioxiopropileno tales como Poloxámero 188 y Poloxámero 407. Otro agente tensioactivo preferente es un lípido donde un polialcoxi éter está unido de forma covalente a un lípido mediante un enlace éter. Un agente tensioactivo preferente de esta clase es un fosfolípido pegilado. Otro agente tensioactivo preferente es un metil éter de fosfolípido pegilado (por ejemplo, mPEG-DSPE).

30 En una realización preferente de la presente invención, las partículas se suspenden en un medio acuoso que además incluye un agente regulador del pH. Los agentes reguladores del pH incluyen hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, tampón tris, ácidos mono-, di-, tricarbónicos y sus sales, tampón citrato, fosfato, glicerol-1-fosfato, glicerol-2-fosfato, acetato, lactato, tris(hidroximetil)-aminometano, aminosacáridos, aminas mono-, di- y trialquiladas, meglumina (N-metilglucosamina) y aminoácidos. El medio acuoso puede incluir adicionalmente un agente regulador de la presión
35 osmótica, como glicerina, un monosacárido como dextrosa, un disacárido como sacarosa, trehalosa y maltosa, un trisacárido como rafinosa y alcoholes de azúcar como manitol y sorbitol.

40 En una realización de la presente invención, el medio acuoso de la composición en suspensión de partículas se elimina para dar partículas secas. El método para eliminar el medio acuoso puede ser cualquiera conocido en la técnica. Un ejemplo por evaporación. Otro ejemplo es secado por congelación o liofilización. Las partículas secas se pueden formular después en cualquier forma física aceptable, incluyendo soluciones, tabletas, cápsulas, suspensiones, cremas, lociones, emulsiones, aerosoles, polvos, incorporación en dispositivos de depósito o matriz de liberación sostenida (como implantes o parches transdérmicos) y similares. También es posible congelar la suspensión acuosa de la presente invención para mejorar su estabilidad en almacenamiento. La congelación de una suspensión acuosa para mejorar la estabilidad se da a conocer en el documento en tramitación asignado US 2003/0077329 (Solicitud de Patente
45 US nº de Serie 10/270.267).

Composiciones preferentes comprenden una suspensión acuosa de partículas de inhibidor de la tubulina presentes en una proporción entre el 0,05% y el 10% p/v, las partículas están revestidas con un 0,05% a un 5% p/v de un agente tensioactivo iónico (por ejemplo desoxicolato) o un agente tensioactivo zwitteriónico (por ejemplo mPEG-DSPE), y se
50 añade entre un 0,05% y un 5% p/v de polialcoxi éter (por ejemplo Poloxámero 188) y glicerina para ajustar la presión osmótica de la formulación.

Las suspensiones de partículas de la presente invención se pueden preparar mediante métodos conocidos por los especialistas en la técnica, los cuales se describen posteriormente.

Métodos de preparación de las suspensiones de partículas

55 Métodos de aportación de energía para preparar las suspensiones de partículas de la presente invención se dan a conocer en los documentos en tramitación y asignados US 2002/0176935; US 2002/0127278; US 2002/0168402; US 2005/0037083; US 2003/0044433; US 2003/0031719; US 2003/0059472; US 2003/0100568; US 2003/0096013; US

2003/0072807; US 2003/77329; y US 2004/022862. (Solicitudes de Patente US nº de Serie 60/258.160; 09/874.799; 09/874.637; 09/874.499; 09/964.273; 10/035.821, 60/347.548; 10/021.692; 10/183.035; 10/213.352; 10/246.802; 10/270.268; 10/270.267 y 10/390.333). Posteriormente se describe un procedimiento general para preparar la suspensión útil en la práctica de esta invención.

5 Los procesos se pueden dividir en tres categorías generales. Cada una de las categorías comparten los pasos de: (1) disolver un compuesto inhibidor de la tubulina en un primer disolvente orgánico miscible con agua para obtener una primera solución; (2) mezclar la primera solución con un segundo disolvente acuoso para precipitar el inhibidor de la tubulina y obtener una presuspensión; y (3) aportar energía a la presuspensión en forma de mezcla de alta cizalladura o con calor para obtener una forma estable del inhibidor de la tubulina con los tamaños deseados dentro de los márgenes arriba definidos.

Las tres categorías de procesos se distinguen según las propiedades físicas del inhibidor de la tubulina, determinadas mediante estudios de difracción de rayos X, estudios de calorimetría diferencial de barrido (*differential scanning calorimetry* - DSC), u otros estudios adecuados realizados antes del paso de aportación de energía y después del mismo.

15 I. Primera categoría de procesos

Los métodos de la primera categoría incluyen generalmente el paso de disolver el inhibidor de la tubulina en un primer disolvente miscible con agua, seguido del paso de mezcla de esta solución con una solución acuosa para formar una presuspensión donde el inhibidor de la tubulina se encuentra en forma amorfa, semicristalina o líquida superenfriada, determinada mediante estudios de difracción de rayos X, DSC, microscopía óptica o electrónica u otras técnicas analíticas, y con un tamaño de partícula efectivo medio dentro de uno de los intervalos de tamaño de partícula efectivo arriba indicados. Después del paso de mezcla, se lleva a cabo un paso de aportación de energía que, en una forma preferente de la invención, es un paso de recocado.

II. Segunda categoría de procesos

25 Los métodos de la segunda categoría de procesos incluyen esencialmente los mismos pasos que los de la primera, pero difieren en lo siguiente: una difracción de rayos X, DSC u otro análisis adecuado de la presuspensión muestra el inhibidor de la tubulina en una forma cristalina y con un tamaño de partícula efectivo medio. Después del paso de aportación de energía, el inhibidor de la tubulina tiene esencialmente el mismo tamaño de partícula efectivo medio que antes de la aportación de energía, pero tiene menos tendencia a agregarse formando partículas más grandes en comparación con la de las partículas de la presuspensión. Sin respaldar ninguna teoría en particular, se cree que las diferencias en la estabilidad de las partículas se puede deber a una reordenación de las moléculas del agente tensioactivo en la interfase sólido-líquido.

III. Tercera categoría de procesos

35 Los métodos de la tercera categoría modifican los dos primeros pasos de la primera y la segunda categoría de procesos para asegurar que el inhibidor de la tubulina en la presuspensión está en una forma friable y tiene un tamaño de partícula efectivo medio (por ejemplo, como agujas finas y placas delgadas). Las partículas friables se pueden formar eligiendo los disolventes, agentes tensioactivos o sus combinaciones, la temperatura de las soluciones individuales, la velocidad de mezcla y la velocidad de precipitación y similares adecuados. También es posible aumentar la friabilidad mediante la introducción de defectos en la red cristalina (por ejemplo, planos de exfoliación) durante los pasos de mezcla de la primera solución con la solución acuosa. Esto se podría producir mediante cristalización rápida, como la proporcionada en el paso de precipitación. En el paso de aportación de energía, estos cristales friables se convierten en cristales cinéticamente estabilizados que tienen un tamaño de partícula efectivo medio inferior que el de la presuspensión. El concepto, "estabilizado cinéticamente" significa que las partículas tienen menor tendencia a la formación de agregados en comparación con las partículas que no están estabilizadas cinéticamente. En este caso, el paso de aportación de energía conduce a la descomposición de las partículas friables. Asegurando que las partículas de la presuspensión están en un estado friable, el compuesto orgánico se puede preparar más fácil y rápidamente en una partícula dentro de los intervalos de tamaños deseados en comparación con el procesamiento de un compuesto orgánico en el que no se han dado los pasos necesarios para ponerlo en una forma friable.

45 El paso de aportación de energía se puede llevar a cabo mediante cualquier método donde la presuspensión se exponga a fuerzas de cavitación, cizalladura o impacto. En una forma preferente de la invención, el paso de aportación de energía es un paso de recocado. El "recocado" se define en esta invención como el proceso de convertir una materia que es termodinámicamente inestable en una forma más estable mediante la aplicación simple o reiterada de energía (calor directo o tensión mecánica), seguida de relajación térmica. Esta reducción de la energía se puede lograr mediante conversión de la forma sólida de una estructura menos ordenada en una estructura de red cristalina más ordenada. Alternativamente, esta estabilización puede tener lugar mediante reordenación de las moléculas del agente tensioactivo en la interfase sólido-líquido.

Estas tres categorías de procesos se describen por separado más abajo. No obstante, se ha de entender que las condiciones de proceso, como la selección de los agentes tensioactivos o de su combinación, la cantidad de agente tensioactivo utilizado, la temperatura de reacción, la velocidad de mezcla de las soluciones, la velocidad de precipitación y similares, se pueden seleccionar para poder procesar cualquier fármaco bajo una cualquiera de las tres categorías descritas más abajo.

La primera categoría de procesos, al igual que la segunda y la tercera categoría de procesos, se pueden dividir además en dos subcategorías, los Métodos A y B, mostrados esquemáticamente en la FIG. 4 y la FIG. 5, respectivamente.

De acuerdo con la presente invención, el primer disolvente es un disolvente o una mezcla de disolventes donde el compuesto orgánico de interés es relativamente soluble y que es miscible con el segundo disolvente. Estos disolventes incluyen compuestos próticos miscibles con agua donde un átomo de hidrógeno de la molécula está unido a un átomo electronegativo como oxígeno, nitrógeno u otro elemento de los Grupos VA, VIA y VIIA de la Tabla Periódica de los Elementos. Ejemplos de estos disolventes incluyen alcoholes, aminas (primarias o secundarias), oximas, ácidos hidroxámicos, ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, ácidos fosfónicos, ácidos fosfóricos, amidas y ureas.

Otros ejemplos de primer disolvente también incluyen disolventes orgánicos apróticos. Algunos de estos disolventes apróticos pueden formar enlaces de hidrógeno con el agua, pero sólo pueden actuar como aceptores de protones porque carecen de grupos donadores de protones efectivos. Una clase de disolventes apróticos es un disolvente aprótico dipolar de acuerdo con la definición de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 2ª edición, 1997):

Un disolvente con una permitividad relativa (o constante dieléctrica) comparativamente alta, mayor de aproximadamente 15, y un momento dipolar permanente considerable, que no puede donar átomos de hidrógeno adecuadamente lábiles para formar enlaces de hidrógeno fuertes, por ejemplo sulfóxido de dimetilo.

Los disolventes apróticos dipolares se pueden seleccionar de entre el grupo consistente en amidas (totalmente sustituidas, con nitrógeno sin átomos de hidrógeno unidos), ureas (totalmente sustituidas, sin átomos de hidrógeno unidos a nitrógeno), éteres, éteres cíclicos, nitrilos, cetonas, sulfonas, sulfóxidos, fosfatos totalmente sustituidos, ésteres fosfonato, fosforamidas, nitrocompuestos y similares. Como miembros de esta clase se pueden mencionar: dimetilsulfóxido (DMSO), N-metil-2-pirrolidinona (NMP), 2-pirrolidinona, 1,3-dimetil-2-imidazolidinona (DMI), dimetilacetamida (DMA), dimetilformamida (DMF), dioxano, acetona, tetrahidrofurano (THF), tetrametilenosulfona (sulfolane), acetonitrilo y hexametilfosforamida (HMPA), nitrometano y carbonato de 1,2-propilenglicol, entre otros.

También se pueden elegir disolventes que sean generalmente inmiscibles con agua, pero que tengan suficiente solubilidad en agua en volúmenes pequeños (menos del 10%) para actuar como un primer disolvente miscible con agua a estos volúmenes reducidos. Los ejemplos incluyen hidrocarburos aromáticos, alquenos, alcanos y sustancias aromáticas halogenadas, haloalquenos y haloalcanos. Las sustancias aromáticas incluyen benceno (sustituido o no sustituido) y arenos monocíclicos o policíclicos. Ejemplos de bencenos sustituidos incluyen xilenos (orto, meta o para) y tolueno. Ejemplos de alcanos incluyen hexano, neopentano, heptano, isooctano y ciclohexano. Ejemplos de sustancias aromáticas halogenadas incluyen clorobenceno, bromobenceno y clorotolueno. Ejemplos de haloalcanos y haloalquenos incluyen tricloroetano, cloruro de metileno, dicloruro de etileno (EDC) y similares.

Ejemplos de todas las clases de disolventes arriba indicadas incluyen: N-metil-2-pirrolidinona (N-metil-2-pirrolidona), 2-pirrolidinona (2-pirrolidona), 1,3-dimetil-2-imidazolidinona (DMI), dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, ácidos carboxílicos (como ácido acético y ácido láctico), alcoholes alifáticos (como metanol, etanol, isopropanol, 3-pentanol y n-propanol), alcohol bencílico, glicerol, butilenglicol (1,2-butanodiol, 1,3-butanodiol, 1,4-butanodiol y 2,3-butanodiol), etilenglicol, propilenglicol, glicéridos mono- y diacilados, dimetilisorbida, acetona, dimetilsulfona, dimetilformamida, 1,4-dioxano, tetrametilenosulfona (sulfolane), acetonitrilo, nitrometano, tetrametilurea, hexametilfosforamida (HMPA), tetrahidrofurano (THF), dietil éter, terc-butil metil éter (TBME), hidrocarburos aromáticos, alquenos, alcanos, sustancias aromáticas halogenadas, haloalquenos, haloalcanos, xileno, tolueno, benceno, benceno sustituido, acetato de etilo, acetato de metilo, acetato de butilo, clorobenceno, bromobenceno, clorotolueno, tricloroetano, cloruro de metileno, dicloruro de etileno (EDC), hexano, neopentano, heptano, isooctano, ciclohexano, polietilenglicol (PEG) ésteres de PEG, PEG-4, PEG-8, PEG-9, PEG-12, PEG-14, PEG-16, PEG-120, PEG-75, PEG-150, polietilenglicol ésteres, dilaurato de PEG-4, dilaurato de PEG-20, isoestearato de PEG-6, palmitoestearato de PEG-8, palmitoestearato de PEG-150, polietilenglicol sorbitanos, sorbitano isoestearato de PEG-20, polietilenglicol monoalquil éteres, dimetil éter de PEG-3, dimetil éter de PEG-4, polipropilenglicol (PPG), alginato de polipropileno, PPG-10-butanodiol, PPG-10 metil-glucosa éter, PPG-20 metil-glucosa éter, PPG-15 estearil éter, dicaprilato/dicaprato de propilenglicol, laurato de propilenglicol y glicofuro (polietilenglicol éter de alcohol tetrahidrofurfurílico).

Un primer disolvente preferente es N-metil-2-pirrolidinona (NMP). Otro primer disolvente preferente es ácido láctico.

El segundo disolvente es un disolvente acuoso. Este disolvente acuoso puede ser directamente agua. Este disolvente también puede contener tampones, sales, agente(s) tensioactivo(s), polímeros solubles en agua y combinaciones de estos excipientes.

Método A

5 En el Método A, primero se disuelve el inhibidor de la tubulina en el primer disolvente para crear una primera solución. El inhibidor de la tubulina se puede añadir en una cantidad entre aproximadamente un 0,01% y aproximadamente un 20% en peso por volumen (p/v), dependiendo de la solubilidad del inhibidor de la tubulina en el primer disolvente. Puede ser necesario calentar el concentrado de aproximadamente 30°C a aproximadamente 100°C para asegurar la disolución total del inhibidor de la tubulina en el primer disolvente.

Está previsto un segundo disolvente acuoso con uno o más agentes tensioactivos añadidos. Los agentes tensioactivos se pueden seleccionar de entre un agente tensioactivo iónico, no iónico, catiónico, zwitteriónico, un fosfolípido, un agente tensioactivo derivado biológicamente, tal como se indica más arriba.

10 También puede ser deseable añadir un agente regulador del pH a la segunda solución, como hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, un aminoácido como glicina, tampón tris o citrato, acetato, lactato, meglumina o similares. La segunda solución debería tener un pH entre aproximadamente 2 y aproximadamente 12.

15 Después se combinan la primera y la segunda solución. Preferentemente, la primera solución se añade a la segunda solución a una velocidad controlada. La velocidad de adición depende del tamaño de la carga y de la cinética de precipitación del inhibidor de la tubulina. Típicamente, para un proceso de laboratorio a pequeña escala (preparación de 1 litro), la velocidad de adición oscila entre aproximadamente 0,05 cc por minuto y aproximadamente 50 cc por minuto. Durante la adición, las soluciones deberían estar sometidas a agitación constante. Mediante microscopía óptica se ha observado que se forman partículas amorfas, sólidos semicristalinos o un líquido superenfriado para crear una presuspensión. El método también incluye un paso de someter la presuspensión a un paso de recocido para hacer pasar las partículas amorfas, el líquido superenfriado o el sólido semicristalino a un estado sólido cristalino más estable. 20 Las partículas resultantes tendrán un tamaño de partícula efectivo medio medido por métodos de dispersión luminosa dinámica (por ejemplo espectroscopía de fotocorrelación, difracción láser, dispersión de luz láser de ángulo bajo (LALLS), dispersión de luz láser de ángulo medio (MALLS)), métodos de oscurecimiento de luz (por ejemplo método de Coulter), reología o microscopía (óptica o electrónica) dentro de los márgenes arriba indicados.

25 El paso de aportación de energía implica la aportación de energía mediante baño de ultrasonidos, homogeneización, homogeneización por flujo en contracorriente (por ejemplo, en Mini DeBEE 2000 homogenizer, disponible en BEE Incorporated, NC, en el que un chorro de fluido se dirige a lo largo de un primer recorrido, y en el primer recorrido se interpone una estructura para que el fluido sea redirigido en un recorrido de flujo controlado a lo largo de un nuevo recorrido con el fin de producir una emulsión o mezcla del fluido), microfluidización u otros métodos para aplicar fuerzas de impacto, cizalladura o cavitación. La muestra se puede enfriar o calentar durante esta etapa. En una forma preferente de la invención, el paso de recocido se lleva a cabo por homogeneización. En otra forma preferente de la invención, el recocido se puede llevar a cabo mediante baño de ultrasonido. En otra forma preferente más de la invención, el recocido se puede llevar a cabo utilizando un aparato emulsificador tal como se describe en la Patente US nº 5.720.551. 30

35 Dependiendo de la velocidad de recocido, puede ser deseable ajustar la temperatura de la muestra procesada dentro del intervalo entre aproximadamente 0°C a 30°C. Alternativamente, para llevar a cabo un cambio de fase deseado en el sólido procesado también puede ser necesario ajustar la temperatura de la presuspensión a un valor dentro del intervalo entre aproximadamente -30°C y aproximadamente 100°C durante el paso de recocido.

Método B

40 El Método B se diferencia del Método A en los aspectos indicados a continuación. La primera diferencia es que se añade un agente tensioactivo o una combinación de agentes tensioactivos a la primera solución. Los agentes tensioactivos se pueden seleccionar de entre agentes tensioactivos iónicos, no iónicos, aniónicos, zwitteriónicos, fosfolípidos o agentes tensioactivos derivados biológicamente, como los enumerados más arriba. Una suspensión de fármaco resultante de la aplicación de los procesos descritos en esta invención se puede administrar directamente como una solución inyectable, siempre que se aplique un medio apropiado para esterilizar la solución.

45 Esterilización

La esterilización se puede llevar a cabo mediante esterilización independiente del concentrado de fármaco (fármaco, disolvente y agente tensioactivo opcional) y el medio diluyente (agua y tampones y agentes tensioactivos opcionales) antes de la mezcla para formar la presuspensión. Los métodos de esterilización incluyen primero prefiltración a través de un filtro de 3,0 micrómetros, seguida por filtración a través de un filtro de partículas de 0,45 micrómetros, seguida a su vez por esterilización por vapor o calor o filtración estéril a través de dos filtros de membrana de 0,2 micrómetros redundantes. 50

Preparación de una suspensión libre de disolventes

Opcionalmente se puede producir una suspensión libre de disolventes eliminando el disolvente después de la precipitación. Esto se puede llevar a cabo por centrifugación, diálisis, diafiltración, fraccionamiento por campo de fuerza,

filtración a alta presión u otras técnicas de separación bien conocidas. La eliminación completa de ácido láctico o N-metil-2-pirrolidiona se lleva a cabo normalmente mediante uno a tres ciclos de centrifugación sucesivos; después de cada centrifugación se decanta y descarta el sobrenadante. Después se añade un volumen fresco del vehículo de suspensión sin el disolvente orgánico a los sólidos restantes y la mezcla se dispersa por homogeneización. Los especialistas en la técnica reconocerán que también es posible aplicar otras técnicas de mezcla de alta cizalladura en este paso de reconstitución.

Sustitución de excipientes

Además, cualquier excipiente no deseado, como los agentes tensioactivos, puede ser sustituido por un excipiente más deseable mediante el uso de los métodos de separación descritos en el párrafo anterior. El disolvente y el primer excipiente se pueden descartar con el sobrenadante después de la centrifugación o filtración. Después se puede añadir un volumen fresco del vehículo de suspensión sin el disolvente y sin el primer excipiente. Alternativamente se puede añadir un nuevo agente tensioactivo. Por ejemplo, una suspensión consistente en fármaco, N-metil-2-pirrolidona (disolvente), Poloxámero 188 (primer excipiente), desoxicolato de sodio, glicerol y agua se puede sustituir por fosfolípidos (nuevo agente tensioactivo), glicerol y agua después de la centrifugación y la retirada del sobrenadante.

Liofilización

La suspensión se puede secar por liofilización (secado por congelación) para formar una suspensión liofilizada para posterior reconstitución en una suspensión adecuada para la administración. Para preparar un sólido seco estabilizado, antes de la liofilización se pueden añadir agentes de carga tales como manitol, sorbitol, sacarosa, almidón, lactosa, trehalosa o rafinosa. La suspensión se puede liofilizar utilizando cualquier programa aplicable de liofilización, por ejemplo:

carga a +25°C;
enfriamiento a -45°C en 1 hora;
mantenimiento a -45°C durante 3,5 horas;
secado medio durante 33 horas con aumento continuo de la temperatura a +15°C a una presión de 0,4 mbar;
secado final durante 10 hora a +20°C a una presión de 0,03 mbar;
crioprotector: manitol.

Además de los métodos de microprecipitación arriba descritos, también se puede utilizar cualquier otro método de precipitación conocido para la preparación de partículas de principios activos (y más preferentemente nanopartículas) junto con la presente invención. A continuación se describen ejemplos de otros métodos de precipitación. Los ejemplos tienen fines ilustrativos y no están concebidos para limitar el alcance de la presente invención.

Métodos de precipitación en emulsión

En la Solicitud US en tramitación y asignada nº 2005/0037083 se da a conocer una técnica de precipitación en emulsión adecuada. En dicha propuesta, el proceso incluye los pasos de: (1) preparar un sistema multifase con una fase orgánica y una fase acuosa, incluyendo la fase orgánica un compuesto farmacéuticamente eficaz; y (2) someter el sistema a un baño de ultrasonido para evaporar parte de la fase orgánica con el fin de provocar la precipitación del compuesto en la fase acuosa con un tamaño de partícula efectivo medio inferior a aproximadamente 2 µm. El paso de preparación de un sistema multifase incluye los pasos de: (1) mezclar un disolvente inmisible con agua con el compuesto farmacéuticamente eficaz para definir una solución orgánica; (2) preparar una solución de base acuosa con uno o más compuestos tensioactivos; y (3) mezclar la solución orgánica con la solución acuosa para formar el sistema multifase. El paso de mezcla de la fase orgánica y la fase acuosa puede incluir el uso de homogeneizadores de pistón-gap, molinos coloidales, equipos de agitación a alta velocidad, equipos de extrusión, equipos de agitación o batido manual, microfluidizadores u otros equipos o técnicas para lograr unas condiciones de alta cizalladura. La emulsión cruda tendrá pequeñas gotas de aceite en el agua con un tamaño aproximadamente inferior a 1 µm de diámetro. La emulsión cruda se somete a baño de ultrasonidos para definir una microemulsión y finalmente para definir una suspensión de partículas de tamaño submicrónico.

En el documento en tramitación y asignado US 2003/0059472, incorporado aquí por referencia y constituyendo parte del mismo, se da a conocer otra propuesta para preparar partículas de tamaño submicrónico. El proceso incluye los pasos de: (1) preparar una dispersión cruda de un sistema multifase con una fase orgánica y una fase acuosa, incluyendo la fase orgánica un compuesto farmacéutico; (2) aplicar energía a la dispersión cruda para formar una dispersión fina; (3) congelar la dispersión fina; y (4) liofilizar la dispersión fina para obtener partículas de tamaño submicrónico del compuesto farmacéutico. El paso de preparación de un sistema multifase incluye los pasos de: (1) mezclar un disolvente inmisible con agua con el compuesto farmacéuticamente eficaz para definir una solución orgánica; (2) preparar una solución de base acuosa con uno o más compuestos tensioactivos; y (3) mezclar la solución orgánica con la solución acuosa para formar el sistema multifase. El paso de mezcla de la fase orgánica y la fase acuosa incluye el uso de homogeneizadores de pistón-gap, molinos coloidales, equipos de agitación a alta velocidad, equipos de extrusión, equipos de agitación o batido manual, microfluidizadores u otros equipos o técnicas para lograr unas condiciones de alta cizalladura.

Precipitación disolvente-antidisolvente

En las Patentes US nº 5.118.528 y 5.100.591 se da a conocer una técnica de precipitación disolvente-antidisolvente adecuada. El proceso incluye los pasos de: (1) preparar una fase líquida de una sustancia biológicamente activa en un disolvente o una mezcla de disolventes a la que se pueden añadir uno o más agentes tensioactivos; (2) preparar una segunda fase líquida de un material no disolvente o una mezcla de materiales no disolventes, siendo el material no disolvente miscible con el disolvente o la mezcla de disolventes para la sustancia; (3) reunir las dos soluciones de (1) y (2) bajo agitación; y (4) retirar los disolventes no deseados para producir una suspensión coloidal de nanopartículas. La patente 528' describe que produce partículas de la sustancia con un tamaño inferior a 500 nm sin aportación de energía.

Precipitación por inversión de fase

Las Patentes US nº 6.235.224 y 6.143.211 y la solicitud de patente US nº 2001/0042932 dan a conocer una precipitación por inversión de fase adecuada. El concepto "inversión de fase" se utiliza para describir los fenómenos físicos mediante los cuales un polímero disuelto en un sistema disolvente en fase continua se invierte en una red macromolecular sólida donde el polímero es la fase continua. Un método para inducir la inversión de fase es la adición de un material no disolvente a la fase continua. El polímero experimenta una transición de una fase simple a una mezcla inestable de dos fases: fracciones ricas en polímero y fracciones pobres en polímero. Unas gotas micelares de material no disolvente en la fase rica en polímero sirven como sitios de nucleación y quedan revestidas con el polímero. La patente 224' describe que la inversión de fase de soluciones poliméricas puede provocar, bajo determinadas condiciones, la formación espontánea de micropartículas discretas, incluyendo nanopartículas. La patente 224' describe la disolución o dispersión de un polímero en un disolvente. En el disolvente también se disuelve o dispersa un agente farmacéutico. Para que el paso de siembra de cristales sea eficaz en este proceso es deseable que el agente esté disuelto en el disolvente. El polímero, el agente y el disolvente forman juntos una mezcla que tiene una fase continua, consistiendo esta fase continua en el disolvente. Después, la mezcla se introduce en un exceso al menos diez veces mayor de un material no disolvente miscible para provocar la formación espontánea de las micropartículas microencapsuladas del agente con un tamaño de partícula medio entre 10 nm y 10 µm. El tamaño de partícula depende de la relación volumétrica disolvente:material no disolvente, la concentración del polímero, la viscosidad de la solución de polímero, el peso molecular del polímero y las características de la pareja disolvente-material no disolvente. El proceso elimina el paso de obtener microgotas, por ejemplo formando una emulsión, del disolvente. El proceso también evita las fuerzas de agitación y/o cizalladura.

Precipitación por cambio de pH

Las técnicas de precipitación por cambio de pH incluyen normalmente un paso de disolver un fármaco en una solución a un pH al que el fármaco es soluble, seguido por un paso de cambiar el pH hasta un punto en el que el fármaco ya no es soluble. El pH puede ser ácido o básico, dependiendo del compuesto farmacéutico particular. Después, la solución se neutraliza para formar una presuspensión de partículas de tamaño submicrónico del compuesto farmacéuticamente activo. En la Patente US nº 5.665.331 se da a conocer un proceso de precipitación por cambio de pH adecuado. Este proceso incluye un paso de disolver el agente farmacéutico junto con un modificador de crecimiento cristalino (CGM) en una solución alcalina y después neutralizar la solución con un ácido en presencia de uno o más agentes tensioactivos modificadores de superficie adecuados, para formar una dispersión de partículas finas del agente farmacéutico. El paso de precipitación puede ir seguido de pasos de purificar por diafiltración la dispersión y después ajustar la concentración de la dispersión a un nivel deseado. Según se indica, este proceso conduce a partículas microcristalinas con diámetros Z-medios inferiores a 400 nm, medidos por espectroscopía de correlación de fotones.

En las Patentes U.S. nº 5.716.642, 5.662.883, 5.560.932 y 4.608.278 se dan a conocer otros ejemplos de métodos de precipitación por cambio de pH.

Método de precipitación por infusión

En las Patentes US nº 4.997.454 y 4.826.689 se dan a conocer técnicas de precipitación por infusión adecuadas. En primer lugar, un compuesto sólido adecuado se disuelve en un disolvente orgánico adecuado para formar una mezcla disolvente. Después se añade por infusión a la mezcla disolvente un material de precipitación no disolvente miscible con el disolvente orgánico a una temperatura entre aproximadamente -10°C y aproximadamente 100°C y a una velocidad de infusión entre aproximadamente 0,01 ml por minuto y aproximadamente 1.000 ml por minuto por volumen de 50 ml para producir una suspensión de partículas sólidas precipitadas no agregadas del compuesto con un diámetro medio uniforme inferior a 10 µm. Preferentemente, la solución añadida por infusión con el material de precipitación no disolvente se somete a agitación (por ejemplo por batido). El material no disolvente puede contener un agente tensioactivo para estabilizar las partículas frente a la agregación. Después, las partículas se separan del disolvente. De acuerdo con la invención, los parámetros de temperatura, proporción entre el material no disolvente y el disolvente, velocidad de agitación y volumen se pueden variar en función del compuesto sólido y el tamaño de partícula deseado. El tamaño de partícula es proporcional a la proporción entre los volúmenes de material no disolvente:disolvente y la temperatura de infusión, siendo inversamente proporcional a la velocidad de infusión y de agitación. El material de precipitación no disolvente puede ser acuoso o no acuoso, dependiendo de la solubilidad relativa del compuesto y del vehículo de suspensión deseado.

Precipitación por cambio de temperatura

5 En la Patente US nº 5.188.837, de Domb se da a conocer una técnica de precipitación por cambio de temperatura, también conocida como técnica de fusión en caliente. En una realización de la invención se preparan lipoesferas mediante los pasos de: (1) fundir o disolver una sustancia, como un fármaco a suministrar, en un vehículo fundido para formar un líquido de la sustancia a suministrar; (2) añadir un fosfolípido junto con un medio acuoso a la sustancia o vehículo fundido a una temperatura mayor que la temperatura de fusión de la sustancia o vehículo; (3) mezclar la suspensión a una temperatura mayor que la temperatura de fusión del vehículo hasta obtener una preparación fina homogénea; y después (4) enfriar rápidamente la preparación a temperatura ambiente o a una temperatura inferior a ésta.

10 Precipitación por evaporación de disolvente

15 En la Patente US nº 4.973.465 se dan a conocer técnicas de precipitación por evaporación. La patente 465' da a conocer métodos para preparar microcristales que incluyen los pasos de: (1) preparar una solución de una composición farmacéutica y un fosfolípido disuelto en un disolvente orgánico común o una combinación de disolventes; (2) evaporar el disolvente o los disolventes; y (3) suspender la película obtenida por evaporación del disolvente o los disolventes en una solución acuosa mediante agitación intensa. El disolvente se puede retirar aportando energía a la solución con el fin de evaporar una cantidad suficiente del disolvente que provoca la precipitación del compuesto. El disolvente también se puede retirar mediante otras técnicas bien conocidas, como aplicación de vacío a la solución o soplado de nitrógeno sobre la misma.

Precipitación por reacción

20 La precipitación por reacción incluye los pasos de disolver el compuesto farmacéutico en un disolvente adecuado para formar una solución. El compuesto se ha de añadir en una cantidad correspondiente o inferior al punto de saturación del compuesto en el disolvente. El compuesto se modifica sometándolo a reacción con un agente químico o en respuesta a la aportación de energía, como calor, luz UV o similares, de modo que el compuesto modificado tiene menor solubilidad en el disolvente y precipita en la solución.

25 Precipitación por fluido comprimido

30 En la Patente US nº 6.576.264 se da a conocer una técnica adecuada de precipitación por fluido comprimido. El método incluye los pasos de disolver un fármaco insoluble en agua en un disolvente para formar una solución. La solución se pulveriza después en un fluido comprimido, que puede ser gas, líquido o fluido supercrítico. La adición del fluido comprimido a una solución de un soluto en un disolvente hace que el soluto alcance o se aproxime a un estado supersaturado y precipite en forma de partículas finas. En este caso, el fluido comprimido actúa como un antidisolvente que reduce la densidad de energía cohesiva del disolvente en el que está disuelto el fármaco.

Alternativamente, el fármaco se puede disolver en el fluido comprimido, que después se pulveriza en una fase acuosa. La expansión rápida del fluido comprimido reduce el poder disolvente del fluido, lo que a su vez hace que el soluto precipite en forma de partículas finas en la fase acuosa. En este caso, el fluido comprimido actúa como un disolvente.

35 Otros métodos para preparar partículas

Las partículas de la presente invención también se pueden preparar por trituración mecánica del principio activo. La trituración mecánica incluye técnicas tales como técnicas de molienda por chorro, con perlas, con bolas, con martillos, por energía de fluido o trituración en húmedo, como las descritas en la Patente US nº 5.145.684.

40 Otro método para preparar las partículas de la presente invención es suspender un principio activo. En este método, las partículas del principio activo se dispersan en un medio acuoso añadiéndolas directamente al medio acuoso para obtener una presuspensión. Normalmente, las partículas se revisten con un modificador superficial para inhibir su agregación. También se pueden añadir uno o más excipientes adicionales al principio activo o al medio acuoso.

Ejemplo 1: Preparación a pequeña escala (300 g) de una suspensión de D-24851 (Composición 1)

45 Una solución acuosa de agente tensioactivo que contenía un 0,1% de desoxicolato de sodio, un 2,2% de glicerina (agente de tonicidad) y un 0,142% de fosfato de sodio dibásico (tampón) se enfrió a baja temperatura (< 10°C). A esta solución de agente tensioactivo se añadió una solución de D-24851 y Poloxámero 188 en ácido láctico. Al mezclar las dos soluciones se formó una suspensión. El peso total de la suspensión era de 300 g, con una concentración de fármaco de aproximadamente un 1% (p/p). Inmediatamente después de la precipitación se llevó a cabo una homogeneización a alta presión, a una presión de aproximadamente 10.000 psi y una temperatura < 70°C. El ácido láctico se retiró por centrifugación y la suspensión se homogeneizó de nuevo a aproximadamente 10.000 psi y una temperatura < 70°C. Después de homogeneización, el tamaño de partícula de la suspensión se examinó utilizando dispersión luminosa. El tamaño de partícula medio era de aproximadamente 190 nm.

Ejemplo 2: Preparación de 2.000 g de una suspensión de D-24851 (Composición 2)

Una solución acuosa de agente tensioactivo que contenía un 0,1% de desoxicolato de sodio, un 2,2% de glicerina (agente de tonicidad) y un 0,142% de fosfato de sodio dibásico (tampón) se enfrió a baja temperatura (< 10°C). A esta solución de agente tensioactivo se añadió una solución de D-24851 y Poloxámero 188 en ácido láctico. Al mezclar las dos soluciones se formó una suspensión. El peso total de la suspensión era de 2.000 g, con una concentración de fármaco de aproximadamente un 1% (p/p). Inmediatamente después de la precipitación se llevó a cabo una homogeneización a alta presión, a una presión de aproximadamente 10.000 psi y una temperatura < 70°C. El ácido láctico se retiró por centrifugación y la suspensión se homogeneizó de nuevo a aproximadamente 10.000 psi y una temperatura < 70°C. Después de homogeneización, el tamaño de partícula de la suspensión se examinó utilizando dispersión luminosa. El tamaño de partícula medio era de aproximadamente 325 nm.

Ejemplo 3: Preparación a gran escala (6.000 g) de una suspensión de D-24851 (Composición 3)

Una solución acuosa de agente tensioactivo que contenía un 0,1% de desoxicolato de sodio, un 2,2% de glicerina (agente de tonicidad) y un 0,142% de fosfato de sodio dibásico (tampón) se enfrió a baja temperatura (< 10°C). A esta solución de agente tensioactivo se añadió una solución de D-24851 y Poloxámero 188 en ácido láctico. Al mezclar las dos soluciones se formó una suspensión. El peso total de la suspensión era de 6.000 g, con una concentración de fármaco de aproximadamente un 1% (p/p). Inmediatamente después de la precipitación se llevó a cabo una homogeneización a alta presión, a una presión de aproximadamente 10.000 psi y una temperatura < 70°C. El ácido láctico se retiró por centrifugación y la suspensión se homogeneizó de nuevo a aproximadamente 10.000 psi y una temperatura < 70°C. Después de homogeneización, el tamaño de partícula de la suspensión se examinó utilizando dispersión luminosa. El tamaño de partícula medio era de aproximadamente 370 nm.

Ejemplo 4: Estabilidad de una nanosuspensión de la presente invención

La estabilidad de las suspensiones se analizó mediante la aplicación de esfuerzo acelerado (ciclado térmico, agitación, congelación-descongelación, y centrifugación) y almacenamiento a 5°C hasta 6 meses. No se produjo ningún cambio significativo en los valores del percentil 99 y 100 del tamaño de partícula medio (para la Composición 3). Además, tampoco se observó agregación en ninguno de los ensayos de resistencia. La agregación se estimó midiendo el tamaño de partícula antes y después del baño de ultrasonidos durante un minuto y calculando la agregación porcentual con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Agregación } = \frac{(P_{99} - P_{99S}) \times 100}{P_{99S}}$$

donde P_{99} representa el percentil 99 de la distribución granulométrica antes del baño de ultrasonidos y P_{99S} representa el percentil 99 de la distribución granulométrica después del baño de ultrasonidos.

Ejemplo 5: D-24851 (Composición 4)

Una composición preferente de la presente invención:

Ingrediente	Concentración
D-24851	10 mg/g
Poloxámero 188	1 mg/g
Ácido desoxicólico, sal sódica	1 mg/g
Glicerina	22 mg/g
Fosfato de sodio, dibásico	1,42 mg/g
Sol. NaOH, sol. HCl	para regular el pH
Agua para inyección	ajuste a un peso total de 100 g
pH	8,5

Ejemplo 6: Formulación de Solutol / propanodiol (Composición 5)

La siguiente composición se preparó para compararla con las composiciones de la presente invención. Composición por 500 g de solución:

D-24851	1,0 g (0,2%, p/p)
Solutol HS15	375,0 g
1,2 propanodiol	125,0 g

Ejemplo 7: Formulación de ácido láctico (Composición 6)

5 La siguiente composición se preparó para compararla con las composiciones de la presente invención. La formulación de ácido láctico era una solución sobresaturada de D-24851 para administración oral. Debido a la concentración sobresaturada del fármaco y la inestabilidad física, es importante que la solución se prepare justo antes de la administración. El fármaco se proporciona en forma de un set de preparación. Estos sets comprenden 3 viales o un dispositivo de 3 compartimentos tal como se describe a continuación:

Contenido del vial de fármaco (Vial 1)

1 vial/compartimento (recipiente de 100 ml) contiene:
Indibulina (D-24851) 60,0 mg

Contenido del vial de disolvente A (Vial 2)

1 vial/compartimento (recipiente de 10 ml) contiene:
Ácido láctico 90% 9041,3 mg

10 *Contenido del vial de disolvente B (Vial 3)*

1 vial/compartimento (recipiente de 75 ml) contiene:
Glucosa 5705,5 mg
Aromatizante de maracuyá 10,0 mg
Agua pur. 51.374,0 mg

Composición de solución bebible de D-24851 - ácido láctico después de la preparación

1 vial/recipiente contiene:

Ingrediente	Cantidad
D-24851	60,0 mg
Ácido láctico	7269,2 mg
Glucosa	5601,8 mg
Aromatizante de maracuyá	9,8 mg
Agua pur.	50.413,4 mg

15 **Ejemplo 8: Composiciones preferentes**

Ingrediente	Concentración
<u>Compuesto de la Fórmula 1</u>	<u>Rango</u> 0,1% - 10% p/p
<u>1^{er} agente tensioactivo (o clase) preferente</u> Agente tensioactivo no iónico, por ejemplo poloxámero	<u>Rango</u> 0,01% - 5% p/p
<u>2^o agente tensioactivo (o clase) preferente</u> Agente tensioactivo zwitteriónico, por ejemplo sal de ácido biliar, fosfolípidos o mezcla	<u>Rango</u> 0,01% - 5% p/p
<u>Excipiente 1</u> Agente tampón, por ejemplo fosfato de sodio	<u>Rango</u> 1 - 50 mM
<u>Excipiente 2</u> Agente de tonicidad, por ejemplo glicerina o trehalosa	<u>Rango</u> 1% - 5% p/p

Ejemplo 9: Composiciones preferentes

Tabla 1 Cargas de formulaciones de suspensión de D-24851 preparadas por homogeneización directa

Carga n°	Agente tensioactivo 1	Agente tensioactivo 2	Agente de tonicidad	Tampón
1	Fosfolípidos E80, 1,2%	-	Trehalosa, 4%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
2	Fosfolípidos E80, 1,2%	-	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
3	Fosfolípidos E80, 1,2%	DMPG, 0,1%	Trehalosa, 4%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
4	DMPC, 1,2%	DMPG, 0,1%	Trehalosa, 4%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%

Carga n°	Agente tensioactivo 1	Agente tensioactivo 2	Agente de tonicidad	Tampón
5	Phospholipon 100H, 1,2%	DMPG, 0,1%	Trehalosa, 4%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
6	Fosfolípidos E80, 1,2%	Na Desoxicolato 0,1%	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
7	Fosfolípidos E80, 0,6%	Na Desoxicolato 0,05 %	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
8	Fosfolípidos E80, 2,4%	-	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
9	Fosfolípidos E80, 2,4%	Na Desoxicolato 0,1%	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%

Tabla 2 Cargas de formulaciones de suspensión de D-24851 preparadas por microprecipitación / homogeneización directa

Carga n°	Agente tensioactivo 1	Agente tensioactivo 2	Agente de tonicidad	Tampón
10	Fosfolípidos E80, 1,2%	-	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
11	Fosfolípidos E80, 1,2%	Na Desoxicolato, 0,1%	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
12	Poloxámero 188 (0,1%)	Na Desoxicolato, 0,1%	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
13	Solutol HS-15 (1,5%)	-	Glicerina, 2,2%	Na ₂ HPO ₄ , 0,142%
14	E80, 1,2%	Hetestarch, 1%	Glicerina, 2,2%	TRIS, 0,06%

5 Ejemplo 10: Estudio comparativo de la biodisponibilidad y farmacocinética de las Composiciones 4, 5 y 6

El estudio se llevó a cabo en 6 macacos cangrejeros (3 machos y 3 hembras) en un diseño cruzado. Las composiciones del fármaco de ensayo se administraron tanto por vía oral como por vía intravenosa.

Se siguió el siguiente régimen de dosificación:

- 10
- A: composición 6, p.o., 5 mg/kg/dosis
 - B: composición 4, p.o., 5 mg/kg/dosis
 - C: composición 4, i.v., 5 mg/kg/dosis
 - D: composición 5, i.v., 0,2 mg/kg/dosis

Se tomaron muestras de sangre de todos los animales en los siguientes tiempos:

- 15
- Oral: Antes de la administración y 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48 y 54 horas después de la misma. También se tomaron muestras de sangre adicionales 60 horas después de la dosificación (Composición 4).

Intravenosa: Antes de la administración y 0,033, 0,083, 0,17, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas después de la misma. También se tomaron muestras de sangre adicionales 10, 16, 24, 36, 48 y 60 horas después de la dosificación (Composición 4).

- 20
- Recogida de muestras: Se tomaron muestras de sangre en tubos que contenían Li-heparina y se centrifugaron para obtener plasma. En el caso de los animales que recibieron la administración de la Composición 4 vía intravenosa, las muestras se dividieron en dos partes alícuotas similares. Una muestra se centrifugó para producir plasma y la otra muestra de sangre total se guardó junto con las muestras de plasma de ensayo a aproximadamente -20°C. Las concentraciones de indibulina en plasma y sangre se determinaron por un método de HPLC validado. El límite de cuantificación (LOQ) es de 2 ng/ml. El volumen de las muestras de ensayo obtenidas era de aproximadamente 100-300 µl. Las concentraciones obtenidas en plasma y sangre se utilizaron para evaluaciones farmacocinéticas no compartimentales.
- 25

Las Tablas 1 y 2 muestran los perfiles de las medianas de concentración en plasma y sangre-tiempo de **D-24851 después** de la administración oral e intravenosa:

Tabla 3

Tabla 3 Parámetros farmacocinéticos de D-24851 después de administración intravenosa u oral (concentraciones en plasma)										
Parámetros farmacocinéticos de D-24851 después de administración intravenosa u oral Concentraciones en plasma										
Media _{geo} (95% C _{IIn})										Mediana (Mín - Máx)
Composición	Vía	C _{máx} [ng/ml]	AUC _{0-tlast} [ng·h/ml]	AUC [ng·h/ml]	CL [ml/mm/kg]	V _{ss} [l/kg]	V _z [l/kg]	MRT [h]	t _{máx} [h]	t _{1/2} [h]
solu/prop. ¹⁾ 0,2 mg/kg	i.v.	401 (279,576)	287 (228-360)	319 (249-409)	10,5 (8,16-13,4)	1,14 (0,82-1,59)	1,73 (1,06-2,80)	1,82 (1,18-2,80)	0,06 (0,03-0,08)	1,85 (1,01-3,47)
Composición 4 - D-24851 nanosuspensión ²⁾ 5 mg/kg	i.v.	586 (349-985)	5501 (3947-7666)	6374 (4357-9325)	-	-	27,4* (15,5-48,2)	25,8 (17,8-37,6)	0,06 (0,03-0,08)	26,7 (23,7-50,0)
ácido láctico ³⁾ 5 mg/kg	p.o.	59,1 (22,2-157)	676 (356-1284)	803 (405-1592)	-	-	10,3 (4,05-26,3)	15,2 (8,73-26,6)	4,00 (2,00-16,0)	12,8 (6,18-15,3)
Composición 4 - D-24851 nanosuspensión ²⁾ 5 mg/kg	p.o.	27,8 (15,3-50,4)	182 (119-281)	-	-	-	-	-	6,00 (4,00-6,00)	-

¹⁾ n = 6; ²⁾ n = 5; ³⁾ n = 4

* Las concentraciones en plasma mostraron una progresión de curva atípica con una fase de absorción. Por ello, la distribución del volumen aparente f se calculó mediante el uso de la fracción de la dosis administrada que estaba sistemáticamente disponible.

Tabla 4

Tabla 4 - Parámetros farmacocinéticos de D-24851 después de administración intravenosa u oral (concentraciones en sangre)										
Parámetros farmacocinéticos de D-24851 después de administración intravenosa u oral Concentraciones en sangre										
Media _{geo} (95% C _{IIn})										Mediana (Mín - Máx)
Formulación	Vía	C _{máx} [ng/ml]	AUC _{0-tlast} [ng·h/ml]	AUC [ng·h/ml]	CL [ml/mm/kg]	V _{ss} [l/kg]	V _z [l/kg]	MRT [h]	t _{máx} [h]	t _{1/2} [h]
Composición 4 - D-24851 nanosuspensión ²⁾ 5 mg/kg	i.v.	47516 (35571-63472)	13375 (9233-19374)	14023 (9736-20198)	5,94 (4,13-8,56)	2,60 (1,02-6,65)	11,6 (5,93-22,7)	7,30 (3,72-16,3)	0,03 (0,03-0,03)	20,0 (11,2-41,8)
Composición 4 - D-24851 nanosuspensión ¹⁾ 5 mg/kg	p.o.	17,2 (12,0-24,6)	131,5 (81,5-212)	-	-	-	-	-	6,00 (4,00-12,0)	-

¹⁾ n = 5; ²⁾ n = 6

5 Bajo el régimen descrito en el Ejemplo 10, la formulación de nanosuspensión de D-24851, preferentemente la Composición 4, se caracteriza por una farmacocinética de liberación prolongada después de inyección intravenosa. Tal como muestran las Tablas 1 y 2 y como se ilustra en la FIG. 1, la inyección intravenosa de la Composición 4 no conduce a una curva de plasma i.v. típica en comparación con la Composición 5. En lugar de un valor $C_{m\acute{a}x}$ alto y una rápida disminución exponencial de la concentración de D-24851 en plasma, se obtuvo un perfil de liberación sostenida. Dado que se espera que la concentración efectiva de D-24851 sea superior a 100 mg/ml, la nanosuspensión (Composición 4) será eficaz durante más de 15 horas, mientras que la solución de solutol (Composición 5) solo será eficaz durante menos de 2 horas.

10 El cálculo de la biodisponibilidad absoluta de las diferentes composiciones se basa en sus valores AUC en plasma en relación con los de la administración intravenosa de la solución de solutol/propanodiol de la Composición 5 en una dosis de 0,2 mg/kg suponiendo una linealidad de dosis entre 0,2 y 5 mg/kg.

La biodisponibilidad absoluta de la Composición 4 calculada después de una administración oral simple de 5 mg/kg en forma de solución acuosa de ácido láctico era del 11,5%.

15 Debido a su alto contenido de ácido láctico, la solución de ácido láctico (Composición 6) es muy amarga, provoca emesis y se tolera mal. Por otro lado, la nanosuspensión (Composición 4) ofrece una alternativa atractiva, ya que en ésta se ha eliminado el ácido láctico y, por consiguiente, la nanosuspensión se tolera mucho mejor.

20 Debido a las propiedades farmacocinéticas mostradas y, en consecuencia, a la mayor vida media en plasma de la D-24851 después de inyección i.v. de la Composición 4, después de la inyección se logra una mejor tolerabilidad por los menores valores $C_{m\acute{a}x}$. La tolerabilidad global de la Composición 4 también es mejor, porque la cantidad de la dosis total de D-24851 administrada a un mamífero se puede reducir durante todo el ciclo terapéutico. Además se logra un intervalo de dosificación prolongado, ya que la Composición 4 muestra niveles en plasma efectivos más de siete veces más duraderos que los de la Composición 5. La frecuencia de administración a un mamífero se puede reducir en todo el ciclo terapéutico, obteniendo no obstante una eficacia equivalente en términos de inhibición tumoral, pero con efectos secundarios considerablemente menores, en comparación con soluciones administradas con mayor frecuencia.

25 **Ejemplo 11: Comparación de los perfiles de toxicidad de la Composición 4**

Para evaluar la toxicidad subcrónica de la Composición 4, se trataron perros (3 machos y 3 hembras) durante 4 semanas. La Composición 4 se inyectó vía intravenosa a diferentes niveles de dosis de 2,61 mg/kg, 5,62 mg/kg y 12,1 mg/kg.

30 Se tomaron muestras de sangre de todos los animales en los siguientes tiempos: 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h, 24 h, 36 h y 48 horas después de la administración. Los niveles de concentración de D-24851 se midieron por HPLC.

Como muestran las Tablas 3 y 4, las concentraciones de D-24851 en plasma dependen de la dosis. Los perfiles en plasma presentaban una magnitud similar en las dosificaciones del día 1 y el día 27.

Tabla 5 Parámetros farmacocinéticos de D-14851 (Día 1) Parámetros farmacocinéticos de D-24851 Media _{ar} (n = 3 por cada sexo) (mín-máx) Día 1							
Dosis [mg/kg]	Sexo	$C_{m\acute{a}x, sd}$ [ng/ml]	$t_{m\acute{a}x, sd}$ [h]	AUC_{sd} [ng·h/ml]	$AUC_{t, sd}$ [ng·h/ml]	$t_{1/2}$ [h]	CL/f [ml/ (min·kg)]
2,61	Macho	147 (130-166)	1,67 (1,00-200)	nc	nc	nc	nc
	Hembra	210 (183-258)	1,67 (1,00-2,00)	nc	3403 (2945-3705)	41,0* (19,7-81,7)	nc
5,62	Macho	241 (190-267)	2,00 (2,00-2,00)	2468 (2347-2654)	2593 (2488-2784)	6,63 (6,04-7,28)	38,1 (35,3-39,9)
	Hembra	279 (271-289)	2,00 (2,00-2,00)	nc	3543 (2855-4633)	20,00* (4,49-45,4)	nc
12,1	Macho	592 (552-618)	2,67 (2,00-4,00)	6981 (5994-8338)	6874 (5914-7937)	8,74 (5,26-12,0)	295 (24,2-33,6)
	Hembra	860 (414-1483)	2,33 (1,00-4,00)	8254 (3873-13082)	7666 (4054-11217)	11,6 (4,70-22,3)	31,1 (15,4-52,1)

* Estos valores sólo son orientativos, debido a un insuficiente ajuste de las curvas.

Tabla 6- Parámetros farmacocinéticos de D-14851 (Día 27)							
Parámetros farmacocinéticos de D-24851							
Media _{or} (n = 3 por cada sexo) (mín-máx) Día 27							
Dosis [mg/kg]	Sexo	Cmáx, md [ng/ml]	tmáx, md [h]	AUC _{0-tlast} , md [ng·h/ml]	AUC _τ , md [ng·h/ml]	t _{in} [h]	CL/f [ml/(min·kg)]
2,61	Machos	224 (147-290)	1,33 (1,00-2,00)	1447 (1240-1586)	1736 (1574-1865)	40,7 (35,0-46,7)	nc
	Hembras	148 (138-164)	2,33 (1,00-400)	1104 (1049-1178)	1413 (1356-1485)	283* (22,3-31,7)	nc
5,62	Machos	186 (176-200)	2,33 (1,00-4,00)	1323 (1065-1460)	1852** (1840-1864)	5,10** (4,99-5,22)	38,1 (35,3-39,9)
	Hembras	315 (271-376)	2,33 (1,00-4,00)	2737 (2265-3085)	2963 (2616-3189)	14,8 (7,02-30,3)	nc
12,1	Machos	435 (396-460)	2,67 (2,00-4,00)	5558 (4935-6738)	5621 (4935-6738)	11,9 (10,1-12,9)	29,5 (24,2-33,6)
	Hembras	329 (286-390)	2,67 (2,00-4,00)	4853 (4059-5564)	4853 (4059-5564)	24,2 (22,4-27,6)	31,1 (15,4-52,1)

* Estos valores sólo son orientativos, debido a un insuficiente ajuste de las curvas.

5 El perfil de liberación prolongada obtenido presenta un especial interés para la D-24851 y otros inhibidores de la tubulina de la presente invención debido a su modo de acción. En el caso de los inhibidores de la tubulina es importante proporcionar una concentración de fármaco efectiva en un ciclo especial de proliferación de células. Dado que no todas las células están en el mismo ciclo celular al mismo tiempo, es necesario proporcionar una concentración suficiente en plasma durante un largo período de tiempo para influir terapéuticamente en la mayor cantidad posible de células cancerosas. La presente invención es particularmente útil para agentes antineoplásicos altamente tóxicos, como la D-24851, ya que permiten reducir la dosis total y en consecuencia pueden proporcionar un régimen de tratamiento modificado. Por consiguiente, las ventajas del perfil farmacocinético de la Composición 4 administrado vía parenteral deberían conducir a una mayor eficacia del fármaco en comparación con composiciones tradicionales.

15 Las presentes composiciones se pueden utilizar en un método para tratar a un mamífero, preferentemente un ser humano, mediante la administración al mamífero de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición. En general, dicha cantidad oscilará entre aproximadamente 0,01 mg/kg y aproximadamente 100 mg/kg de inhibidor de la tubulina, administrada en bolo o a velocidad controlada. Preferentemente, la cantidad de la dosis oscilará entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg.

La vía de administración (por ejemplo tópica, parenteral u oral) y el régimen de dosificación serán determinados por médicos experimentados, en base a factores tales como la naturaleza exacta de la enfermedad a tratar, su gravedad, la edad y el estado físico general del paciente, etc. El tipo de formulación específico seleccionado dependerá de diversos factores, como el compuesto, la frecuencia de dosificación y la enfermedad tratada.

20 Tal como se indica más arriba, el uso de las composiciones de la presente invención para tratar el cáncer es un uso particularmente importante de las mismas. Los tipos de cáncer a tratar incluyen carcinomas metastásicos, incluyendo el desarrollo de metástasis, tumores resistentes a los agentes antitumorales, tumores sensibles a inhibidores de la tubulina, o combinaciones de los mismos. Otros trastornos médicos que pueden ser tratados incluyen enfermedades autoinmunes, asma y reacciones alérgicas y trastornos inflamatorios, incluyendo pancreatitis, *shock* séptico, rinitis alérgica y artritis reumatoide. Las composiciones de la presente invención también pueden ser administradas como inmunosupresores y con otros fines inmunomoduladores.

Ejemplo 12: Estudio comparativo de la farmacocinética en ratas de las Composiciones 4 y 5 IV

30 La farmacocinética intravenosa de la nanosuspensión de D-24851 (Composición 4) se estudió en ratas. El programa de dosificación se optimizó alterando tanto la dosis como la frecuencia con un sarcoma Yoshida® AH13 trasplantado SC en un modelo de rata, observándose un crecimiento tumoral posterior. El tratamiento intravenoso en la vena caudal comenzó con 0,1 g de peso del tumor. La farmacocinética en la rata se determinó en un estudio de 1 mes, dosificando q2d i.v. con 2,5 y 10 mg/kg, y analizando tanto muestras de plasma como muestras de sangre total mediante HPLC. La distribución en los tejidos se determinó con ¹⁴C-D-24851 después de administración i.v. de 10 mg/kg en ratas macho (n = 3), en comparación con 0,25 mg/kg i.v. de D-24851 en una solución orgánica (n = 4), utilizada también para comparación de farmacocinética.

El tamaño de partícula medio de la nanosuspensión era de 260 nm, con un 99% < 0,540 μ m. La frecuencia de la dosis se pudo reducir a dos veces por semana aumentando al mismo tiempo el nivel de dosis, lo que resultó en una inhibición tumoral de un 98%, Tabla 7. Con este programa optimizado, la FIG. 6 muestra la importancia del nivel de fármaco.

Tabla 7 Dependencia de la inhibición tumoral de la frecuencia de dosis y de la dosis

Programa dosis/14 d	Dosis (mg/kg)	Dosis total (mg/kg)	Inhibición tumoral (%)
14	5	70	66
7	10	70	100
6	10	60	88
4	15	60	98

5

La farmacocinética intravenosa después de una sola dosis reveló una concentración creciente en plasma para proporcionar una $C_{m\acute{a}x}$ en un $t_{m\acute{a}x}$ de 2 horas, seguida de niveles mantenidos a lo largo de una serie de horas, antes del comienzo de la fase de excreción, FIG. 7. La proporcionalidad de la dosis se ve con $C_{m\acute{a}x}$, mientras que AUC aumenta en mayor medida, probablemente reflejando la saturación de enzimas metabolizantes, Tabla 8. La concentración minúscula en la solución orgánica dio un AUC, $t_{m\acute{a}x}$ y $t_{1/2}$ muy reducido.

10

Tabla 8 Parámetros de administración i.v. de una dosis simple de nanosuspensión de D-24851 (Composición 4) y solución de solutol/ propanodiol (Composición 5) a ratas

Forma	Dosis (mg/kg)	$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)		$t_{m\acute{a}x}$ (h)		AUC (ng*h/ml)		$t_{1/2}$ (h)	
		M	H	M	H	M	H	M	H
Nanosuspensión de D-24851 (Composición 4)	2	80,4	90,8	2	2	517	663	12	6,4
Nanosuspensión de D-24851 (Composición 4)	5	155	172	2	2	921	1775	3,6	7,2
Nanosuspensión de D-24851 (Composición 4)	10	297	373	2	2	2729	5016	5,7	9,5
Solución de solutol/propanodiol (Composición 5)	0,25	83,5	92,8	0,2	0,1	80,6	73	1,1	0,7

15

La administración i.v. reiterada de 10 mg/kg q2d en ratas indicó un AUC y una $C_{m\acute{a}x}$ después del día 15 comparable a las observadas después del día 1, FIG. 8. Por consiguiente, no se observó ninguna acumulación mensurable del fármaco. Las ratas hembra muestran un AUC y $t_{1/2}$ mayor que las ratas macho. En general, la farmacocinética prolongada con alta carga respalda la dependencia del programa observada, que implica dosificaciones frecuentes de grandes cantidades de fármaco. En cambio, la formulación de solución de solutol/ propanodiol (Composición 5) ofrece una dosificación limitada con niveles de fármaco de muy corta duración.

20

La farmacocinética prolongada es coherente con los resultados de distribución en los tejidos observados en el estudio ^{14}C -ADME. Inicialmente, después de la administración i.v. se encuentran altos niveles en los órganos del MPS, el hígado y el bazo, que disminuyen posteriormente. En comparación, con la solución de solutol/propanodiol del fármaco (Composición 5), los niveles hepáticos aumentan lentamente con el tiempo. Cuando el fármaco formulado con la nanosuspensión de D-24851 (Composición 4) es liberado lentamente de los tejidos del MPS, los niveles aumentan en otros órganos, como en la grasa y el intestino. En cambio, en el caso de la Composición 5, los niveles de fármaco alcanzan inicialmente un valor máximo en estos otros tejidos y después disminuyen, Tabla 9. En el vehículo de solución de solutol/propanodiol solo se pudieron administrar 0,25 mg/kg de fármaco a la rata, debido a la toxicidad. En cambio, en la nanosuspensión de D-24851 se administraron 10 mg/kg de fármaco.

25

30

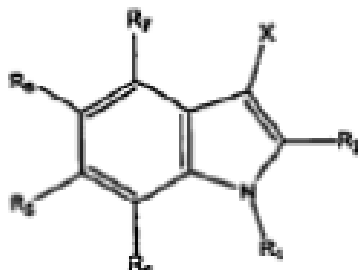
Tabla 9 Distribución en los tejidos después de administración i.v.: D-24851 frente a solución de solutol/propanodiol

14C-D-24851 ADME distribución en los tejidos (%)								
Tejido	Composición 4				Composición 5			
	6 h	18 h	30 h	48 h	4 h	8 h	24 h	48 h
Hígado	33	18	24	17	11	11	13	20
Bazo	6,7	3,2	2,7	2,6	1,2	1,2	1,3	1,6
Intestino delgado	4,8	4,4	6,7	4,7	9,9	4,4	3,8	3,1
Grasa	5,9	18	11	24	19	22	15	11

- 5 El efecto antitumoral dependiente de la dosis observado en el caso de la D-24851 requiere una formulación con carga suficiente para la administración i.v. Esto se llevó a cabo satisfactoriamente con una nanosuspensión de cristales. La distribución en los tejidos indicó una dirección inicial de la nanosuspensión a los órganos del MPS, el hígado y el bazo. Posteriormente, el fármaco se liberaba aparentemente y los niveles del fármaco en los tejidos aumentaron en otros órganos que previsiblemente tienen afinidad por fármacos hidrófobos, por ejemplo la grasa. La farmacocinética reveló niveles crecientes en plasma después de la administración i.v., coherente con la liberación de fármaco soluble desde un depósito inicial, para proporcionar los niveles de fármaco prolongados necesarios para lograr una eficacia.
- 10 En comparación con la Composición 5 (formulación con solución de solutol/ propanodiol), la nanosuspensión de D-24851 (Composición 4) permitió unas dosis considerablemente más altas (15 frente a 0,25 mg/kg) y proporcionó un nivel de concentración prolongado en plasma. En base al mecanismo de acción de los oncolíticos sensibles a los ciclos celulares, está previsto que esta actividad prolongada sea altamente eficaz, tal como indican los estudios de eficacia preliminares. Los estudios de distribución en los tejidos eran coherentes con un efecto de depósito i.v., según indicaba la farmacocinética.
- 15 Se ha comprobado que, mediante la utilización de acuerdo con la presente invención, algunos fármacos previamente considerados como problemáticos en cuanto a su biodisponibilidad pueden ser presentados en formas de dosificación con mayor biodisponibilidad.

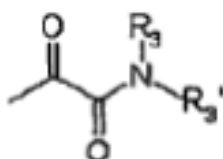
REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica en partículas que incluye partículas con un tamaño medio efectivo de entre aproximadamente 15 nm y aproximadamente 50 micrómetros de al menos un inhibidor de la tubulina de fórmula (1):



5

donde



X es

R₃ es arilo o heteroarilo;R_{3'} es hidrógeno;

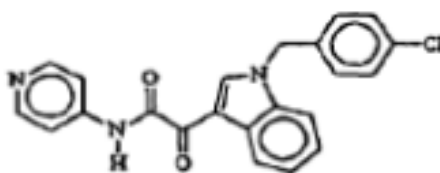
10

R₄, R₅, R₆ y R₇ son independientemente hidrógeno, halógeno o alquilo;R₁ es arilalquilo; yR₂ es hidrógeno, alquilo, acilo, arilo, alcocarbonilo, ariloxycarbonilo, heteroariloxycarbonilo, cicloalcoxycarbonilo, heterocicloalcoxycarbonilo, alqueniloxycarbonilo, cicloalqueniloxycarbonilo y heterocicloalqueniloxi-carbonilo; y

15

al menos un agente tensioactivo seleccionado de entre el grupo consistente en agentes tensioactivos no iónicos, agentes tensioactivos aniónicos, agentes tensioactivos catiónicos, agentes tensioactivos derivados biológicamente, agentes tensioactivos zwitteriónicos y aminoácidos.

2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R₁ es un grupo bencilo halogenado; R₂, R₄, R₅, R₆ y R₇ son hidrógeno; y R₃ es una piridina.
3. Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque el compuesto inhibidor de la tubulina es



20

4. Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque el compuesto inhibidor de la tubulina se selecciona de entre el grupo consistente en:

- 25 N-(piridin-4-il)-[1-(4-fluorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(piridin-3-il)-[1-(4-fluorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(piridin-3-il)-(1-bencilindol-3-il)glioxilamida;
 N-(piridin-3-il)-[1-(2-clorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(4-fluorofenil)-[1-(4-fluorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(4-nitrofenil)-[1-(4-fluorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(2-cloropiridin-3-il)-[1-(4-fluorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 30 N-(piridin-4-il)-(1-bencilindol-3-il)glioxilamida;
 N-(piridin-4-il)-[1-(3-piridilmetil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(4-fluorofenil)-[1-(2-piridilmetil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(4-fluorofenil)-[1-(3-piridilmetil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(piridin-4-il)-[1-(4-clorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 35 N-(piridin-4-il)-[1-(2-clorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(piridin-2-il)-[1-(4-fluorobencil)indol-3-il]glioxilamida;
 N-(piridin-4-il)-[1-(2-piridilmetil)indol-3-il]glioxilamida;

N-(piridin-2-il)-(1-bencilindol-3-il)glioxilamida;
 N-(piridin-4-il)-[1-(4-fluorobencil)-6-etoxicarbonilaminoindol-3-il]glioxilamida;
 N-(piridin-4-il)-[1-(4-fluorobencil)-5-etoxicarbonilaminoindol-3-il]glioxilamida;
 N-(piridin-4-il)-[1-(4-fluorobencil)-6-ciclopentiloxicarbonilaminoindol-3-il]glioxilamida;
 N-(piridin-4-il)-[1-(4-fluorobencil)-5-metoxiindol-3-il]glioxilamida; y
 N-(piridin-4-il)-[1-(4-fluorobencil)-5-etoxicarbonilaminometilindol-3-il] glioxilamida.

5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo no iónico seleccionado de entre el grupo consistente en polioxietilen éteres de alcohol graso, polioxietilen-sorbitano ésteres de ácido graso, polioxietilen ésteres de ácido graso, ésteres de sorbitano, ésteres de glicerilo, monostearato de glicerol, polietilenglicoles, polipropilenglicoles, ésteres de polipropilenglicol, alcohol cetílico, alcohol cetosteárico, alcohol estearílico, aril alquil poliéter alcoholes, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno, poloxámeros, poloxaminas, metilcelulosa, hidroxilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, polisacáridos, almidón, hidroxietilalmidón, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, estearato de trietanolamina, óxidos de amina, dextrano, glicerol, goma acacia, colesterol, tragacanto, cera emulsionante de cetomacrogol, polioxietilen alquil éteres, estearatos de polioxietileno, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol con óxido de etileno y formaldehído, poloxámeros, alquil aril poliéter sulfonatos, mezclas de estearato de sacarosa y diestearato de sacarosa, $C_{18}H_{37}CH_2C(O)N(CH_3)CH_2(CHOH)_4(CH_2OH)_2$, p-isononilfenoxipoli(glicidol), decanoil-N-metilglucamida, n-decil- β -D-glucopiranosido, n-decil- β -D-maltopiranosido, n-dodecil- β -D-glucopiranosido, n-dodecil- β -D-maltósido, heptanoil-N-metilglucamida, n-heptil- β -D-glucopiranosido, n-heptil- β -D-tiogluconósido, n-hexil- β -D-glucopiranosido, nonanoil-N-metilglucamida, n-nonil- β -D-glucopiranosido, octanoil-N-metilglucamida, n-octil- β -D-glucopiranosido, octil- β -D-tiogluconósido, PEG-colesterol, PEG-vitamina A, PEG-vitamina E y copolímeros aleatorios de acetato de vinilo y vinilpirrolidona.
6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo aniónico seleccionado de entre el grupo consistente en alquil sulfonatos, aril sulfonatos, alquil fosfatos, alquil fosfonatos, laurato de potasio, lauril-sulfato de sodio, dodecilsulfato de sodio, alquil polioxietileno sulfatos, alginato de sodio, dioctil sodio sulfosuccinato, ácido fosfatídico y sus sales, carboximetilcelulosa de sodio, ácidos biliares y sus sales, ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido glicocólico, ácido taurocólico, ácido glicodesoxicólico, carboximetilcelulosa de calcio, ácido esteárico y sus sales, estearato de calcio, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, dioctilsulfosuccinato, dialquilesteres de sodio de ácido sulfosuccínico, laurilsulfato de sodio y fosfolípidos.
7. Composición según la reivindicación 6, caracterizada porque el agente tensioactivo comprende un fosfolípido natural o sintético.
8. Composición según la reivindicación 7, caracterizada porque el agente tensioactivo comprende un fosfolípido seleccionado de entre el grupo consistente en fosfatidas, fosfolípidos aniónicos, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, fosfatidilinosina, ácido fosfatídico, lisofosfolípidos, conjugados de polietilenglicol-fosfolípido, fosfolípidos de huevo, fosfolípidos de soja, PEG-fosfolípidos aniónicos y metoxi PEG-fosfolípidos aniónicos.
9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo catiónico seleccionado de entre el grupo consistente en compuestos de amonio cuaternarios, cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio, quitosanos, cloruro de laurildimetilbencilamonio, clorhidratos de acilcarnitina, haluros de alquilpiridinio, cloruro de cetilpiridinio, lípidos catiónicos, bromuro de polimetilmetacrilato-trimetilamonio, compuestos de sulfonio, polivinilpirrolidona-2-dimetilaminoetil-metacrilato dimetil sulfato, bromuro de hexadeciltrimetil-amonio, compuestos de fosfonio, bromuro de bencil-di(2-cloroetil)etilamonio, cloruro de coco-trimetil-amonio, bromuro de coco- trimetil-amonio, cloruro de coco-metil-dihidroxietil-amonio, bromuro de coco-metil-dihidroxietil-amonio, cloruro de decil-trietil-amonio, cloruro de decil-dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de decil-dimetil-hidroxietil-amonio, cloruro de C_{12-15} -dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de C_{12-15} -dimetil-hidroxietil-amonio, cloruro de coco-dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de coco-dimetil-hidroxietil-amonio, miristil-trimetil-amonio metilsulfato, cloruro de lauril-dimetil-bencil-amonio, bromuro de lauril-dimetil-bencil-amonio, cloruro de lauril-dimetil-(etenoxi) $_4$ -amonio, bromuro de lauril-dimetil-(etenoxi) $_4$ -amonio, cloruro de N-alquil(C_{12-18})dimetilbencil-amonio, cloruro de N-alquil(C_{14-18})dimetilbencil-amonio, monohidrato de cloruro de N-tetradecil-dimetilbencil-amonio, cloruro de dimetil-didecil-amonio, cloruro de N-alquil(C_{12-14})-dimetil-1-naftilmetil-amonio, sales de trimetilamonías de haluros alquiltrimetil-amonio, sales de dialquil-dimetil-amonio, cloruro de lauril-trimetil-amonio, sales de alquilamidoalquil-dialquil-amonio etoxiladas, sales de trialquil-amonio etoxiladas, cloruro de dialquibenceno-dialquilamonio, cloruro de N-didecildimetil-amonio, monohidrato de cloruro de N-tetradecil-dimetilbencil-amonio, cloruro de N-alquil(C_{12-14})-dimetil-1-naftilmetil-amonio, cloruro de dodecildimetilbencil-amonio, cloruro de dialquibencenoalquil-amonio, cloruro de lauril-trimetil-amonio, cloruro de alquibencil-metil-amonio, bromuro de alquil-bencil-dimetil-amonio, bromuros de C_{12} trimetil-amonio, bromuros de C_{15} trimetil-amonio, bromuros de C_{17} trimetil-amonio, cloruro de dodecilibencil-trietil-amonio, cloruro de poli-dialildanetilamonio (DAD-MACTM),

- 5 cloruros de dimetil-amonio, haloguros de alquildimetil-amonio, cloruro de tricetil-metil-amonio, bromuro de deciltrimetil-amonio, bromuro de dodeciltrietil-amonio, bromuro de tetradeciltrimetil-amonio, cloruro de metiltriocetil-amonio, POLYQUAT™, bromuro de tetrabutil-amonio, bromuro de bencil-trimetil-amonio, ésteres de colina, cloruro de estearalconio, bromuro de cetilpiridinio, cloruro de cetilpiridinio, sales de haluro de polioxiethylalquilaminas cuaternizadas, MIRAPOL™, ALKAQUAT™, sales de alquilpiridinio, aminas, sales amínicas, sales de imida-azolinio, acrilamidas cuaternarias protonadas, polímeros cuaternarios metilados, goma guar catiónica, bromuro de dedodecil-trimetil-amonio, trietanolamina y poloxaminas.
- 10 **10.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo zwitteriónico seleccionado de entre el grupo consistente en fosfolípidos zwitteriónicos, fosfatidilcolina, diacil-glicerol-fosfoetanolamina, fosfatidiletanolamina, dimiristoil-glicerol-fosfoetanolamina (DMPE), dipalmitoil-glicerol-fosfoetanolamina (DPPE), diestearoil-glicerol-fosfoetanolamina (DSPE) y dioleoil-glicerol-fosfoetanolamina (DOPE), fosfolípidos pegilados, PEG-fosfatidilcolina, PEG-diacil-glicerol-fosfoetanolamina, PEG-fosfatidiletanolamina, PEG-dimiristoil-glicerol-fosfoetanolamina, PEG-dipalmitoil-glicerol-fosfoetanolamina, PEG-diestearoil-glicerol-fosfoetanolamina, PEG-dioleoil-glicerol-fosfo-etanolamina, metoxipolietilenglicol (mPEG)-fosfolípidos, mPEG-fosfatidilcolina, mPEG diacil-glicerol-fosfoetanolamina, mPEG-fosfatidiletanolamina, mPEG-dimiristoil-glicerol-fosfoetanolamina, mPEG-dipalmitoil-glicerol-fosfoetanolamina, mPEG-diestearoil-glicerol-fosfo-etanolamina y mPEG-dioleoil-glicerol-fosfoetanolamina.
- 15 **11.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo derivado biológicamente seleccionado de entre el grupo consistente en lipoproteínas, gelatina, caseína, lisozima, albúmina, heparina, hirudina u otras proteínas.
- 20 **12.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque el agente tensioactivo comprende un aminoácido seleccionado de entre el grupo consistente en leucina, alanina, valina, isoleucina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, metionina y fenilalanina.
- 25 **13.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque adicionalmente comprende un agente regulador del pH.
- 14.** Composición según la reivindicación 13, caracterizada porque el agente regulador del pH se selecciona de entre el grupo consistente en hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, tampón tris, ácidos mono-, di-, tricarbónicos y sus sales, tampón de citrato, fosfato, acetato, lactato, tris(hidroximetil)aminometano, aminosacáridos, aminas mono-, di- y trialquiladas, meglumina (N-metilglucosamina) y aminoácidos.
- 30 **15.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque adicionalmente comprende un agente regulador de la presión osmótica.
- 16.** Composición según la reivindicación 15, caracterizada porque el agente regulador de la presión osmótica se selecciona de entre el grupo consistente en glicerina, monosacáridos, sales inorgánicas y alcoholes de azúcar.
- 35 **17.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el compuesto inhibidor de la tubulina está presente en una cantidad de 0,1 mg/g a 200 mg/g.
- 18.** Composición según la reivindicación 17, caracterizada porque el compuesto inhibidor de la tubulina está presente en una cantidad entre aproximadamente 0,5 mg/g y 50 mg/g.
- 19.** Composición según la reivindicación 17, caracterizada porque el compuesto inhibidor de la tubulina está presente en una cantidad entre aproximadamente 1 mg/g y 50 mg/g.
- 40 **20.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque las partículas tienen un tamaño de partícula medio efectivo de aproximadamente 10 micrómetros o inferior.
- 21.** Composición según la reivindicación 20, caracterizada porque las partículas tienen un tamaño de partícula medio efectivo de aproximadamente 2 micrómetros o inferior.
- 45 **22.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque se puede administrar mediante una vía seleccionada de entre el grupo consistente en las vías parenteral, oral, bucal, periodontal, rectal, nasal, pulmonar, tópica, transdérmica, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intraocular, intracerebral, intralinfática, pulmonar, intraarticular, intratecal e intraperitoneal.
- 50 **23.** Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque está formulada en forma de una dispersión líquida seleccionada de entre el grupo consistente en formulaciones inyectables, soluciones, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de liberación sostenida, formulaciones de liberación pulsátil y formulaciones de liberación inmediata.

24. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, caracterizada porque está formulada en una forma de dosificación sólida seleccionada de entre el grupo consistente en tabletas, tabletas revestidas, cápsulas, ampollas, supositorios, formulaciones liofilizadas, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de liberación sostenida, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones de liberación inmediata y de liberación controlada.
25. Composición según la reivindicación 22, caracterizada porque está formulada en una forma seleccionada de entre el grupo consistente en parches, preparaciones en polvo que pueden ser inhaladas, suspensiones, cremas y pomadas.
26. Método para preparar una composición farmacéutica en partículas según la reivindicación 1, que comprende:
- i. disolver una cantidad efectiva de al menos un compuesto inhibidor de la tubulina según se define en la reivindicación 1 en un primer disolvente miscible con agua para formar una solución;
 - ii. añadir un agente tensioactivo o una combinación de agentes tensioactivos;
 - iii. mezclar la solución con un segundo disolvente para formar una presuspensión; y
 - iv. aportar energía a la presuspensión para formar una suspensión de la composición farmacéutica en partículas.
27. Método según la reivindicación 26, caracterizado porque el paso de aportar energía incluye baño de ultrasonidos, homogeneización, molienda, extrusión de alta cizalladura o microfluidización.
28. Método según la reivindicación 26 o 27, caracterizado porque el primer disolvente se selecciona de entre el grupo consistente en N-metil-2-pirrolidona, ácido láctico, 2-pirrolidona, sulfóxido de dimetilo, dimetilacetamida, ácido láctico, metanol, etanol, isopropanol, 3-pentanol, n-propanol, glicerol, butilenglicol, metilenglicol, propilenglicol, monoglicéridos mono- y diacilados, dimetilisorbida, acetona, dimetilformamida, 1,4-dioxano, polietilenglicol, polietilenglicol ésteres, polietilenglicolsorbitanos, polietilenglicol monoalquil ésteres, polipropilenglicol, polipropileno alginato, PPG-10 butanodiol, PPG-10 metilglucosa éter, PPG-20 metilglucosa éter, PPG-15 estearil éter, propilenglicol dicaprilato, propilenglicol dicaprato, propilenglicol laurato, propilenglicol carbonato, ácido láctico y ácido acético.
29. Método según cualquiera de las reivindicaciones 26 a 28, caracterizado porque el segundo disolvente se selecciona de entre el grupo consistente en agua, tampones, sales, agente(s) tensioactivo(s), polímeros solubles en agua y combinaciones de excipientes.
30. Método según cualquiera de las reivindicaciones 26 a 29, caracterizado porque el agente tensioactivo se selecciona de entre el grupo consistente en agentes tensioactivos no iónicos, agentes tensioactivos aniónicos, agentes tensioactivos catiónicos, agentes tensioactivos derivados biológicamente, agentes tensioactivos zwitteriónicos y aminoácidos.
31. Método según la reivindicación 30, caracterizado porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo no iónico seleccionado de entre el grupo consistente en polioxietileno ésteres de alcohol graso, polioxietileno-sorbitano ésteres de ácido graso, polioxietileno ésteres de ácido graso, ésteres de sorbitano, ésteres de glicerilo, monostearato de glicerol, polietilenglicoles, polipropilenglicoles, ésteres de polipropilenglicol, alcohol cetílico, alcohol cetosteárico, alcohol estearílico, aril alquil poliéter alcoholes, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno, poloxámeros, poloxaminas, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, polisacáridos, almidón, hidroxietilalmidón, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, estearato de trietanolamina, óxidos de amina, dextrano, glicerol, goma acacia, colesterol, tragacanto, cera emulsionante de cetomacrogol, polioxietileno alquil ésteres, estearatos de polioxietileno, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol con óxido de etileno y formaldehído, poloxámeros, alquil aril poliéter sulfonatos, mezclas de estearato de sacarosa y diestearato de sacarosa, $C_{18}H_{37}CH_2C(O)N(CH_3)CH_2(CHOH)_4(CH_2OH)_2$, p-isononilfenoxipoli(glicidol), decanoil-N-metilglucamida, n-decil- β -D-glucopiranosido, n-decil- β -D-maltopiranosido, n-dodecil- β -D-glucopiranosido, n-dodecil- β -D-maltósido, heptanoil-N-metilglucamida, n-heptil- β -D-glucopiranosido, n-heptil- β -D-tiogluconósido, n-hexil- β -D-glucopiranosido, nonanoil-N-metilglucamida, n-nonil- β -D-glucopiranosido, octanoil-N-metilglucamida, n-octil- β -D-glucopiranosido, octil- β -D-tiogluconósido, PEG-colesterol, PEG-vitamina A, PEG-vitamina E y copolímeros aleatorios de acetato de vinilo y vinilpirrolidona.
32. Método según la reivindicación 30, caracterizado porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo aniónico seleccionado de entre el grupo consistente en alquil sulfonatos, aril sulfonatos, alquil fosfatos, alquil fosfonatos, laurato de potasio, lauril-sulfato de sodio, dodecilsulfato de sodio, alquil polioxietileno sulfatos, alginato de sodio, dioctil sodio sulfosuccinato, ácido fosfatídico y sus sales, carboximetilcelulosa de sodio, ácidos biliares y sus sales, ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido glicocólico, ácido taurocólico, ácido glicodesoxicólico, carboximetilcelulosa de calcio, ácido esteárico y sus sales, estearato de calcio, fosfatos,

dodecilsulfato de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, dioctilsulfosuccinato, dialquilésteres de sodio de ácido sulfosuccínico, laurilsulfato de sodio y fosfolípidos.

33. Método según la reivindicación 32, caracterizado porque el agente tensioactivo comprende un fosfolípido natural o sintético.
- 5 34. Método según la reivindicación 33, caracterizado porque el agente tensioactivo comprende un fosfolípido seleccionado de entre el grupo consistente en fosfatidas, fosfolípidos aniónicos, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, fosfatidilinosina, ácido fosfatídico, lisofosfolípidos, conjugados de polietilenglicol-fosfolípido, fosfolípidos de huevo, fosfolípidos de soja, PEG-fosfolípidos aniónicos y metoxiPEG-fosfolípidos aniónicos.
- 10 35. Método según la reivindicación 30, caracterizado porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo catiónico seleccionado de entre el grupo consistente en compuestos de amonio cuaternarios, cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio, quitosanos, cloruro de laurildimetilbencilamonio, clorhidratos de acilcarnitina, haluros de alquilpiridinio, cloruro de cetilpiridinio, lípidos catiónicos, bromuro de polimetilmetacrilato-trimetilamonio, compuestos de sulfonio, polivinilpirrolidona-2-dimetilaminoetil-metacrilato
- 15 dimetil sulfato, bromuro de hexadeciltrimetil-amonio, compuestos de fosfonio, bromuro de bencil-di(2-cloroetil)etilamonio, cloruro de coco-trimetil-amonio, bromuro de coco- trimetil-amonio, cloruro de coco-metil-dihidroxietil-amonio, bromuro de coco-metil-dihidroxietil-amonio, cloruro de decil-trietil-amonio, cloruro de decil-dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de decil-dimetil-hidroxietil-amonio, cloruro de C₁₂₋₁₅-dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de C₁₂₋₁₅-dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de coco-dimetil-hidroxietil-amonio, bromuro de coco-dimetil-hidroxietil-amonio, miristil-trimetil-amonio metilsulfato, cloruro de lauril-dimetil-bencil-amonio, bromuro de lauril-dimetil-bencil-amonio, cloruro de lauril-dimetil-(etenoxi)₄-amonio, bromuro de lauril-dimetil-(etenoxi)₄-amonio, cloruro de N-alquil(C₁₂₋₁₈)dimetilbencil-amonio, cloruro de N-alquil(C₁₄₋₁₈)dimetilbencil-amonio, monohidrato de cloruro de N-tetradecildimetilbencil-amonio, cloruro de dimetil-didecil-amonio, cloruro de N-alquil(C₁₂₋₁₄)-dimetil-1-naftilmetil-amonio, sales de trimetilamonías de haluros alquiltrimetil-amonio, sales de dialquil-dimetil-amonio, cloruro de lauril-trimetil-amonio, sales de alquilamidoalquil-dialquil-amonio etoxiladas, sales de trialquil-amonio etoxiladas, cloruro de dialquilbenceno-dialquilamonio, cloruro de N-didecildimetil-amonio, monohidrato de cloruro de N-tetradecildimetilbencil-amonio, cloruro de N-alquil(C₁₂₋₁₄)-dimetil-1-naftilmetil-amonio, cloruro de dodecildimetilbencil-amonio, cloruro de dialquilbencenoalquil-amonio, cloruro de lauril-trimetil-amonio, cloruro de alquilbencil-metil-amonio, bromuro de alquil-bencil-dimetil-amonio, bromuros de C₁₂ trimetil-amonio, bromuros de C₁₅ trimetil-amonio, bromuros de C₁₇ trimetil-amonio, cloruro de dodecibencil-trietil-amonio, cloruro de poli-dialildanetilamonio (DAD-MAC™), cloruros de dimetil-amonio, haloguros de alquildimetil-amonio, cloruro de tricetil-metil-amonio, bromuro de deciltrimetil-amonio, bromuro de dodeciltrietil-amonio, bromuro de tetradeciltrimetil-amonio, cloruro de metiltrioctil-amonio, POLYQUAT™, bromuro de tetrabutil-amonio, bromuro de bencil-trimetil-amonio, ésteres de colina, cloruro de estearalconio, bromuro de cetilpiridinio, cloruro de cetilpiridinio, sales de haluro de polioxietilalquilaminas cuaternizadas, MIRAPOL™, ALKAQUAT™, sales de alquilpiridinio, aminas, sales amínicas, sales de imida-azolinio, acrilamidas cuaternarias protonadas, polímeros cuaternarios metilados, goma guar catiónica, bromuro de dedodecil-trimetil-amonio, trietanolamina y poloxaminas.
- 20 36. Método según la reivindicación 30, caracterizado porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo zwitteriónico seleccionado de entre el grupo consistente en fosfolípidos zwitteriónicos, fosfatidilcolina, diacil-glicero-fosfoetanolamina, fosfatidiletanolamina, dimiristoil-glicero-fosfoetanolamina (DMPE), dipalmitoíl-glicero-fosfoetanolamina (DPPE), diestearoíl-glicero fosfoetanolamina (DSPE) y dioleoil-glicero-fosfoetanolamina (DOPE), fosfolípidos pegilados, PEG-fosfatidilcolina, PEG-diacil-glicero-fosfoetanolamina, PEG-fosfatidiletanolamina, PEG-dimiristoil-glicero-fosfoetanolamina, PEG-dipalmitoíl-glicero-fosfoetanolamina, PEG-diestearoíl-glicero-fosfo-etanolamina, PEG-dioleoil-glicero-fosfoetanolamina, metoxipolietilenglicol (mPEG)-fosfolípidos, mPEG-fosfatidilcolina, mPEG diacil-glicero-fosfoetanolamina, mPEG-fosfatidiletanolamina, mPEG-dimiristoil-glicero-fosfoetanolamina, mPEG-dipalmitoíl-glicero-fosfoetanolamina, mPEG-diestearoíl-glicero-fosfoetanolamina y mPEG-dioleoil-glicero-fosfo-etanolamina.
- 25 37. Método según la reivindicación 34, caracterizado porque el agente tensioactivo comprende un agente tensioactivo derivado biológicamente seleccionado de entre el grupo consistente en lipoproteínas, gelatina, caseína, lisozima, albúmina, heparina, hirudina u otras proteínas.
- 30 38. Método según la reivindicación 30, caracterizado porque el agente tensioactivo comprende un aminoácido seleccionado de entre el grupo consistente en leucina, alanina, valina, isoleucina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, metionina y fenilalanina.
- 35 39. Método según cualquiera de las reivindicaciones 29 a 38, caracterizado porque el compuesto inhibidor de la tubulina es un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4.
- 40 40. Método según cualquiera de las reivindicaciones 29 a 39, caracterizado porque las partículas tienen un tamaño de partícula medio de aproximadamente 10 micrómetros o inferior.

41. Método según la reivindicación 40, caracterizado porque las partículas tienen un tamaño de partícula medio de aproximadamente 2 micrómetros o inferior.
- 5 42. Utilización de partículas con un tamaño entre aproximadamente 15 nm y aproximadamente 50 micrómetros de al menos un compuesto inhibidor de la tubulina según la reivindicación 1 para la producción de un medicamento para el tratamiento de mamíferos.
- 10 43. Utilización según la reivindicación 42, caracterizada porque el medicamento está destinado al tratamiento de un trastorno médico seleccionado de entre el grupo consistente en trastornos inmunológicos, trastornos inflamatorios, tumores resistentes a agentes antitumorales, carcinomas metastásicos incluyendo el desarrollo y la propagación de metástasis, tumores sensibles a inhibidores de la tubulina o tumores que son tanto resistentes a los agentes antitumorales como sensibles a inhibidores de la tubulina, pancreatitis, *shock* séptico, rinitis alérgica y artritis reumatoide y enfermedades autoinmunes.
- 15 44. Utilización según la reivindicación 42 o 43, caracterizada porque el compuesto de tubulina es un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4.
45. Utilización según la reivindicación 42, caracterizada porque el medicamento tiene actividad antitumoral, antiasmática, antialérgica, inmunosupresora o inmunomoduladora.
- 20 46. Composición farmacéutica en partículas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, destinada a ser utilizada en el tratamiento de mamíferos que la necesitan.
47. Composición farmacéutica en partículas a utilizar según la reivindicación 46 para el tratamiento de un trastorno médico seleccionado de entre el grupo consistente en trastornos inmunológicos, trastornos inflamatorios, tumores resistentes a agentes antitumorales, carcinomas metastásicos incluyendo el desarrollo y la propagación de metástasis, tumores sensibles a inhibidores de la tubulina o tumores que son tanto resistentes a los agentes antitumorales como sensibles a inhibidores de la tubulina, pancreatitis, *shock* séptico, rinitis alérgica y artritis reumatoidea, y enfermedades autoinmunes.
- 25 48. Composición farmacéutica en partículas a utilizar según la reivindicación 46, que presenta actividad antitumoral, antiasmática, antialérgica, inmunosupresora o inmunomoduladora.

FIG. 1

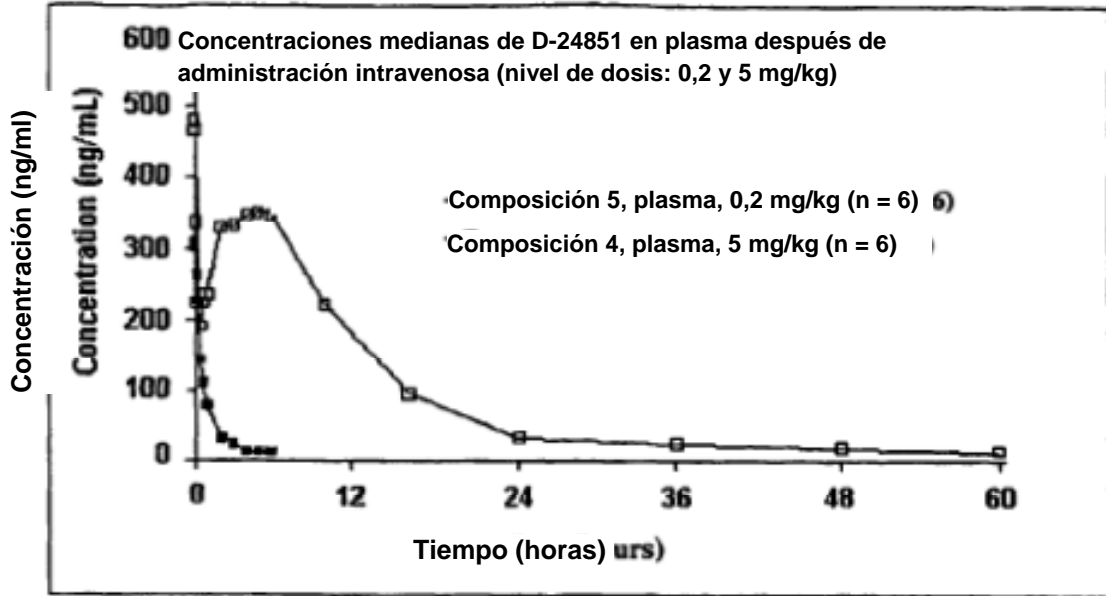


FIG. 2

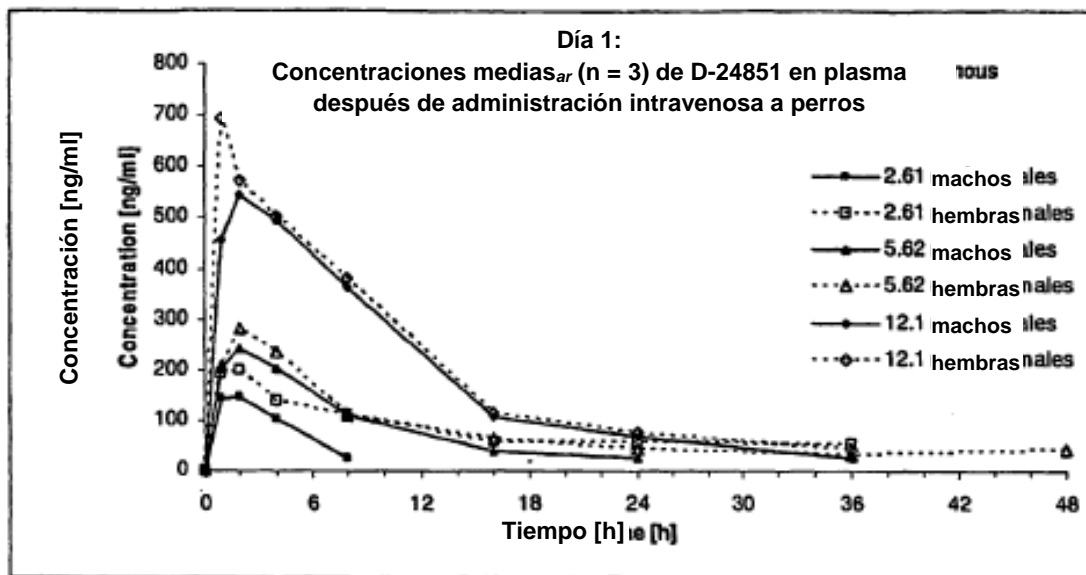


FIG. 3

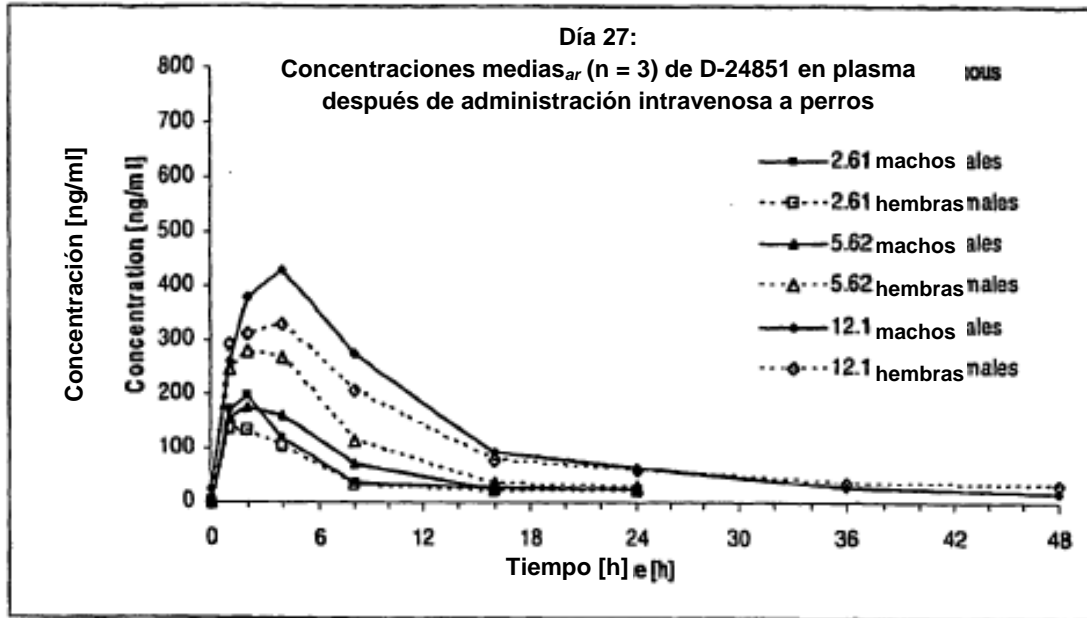


FIG. 4

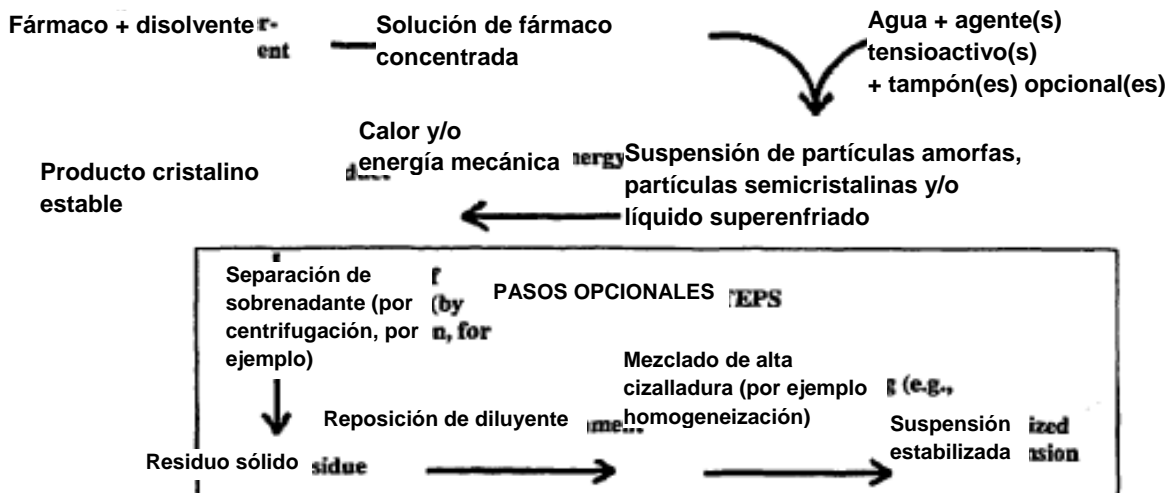


FIG. 5

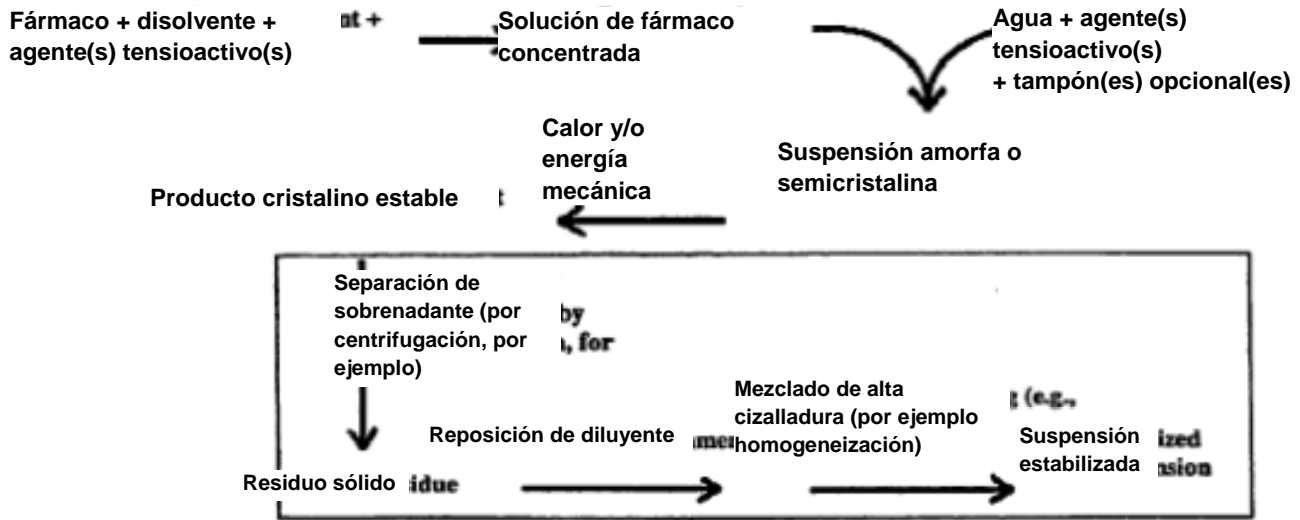


FIG. 6

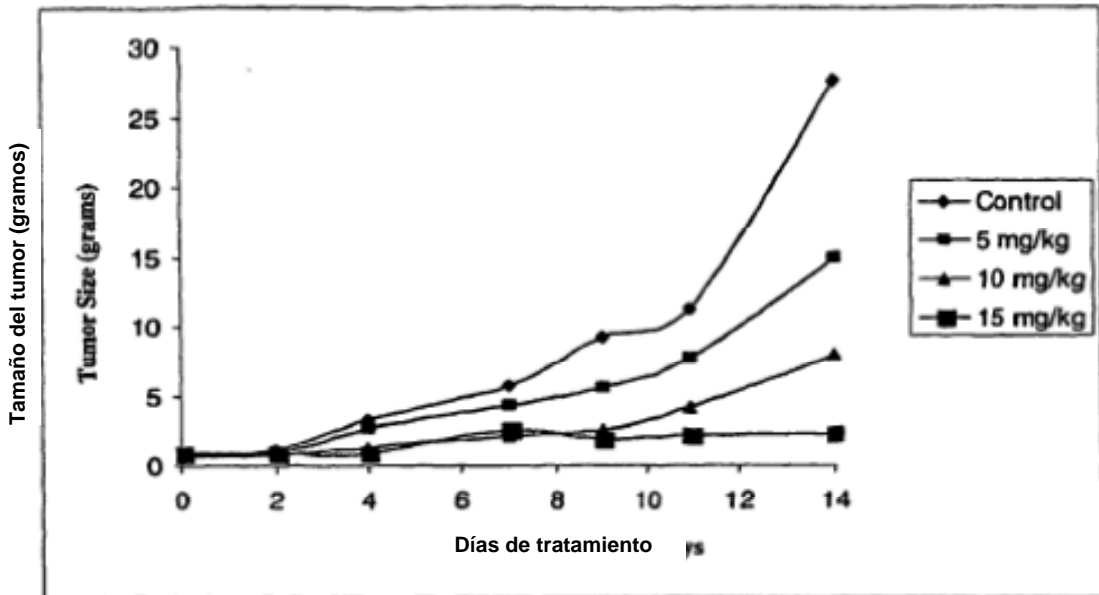


FIG. 7

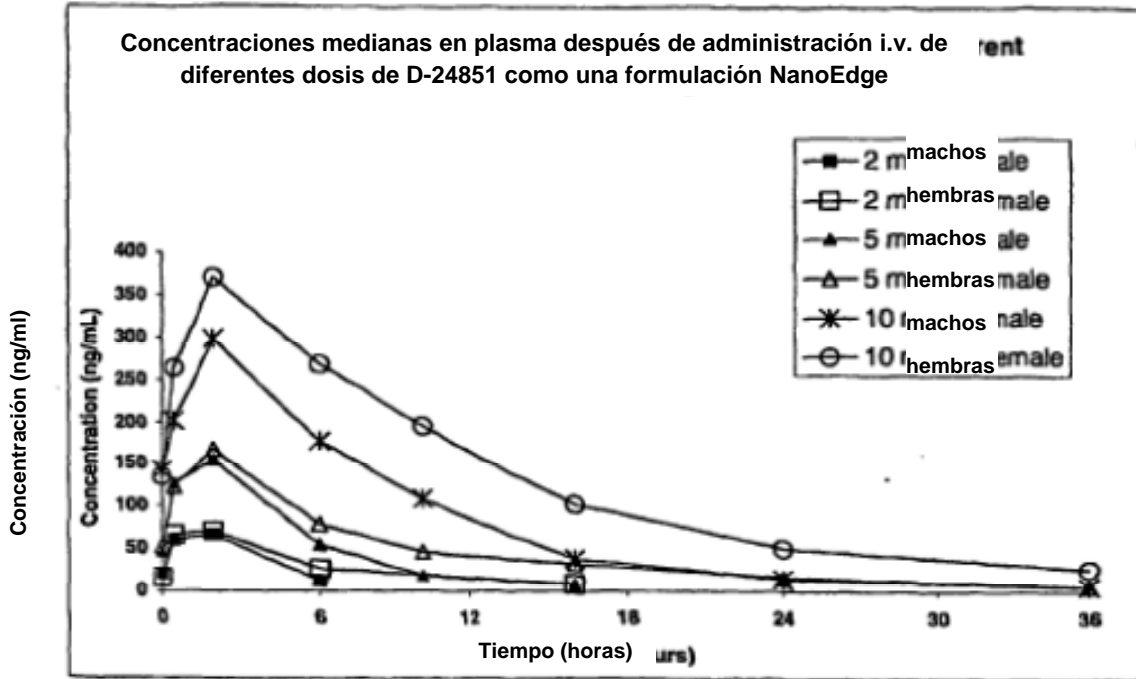


FIG. 8

