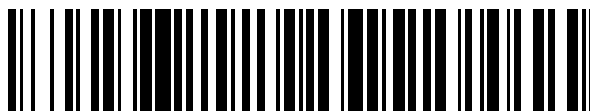


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 450 420**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61P 13/10 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2010 E 10703023 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2013 EP 2393474**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas que comprenden imidazoquinolin(aminas) y derivados de las mismas para la administración local**

30 Prioridad:

06.02.2009 WO PCT/EP2009/000834

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

24.03.2014

73 Titular/es:

TELOMEDIX SA (100.0%)

Via della Posta 10

6934 Bioggio, CH

72 Inventor/es:

LEONI, LORENZO;

MAJ, ROBERTO;

PATTARINO, FRANCO y

VECCHIO, CARLO

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 450 420 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 farmacéuticas que comprenden imidazoquinolin(aminas) y derivados de las mismas para la administración local

5

En general, la presente invención se refiere al campo de los moduladores del sistema inmunitario innato, particularmente a composiciones farmacéuticas que comprenden imidazoquinolin(aminas) y derivados de las mismas, apropiados preferiblemente para la administración local, tal como la administración intravesical. Además, la presente invención concierne al uso de imidazoquinolin(aminas) y derivados de las mismas para el tratamiento intravesical de enfermedades de la vejiga, por ejemplo cáncer de vejiga y cistitis. La presente invención comprende adicionalmente métodos de tratamiento para estas enfermedades así como métodos de administración de las composiciones farmacéuticas de la invención.

10

La inducción y/o el aumento de la respuesta inmunitaria del sistema inmunitario innato y, dependiendo del tipo de disparador, del sistema inmunitario adaptativo, juega un papel importante en la medicina moderna en el tratamiento y prevención de numerosas enfermedades. Para ello, las composiciones inmunomoduladoras son ampliamente usadas en la técnica, dirigidas a un pequeño número de receptores denominados receptores de reconocimiento de patrones. Estos receptores de reconocimiento de patrones reconocen típicamente patrones moleculares conservadores que distinguen organismos externos, tipo virus, bacterias, hongos y parásitos, de las células de sus huéspedes. Como se conoce actualmente, los receptores de reconocimiento de patrones incluyen, *inter alia*, los llamados miembros de la familia del receptor tipo Toll (TLR), la primera familia de receptores de reconocimiento de patrones estudiada en detalle.

15

20

Los TLRs son proteínas transmembrana que reconocen ligandos del entorno extracelular o del lumen de los endosomas. Después del enlace al ligando transducen la señal vía proteínas del adaptador citoplásmico, lo que lleva a la activación de la respuesta de defensa del huésped e implica la producción de péptidos antimicrobianos, quimiocinas y citoquinas proinflamatorias, citoquinas antivíricas etc. Hasta la fecha, se han identificado al menos 10 miembros de los receptores tipo Toll (TLRs 1-10) en el humano y 13 (TLRs 1-13) en ratones. Aquellos receptores tipo Toll (TLR) humanos incluyen TLR1-TLR2, que reconoce lipopéptidos de triacilo; receptores tipo Toll TLR1-TLR6, que reconocen lipopéptido de diacilo; receptor tipo Toll TLR2, que reconoce peptidoglicanos; receptor tipo Toll TLR3, conocido por reconocer ARNs, un producto vírico; receptor tipo Toll TLR4, que tiene LPS (lipopolisacáridos) de bacteria Gram negativa como ligando conocido; receptor tipo Toll TLR5, que reconoce flagelinas bacterianas; receptores tipo Toll TLR7/8, que conocen ligandos que comprenden imidazoquinolinas, análogos de guanosina y ARNs; receptor tipo Toll TLR9, que reconoce porciones CpG no metiladas, frecuentemente encontradas en el genoma de bacterias, virus y protozoarios, pero no en vertebrados; TLR9 reconoce además el pigmento hemozoina de malaria, un producto de digestión de hemoglobina. Finalmente, se demostró que el receptor tipo Toll TLR10 se asociaba directamente a MyD88, el adaptador del dominio del receptor Toll IL-1 (ver por ejemplo, Hasan y col., *The Journal of Immunology*, 2005, 174: 2942-2950). Después del reconocimiento de patógenos microbianos, estos TLRs disparan típicamente las trayectorias de señalización intracelular que resultan en la inducción de citoquinas inflamatorias (por ejemplo TNF-alfa, IL-6, IL-1-beta e IL-12), interferon tipo I (IFN-beta y IFN-alfa múltiple) y quimiocinas (Kawai, T. y S. Akira (2006), "TLR signalling." *Cell Death Differ* 13(5): 816-25).

25

30

35

40

Entre los anteriores, TLRs, TLR3, TLR7 y TLR9 son de gran importancia. El TLR7 reconoce pequeños modificadores inmunitarios sintéticos que incluyen imiquimod, R-848, loxoribina y broprimina; todos ellos ya se aplican o son prometedores para uso clínico contra infecciones virales y tipos de cáncer. Adicionalmente, las células dendríticas plasmacitoides expresan TLR7 y TLR9 y responden a ligandos TLR7 y TLR9 produciendo una gran cantidad de interferón (IFN-alfa). Estos resultados indican que TLR3, TLR7 y TLR9 pueden jugar un papel muy importante para detectar y combatir infecciones virales.

45

Un ejemplo particular de modificadores inmunitarios tal como se han descrito anteriormente incluye imiquimod (en la siguiente descripción también se denomina R-837, TMX, TMX-101), que pertenece a la clase de modificadores inmunitarios imidazoquinolin(amina). La molécula inmunomoduladora imiquimod (1-isobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina) demostró tener eficacia clínica en enfermedades oncológicas, virales e inflamatorias. El mecanismo de la actividad inmunomoduladora de imiquimod se cree debido sustancialmente a la mejora de la respuesta inmunitaria por inducción de diversas citoquinas importantes (por ejemplo interferones, interleucinas, factor de necrosis tumoral, etc.). Aunque el mecanismo exacto de la acción de imiquimod no es todavía conocido, el enlace de imiquimod al receptor tipo Toll 7 (TLR7) es considerado como una etapa esencial para activar el sistema inmunitario. Las células estimuladas por imiquimod vía las citoquinas que secretan TLR-7 (principalmente interferón- α (IFN- α), interleucina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) contribuye a las propiedades anti-virales, anti-tumorales y anti-inflamatorias del agente.

50

55

Se ha demostrado que imiquimod es un potente modulador inmunitario, empleado actualmente como una terapia tópica de primera línea para verrugas genitales y carcinomas de célula basal superficial (Purdon CH, Azzi CG, Zhang J, Smith EVV, Maibach HI, Penetration enhancement of transdermal delivery--current

60

permutations and limitations, Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 2004; 21: 97-132; Chang YC, Madkan V, Cook-Norris R, Sra K, Tying S, Current and potential uses of imiquimod, South Med J. 2005; 98: 914-20; Wagstaff AJ, Perry CM, Topical imiquimod: a review of its use in the management of anogenital warts, actinic keratoses, basal cell carcinoma and other skin lesions, Drugs. 2007; 67: 2187-210). Además, imiquimod se ha
 5 usado para el tratamiento de lesiones malignas de la piel, incluyendo melanoma y carcinoma de célula basal (Wagstaff AJ, Perry CM, Topical imiquimod: a review of its use in the management of anogenital warts, actinic keratoses, basal cell carcinoma and other skin lesions, Drugs. 2007; 67: 2187-210). El imiquimod induce citoquinas pro-inflamatorias y quimiocinas *in vitro* e *in vivo* (Chan M, Hayashi T, Kuy CS y col., Synthesis and Immunological Characterization of Toll-Like Receptor 7 Agonistic Conjugates, Bioconjugate chemistry, 2009)
 10 que atraen células inmunitarias al sitio local de administración (Barnetson RS, Satchell A, Zhuang L, Slade HB, Halliday GM, Imiquimod induced regression of clinically diagnosed superficial basal cell carcinoma is associated with early infiltration by CD4 T cells and dendritic cells, Clinical and experimental dermatology, 2004; 29: 639-43).

Además, las imidazoquinolinas han demostrado dirigir efectos citotóxicos a las células de cáncer de vejiga e inducir las para secretar citoquinas pro-inflamatorias (Smith EB, Schwartz M, Kawamoto H y col., Antitumor effects of imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder, The Journal of urology. 2007; 177: 2347-51). Se describe además que las imidazoquinolinas tienen efectos antitumorales en modelos de cáncer de vejiga ortotópicos en el ratón (Smith EB, Schwartz M, Kawamoto H y col., Antitumor effects of imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder, The Journal of urology. 2007; 177: 2347-51).

Además, se demostró que TLR-7 también se expresa en líneas celulares de cáncer de vejiga murino y humano y que las imidazoquinolinas tienen potentes efectos biológicos directos sobre las células de carcinoma celular urotelial, disminuyendo la viabilidad celular e induciendo apoptosis y producción de citoquina (Smith EB, Schwartz M, Kawamoto H, y col., Antitumor effects of Imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder. J Urol 2007; 177:2347). Los efectos directos parecen ser el resultado de la sub-regulación de c-Myc y podrían crear sinergias con la acción de inmunomodulación de las imidazoquinolinas (Liu H, Schwartz MJ, Hwang DH, Scherr OS, Tumour growth inhibition by an imidazoquinoline is associated with c-Myc down-regulation in urothelial cell carcinoma, BJU Int 2008; 101: 894-901). Adicionalmente, los resultados iniciales en un modelo de ratón ortotópico competente inmunitario sugieren efectos antitumorales *in vivo* (Smith EB, Schwartz M, Kawamoto H, y col., Antitumor effects of Imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder, J Urol 2007; 177:2347; Liu H, Schwartz MJ, Hwang DH, Scherr OS, Tumour growth inhibition by an imidazoquinoline is associated with c-Myc down- regulation in urothelial cell carcinoma, BJU Int 2008; 101: 894-901). Por tanto, las imidazoquinolinas tienen potencial terapéutico como agentes intravesicales para el cáncer de vejiga.

Aunque son conocidos algunos de los efectos beneficiosos de los modificadores inmunitarios tales como imiquimod, la capacidad para proporcionar un beneficio terapéutico mediante la administración local de estos modificadores inmunitarios con el fin de tratar una afección determinada en una ubicación particular se puede ver obstaculizada por diversos factores. Estos factores incluyen la insolubilidad y/o degradación de estos modificadores inmunitarios en la formulación anterior, durante o incluso después de la administración, pero también la inestabilidad física de la formulación, incluyendo factores como la separación de componentes, espesamiento, precipitación/aglomeración de ingredientes activos y similares, así como pobre impregnación de los modificadores inmunitarios en el tejido circundante o células bajo administración. Específicamente, la solubilidad del modificador inmunitario imiquimod es crítica y su uso en composiciones farmacéuticas, en particular en composiciones líquidas o semi-líquidas, está limitada, debido a sus propiedades hidrofóbicas. A pesar de que imiquimod es soluble a concentraciones bajas en disolventes orgánicos polares, tal como DMSO, dimetilformida y N-metil-2-pirrolidona, tales disolventes no permiten la administración de imiquimod dentro o al cuerpo humano debido a sus diversos efectos tóxicos. Sin embargo, los disolventes no tóxicos, como agua o etanol, solubilizan miembros de las imidazoquinolin(amin)as, tal como imiquimod, en escasa medida y únicamente permiten la administración de imiquimod en o al cuerpo humano a concentraciones bajas (sub-terapéuticas).

Por tanto, existe la necesidad de proporcionar una composición farmacéutica, en particular como formulación líquida o semi-líquida, que permita solubilizar imidazoquinolin(amin)as, tales como imiquimod, de manera apreciable y, por tanto, que permita mayores concentraciones efectivas de modificadores inmunitarios, tales como imiquimod, cuando se administran a un sujeto que los necesita. En particular, existe la necesidad en la técnica de proporcionar tal formulación líquida o semi-líquida para formas de administración local que no presenten efectos tóxicos pero sí una solubilidad mejorada y preferiblemente una menor inestabilidad física en formulación.

Sin embargo, el uso de modificadores inmunitarios, en particular de miembros de la clase de imidazoquinolin(amin)as tal como imiquimod, para el tratamiento de enfermedades víricas y oncológicas también está limitado debido a diversos efectos secundarios. Por ejemplo, se cita que imiquimod causa, por ejemplo, agitación, anemia, angioedema, arritmia, síndrome de pérdida de pelo, insuficiencia cardíaca,

cardiomiopatía, accidente cerebrovascular, depresión, disnea, eritema multiforme, dermatitis exfoliativa, síndrome de púrpura de Henoch-Schönlein, trombocitopenia purpura idiopática, insomnio, isquemia, leucopenia, función hepática anormal, linfoma, esclerosis múltiple agravada, paresia, proteinuria, edema pulmonar, ataque, síncope, trombocitopenia y tiroiditis.

- 5 Con el fin de reducir el riesgo de estos efectos secundarios severos - que pueden ser mortales en algunos casos - actualmente se administra de forma esencialmente local en lugar de sistémicamente. En este contexto, las vías para la administración sistémica en general incluyen, por ejemplo, la vía transdérmica, oral o parenterales, incluyendo inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarteriales, intradérmicas e intraperitoneales y/o vías de administración intranasal. Tal administración sistémica típicamente lleva a una distribución general de los modificadores inmunitarios en el cuerpo humano y, por tanto, incrementa significativamente el riesgo de efectos secundarios. Por el contrario, las vías de administración local en general incluyen, por ejemplo, vías de administración tópica, pero también inyecciones intradérmicas, transdérmicas, subcutáneas, o intramusculares o inyecciones intralesionales, intracraniales, intrapulmonares, intracardiales y sublinguales, teniendo lugar tal administración típicamente en el sitio de la afección, permitiendo una acción directa del fármaco a la vez que se reducen los efectos secundarios sistémicos significativamente, los cuales son de esperar en la administración sistémica.

- 20 En el contexto de los modificadores inmunitarios tal como se han definido anteriormente, en particular de imidazoquinolin(amin)as tal como imiquimod o sus derivados, el requisito específico de su administración local, debido a las propiedades físico-químicas antes mencionadas de estos compuestos y a los efectos secundarios de la administración sistémica, limita su aplicación terapéutica y el número de enfermedades a ser tratadas. Actualmente, la mayoría de las enfermedades que se pueden tratar con imiquimod o sus derivados son enfermedades específicas de la piel, incluyendo tipos de cáncer de piel como carcinoma de célula basal, enfermedad de Bowen, carcinoma celular escamoso superficial así como verrugas genitales (Condylomata acuminata). Una enfermedad adicional importante que se puede tratar con modificadores inmunitarios, en particular con imidazoquinolin(amin)as tales como imiquimod, incluye enfermedades de la vejiga, en particular cáncer de vejiga y cistitis.

- 30 En este contexto, el cáncer de vejiga se refiere a cualquiera de los diversos tipos de enfermedades neoplásicas (malignas o no malignas) de la vejiga urinaria. Es uno de los tipos de cáncer de crecimiento más rápido en todo el mundo, debido a las poblaciones que envejecen rápidamente de la mayoría de los países. En Estados Unidos, cada año más de 60.000 personas son diagnosticadas de novo de cáncer de vejiga, el 80% siendo cánceres de vejiga no invasivos. Debido a que la velocidad de mortalidad del cáncer de vejiga es relativamente baja, el número total de pacientes en EEUU y en Europa es de aproximadamente 400.000. Por tanto, el cáncer de la vejiga urinaria es la quinta neoplasia maligna más común entre hombres en la sociedad Occidental. La mayoría de los casos de cáncer de vejiga se diagnostican como tumores no invasivos superficiales que son potencialmente curables con cirugía y terapia inmunitaria (Schenk-Braat EA, Bangma CH, Immunotherapy for superficial bladder cancer, Cancer Immunol Immunother 2005; 54: 414-23).

- 40 Hasta el momento la mayoría de pacientes con cáncer de vejiga (superficial) no invasivo se tratan con las llamadas "soluciones de bacilo Calmette-Guerin (BCG)", que se administran vía intravesical. Sin embargo, tales soluciones BCG son productos no caracterizados compuestos por una forma atenuada de la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, y por tanto, tiene un perfil de seguridad pobre.

- 45 Además, los tumores de crecimiento superficial se pueden eliminar por resección transuretral, pero la recurrencia es alta. Para prolongar los intervalos sin tumores después de la resección quirúrgica, el tratamiento intravesical con *Mycobacterium bovis* Bacillus-Calmette-Guerin (BCG), la cepa de la vacuna contra la infección de tuberculosis, se usa actualmente como opción de tratamiento adyuvante (Alexandrov AB, Jackson AM, O'Donnell MA, James K, BCG immunotherapy of bladder cancer: 20 years on, Lancet. 1999; 353: 1689-94, de Jager R, Guinan P, Lamm D y col., Long-term complete remission in bladder carcinoma in situ with intravesical TICE bacillus Calmette Guerin, Overview analysis of six phase II clinical trials, Urology. 1991; 38: 507-13. Totterman TH, Loskog A, Essand M, The immunotherapy of prostate and bladder cancer, BJU international. 2005; 96: 728-35).

- 50 Sin embargo, el tratamiento con *M. bovis* de BCG induce inflamación local no específica en la vejiga acompañada de diversas citoquinas pro-inflamatorias (IL-2, IL-6, IL-8 y TNF α) (De Boer EC, Rooijackers SJ, Schamhart DH, Kurth KH, Cytokine gene expression in a mouse model: the first instillations with viable bacillus Calmette-Guerin determine the succeeding Th1 response, The Journal of urology 2003; 170: 2004-8) y quimiocinas que a su vez inician la infiltración de células inmunitarias en el urotelio de la vejiga (Suttmann H, Riemensberger J, Bentien G y col., Neutrophil granulocytes are required for effective Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy of bladder cancer and orchestrate local immune responses, Cancer research 2006; 66: 8250-7; Simons MP, O'Donnell MA, Griffith TS, Role of neutrophils in BCG immunotherapy for bladder cancer, Urologic oncology 2008; 26: 341-5). La instilación de BCG causa estimulación no específica del sistema inmunitario, que induce la infiltración local de la pared de la vejiga por células T activadas derivadas

por inmunidad mediada por células (Bohle A, Brandau S, Immune mechanisms in bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for superficial bladder cancer, The Journal of urology. 2003; 170: 964-9).

La incidencia de carcinoma celular urotelial invasivo no muscular de la vejiga (NMIBC) es alta (Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, Kaasinen E, Bohle A, Palou-Redorta J; European Association of Urology (EAU), EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder, Eur Urol 2008; 54:303-14) y la prevalencia es aún mayor debido a la alta recurrencia después de la resección trans uretral primaria. En pacientes con alto riesgo de recurrencia tumoral y/o progresión una a enfermedad muscular invasiva, está indicada la inmunoterapia BCG intravesical durante al menos un año (Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, Kaasinen E, Böhle A, Palou-Redorta J; European Association of Urology (EAU), EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder, Eur Urol 2008, 54: 303-14). Sin embargo, la BCG sólo es efectiva parcialmente y pueden producirse efectos secundarios locales y sistémicos serios (Witjes JA, Palou J, Soloway M, Lamm O, Brausi M, Spermon JR, Persad R, Buckley R, Akaza H, Colombel M, Böhle A, Clinical Practice recommendations for the prevention and management of intravesical therapy-associated adverse events, Eur. Urol Suppl 2008; 7: 667-74). Por tanto, el desarrollo de nuevas opciones de tratamiento intravesical con menor recurrencia tumoral y progresión de NMIBC sigue siendo esencial.

Como enfermedades de la vejiga adicionales, la cistitis típicamente comprende una inflamación de la vejiga urinaria y ocurre cuando el tracto urinario inferior normalmente estéril (uretra y vejiga) se infecta por bacterias y se irrita e inflama. Debido al riesgo de propagación de la infección a los riñones y a la alta tasa de complicaciones en la población de edad avanzada y diabética, se recomienda un tratamiento precoz. Con objeto de controlar la infección bacteriana, la cistitis se trata normalmente con antibióticos. Los antibióticos comúnmente usados para el tratamiento incluyen, por ejemplo, nitrofurantoina, trimetoprim-sulfametoxazol, amoxicilina, cefalosporinas, ciprofloxacina o levofloxacina y doxiciclina. Sin embargo, tales terapias antibióticas con frecuencia rompen el equilibrio normal de la flora intestinal causando diarreas. Además, también producirse una alteración inducida por antibióticos de la población bacteriana normalmente presente en la flora vaginal normal, pudiendo llevar al sobre-crecimiento de especies de levaduras del género *Candida* en el área vulvo-vaginal.

Para tales enfermedades, particularmente para el tratamiento de enfermedades vesicales como cáncer no invasivo y/o cistitis, el suministro de un agente alternativo que actúa por medio de una activación del sistema inmunitario podría ser deseable. Sin embargo, a pesar de que los modificadores inmunitarios definidos anteriormente, en particular imiquimod o sus derivados, se pueden usar para tratar estas enfermedades, la administración se puede ver obstaculizada por diversos efectos secundarios de la administración sistémica, como se ha explicado. Por otra parte, cuando se administran localmente, tales modificadores inmunitarios, particularmente imiquimod o sus derivados, no están presentes normalmente en una cantidad terapéuticamente efectiva *in vivo* debido a sus propiedades (desafío farmacéutico) fisico-químicas. Tales composiciones farmacéuticas tampoco han sido descritas en la técnica, indicando el desafío pendiente en la técnica. Como es conocido por el experto, con objeto de proporcionar tal composición farmacéutica específica deben considerarse diversos aspectos farmacéuticos, tales como dosificación, compatibilidad de excipientes, solubilidad, estabilidad, fabricación estéril, viabilidad de escalado, suministrabilidad con catéter, coste y cumplimiento del paciente, así como aspectos farmacológicos, como actividad biológica, permeabilidad de membrana, duración del efecto, baja circulación sistémica (con objeto de evitar efectos secundarios sistémicos) y perfil de toxicidad. Como para muchos otros agentes activos, el suministro de composiciones farmacéuticas que comprenden el agente activo deseado y la liberación del agente de forma que el suministro del fármaco local se garantice es uno de los grandes desafíos del farmacéutico. Adicionalmente, las propiedades fisico-químicas (críticas) de por ejemplo las imidazoquinolin(aminas), en particular el perfil de hidrofobicidad de esta clase de compuestos, deben tenerse en cuenta, lo que (en vista de los enfoques descritos en la técnica) típicamente lleva a una concentración *in vivo* insuficiente del compuesto modificador inmunitario administrado que actúa como ligando TLR-7.

Por tanto, existe una necesidad urgente de proporcionar una composición farmacéutica adecuada para el suministro local específico de modificadores inmunitarios tal como se ha definido, en particular de imiquimod o sus derivados, para tratar enfermedades de la vejiga, por ejemplo, vía una administración intravesical.

En resumen, como se explicó anteriormente, el imiquimod es un agente activo eficiente para el tratamiento de enfermedades oncológicas, virales e inflamatorias. Sin embargo, el uso de imidazoquinolin(aminas), como imiquimod y sus derivados, en la fabricación de medicamentos está estrictamente limitada por sus características de solubilidad. Además, las imidazoquinolin(aminas), tal como imiquimod, provocan diversos efectos secundarios cuando se administran sistémicamente. En consecuencia, la administración de este agente en una formulación que permite el suministro específicamente al órgano objetivo empleando una composición farmacéutica apropiada es de suma importancia. Así, sería muy deseable proporcionar composiciones farmacéuticas específicas que comprendan imidazoquinolin(aminas), tal como imiquimod, en cantidades suficientemente solubilizadas para permitir un tratamiento eficiente de las enfermedades aquí mencionadas. Además, sería preferible que las imidazoquinolin(aminas), tal como imiquimod y sus derivados,

se formularan en una formulación adecuada para la administración local, en particular, intravesical, con objeto de combatir enfermedades de la vejiga, reduciendo así significativamente el riesgo de efectos secundarios sistémicos severos.

5 Así, de acuerdo con una realización preferente de la presente invención, la composición farmacéutica comprende una imidazoquinolin(amina) y ácido láctico para su uso en un método para el tratamiento de enfermedades de la vejiga según la reivindicación 1.

Para algunas realizaciones se aplican una o más de las siguientes condiciones:

- se excluyen composiciones farmacéuticas para la administración tópica,
- se excluyen composiciones farmacéuticas que comprenden aceites,
- 10 – se excluyen composiciones farmacéuticas formuladas como una formulación W/O (agua en aceite) u O/W (aceite en agua),
- se excluyen composiciones farmacéuticas formuladas como una crema que comprende un 4% en peso de imiquimod (1-isobutil-1H-imidazo[4,5-c]-quinolin-4-amina) en la fase oleosa y un 1% en peso de ácido láctico (85%) en la fase acuosa,
- 15 – se excluyen composiciones farmacéuticas para la administración parenteral,
- se excluyen composiciones farmacéuticas que comprenden glicerina y/o sorbitol,
- se excluyen composiciones farmacéuticas para la administración parenteral que comprenden un 1% en peso 1-isobutil-1H-imidazo[4,5-c]-quinolin-4-amina y/o un 1% en peso 1-(2-hidroxi-2-metilpropil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina o N-[4-(4-amino-2-etil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)butil]metanosulfonamida y un 1% o un 2% en peso de ácido láctico (85%) o un 0,6% en peso de ácido acético,
- 20 – se excluyen composiciones farmacéuticas que comprenden ácido acético y monooleato de sorbitano 20 miristato o miristato de isopropilo, y/o
- se excluyen composiciones farmacéuticas que comprenden nanopartículas de imiquimod quitosano obtenidas mezclando una solución de ácido quitosanacético con imiquimod.
- 25

De acuerdo con otra realización preferente de la presente invención, la composición farmacéutica además comprende al menos un agente termo-sensible, donde el al menos un agente termo-sensible se selecciona preferentemente de quitosano o sus derivados, o de un copolímero poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (también denominado PEO-PPO-PEO o poloxámero).

30 De acuerdo con otra realización preferente de la presente invención, el al menos un agente termo-sensible se selecciona de quitosano o sus derivados, o de un copolímero poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (también denominado PEO-PPO-PEO o poloxámero) incluyendo Pluronic F108 Cast Solid Surfacta; Pluronic F 108 Pastilla; Pluronic F 108 Perla; Pluronic F 108NF Perla (Poloxámero 338); Pluronic F 127; Pluronic F 127 Perla; Pluronic F 127 NF; Pluronic F 127 NF 500 BHT Perla; Pluronic F 127 NF Perla (Poloxámero 407); Pluronic F 38; Pluronic F 38 Pastilla; Pluronic F 68; Pluronic F 68 Pastilla; Pluronic F 68 LF Pastilla; Pluronic F 68 NF Perla (Poloxámero 188); Pluronic F 68 Perla; Pluronic F 77; Pluronic F 77 Micropastilla; Pluronic F 87; Pluronic F 87 NF Perla (Poloxámero 237); Pluronic F 87 Perla; Pluronic F 88 Pastilla; Pluronic F 88 Perla; Pluronic F 98; Pluronic F 98 Perla; Pluronic L 10; Pluronic L 101; Pluronic L 121; Pluronic L 31; Pluronic L 35; Pluronic L 43; Pluronic L 44; Pluronic L 44 NF (Poloxámero 124); Pluronic L 61; Pluronic L 62; Pluronic L 62 LF; Pluronic L 62D; Pluronic L 64; Pluronic L 81; Pluronic L 92; Pluronic L44 NF INH tensoactivo (Poloxámero 124); Pluronic N 3; Pluronic P 103; Pluronic P 104; Pluronic P 105; Pluronic P 123 Tensoactivo; Pluronic P 65; Pluronic P 84; Pluronic P 85; y Poloxámero 403, o se selecciona de una mezcla formada por cualquiera de dos o más de los agentes termo-sensibles antes definidos.

45 De acuerdo con otra realización preferente de la presente invención, el al menos un agente termo-sensible se selecciona de un copolímero poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (también llamado PEO-PPO-PEO o poloxámero) que incluye Pluronic F 108 Cast Solid Surfacta; Pastilla Pluronic F 108; Perla Pluronic F 108; Perla Pluronic F 108NF (Poloxámero 338); Pluronic F 127; Perla Pluronic F 127; Pluronic F 127 NF; Perla Pluronic F 127 NF 500 BHT; Perla Pluronic F 127 NF (Poloxámero 407); Pluronic F 38; Pastilla Pluronic F 38; Pluronic F 68; Pastilla Pluronic F 68; Pastilla Pluronic F 68 LF; Perla Pluronic F 68 NF (Poloxámero 188); Perla Pluronic F 68; Pluronic F 77; Micropastilla Pluronic F 77; Pluronic F 87; Perla Pluronic F 87 NF (Poloxámero 237); Perla Pluronic F 87; Pastilla Pluronic F 88; Perla Pluronic F 88; Pluronic F 98; Perla Pluronic F 98; Pluronic L 10; Pluronic L 101; Pluronic L 121; Pluronic L 31; Pluronic L 35; Pluronic L 43; Pluronic L 44; Pluronic L 44 NF (Poloxámero 124); Pluronic L 61; Pluronic L 62; Pluronic L 62 LF; Pluronic L 62D; Pluronic L 64; Pluronic L 81; Pluronic L 92; Tensoactivo Pluronic L44 NF INH (Poloxámero 124); Pluronic N 3; Pluronic P 103; Pluronic P 104; Pluronic P 105; Tensoactivo Pluronic P 123; Pluronic P 65; Pluronic P 84; Pluronic P 85; y Poloxámero 403, o se selecciona de una mezcla formada por cualquiera de dos o más de los agentes termo-sensibles antes definidos.

En el contexto de la presente invención, la composición farmacéutica inventiva comprende como primer componente al menos un ácido orgánico seleccionado de ácido láctico. Aunque los ácidos orgánicos "ácido acético" y "ácido láctico" ya son conocidos por el experto para formular composiciones farmacéuticas en general, los inventores de la presente invención sorprendentemente encontraron que específicamente estos ácidos carboxílicos de cadena corta son adecuados para solubilizar eficientemente imidazoquinolin(amin) o sus derivados, un hallazgo que todavía no se ha publicado o discutido en la técnica. Además, se encontró que el ácido acético y el ácido láctico tienen propiedades de solubilización claramente superiores a cualquier otro ácido (carboxílico). Más específicamente y aún más sorprendentemente, el ácido acético (CH_3COOH) y/o el ácido láctico (ácido 2-hidroxiopropiónico) solubilizan la imidazoquinolin(amina) 3 a 100 veces mejor que otros ácidos de cadena corta (carboxílico), por ejemplo los ácidos fosfórico, succínico y cítrico.

Estos efectos sorprendentes son, sin estar sujetos a ninguna teoría, en particular debido a la estructura específica de las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados tal como se usan aquí, por ejemplo imiquimod, y a la específica interacción de específicamente ácido acético y ácido láctico con el compuesto de imidazoquinolin(amina), que lleva a una estructura aducto inesperada. El término "imidazoquinolin(amin)as" se refiere a la clase genérica de imidazoquinolinas y, más específicamente en una realización preferente, también a la subclase de imidazoquinolinaminas.

Debido a que las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se usan aquí tienen un grupo funcional básico, en particular una parte amina, se asumió en la literatura de la técnica anterior que las imidazoquinolin(aminas) se pueden solubilizar en cualquier solución ácida a valores de pH por debajo del pK_a de los compuestos de esa clase, por ejemplo, en el caso de imiquimod, esto es, alrededor de 4. Sin embargo, los presentes inventores demostraron que la solubilidad de las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados tal como se usan aquí no depende simplemente del pH de la solución. Sin estar sujeto a ninguna teoría, las propiedades mejoradas parecen deberse a una interacción que ocurre entre las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se usan aquí y el ácido (orgánico) específicamente seleccionado de entre ácido acético y/o ácido láctico, de modo que se forman aductos específicos entre ambos componentes. Evidentemente, esta interacción no parece ocurrir entre las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se usan aquí y cualquier otro ácido (orgánico). En consecuencia, se asume que los resultados sorprendentes de la presente invención, particularmente las características de mayor solubilización específica de las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se usan aquí en los ácidos orgánicos acético y/o láctico parece depender de las propiedades estructurales específicas que se materializan exclusivamente en los ácidos láctico y acético pero no en cualquier otro ácido (orgánico). Así, el ácido láctico y/o acético forman el anión en la estructura de aducto y las imidazoquinolin(amin)as son los cationes cargados positivamente.

De acuerdo con una realización preferente de la presente invención, la composición farmacéutica inventiva tal como se ha definido anteriormente comprende un ácido orgánico seleccionado de ácido láctico en una concentración de aprox. 0,025M a aprox. 0,200M, preferiblemente en una concentración de alrededor de 0,025M a alrededor de 0,100M o en una concentración de alrededor de 0,100M a alrededor de 0,200M, o en una concentración de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,125M, por ejemplo, en una concentración de alrededor de 0,025M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,030M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,035M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,040M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,045M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,050M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,055M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,060M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,065M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,070M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,080M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,085 a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,090M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,100M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,125M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,130M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,135M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,140M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,145M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,150M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,155M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,160M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,165M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,170M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,175M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,180M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,185M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,190M a alrededor de 0,200M, o alrededor de 0,195M a alrededor de 0,200M, o preferiblemente en una concentración de alrededor de 0,050M a alrededor de 0,100 M, e.g. en una concentración de alrededor de 0,055 M hasta alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,060M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,065M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,070M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,080M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,085M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,090M a alrededor de 0,100M, o de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,100M, o en una concentración de alrededor de 0,025M a alrededor de 0,100M, por ejemplo, en una concentración de alrededor de 0,025M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,030M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,035M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,040M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,045M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,050M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,055M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,060M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,065M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,070M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,075M a

alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,080M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,085 a 0 alrededor de 200M, de alrededor de 0,090M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,100M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,100M, o en una concentración de alrededor de 0,100M a alrededor de 0,200M, por ejemplo, en una concentración de alrededor de 0,100M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,125M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,130M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,135M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,140M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,145M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,0150M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,155M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,160M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,165M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,170M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,175M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,180M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,185M a alrededor de 0,200M, de alrededor de 0,190M a alrededor de 0,200M, o alrededor de 0,195M a alrededor de 0,200M, o en una concentración de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,125M, por ejemplo, de alrededor de 0,08M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,085M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,09M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,120M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,115M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,110M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,105M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,105M o de alrededor de 0,08M a alrededor de 0,120M, por ejemplo, de alrededor de 0,085M a alrededor de 0,115M, de alrededor de 0,09M a alrededor de 0,110M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,105M, o de alrededor de 0,1M. En este contexto, se demostró que la cantidad de imidazoquinolin(aminas) solubilizadas o sus derivados como se usan aquí en solución está relacionada directamente con la concentración de ácido, esto es con la concentración de ácido láctico. En consecuencia, concentraciones más altas de ácido láctico pueden ser preferentes para solubilizar, preferiblemente dentro de los intervalos antes definidos.

La composición farmacéutica puede comprender sólo ácido láctico como componente ácido orgánico, pero pueden incluirse al menos un ácido inorgánico adicional en la composición farmacéutica de la invención, por ejemplo ácido fosfórico, HCl, etc.

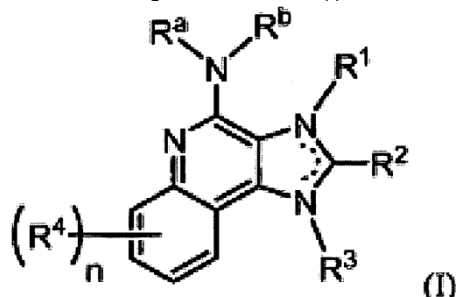
De acuerdo con otra realización específica de la presente invención, la composición farmacéutica de la invención como se define aquí comprende exclusivamente ácido láctico como componente ácido, preferiblemente la concentración de ácido láctico como se definió arriba para la composición farmacéutica de la invención en general es de aproximadamente 0,025M a aproximadamente 0,200M o de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,125M o cualquier concentración adicional como se ha indicado anteriormente. En esta realización específica es especialmente preferente que la composición farmacéutica inventiva como se describió arriba no incluya otro ácido que no sea ácido láctico, ya sea un ácido orgánico o inorgánico. En este contexto, los inventores de la presente invención sorprendentemente encontraron que el ácido láctico es aún más eficiente para solubilizar las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se usan aquí que el ácido acético. Sorprendentemente, ácido láctico es dos veces más eficiente que el acético en solubilizar las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se usan aquí. También se encontró, que la solubilidad de las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se usan aquí en ácido láctico no aumenta por la adición de tensioactivos, como Tween o Pluronic, que habitualmente se emplean como aumentadores de la solubilidad en las composiciones farmacéuticas. Este hallazgo sugiere que las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se usan aquí no se incrustan en las micelas formadas por los tensioactivos y, por tanto, apoyan la suposición de que estas imidazoquinolin(aminas) interactúan con el ácido láctico formando específicamente aductos estructurados.

De acuerdo con otra realización específica de la presente invención, la composición farmacéutica inventiva como se define aquí comprende ácido láctico en una concentración de aproximadamente 0,075M a aproximadamente 0,125M, por ejemplo de alrededor de 0,08M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,085M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,09M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,1M a alrededor de 0,125M, o de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,120M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,115M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,110M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,105M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,105M o de alrededor de 0,08M a alrededor de 0,120M, por ejemplo, de alrededor de 0,085M a alrededor de 0,115M, de alrededor de 0,09M a alrededor de 0,110M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,105M, o de alrededor de 0,1M.

De acuerdo con otra realización específica de la presente invención, la composición farmacéutica inventiva como se define aquí típicamente comprende un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 8, preferiblemente de aprox. de 3 a aprox. de 7, más preferiblemente de aprox. de 3 a aprox. de 6, aún más preferiblemente de aprox. de 3 a aprox. de 5, y más preferiblemente un valor pH de aprox. de 3,5 a aprox. de 4, incluyendo un pH en un intervalo de aprox. de 3,5 a aprox. de 4,9, de aprox. de 3,5 a aprox. de 4,8, de aprox. de 3,6 a aprox. de 4,7, de aprox. de 3,6 a aprox. de 4,6, de aprox. de 3,7 a aprox. de 4,5, de aprox. de 3,7 a aprox. de 4,4, de aprox. de 3,8 a aprox. de 4,3, de aprox. de 3,8 a aprox. de 4,2, o de aprox. de 3,9 a aprox. de 4,1. La composición farmacéutica de la invención se puede preparar y administrar a un pH como se ha definido. Si es necesario, el pH se puede ajustar además al tratamiento específico y requisitos de

administración, por ejemplo a un pH más neutro de alrededor de 5, 6 o 7 (pH 5 a 7), por ejemplo usando soluciones tampón y aditivos tal como se describen aquí.

De acuerdo con una realización particular, la composición farmacéutica de la invención comprende imidazoquinolin(aminas) seleccionadas de la siguiente fórmula (I):



5

donde

R^1 , R^2 , y R^3

se seleccionan independientemente, en cada caso, de entre hidrógeno; cicloalquiloalquilo de tres, cuatro o cinco átomos de carbono; alquilo de cadena lineal o ramificada de uno a aproximadamente diez átomos de carbono y alquilo de cadena lineal o ramificada sustituido de uno a alrededor de diez átomos de carbono, seleccionándose el sustituyente del grupo consistente en cicloalquilo de a alrededor de seis átomos de carbono y cicloalquilo de tres a alrededor de seis átomos de carbono sustituido con un alquilo lineal o ramificado de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono; fluoro- o cloroalquilo de uno a alrededor de diez átomos de carbono y uno o más átomos de flúor o cloro; alqueno lineal o ramificado de dos a alrededor de diez átomos de carbono y alqueno lineal o ramificado de dos a alrededor de diez átomos de carbono sustituido, donde el sustituyente se selecciona del grupo consistente en cicloalquilo de tres a alrededor de seis átomos de carbono y cicloalquilo de tres a alrededor de seis átomos de carbono sustituido con alquilo lineal o ramificado de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono; hidroxialquilo de uno a alrededor de seis átomos de carbono; alcoxialquilo, donde la parte alcoxi tiene de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono y la parte alquilo tiene de uno a alrededor de seis átomos de carbono; aciloxialquilo, donde la parte aciloxi es un alcaniloxi de dos a alrededor de cuatro átomos de carbono o benzoiloxi, y la parte alquilo tiene de uno a alrededor de seis átomos de carbono, con la condición de que cualquier grupo alquilo, alquilo sustituido, alqueno lineal, alqueno sustituido, hidroxialquilo, alcoxialquilo o aciloxialquilo no tenga un átomo de carbono totalmente sustituido de carbono enlazado directamente al átomo de nitrógeno; bencilo; (fenil)etilo; y fenilo; donde el bencilo, (fenil)etilo o el sustituyente fenilo está opcionalmente sustituido en el anillo bencénico con uno o dos grupos seleccionados independientemente del grupo consistente en alquilo de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, alcoxi de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono y halógeno, con la condición de que cuando el anillo bencénico esté sustituido con dos de tales grupos, entonces los grupos juntos no contienen más de seis átomos de carbono;

- CHR_xR_y , donde R_y es hidrógeno o un enlace carbono-carbono, con la condición de que cuando R_y sea hidrógeno R_x es alcoxi de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, hidroxialcoxi de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, 1-alquililo de dos a alrededor de diez átomos de carbono, tetrahidropiridilo, alcoxialquilo, donde la parte alcoxi tiene de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono y la parte alquilo tiene de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, 2-, 3-, o 4-piridilo, y con la condición además de que cuando R_y sea un enlace carbono-carbono, R_y y R_x juntos forman un grupo tetrahydrofuranilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo consistente en hidroxilo o hidroxialquilo de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono;

alquilo de cadena lineal o ramificada de uno a alrededor de ocho átomos de carbono, hidroxialquilo lineal o ramificado de uno a alrededor de seis átomos de carbono, morfolinmetilo, bencilo, (fenil)etilo y fenilo, pudiendo el bencilo, (fenil)etilo o el sustituyente fenilo estar opcionalmente sustituido en el anillo bencénico con un grupo seleccionado del grupo consistente en metilo, metoxi o halógeno;

- $C(R_S)(R_T)(X)$, donde R_S y R_T se seleccionan independientemente del grupo consistente en hidrógeno, alquilo de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, fenilo y fenilo sustituido, donde el sustituyente se selecciona del grupo consistente en alquilo de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, alcoxi de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono y halógeno; X es alcoxi de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, alcoxialquilo donde la parte alcoxi tiene de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono y la parte alquilo tiene de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, haloalquilo de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, alquilamido donde el grupo alquilo tiene de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, amino, amino sustituido, donde el sustituyente es alquilo o hidroxialquilo de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, azido, alquiltio de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono, o morfolinalquilo donde la parte alquilo tiene de uno a alrededor de cuatro átomos de carbono;

R_4

es hidrógeno, alquilo(C_{1-8}), alcoxi(C_{1-8}) o halógeno;

n es 1, 2, 3, ó 4;

R^a y R^b en cada caso independientemente es hidrógeno, alquilo(C₁-C₆), hidroxialquilo(C₁-C₆), aminoalquilo(C₁-C₆), aminosulfonilo, alcanilo(C₁-C₆), arilo o bencilo, todos ellos opcionalmente sustituidos con uno o más grupos amino; o

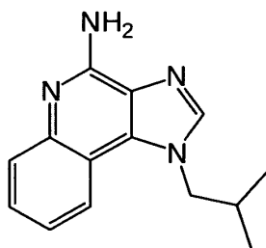
5 R^a y R^b junto con el nitrógeno al cual se enlazan forman un grupo pirrolidino, piperidino o morfolino;

las líneas discontinuas en el anillo de cinco miembros de la fórmula (I) anterior denota un enlace opcional que une un nitrógeno del anillo de cinco miembros al carbono que está entre los dos nitrógenos del anillo de cinco miembros y, cuando el enlace está presente, o bien R¹ o bien R³ no está;

10 siempre que R^a y R^b juntos permitan la formación de un ión amonio cuaternario ya sea en el nitrógeno del elemento de estructura central N(R^a)(R^b) o por cualquier ión amonio cuaternario que se proporcione por R^a y/o R^b;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Una sal farmacéuticamente aceptable en el significado de la presente invención típicamente se refiere a una sal de ácido láctico.

15 De acuerdo con una realización, la composición farmacéutica de la invención comprende como imidazoquinolin(amina) el compuesto específico imiquimod, preferiblemente de la fórmula específica 1-isobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina, aún más preferiblemente comprende la siguiente estructura específica:



(X)

20 De acuerdo con una realización, la composición farmacéutica de la invención comprende como imidazoquinolin(amina) el compuesto específico 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina.

En el contexto de imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se definió anteriormente, preferiblemente se aplican las siguientes definiciones adicionales:

25

- En las fórmulas que contienen el entero n y donde n puede ser cero, uno, o dos, n es preferiblemente cero o uno.

30

- Los sustituyentes R₁₁-R₁₇ anteriores se designan en general aquí "1-sustituyentes". En una realización, los 1-sustituyentes son preferiblemente alquilo de uno a seis átomos de carbono e hidroxialquilo de uno a seis átomos de carbono, por ejemplo el 1-sustituyente es 2-metilpropilo o 2-hidroxi-2-metilpropilo.

35

- Los sustituyentes R₂₁-R₂₇ anteriores se designan en general aquí "2-sustituyentes". En una realización, los 2-sustituyentes son preferiblemente hidrógeno, alquilo de uno a seis átomos de carbono, alcoxilalquilo, donde la parte alcoxi tiene de uno a cuatro átomos de carbono y la parte alquilo tiene de uno a cuatro átomos de carbono, e hidroxialquilo de uno a cuatro átomos de carbono, por ejemplo el 2-sustituyente es hidrógeno, metilo, butilo, hidroximetilo, etoximetilo o metoxietilo.

40

- El término "alquilo" preferiblemente incluye grupos alquilo(C₁₋₁₀) lineales o ramificados, por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, isopropilo, isobutilo, 1-metilpropilo, 3-metilbutilo, hexilo y similares.

45

- El término "alquilo inferior" preferiblemente incluye grupos alquilo(C₁₋₆) lineales o ramificados, por ejemplo metilo, etilo, propilo, 1-metiletilo, butilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo, 1,1-dimetiletilo, pentilo, 1-metilbutilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, 1,1-dimetilpropilo, 1,2-dimetilpropilo, 2,2-dimetilpropilo y similares.

50

- El término "alquileno" preferiblemente se refiere a una cadena hidrocarburo lineal o ramificada divalente (por ejemplo etileno, -CH₂-CH₂-).
- El término "cicloalquilo(C₃₋₇)" preferiblemente incluye grupos como ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares, y en el grupo cicloalquilo(C₃₋₇) sustituido con alquilo preferiblemente el grupo alquilo es un alquilo(C₁₋₆) lineal o ramificado tal como metilo, etilo, propilo, butilo o pentilo y un grupo cicloalquilo(C₅₋₇) como ciclopentilo o ciclohexilo y similares.

- El término “alcoxi inferior” preferiblemente incluye grupos alcoxi(C₁₋₆), tal como metoxi, etoxi o propoxi y similares.
- El término “alcanoilo inferior” preferiblemente incluye grupos alcanoilo(C₁₋₆), tal como formilo, acetilo, propanoilo, butanoilo, pentanoilo o hexanoilo y similares.
- 5 • El término “arilo(C₇₋₁₁)” incluye grupos tales como benzoilo o naftoilo;
- El término “alcoxicarbonilo inferior” preferiblemente incluye grupos alcoxicarbonilo(C₂₋₇), tal como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo o propoxicarbonilo y similares.
- El término “grupo alquilamino inferior” preferiblemente significa un grupo amino sustituido con un grupo alquilo(C₁₋₆), tal como metilamino, etilamino, propilamino, butilamino y similares.
- 10 • El término “grupo di(alquilo inferior)amino” preferiblemente significa un grupo amino sustituido de forma igual o diferente con un grupo alquilo(C₁₋₆), (por ejemplo dimetilamino, dietilamino, etilmetilamino).
- El término “grupo alquilcarbamoilo inferior” preferiblemente significa un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquilo(C₁₋₆) (por ejemplo metilcarbamoilo, etilcarbamoilo, propilcarbamoilo, butilcarbamoilo).
- 15 • El término “grupo di(alquil inferior)carbamoilo” preferiblemente significa un grupo carbamoilo sustituido con alquilo(C₁₋₆) igual o diferente (por ejemplo dimetilcarbamoilo, dietilcarbamoilo, etilmetilcarbamoilo).
- El término “átomo de halógeno” como se define aquí preferiblemente significa un átomo de halógeno tal como flúor, cloro, bromo o yodo.
- 20 • El término “arilo” como se define aquí preferiblemente se refiere a un grupo arilo monocíclico C₆₋₁₀ o cíclico fusionado, tal como fenilo, indenilo, o naftilo y similares.
- El término “heterocíclico” como se define aquí preferiblemente se refiere a grupos heterocíclicos saturados monocíclicos o grupos heterocíclicos fusionados o monocíclicos insaturados que contiene al menos un heteroátomo, por ejemplo, 0-3 átomos de nitrógeno, 0-1 átomos de oxígeno (-O-) y 0-1 átomos de azufre (-S-). En este contexto, ejemplos no limitativos de grupos heterocíclicos monocíclicos saturados incluye grupos heterocíclicos saturados de 5 o 6 miembros, tal como tetrahydrofurano, pirrolidino, morfolino, piperidino, piperazino o pirazolidino. Ejemplos no limitativos del grupo heterocíclico monocíclico insaturado incluyen un grupo heterocíclico insaturado de 5 o 6 miembros, tal como furilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, tienilo, piridilo o pirimidinilo. Ejemplos no limitativos de grupos heterocíclicos fusionados insaturados incluyen grupos heterocíclicos bicíclicos insaturados tal como indolilo, isoindolilo, quinolilo, benzotiazolilo, cromanilo, benzofuranilo y similares.
- 25 • Adicionalmente, los grupos alquilo, arilo y heterocíclico como se definen aquí pueden opcionalmente estar sustituidos con uno o más sustituyentes, donde los sustituyentes son iguales o diferentes, e incluyen alquilo inferior; alcoxi(C₁₋₆) tal como metoxi, etoxi o propoxi; carboxilo; alcoxicarbonilo(C₂₋₇) tal como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo o propoxicarbonilo; y halógeno; cicloalquilo e incluye cicloalquilo(C₃₋₆); hidroxilo; alcoxi(C₁₋₆); amino; ciano; arilo; arilo sustituido, tal como 4-hidroxifenilo, 4-metoxifenilo, 4-clorofenilo o 3,4-diclorofenilo; nitro y halógeno, hidroxilo; hidroxialquilenilo(C₁₋₆), tal como hidroximetilo, 2-hidroxietilo o 3-hidroxipropilo; alcoxi inferior; alcoxi(C₁₋₆)alquilo(C₁₋₆), tal como 2-metoxietilo, 2-etoxietilo o 3-metoxipropilo; amino; alquilamino; dialquilamino; ciano; nitro; acilo; carboxilo; alcoxicarbonilo inferior; halógeno; mercapto; alquiltio(C₁₋₆), tal como, metiltio, etiltio, propiltio o butiltio; alquiltio(C₁₋₆) sustituido, tal como metoxietiltio, metiltioetiltio, hidroxietiltio o cloroetiltio; arilo; arilo cíclico fusionado o monocíclico(C₆₋₁₀) sustituido, tal como 4-hidroxifenilo, 4-metoxifenilo, 4-fluorofenilo, 4-clorofenilo o 3,4-diclorofenilo; heterocíclico insaturado de 5-6 miembros, tal como furilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, tienilo, piridilo o pirimidinilo; y heterocíclico insaturado bicíclico, tal como indolilo, isoindolilo, quinolilo, benzotiazolilo, cromanilo, benzofuranilo o ftalimino. Adicionalmente, el anillo heterocíclico como se define aquí puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, donde los sustituyentes son iguales o diferentes, e incluyen alquilo(C₁₋₆), hidroxialquilenilo(C₁₋₆), alcoxi(C₁₋₆)alquilenilo(C₁₋₆), hidroxilo, alcoxi(C₁₋₆) y ciano.
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50

Finalmente, el experto en la materia apreciará que las imidazoquinolin(aminas) como se definen arriba en el contexto de la presente invención también pueden tener un centro quiral y pueden aislarse en formas racémicas y ópticamente activas. Algunos compuestos pueden mostrar polimorfismo. Se entiende que la presente invención abarca cualquiera forma racémica, ópticamente activa, polimórfica o estereoisomérica, o mezclas de las mismas, de las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se definen arriba, que poseen las propiedades útiles aquí descritas, siendo bien conocidas técnicas para preparar formas ópticamente activas (por ejemplo por resolución de la forma racémica por técnicas de recristalización, por síntesis de materiales de partida ópticamente activos, por síntesis quiral o por separación cromatográfica usando una fase estacionaria quiral) y para determinar la actividad agonista de nicotina usando las pruebas estandarizadas aquí descritas o usando otras pruebas similares bien conocidas en la técnica.

De acuerdo con una realización, la composición farmacéutica de la presente invención típicamente comprende una imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como aquí se define, preferiblemente

imiquimod o un derivado del mismo, en una cantidad de aproximadamente un 0,005% (p/v) a aproximadamente un 5% (p/v), preferiblemente en una cantidad de alrededor de un 0,01% (p/v) a alrededor de un 5% (p/v), más preferiblemente en una cantidad de alrededor de un 0,1% (p/v) a alrededor de un 4% (p/v), aún más preferiblemente en una cantidad de alrededor de un 0,1% (p/v) a alrededor de un 3% (p/v),
 5 aún más preferente en una cantidad de alrededor de un 0,2% (p/v) a alrededor de un 2% (p/v), y con total preferencia en una cantidad de alrededor de un 0,2% (p/v) a alrededor de un 1% (p/v) o aún en una cantidad de alrededor de un 0,5% (p/v) a alrededor de un 1% (p/v), donde las cantidades definidas en % (p/v) pueden determinarse en base al peso de la imidazoquinolin(amina) o de un derivado de la misma como se define aquí, preferiblemente imiquimod o un derivado del mismo, con respecto al volumen total de la composición
 10 farmacéutica de la invención, por ejemplo cuando se proporciona como una formulación líquida o semi-líquida. Alternativamente, las cantidades citadas pueden definirse en % (p/p), donde la cantidad definida en % (p/p) puede determinarse en base al peso de la imidazoquinolin(amina) o de un derivado del mismo como se define arriba, preferiblemente imiquimod o un derivado del mismo, con respecto al peso total de la composición farmacéutica de la invención.

15 De acuerdo con una realización particularmente preferente, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención típicamente comprende una imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí, preferiblemente imiquimod o un derivado del mismo, en una cantidad de aproximadamente un 0,005% (p/v) a aproximadamente un 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,01% (p/v) a
 20 alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,1% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,2% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,3% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,4% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,5% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,6% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de
 25 alrededor de 0,7% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,8% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,9% (p/v) a alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,0% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,1% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,2% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,3% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v),
 30 en una cantidad de alrededor de 1,4% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,5% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,6% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,7% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,8% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,9% (p/v) a alrededor de 2, 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,0% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en
 35 una cantidad de alrededor de 2,1% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,2% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,3% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,4% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,5% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,6% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,7% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en
 40 una cantidad de alrededor de 2,8% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,9% (p/v) a alrededor de 3, 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,0% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,1% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,2% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,3% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,4% (p/v) a alrededor de 4, o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de
 45 de 3,5% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,6% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,7% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,8% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,9% (p/v) a alrededor de 4 o 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,0% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,1% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,2% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,3% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,4% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,5% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,6% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,7% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,8% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), o en una cantidad de
 50 alrededor de 4,9% (p/v) a alrededor de 5% (p/v), Los valores citados también pueden determinarse en % (p/p). Ambos términos "% (p/v)" y "% (p/p)" son preferiblemente como se definen arriba.

De acuerdo con otra realización preferente particular, la composición farmacéutica de la presente invención típicamente comprende una imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí, preferiblemente imiquimod o un derivado del mismo, en una cantidad de aproximadamente un 0,1% (p/v) a
 60 aprox. un 1% (p/v).

De acuerdo con una realización preferente particular adicional, la composición farmacéutica de la presente invención típicamente comprende una imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí, preferiblemente imiquimod o un derivado del mismo, en una cantidad de alrededor de 0,005% (p/v) a
 65 alrededor de 0,5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,01% (p/v) a alrededor de 0,5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,1% (p/v) a alrededor de 0,6% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,2% (p/v) a

alrededor de 0,7% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,3% (p/v) a alrededor de 0,8% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,4% (p/v) a alrededor de 0,9% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,5% (p/v) a alrededor de 1,0% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,6% (p/v) a alrededor de 1,1% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,7% (p/v) a alrededor de 1,2% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,8% (p/v) a
 5 alrededor de 1,3% (p/v), en una cantidad de alrededor de 0,9% (p/v) a alrededor de 1,4% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,1% (p/v) a alrededor de 1,5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,2% (p/v) a alrededor de 1,6% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,3% (p/v) a alrededor de 1,7% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,4% (p/v) a alrededor de 1,8% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,5% (p/v) a alrededor de 1,9% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,6% (p/v) a alrededor de 2,0% (p/v), en una
 10 cantidad de alrededor de 1,7% (p/v) a alrededor de 2,1% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,8% (p/v) a alrededor de 2,2% (p/v), en una cantidad de alrededor de 1,9% (p/v) a alrededor de 2,3% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,0% (p/v) a alrededor de 2,5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,1% (p/v) a alrededor de 2,6% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,2% (p/v) a alrededor de 2,7% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,3% (p/v) a alrededor de 2,8% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,4% (p/v) a
 15 alrededor de 2,9% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,5% (p/v) a alrededor de 3,0% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,6% (p/v) a alrededor de 3,1% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,7% (p/v) a alrededor de 3,2% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,8% (p/v) a alrededor de 3,3% (p/v), en una cantidad de alrededor de 2,9% (p/v) a alrededor de 3,4% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,0% (p/v) a alrededor de 3,5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,1% (p/v) a alrededor de 3,6% (p/v), en una
 20 cantidad de alrededor de 3,2% (p/v) a alrededor de 3,7% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,3% (p/v) a alrededor de 3,8% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,4% (p/v) a alrededor de 3,9% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,5% (p/v) a alrededor de 4,0% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,6% (p/v) a alrededor de 4,1% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,7% (p/v) a alrededor de 4,2% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,8% (p/v) a alrededor de 4,3% (p/v), en una cantidad de alrededor de 3,9% (p/v) a
 25 alrededor de 4,4% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,0% (p/v) a alrededor de 4,5% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,1% (p/v) a alrededor de 4,6% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,2% (p/v) a alrededor de 4,7% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,3% (p/v) a alrededor de 4,8% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4,4% (p/v) a alrededor de 4,9% (p/v), o en una cantidad de alrededor de 4,5% (p/v) a alrededor de 5,0% (p/v). Los valores de arriba también pueden determinarse en % (p/p). Ambos términos
 30 "%(p/v)" y "%(p/p)" son preferiblemente como se definen arriba.

Para la preparación de la composición farmacéutica inventiva, por ejemplo cuando se prepara una solución (reserva) durante la preparación de la composición farmacéutica de la invención, sin embargo, la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí puede disolverse en tal solución
 35 acuosa (reserva) que comprende ácido láctico como se ha definido típicamente en una concentración más alta como se indica arriba para la composición farmacéutica inventiva final. Para ello, la solución (reserva) puede comprender una cantidad de alrededor de un 0,005% (p/v) o un 0,01% (p/v) a alrededor de un 30% (p/v), preferiblemente una cantidad de alrededor de un 1% (p/v) a alrededor de un 25% (p/v), más preferiblemente una cantidad de alrededor de un 5% (p/v) a alrededor de un 25% (p/v), aún más preferiblemente una cantidad de alrededor de un 10% (p/v) a alrededor de un 25% (p/v), y con total preferencia una cantidad de alrededor de un 15% (p/v) a alrededor de un 20 o 25% (p/v) de imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí. Los valores indicados pueden
 40 alternativamente entenderse como % (p/p). Estos porcentajes "% (p/v)" y "%(p/p)" son preferiblemente como se definen arriba.

De acuerdo con otra realización, la composición farmacéutica de la invención también puede comprender aditivos u otros componentes adicionales. Ventajosamente, los aditivos o componentes adicionales potencian la solubilidad y/o penetración de membrana de la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí de la composición farmacéutica inventiva. Alternativamente o adicionalmente, tales aditivos o
 50 componentes adicionales permiten proporcionar una formulación más adecuada para una enfermedad específica a tratar, confieren una mejor tolerancia a la composición farmacéutica, etc.

De acuerdo con una realización particular, la composición farmacéutica de la invención puede comprender ciclodextrinas, que también se denominan cicloamilosas. Como se encontró sorprendentemente por los
 55 inventores de la presente invención, las ciclodextrinas pueden usarse para potenciar la solubilidad y, ventajosamente, la penetración de membrana de la imidazoquinolin(amina) o de un derivado de la misma como se define aquí en la composición farmacéutica de la invención, incluso aunque la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma pueda disolverse suficientemente sólo con ciclodextrinas. En este contexto, la solubilidad de la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí no se potencia sólo en la composición farmacéutica de la invención final usando ciclodextrinas, sino también en una solución (reserva) intermedia formada por imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí y un ácido orgánico como se ha definido, ácido láctico. Particularmente, fue un hallazgo inesperado en vista del estado de la técnica previo que la ciclodextrina en combinación con ácido láctico lleve a un incremento pequeño pero importante de la solubilidad de la imidazoquinolin(amina) o un
 60 derivado de la misma, particularmente de imiquimod, de al menos un 10%, más preferiblemente de al menos un 15% o de al menos alrededor de un 18% comparado con la solubilidad de aquel agente terapéuticamente
 65

activo en combinación con ácido láctico solo. En consecuencia, las ciclodextrinas pueden usarse en cualquier etapa de preparación de la composición farmacéutica para potenciar la solubilidad de la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí. En el contexto de la presente invención, las ciclodextrinas preferiblemente se entienden como miembros de una familia de oligosacáridos cíclicos compuestos de 5 o más unidades α -D-glucopiranosido ligadas en las posiciones 1 y 4, como se conoce por amilosa, un fragmento de almidón. En el contexto de la presente invención, las ciclodextrinas particularmente comprenden α -ciclodextrinas, que forman moléculas anulares de azúcar de seis miembros, β -ciclodextrinas, que forman siete moléculas anulares de azúcar, γ -ciclodextrinas, que forman ocho moléculas anulares de azúcar, δ -ciclodextrinas y ϵ -ciclodextrinas. De manera particularmente preferente, la composición farmacéutica de la invención comprende α -ciclodextrinas, β -ciclodextrinas y/o γ -ciclodextrinas, en especial β -ciclodextrinas, tal como hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD).

Sorprendentemente, la incorporación de HP β CD en la formulación farmacéutica de la invención mejora la estabilidad física, consiguiéndose una solución homogénea transparente.

De acuerdo con una realización particularmente preferente, la composición farmacéutica de la invención como se define arriba puede comprender las ciclodextrinas definidas anteriormente en una cantidad de alrededor de un 0,1% (p/v) a alrededor de un 30% (p/v), típicamente en una cantidad de alrededor de un 1% (p/v) a alrededor de un 20% (p/v), preferiblemente en una cantidad de alrededor de 2% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), más preferiblemente en una cantidad de alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), aún más preferiblemente en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 15% (p/v), o en una cantidad de alrededor de 0,1% (p/v) a alrededor de 4% (p/v), 0,1 a 2%, más preferiblemente en una cantidad de 0,5 a 2% o, alternativamente, en una cantidad de alrededor de 2% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), en una cantidad de alrededor de 4% (p/v) a alrededor de 8% (p/v), en una cantidad de alrededor de 6% (p/v) a alrededor de 10% (p/v), en una cantidad de alrededor de 8% (p/v) a alrededor de 12% (p/v), en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 14% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 16% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 18% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 20% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 22% (p/v) a alrededor de 26% (p/v), en una cantidad de alrededor de 24% (p/v) a alrededor de 28% (p/v), o en una cantidad de alrededor de 26% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), donde las cantidades como se definen en % (p/v) pueden entenderse con respecto al peso de la ciclodextrina en base al volumen total de la composición farmacéutica de la invención o de una solución de reserva intermedia cuando por ejemplo se proporciona como una formulación líquida o semi-líquida. Alternativamente, las cantidades citadas pueden definirse en % (p/p), donde la cantidad como se define en % (p/p) puede determinarse en base al peso de la ciclodextrina con respecto al peso total de la composición farmacéutica inventiva o en base a una solución de reserva intermedia.

De acuerdo con otra realización particularmente preferente, la composición farmacéutica de la invención definida puede comprender las ciclodextrinas citadas arriba en una cantidad de alrededor de 2% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), por ejemplo de alrededor de 2,5% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), de alrededor de 3% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), de alrededor de 3,5% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), de alrededor de 4% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), de alrededor de 4,5% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), o de alrededor de 2,5% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), alrededor de 3% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), de alrededor de 3,5% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), de alrededor de 4% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), de alrededor de 4,5% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), o de alrededor de 5% (p/v).

De acuerdo con otra realización particularmente preferente, en especial para ciertas formas de administración y aplicaciones, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención comprende además al menos un agente termo-sensible. En el contexto de la presente invención, el término "agente termo-sensible" típicamente se refiere a un compuesto, preferiblemente un polímero, que es capaz de cambiar su estado de agregación o su viscosidad en un punto definido de transición (transición cooperativa) de un estado líquido o semi-líquido en un estado sólido o semi sólido, preferiblemente en un estado sólido. Más preferiblemente el término "agente termo-sensible" típicamente se refiere a un compuesto, preferiblemente un polímero (orgánico), que es capaz de cambiar su estado de agregación de un estado líquido o semi-líquido en un estado sólido o semi sólido (por ejemplo de un líquido a un estado tipo gel o a un estado sólido) en un punto específico de transición (también llamado "temperatura de solución crítica inferior" (LCST) o "temperatura de transición de gel"), donde el punto específico de transición está definido preferiblemente por una temperatura de transición específica en un intervalo de alrededor de 15°C a alrededor de 35°C, más preferiblemente en un intervalo de alrededor de 15°C a alrededor de 30°C, aún más preferiblemente en un intervalo de alrededor de 15°C o 20°C a alrededor de 30°C, en especial en un intervalo de alrededor de 15°C o 20°C a alrededor de 25°C. La "temperatura de solución crítica inferior" de acuerdo con la presente invención se mide a presión ambiente y depende de la distribución molar-masa si el agente es termo-sensible. Preferiblemente, tal agente termo-sensible como se define arriba permite la formación de gel *in situ* del agente termo-sensible y cualquier compuesto o composición formulada con él, por ejemplo la composición farmacéutica de la invención a

temperatura corporal, mientras que la composición farmacéutica típicamente exhibirá propiedades (semi)líquidas. En este contexto, la formación de gel *in situ* del agente termo-sensible y cualquier compuesto o composición formulada con él típicamente ocurre directamente durante o directamente tras la administración de la composición farmacéutica de la invención en el sitio de la afección del paciente a tratar, esto es sin previa administración de la composición farmacéutica de la invención. Tal formación de gel *in situ* es una ventaja particular para aplicaciones específicas que pretendan liberar la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma de la composición farmacéutica inventiva como se define aquí durante un periodo de tiempo ampliado. Tales aplicaciones usualmente se dirigen a disponer la formulación en una cavidad corporal, por ejemplo en un tejido u órgano, tal como el vejiga, y puede por tanto ser particularmente adecuado para por ejemplo la administración vesical en la terapia de enfermedades vesicales.

Una ventaja particular de la composición farmacéutica de la presente invención que comprende agentes termo-sensibles es la facilidad de su administración debido a la selección de un punto de transición en un intervalo de temperatura como se ha definido arriba. Más específicamente, la selección de un punto de transición en un intervalo de temperatura como se define arriba permite no sólo preparar o almacenar la composición farmacéutica en un estado agregado líquido o semi-líquido. También permite la administración de la composición farmacéutica inventiva (preferiblemente líquida) por ejemplo por inyección, ya que la composición farmacéutica directamente solidifica o experimenta gelación posterior a la administración por la mayor temperatura del tejido u órgano que lo rodea, que es preferiblemente superior a la temperatura del punto de transición. En consecuencia, se induce la formación de un gel dentro del tejido u órgano. Así, la administración puede llevarse a cabo usando métodos no invasivos (sin cirugía), tal como con una aguja de inyección con una cánula de diámetro adecuado, un tubo de inyección, métodos endoscópicos, etc. Adicionalmente, tal formación de gel resulta en mayores propiedades bioadhesivas de la composición farmacéutica de la presente invención, que llevan a una exposición prolongada de la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma de la composición farmacéutica inventiva para células que expresan TLR7 y menor penetración sistémica. Como se ya mencionado, la exposición de la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma a células que expresan TLR7 induce una respuesta inmunológica que ejerce el efecto terapéutico deseado.

Adicionalmente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden agentes termo-sensibles que ventajosamente evitan o al menos reducen significativamente los efectos colaterales sistémicos de la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma debido a la administración local en el sitio afectado, a la mayor viscosidad *in vivo* de la composición farmacéutica inventiva, a la menor difusión del agente biológicamente activo que rodea los tejidos, y, además, en algunos casos, también debido a las mayores propiedades bioadhesivas.

Finalmente, ventajosamente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden agentes termo-sensibles permitidos para la "liberación prolongada" (o algunas veces "liberación de larga duración") de la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma contenida en ellas. Particularmente, la formación de un gel de la composición farmacéutica de la invención resulta en una liberación sostenida del fármaco de imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma, en un cinética de orden cero que potencia la duración del efecto terapéutico. Tal efecto terapéutico prolongado de la imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma contenido en la composición farmacéutica también evita la administración repetida de la composición farmacéutica de la invención, en particular en intervalos de tiempo cortos, que típicamente no pueden evitarse cuando se usan composiciones farmacéuticas sin liberación sostenida. El efecto en depósito de una composición farmacéutica de la invención típicamente dura al menos 24h, más preferiblemente 48h, más preferiblemente al menos 7 días, típicamente libera el agente activo en cantidades constantes ap. con el paso del tiempo (por ejemplo cantidades de liberación comparable dentro de 24 h en por ejemplo día 2 y día 8 después de la administración).

De acuerdo con una realización preferente específica, la composición farmacéutica de la invención como se ha definido contiene un agente termo-sensible como el aquí definido en una cantidad de alrededor de 0,1% (p/v) a alrededor de 40% (p/v), preferiblemente entre 0,1 y 5% (más preferiblemente 0,1, y 2%) o, alternativamente, típicamente en una cantidad de alrededor de 2% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), preferiblemente en una cantidad de alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), más preferiblemente en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), y lo más preferiblemente en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), por ejemplo en una cantidad de alrededor de 0,1% (p/v) a alrededor de 10% (p/v), en una cantidad de alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 15% (p/v), en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 11% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 16% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), en una cantidad de alrededor de 11% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 11%

(p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 11% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 11% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 20% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), en una cantidad de alrededor de 25% (p/v) a alrededor de 35% (p/v), o en una cantidad de alrededor de 30% (p/v) a alrededor de 40% (p/v), donde las cantidades definidas en % (p/v) pueden entenderse en base al peso del agente termo-sensible como se define aquí con respecto al volumen total de la composición farmacéutica de la invención o a una solución de reserva intermedia, cuando por ejemplo se proporciona como una formulación líquida o semi-líquida. Alternativamente, las cantidades citadas pueden definirse en % (p/p), donde la cantidad como se define en % (p/p) puede entenderse en base al peso del agente termo-sensible como se define aquí con respecto al peso total de la composición farmacéutica de la invención.

De acuerdo con otra realización preferente de la presente invención, la composición farmacéutica comprende una imidazoquinolin(amina), al menos un ácido orgánico seleccionado de ácido láctico y al menos un agente termo-sensible, donde el al menos un agente termo-sensible se selecciona preferiblemente de quitosano o sus derivados, o de un copolímero poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (también denominado PEO-PPO-PEO o poloxámero).

De acuerdo con una realización preferente, la composición farmacéutica de la invención como se define arriba contiene como agente termo-sensible un quitosano o un derivado del mismo. En el contexto de la presente invención por quitosano preferiblemente se entiende un polisacárido lineal compuesto de D-glucosamina ligado β -(1-4) distribuido aleatoriamente (unidad desacetilada) y de N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada). El quitosano típicamente se produce comercialmente por desacetilación de quitina, que es el elemento estructural del exoesqueleto de crustáceos como cangrejos, camarones, etc. El grado de desacetilación (%DA) típicamente se determina por espectroscopía RMN, estando el %DA en los quitosanos comerciales típicamente en el intervalo de 60-100%. Los quitosanos en el contexto de la presente invención incluyen adicionalmente derivados de los mismos, tal como trimetilquitosano, donde el grupo amino del quitosano está trimetilado o derivados oligoméricos (3-6 kDa) de quitosanos.

De acuerdo con otra realización preferente adicional, la composición farmacéutica de la invención como se define arriba contiene como agente termo-sensible un poloxámero. Los poloxámeros, solubilizados en concentraciones relativamente altas (> 17.5%) en agua, son capaces de producir sistemas líquidos a temperatura baja (debajo de temperatura ambiente) y que forman estructuras tipo jalea, semi-sólidas o sólidas o geles, a temperaturas elevadas. Los poloxámeros están comercialmente disponibles bajo el nombre comercial Pluronic y Lutrol (BASF AG, Ludwigshafen, Alemania). Los poloxámeros se incluyen en muchos productos farmacéuticos comercializados como agentes solubilizadores, tensioactivos, agentes de viscosidad y gelificantes. En este contexto, la composición farmacéutica de la invención preferiblemente no comprende ningún otro componente adicional con propiedades tensioactivas aparte de tales componentes termo-sensibles, por ejemplo poloxámeros, que demuestran adicionalmente propiedades tensioactivas.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención que comprenden un agente termo-sensible son particularmente ventajosas. Por ejemplo, la aplicación intravesical de las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprendiendo un agente termo-sensible, tal como por ejemplo poloxámero, evitan una absorción sistémica, y, además, proporcionan un incremento del contacto local de la imidazoquinolin(amina) con el urotelio. De esta manera, la adición de un agente termo-sensible reduce la absorción sistémica de la imidazoquinolin(amina) en el urotelio de la vejiga con infiltración local sostenida de células inmunitarias.

En el contexto de la presente invención los poloxámeros típicamente deben entenderse como un copolímero de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno), también abreviado "PEO-PPO-PEO". Así, tales poloxámeros son copolímeros tribloque no iónicos compuestos de una cadena hidrofóbica central de polioxipropileno (poli(óxido de propileno)) flanqueado por dos cadenas hidrofílicas de polioxietileno (poli(óxido de etileno)). El peso molecular de tales poloxámeros generalmente no se define específicamente y puede variar adecuadamente para cada propósito específico. Debido a que las longitudes de los bloques de polímero pueden personalizarse, existen multitud de poloxámeros con propiedades ligeramente diferentes. Para el término genérico "poloxámero", estos copolímeros se nombran comúnmente con la letra "P" (de

5 poloxámero) seguida por tres dígitos, los primeros dos dígitos x 100 dan la masa molecular aproximada del núcleo de polioxipropileno y el último dígito x 10 da el contenido de polioxietileno en porcentaje (por ejemplo, P407 = Poloxámero con una masa molecular de polioxipropileno de 4.000 g/mol y un 70% de contenido en polioxietileno). Para la marca Pluronic/Lutrol, la codificación de estos copolímeros comienza con una letra
 10 para definir su forma física a temperatura ambiente (L = líquido, P = pasta, F = copo (sólido)) seguido por dos o tres dígitos. El primer dígito (dos dígitos en un número de tres dígitos) en la designación numérica multiplicado por 300 indica el peso molecular aproximado del hidrófobo; y el último dígito x 10 da el contenido de polioxietileno en porcentaje (por ejemplo, L61 = Pluronic con una masa molecular de polioxipropileno de 1.800 g/mol y un 10% de contenido en polioxietileno). En el ejemplo dado, poloxámero 181 (P181) = Pluronic L61.

15 Los poloxámeros adecuados para la composición farmacéutica de la invención como agentes termo-sensibles preferiblemente comprenden cualquier copolímero de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) o mezcla de tales copolímeros adecuados para el propósito de la invención, esto es cualquier polímero PEO-PPO-PEO o mezcla de tales copolímeros que tengan propiedades termo-sensibles como se han definido arriba. Tales polímeros PEO-PPO-PEO incluyen también polímeros PEO-PPO-PEO comerciales y sus mezclas, por ejemplo Pluronic F 108 Cast Solid Surfacta; Pastilla Pluronic F 108; Perla Pluronic F 108; Perla Pluronic F 108NF (Poloxámero 338); Pluronic F 127; Perla Pluronic F 127; Pluronic F 127 NF; Perla Pluronic F 127 NF 500 BHT; Perla Pluronic F 127 NF (Poloxámero 407); Pluronic F 38; Pastilla Pluronic F 38; Pluronic F 68; Pastilla Pluronic F 68; Pastilla Pluronic F 68 LF; Perla Pluronic F 68 NF (Poloxámero 188); Perla Pluronic F 68; Pluronic F 77; Micropastilla Pluronic F 77; Pluronic F 87; Perla Pluronic F 87 NF (Poloxámero 237); Perla Pluronic F 87; Pastilla Pluronic F 88; Perla Pluronic F 88; Pluronic F 98; Perla Pluronic F 98; Pluronic L 10; Pluronic L 101; Pluronic L 121; Pluronic L 31; Pluronic L 35; Pluronic L 43; Pluronic L 44; Pluronic L 44 NF (Poloxámero 124); Pluronic L 61; Pluronic L 62; Pluronic L 62 LF; Pluronic L 25 62D; Pluronic L 64; Pluronic L 81; Pluronic L 92; Tensioactivo Pluronic L44 NF INH (Poloxámero 124); Pluronic N 3; Pluronic P 103; Pluronic P 104; Pluronic P 105; Tensioactivo Pluronic P 123; Pluronic P 65; Pluronic P 84; Pluronic P 85; y Poloxámero 403. Tales polímeros PEO-PPO-PEO incluyen además mezclas formadas por cualquiera de dos o más (3, 4, 5, 6, etc.) de estos polímeros PEO-PPO-PEO.

30 Más preferiblemente, los poloxámeros adecuados para la composición farmacéutica de la invención como agentes termo-sensibles incluyen poloxámeros o mezclas de los mismos, seleccionándose los poloxámeros de Poloxámero 124, Poloxámero 188, Poloxámero 237, Poloxámero 338, Poloxámero 403 y Poloxámero 407. Así, usando el poloxámero codificado en las etiquetas de BASF, los poloxámeros adecuados se seleccionan de Pluronic/Lutrol F 44 (poloxámero 124), Pluronic/Lutrol F 68 (poloxámero 188), Pluronic/Lutrol F 87 35 (poloxámero 237), Pluronic/Lutrol F 108 (poloxámero 338), Pluronic/Lutrol F 123 (poloxámero 403), Pluronic/Lutrol F 127 (poloxámero 407).

40 Aún más preferiblemente, los poloxámeros adecuados para la composición farmacéutica de la invención como agentes termo-sensibles incluyen poloxámeros o mezclas de los mismos, seleccionándose los poloxámeros de Poloxámero 188, Poloxámero 403 y Poloxámero 407.

45 Entre los diferentes polímeros PEO-PPO-PEO adecuados para la composición farmacéutica de la invención como agentes termo-sensibles, preferentemente se selecciona Poloxámero 407 y representa la primera opción de selección del polímero la producción de geles termo-sensibles en el contexto de la presente invención. El poloxámero 407 como agente termo-sensible puede usarse solo o en mezcla con otros poloxámeros como se ha indicado arriba, preferiblemente con Poloxámero 188, para producir una mezcla de agentes termo-sensibles que se "gelifican" a una temperatura seleccionada, preferiblemente ligeramente superior a la temperatura ambiente (> 20°C), pero por debajo de la temperatura corporal (< 37°C).

50 De acuerdo con una realización particularmente preferente, la composición farmacéutica de la invención comprende como agente termo-sensible Poloxámero 407 en una cantidad tal como la indicada en general para los agentes termo-sensibles, en particular en una cantidad de alrededor de 0,1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), aún más preferiblemente en una cantidad de alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), y lo más preferiblemente en una cantidad de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), por ejemplo en una cantidad de alrededor de 0,1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 10,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 11% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 11,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 16% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 16,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 17% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 17,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 18% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 18,5% (p/v) a

alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 19% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 19,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 20% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 20,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 21% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 21,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 22% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 22,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 23% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 23,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 24% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), o en una cantidad de alrededor de 24,5% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), o más particularmente en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 16% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 17% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 18% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 19% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 20% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 21% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 22% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 23% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), en una cantidad de alrededor de 24% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), o más particularmente en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 23% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 21% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), o más particularmente en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 23% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 21% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), o más particularmente en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 23% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 21% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), o más particularmente en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 23% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 21% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), o más particularmente en una cantidad de alrededor de 24% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), donde las cantidades como se definen en % (p/v) pueden entenderse en base al peso del agente termo-sensible como se define aquí con respecto al volumen total de la composición farmacéutica inventiva o de una solución de reserva intermedia, cuando por ejemplo se proporciona como una formulación líquida o semi-líquida. Alternativamente, las cantidades citadas pueden definirse en % (p/p), donde la cantidad en % (p/p) puede entenderse en base al peso del agente termo-sensible como se define aquí con respecto al peso total de la composición farmacéutica de la invención.

De acuerdo con una realización preferente adicional, la composición farmacéutica de la invención puede comprender como agente termo-sensible cualquiera de los poloxámeros definidos anteriormente, preferiblemente cualquiera de los poloxámeros seleccionado de Poloxámero 124, Poloxámero 188, Poloxámero 237, Poloxámero 338 y Poloxámero 403. Preferiblemente tales poloxámeros están presentes en la composición farmacéutica inventiva como agentes termo-sensibles en las cantidades descritas anteriormente para los agentes termo-sensibles en general o más específicamente como se describió para el Poloxámero 407.

De acuerdo con una realización particularmente preferente, la composición farmacéutica de la invención también puede comprender como agente termo-sensible una mezcla de cualquiera de los agentes termo-sensibles definidos. Tal mezcla de agentes termo-sensibles preferiblemente comprende una cantidad total de agente termo-sensible mezclado similar como a la descrita arriba en general para los agentes termo-sensibles o más específicamente como se describió arriba para Poloxámero 407. Adicionalmente, tal mezcla de agentes termo-sensibles preferiblemente comprende una relación entre los diferentes poloxámeros, que llevan a una mezcla de agentes termo-sensibles que se "gelifican" a una temperatura deseada, preferiblemente en un intervalo de temperatura como el definido. En este contexto, la relación y/o la cantidad de los diferentes poloxámeros en la mezcla puede influir en la "Temperatura de Solución Crítica Inferior" (LCST) y por ello en la temperatura de transición del gel. Por ejemplo, se ha encontrado que disminuir el

porcentaje de Poloxámero 407 en una mezcla con Poloxámero 188 resulta en un incremento de la LCST. Adicionalmente, la cantidad y/o relación de los diferentes poloxámeros en la mezcla se selecciona preferiblemente con respecto a la solubilidad del fármaco. Preferiblemente, cualquiera de dos de los agentes termo-sensibles como se define arriba, particularmente cuando se proporciona en una cantidad como se define arriba, puede estar contenida en la composición farmacéutica inventiva como mezcla en una relación de alrededor de 1:20 a alrededor de 20:1, preferiblemente en una relación de alrededor de 1:20, 2:20, 3:30, 4:20, 5:20, 6:20, 7:20, 8:20, 9:20, 10:20, 11:20, 12:20, 13:20, 14:20, 15:20, 16:20, 17:20, 18:20, 19:20, 20:20 (= 1:1), o en una relación de alrededor de 20:20, 19:20, 18:20, 17:20, 16:20, 15:20, 14:20, 13:20, 12:20, 11:20, 10:20, 9:20, 8:20, 7:20, 6:20, 5:20, 4:20, 3:20, 2:20, o alrededor de 1:20, o en una relación de alrededor de 1:20, 1:19, 2:18:, 3:17, 4:16, 5:15, 6:14, 7:13, 8:12, 9:11, 10:10 (1:1), 11:9, 12:8, 13:7, 14:6, 15:5, 16:4, 17:3, 18:2, 19:1 o 20:1, o en un intervalo formado por cualquiera dos de los valores de relación como se define arriba. Aún más preferiblemente, cualquiera de dos de los agentes termo-sensibles como se definen arriba, particularmente cuando se proporcionan en una cantidad como se define arriba, pueden estar contenidos en la composición farmacéutica como mezcla en un intervalo de alrededor de 1:10 a alrededor de 10:1, por ejemplo en una relación de alrededor de 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10, 6:10, 7:10, 8:10, 9:10, o 10:10 (esto es 1:1), o en una relación de alrededor de 10:9, 10:8, 10:7, 10:6, 10:5, 10:4, 10:3, 10:2, o 10:1, o en un intervalo formado por cualquiera de dos de los valores de relación como se define arriba.

Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica de la invención puede comprender como agente termo-sensible una mezcla de Poloxámero 407 y cualquiera de los poloxámeros descritos arriba, aún más preferiblemente seleccionados de Poloxámero 124, Poloxámero 188, Poloxámero 237, Poloxámero 338 y Poloxámero 403. Igualmente, tal mezcla de agentes termo-sensibles preferiblemente comprende una cantidad total de agentes termo-sensibles de mezcla similar a la descrita en general para los agentes termo-sensibles o más específicamente como se describió arriba para Poloxámero 407.

De acuerdo con una realización particularmente preferente, la composición farmacéutica de la invención puede comprender como agente termo-sensible una mezcla de Poloxámero 407 y Poloxámero 188. Preferiblemente tal mezcla de Poloxámero 407 y Poloxámero 188 está contenida en la composición farmacéutica en una cantidad total como la descrita en general para los agentes termo-sensibles o más específicamente como se describió arriba para Poloxámero 407. Preferiblemente tal mezcla de Poloxámero 407 y Poloxámero 188 también se encuentra en la composición farmacéutica inventiva en una relación como la indicada arriba en general para mezclas de polioxámeros usados como agentes termo-sensible en la composición farmacéutica. Aún más preferiblemente, tal relación se selecciona de entre una relación Poloxámero 407:Poloxámero 188 de alrededor de 1:20, 1:19, 2:18:, 3:17, 4:16, 5:15, 6:14, 7:13, 8:12, 9:11, 10:10 (1:1), 11:9, 12:8, 13:7, 14:6, 15:5, 16:4, 17:3, 18:2, 19:1 o 20:1, o una relación formada por cualquiera de dos de los valores como se definen arriba. En especial, tal relación se selecciona de una relación Poloxámero 407:Poloxámero 188 de alrededor de 7:3, 7.5:2.5, 8:2, 8.5:1.5, 9:1 o 9.5:0.5, o una relación formada por cualquiera de dos de estos valores. En consecuencia, el contenido absoluto de Poloxámero 188 y de Poloxámero 407 en la composición farmacéutica de la invención puede determinarse en base a la cantidad global y a la relación específica de ambos poloxámeros en la composición farmacéutica.

De acuerdo con una realización específica, la composición farmacéutica de la invención puede comprender como agente termo-sensible Poloxámero 407 en una cantidad (total) de alrededor de 17,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), más preferiblemente en una cantidad global de alrededor de 17,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 18,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 18,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 19,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 19,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 20,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 21,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 21,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 22,0% (p/v)/(p/p), o de alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), o en una cantidad (global) de alrededor de 10% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), más preferiblemente en una cantidad global de alrededor de 11% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 12,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 13% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 14,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 16,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), o de alrededor de 11% (p/v)/(p/p) a alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 12,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 13% (p/v)/(p/p) a alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 14,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 16,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 20,0% (p/v)/(p/p), o de alrededor de 11% (p/v)/(p/p) a alrededor de 19,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 12,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 19,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 13% (p/v)/(p/p) a alrededor de 19,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 14,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 19,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 19,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 19,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 16,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 19,0% (p/v)/(p/p), o de alrededor de 11% (p/v)/(p/p) a alrededor de 18,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 12,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 18,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 13% (p/v)/(p/p) a alrededor de 18,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 14,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 18,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 18,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 18,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 16,0% (p/v)/(p/p) a alrededor

de 18,0% (p/v)/(p/p), o de alrededor de 11% (p/v)/(p/p) a alrededor de 17,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 12,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 17,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 13% (p/v)/(p/p) a alrededor de 17,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 14,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 17,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 17,0% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 17,0% (p/v)/(p/p),
 5 de alrededor de 16,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 17,0% (p/v)/(p/p), o de alrededor de 11% (p/v)/(p/p) a alrededor de 16,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 12,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 16,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 13% (p/v)/(p/p) a alrededor de 16,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 14,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 16,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 16,5% (p/v)/(p/p), de alrededor de 15,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 16,5% (p/v)/(p/p), (El término (p/v)/(p/p) significa ya sea (p/v) o (p/p)) o cualquier intervalo formado por cualquiera de dos de estos valores como se define arriba.

De acuerdo con una realización específica adicional, la composición farmacéutica de la invención puede comprender como agente termo-sensible una mezcla de Poloxámero 407 y Poloxámero 188 en una cantidad total de alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 27,5% (p/v)/(p/p), más preferiblemente en una cantidad
 15 total de alrededor de 25% (p/v)/(p/p), y preferiblemente en una relación Poloxámero 407:Poloxámero 188 de alrededor de 15:5, 16:4, 17:3, 18:2, 19:1 o 20:1, o una relación formada por cualquiera de dos de estos valores, más preferiblemente en una relación de alrededor de 9,5:0,5, de alrededor de 9:1, de alrededor de 8,5:1,5, o de alrededor de 8:2, o una relación formada por cualquiera de dos de estos valores. En consecuencia, cuando la composición farmacéutica inventiva comprende una mezcla de Poloxámero 407 y
 20 Poloxámero 188, el Poloxámero 407 puede estar presente en la composición farmacéutica inventiva en una cantidad de alrededor de 15,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 26,5% (p/v)/(p/p), preferiblemente en una cantidad de alrededor de 17,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 22,5% (p/v)/(p/p), mientras que el Poloxámero 188 puede presentarse en la composición farmacéutica en una cantidad de alrededor de 1,0% (p/v)/(p/p) a alrededor de 6,0% (p/v)/(p/p), preferiblemente en una cantidad de alrededor de 2,5% (p/v)/(p/p) a alrededor de 4,5%
 25 (p/v)/(p/p), (El término (p/v)/(p/p) significa ya sea (p/v) o (p/p)),

La composición farmacéutica de la invención puede comprender además aditivos o componentes adicionales, por ejemplo ciclodextrina como se ha indicado anteriormente. En este contexto, el contenido de aditivos, particularmente de ciclodextrina, puede tener influencia en la "Temperatura de Solución Crítica Inferior" (LCST) o "temperatura de transición del gel", como ya se ha mencionado. Como ejemplo particular, incrementar los porcentajes de ciclodextrina resulta en un incremento de la LCST de Poloxámero 407 o una
 30 mezcla de Poloxámero 407 y Poloxámero 188 como se define arriba. Esto puede aplicarse adecuadamente a otros poloxámeros como los definidos y a otros agentes termo-sensibles aquí indicados.

De manera similar, la LCST de las composiciones farmacéuticas de la presente invención se ven influenciadas de forma diferente por los ácidos acético y láctico. Ambos ácidos generalmente incrementan la LCST de las composiciones. Sin embargo, aunque por ejemplo imiquimod no influye en la temperatura de transición del gel de las composiciones farmacéuticas inventivas que comprenden sólo ácido acético, se potencia la LCST de las composiciones que comprenden ácido láctico.

De acuerdo con otra realización, la composición farmacéutica de la invención puede comprender además un soporte y/o vehículo farmacéuticamente aceptable. En el contexto de la presente invención, un soporte farmacéuticamente aceptable típicamente incluye una base líquida de la composición farmacéutica de la invención, por ejemplo agua libre de pirógenos; la solución de agua libre puede combinarse en cualquier
 45 relación apropiada con un disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable, miscible con agua, por ejemplo un alcohol (por ejemplo etanol o isopropanol); también pueden emplearse: soluciones (acuosas) tampón o salinas isotónicas, por ejemplo soluciones tampón fosfato, citrato, etc., soluciones acuosas tamponadas, que contienen por ejemplo una sal de sodio, preferiblemente menos una sal de sodio al menos 50 mM, una sal de calcio, preferiblemente al menos 0,01 mM, y/o una sal de potasio, preferiblemente al menos 3 mM. De acuerdo con una realización preferente, las sales de sodio, calcio y/o potasio pueden estar presentes en forma de sus haluros, por ejemplo cloruros, yoduros o bromuros, en forma de hidróxidos, carbonatos, hidrogenocarbonatos o sulfatos, etc. Sin limitarse a esto, ejemplos de sales de sodio incluyen por ejemplo NaCl, NaI, NaBr, Na₂CO₃, NaHCO₃, Na₂SO₄, ejemplos de las sales de potasio opcionales incluyen por ejemplo KCl, KI, KBr, K₂CO₃, KHCO₃, K₂SO₄, y ejemplos de sales de calcio incluyen por ejemplo CaCl₂, CaI₂, CaBr₂, CaCO₃, CaSO₄, Ca(OH)₂. Adicionalmente, los aniones orgánicos de los cationes mencionados anteriormente pueden estar contenidos en la composición de la invención. De acuerdo con una realización especialmente preferente, la composición de la invención adecuada para propósitos de inyección como se define arriba puede contener sales seleccionadas de entre cloruro de sodio (NaCl), cloruro de calcio (CaCl₂) y opcionalmente cloruro de potasio (KCl), donde pueden estar presentes otros aniones adicionales a los cloruros. El CaCl₂ también puede reemplazarse por otra sal tipo KCl. La composición de la invención puede ser hipertónica, isotónica o hipotónica, en referencia al medio de referencia específico, esto es la composición de la invención puede tener un contenido en sal superior, idéntico o inferior en referencia al medio de referencia específico, donde preferiblemente se emplean las concentraciones de sales mencionadas anteriormente, que no provocan daño celular debido a la osmosis u otros efectos de concentración. Medios de referencia son, por ejemplo, líquidos que se encuentran en métodos "in vivo", tal como sangre, linfa, líquidos citosólicos, u otros líquidos corporales, o por ejemplo líquidos que pueden usarse como medios de
 60
 65

referencia en métodos “*in vitro*”, tal como líquidos o soluciones tampón comunes. Tales líquidos o soluciones tampón comunes son conocidas del experto.

- 5 Sin embargo, pueden usarse uno o más diluyentes o cargas sólidas o líquidas compatibles o también compuestos encapsulados para la composición farmacéutica de la invención, adecuados para su administración a un paciente a tratar. El término “compatible” como se usa aquí significa que estos
- 10 constituyentes de la composición farmacéutica inventiva son capaces de mezclarse con las imidazoquinolin(aminas) o sus derivados como se define de acuerdo con la presente invención de manera que no se produce una interacción que reduzca sustancialmente la efectividad farmacéutica de la
- 15 composición inventiva bajo las condiciones de uso típicas. Los soportes, cargas y diluyentes farmacéuticamente aceptables deben, por supuesto, tener una pureza suficientemente alta y toxicidad suficientemente baja para ser adecuados para la administración a una persona a tratar. Ejemplos de compuestos que pueden usarse como soportes, cargas o constituyentes farmacéuticamente aceptables son azúcares, por ejemplo lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, por ejemplo almidón de maíz o almidón de patata; celulosa y sus derivados, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa, acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; sebo; deslizantes sólidos, por ejemplo ácido esteárico, estearato de magnesio; sulfato de calcio; aceites vegetales, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de ajonjolí, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de teobroma; polioles, por ejemplo polipropilenglicol, glicerol, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ácido alginico.
- 20 Otros aditivos que pueden incluirse en la composición farmacéutica inventiva son emulsificantes, por ejemplo Tween®; humectantes, por ejemplo lauril sulfato de sodio; agentes colorantes; agentes saborizantes, vehículos farmacéuticos; agentes que forman comprimidos; estabilizadores; antioxidantes; conservantes.
- 25 De acuerdo con otra realización, la composición farmacéutica de la invención puede comprender un adyuvante. En este contexto, un adyuvante puede entenderse como cualquier compuesto adecuado para iniciar o incrementar una respuesta inmunitaria del sistema inmunitario innato, esto es una respuesta inmunitaria no específica. En otras palabras, cuando se administra, la composición farmacéutica inventiva típicamente produce una respuesta inmunitaria innata debido al adyuvante opcionalmente contenido en ella.
- 30 Tal adyuvante puede seleccionarse de cualquier adyuvante conocido del experto y adecuada para el caso actual, esto es soportando la inducción de una respuesta inmunitaria innata en un mamífero. Preferiblemente, el adyuvante se selecciona del grupo consistente en, sin limitarse a, cualquiera de los siguientes que incluyen quitosano, TDM, MDP, dipéptido de muramilo, pluronics, solución de alumbre, hidróxido de aluminio, ADJUMER™ (polifosfaceno); gel de fosfato de aluminio; glucanos de algas; algamulina; gel de hidróxido de aluminio (alumbre); gel de hidróxido de aluminio altamente adsorbente de la proteína; gel de hidróxido de aluminio de viscosidad baja; AF o SPT (emulsión de escualano (5%), Tween 80 (0,2%), Pluronic L121 (1,25%), solución salina de tampón fosfato (pH 7,4); AVRIDINE™ (propandiamina); BAY R1005™ ((hidroacetato de N-(2-desoxo-2-L-leucilamino-b-D-glucopiranosil)-N-octadecil-dodecanoil-amida); CALCITRIOL™ (1-alfa-2,5-dihidroxi-vitamina D3); gel de fosfato de calcio; CAPTM (nanopartículas de fosfato de calcio); holotoxina de cólera, proteína de fusión de fragmento D-proteína A-toxina A1-cólera, sub-unidad B de la toxina de cólera; CRL 1005 (copolímero de bloque P1205); liposomas que contienen citocina; DDA (bromuro de dimetildioctadecilamonio); DHEA (deshidroepiandrosterona); DMPC (dimiristoil-fosfatidilcolina); DMPG (dimiristoilfosfatidilglicerol); complejo de DOC/alúmina (sal sódica de ácido desoxicólico); adyuvante completo de Freund; adyuvante incompleto de Freund; gamma-inulina; adyuvante Gerbu (mezcla de: i) N-acetilglucosaminil-(P1-4)-N-acetilmuramil-L-alanil-D-glutamina (GMDP), ii) cloruro de dimetildioctadecilamonio (DDA), iii) complejo de sal zinc-L-prolina (ZnPro-8); GM-CSF); GMDP (N-acetilglucosaminil-(b1-4)-N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutamina); ImmTher™ (dipalmitato de N-acetilglucosaminil-N-acetilmuramil-L-Ala-D-isoGlu-L-Ala-glicerol); DRVs (inmunoliposomas preparados de vesículas de deshidratación-rehidratación); interferón-gamma; interleucina-1-beta; interleucina-2; interleucina-7; interleucina-12; ISCOMS™; ISCOPREP 7.0.3.™; liposomas; LOXORIBINA™ (7-alil-8-oxoguanosina); adyuvante oral LT (enterotoxina-protóxina inestable *E.coli*); microesferas y micropartículas de cualquier composición; MF59™; (emulsión de escualeno-agua); MONTANIDE ISA 51™ (adyuvante de Freund incompleto purificado); MONTANIDE ISA 720™ (adyuvante de aceite metabolizable); MPL™ (lípido A 3-Q-desacil-4'-monofosforilo); MTP-PE y liposomas MTP-PE ((N-acetil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanine-2-(1,2- dipalmitoil-sn-glicero-3-(hidroxifosforiloxi))-etilamida, sal monosódica); MURAMETIDE™ (Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH₃); MURAPALMITINE™ y D-MURAPALMITINE™ (Nac-Mur-L-Thr-D-isoGln-sn-gliceroldipalmitoil); NAGO (neuraminidasa-galactosa oxidasa); nanoesferas o nanopartículas de cualquier composición; NISV (vesículas de tensoactivo no iónico); PLEURAN™ (β-glucano); PLGA, PGA y PLA (homo- y co-polímeros de ácido láctico y ácido glicólico; microesferas/nanoesferas); PLURONIC L 121™; PMMA (metacrilato de polimetilo); PODDS™ (microesferas de proteinoide); derivados de carbamato de polietileno; poli-rA: poly-rU (complejo de ácido poliadenilico-ácido poliuridilico); polisorbato 80 (Tween 80); cocleatos de proteína (Avanti Polar Lipids, Inc., Alabaster, AL); STIMULON™ (QS-21); Quil-A (saponina Quil-A); S-28463 (4-amino-otec-dimetil-2- etoximetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-etanol); SAF-1™ (“Formulación de adyuvante Syntex”); proteoliposomas Sendai y matrices de lípido que contienen Sendai; Span-85 (trioleato de sorbitano); Specol (emulsión de Marcol 52, Span 85 y Tween 85); escualeno o Robane® (2,6,10,15,19,23-hexametil-tetracosano y 2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,22-tetracosahexano); esteariltirosina (clorhidrato de octadeciltirosina); Theramid® (N-
- 65

acetilglucosaminil-N-acetilmuramil-L-Ala-D-isoGlu-L-Ala-dipalmitoxi-propilamida); Teronil-MDP (Termurtide™ o [thr 1]-MDP; N-acetilmuramil-L-treonil-D-isoglutamina); partículas Ty (Ty-VLPs o partículas tipo virus); liposomas Walter-Reed (liposomas que contienen lípido A adsorbido en hidróxido de aluminio), y lipopéptidos, que incluyen Pam3Cys, en particular sales de aluminio, tal como Adju-phos, Alhydrogel, Rehydrogel; emulsiones, que incluyen CFA, SAF, IFA, MF59, Provac, TiterMax, Montanide, Vaxfectin; copolímeros, que incluyen Optivax (CRL1005), L121, etc.; liposomas, que incluyen Stealth, cocleatos, que incluyen BIORAL; adyuvantes derivados de planta, que incluyen QS21, Quil A, Iscomatrix, ISCOM; adyuvantes adecuados para coestimulación que incluyen Tomatine, biopolímeros, que incluyen PLG, PMM, Inulin; adyuvantes derivados de microbios, que incluyen Romurtide, DETOX, MPL, CWS, Mannose, secuencias de ácido nucleico CpG, CpG7909, ligandos de TLR 1-10 humano, ligandos de TLR 1-13 de murino, ISS-1018, IC31, Ampligen, Rib529, IMOxine, IRIVs, VLPs, toxina de cólera, toxina inestable al calor, Pam3Cys, Flagellin, GPI anchor, LNFPIII/Lewis X, péptidos antimicrobianos, UC-I V150, proteína de fusión RSV, cdiGMP; y adyuvantes adecuados como antagonistas que incluyen neuropéptido CGRP.

La composición farmacéutica inventiva puede adicionalmente contener una o más sustancias auxiliares con objeto de incrementar además su efecto inmunomodulador. Preferentemente de esta manera se consigue una acción sinérgica de las imidazoquinolin(aminas) o un derivado de las mismas como se define de acuerdo con la presente invención y de una sustancia auxiliar, que puede estar opcionalmente contenida en la composición farmacéutica inventiva como se describió arriba. Dependiendo de los varios tipos de sustancias auxiliares, pueden considerarse diversos mecanismos en relación a esto. Por ejemplo, los compuestos que permiten la maduración de células dendríticas (DCs), por ejemplo lipopolisacáridos, TNF-alfa o ligando CD40, forman una primera clase de sustancias auxiliares adecuadas. En general, es posible usar como sustancia auxiliar cualquier agente que influya en el sistema inmunitario en la manera de una “señal peligrosa” (LPS, GP96, etc.) o citocinas, tal como GM-CSF, que permiten una respuesta inmunitaria producida por el adyuvante estimulado inmunitario de acuerdo con la invención para potenciarse e/o influenciarse de forma directa. Particularmente las sustancias auxiliares preferentes son citocinas, tal como monocinas, linfocinas, interleucinas o quimiocinas, que promueven además la respuesta inmunitaria innata, tal como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, INF-alfa, INF-beta, INF-gamma, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT-beta o TNF-alfa, factores de crecimiento, tal como hGH.

La composición farmacéutica de la invención también puede adicionalmente o alternativamente contener cualquier compuesto adicional conocido por ser estimulador inmunitario debido a su afinidad de enlace (como ligandos) al receptor humano tipo Tolls TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, o debido a su afinidad de enlace (como ligandos) para el receptor murino tipo Tolls TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 o TLR13.

Otra clase de compuestos que pueden agregarse a la composición farmacéutica inventiva en este contexto pueden ser ácidos nucleicos CpG, en particular CpG-ARN o CpG-ADN. El CpG-ARN o CpG-ADN puede ser un CpG-ADN monohebra (ss CpG-ADN), CpG-ADN de doble hebra (dsADN), CpG-ARN monohebra (ss CpG-ARN) o CpG-ARN de doble hebra (ds CpG-ARN). El ácido nucleico CpG está preferiblemente en forma de CpG-ARN, en especial en forma de CpG-ARN monohebra (ss CpG-ARN). El ácido nucleico CpG preferiblemente contiene al menos una o más secuencias de dinucleótido citosina/guanina (mitogénicas) (porciones CpG). De acuerdo con una primera alternativa preferida, al menos una porción CpG contenida en estas secuencias, es decir la C (citosina) y la G (guanina) de la porción CpG, no está metilada. Todas las citosinas o guaninas adicionales opcionalmente contenidas en estas secuencias pueden estar o no metiladas. De acuerdo con una alternativa preferida adicional, sin embargo, la C (citosina) y la G (guanina) de la porción CpG también puede presentarse en forma metilada.

La composición farmacéutica de la invención típicamente comprende una “cantidad segura y efectiva” de los componentes citados para la composición farmacéutica, particularmente de las imidazoquinolin(aminas) y sus derivados como se definen en la presente invención. Como se usa aquí, una “cantidad segura y efectiva” significa una cantidad de este componente, en particular de las imidazoquinolin(aminas) y sus derivados, que es suficiente para inducir significativamente una modificación positiva en una enfermedad o trastorno como los aquí definidos. Al mismo tiempo, sin embargo, una “cantidad segura y efectiva” es suficientemente pequeña para evitar efectos colaterales serios, es decir para permitir una relación sensible entre ventaja y riesgo. La determinación de estos límites típicamente se está al alcance del juicio médico. Una “cantidad segura y efectiva” de los componentes de la composición farmacéutica inventiva, particularmente de las imidazoquinolin(aminas) y sus derivados, adicionalmente variará según la afección particular a tratar y también con la edad y el estado físico del paciente, su peso corporal, su salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, su actividad, la severidad de la afección, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia acompañante, del portador farmacéuticamente aceptable particular usado y factores similares dentro del conocimiento y experiencia del médico. La composición farmacéutica de la invención puede ser usada por humanos y también para propósitos médicos veterinarios, preferiblemente para propósitos médicos humanos.

Sin particularizar, en algunas realizaciones la composición farmacéutica de la invención contendrá o liberará suficiente imidazoquinolin(amina) activa o un derivado de la misma para proporcionar una dosis de alrededor

de 10, 20, 50, o 100 nanogramos por kilogramo (ng/kg) a alrededor de 50 miligramos por kilogramo (mg/kg), preferiblemente alrededor de 10 microgramos por kilogramo ($\mu\text{g}/\text{kg}$) a alrededor de 5 mg/kg, del compuesto o de una sal del mismo al sujeto. En otras realizaciones, la composición farmacéutica contendrá o liberará suficiente imidazoquinolin(amina) activa o un derivado de la misma para proporcionar una dosis de, por ejemplo, de alrededor de 0,0001, 0,001, 0,01 o 0,1 mg/m^2 a alrededor de 5,0 mg/m^2 , calculada de acuerdo con el método Dubois, en el cual el área de superficie corporal de un sujeto (m^2) se calcula usando el peso corporal del sujeto: $\text{m}^2 = (\text{peso kg}^{0,425} \times \text{altura cm}^{0,725}) \times 0,007184$, aunque en algunas realizaciones los métodos pueden realizarse al administrar un compuesto o sal o composición en una dosis fuera de este intervalo. En algunas de estas realizaciones, el método incluye administrar suficiente imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma para proporcionar una dosis de alrededor de 0,0001, 0,001, 0,01 o 0,1 mg/m^2 a alrededor de 2,0 mg/m^2 al sujeto, por ejemplo, una dosis de alrededor de 0,004, 0,04 o 0,4 mg/m^2 a alrededor de 1,2 mg/m^2 .

La composición farmacéutica de la invención puede administrarse localmente. Las vías para la administración local en general incluyen, por ejemplo, vías de administración tópicas, pero también intravesical, intradérmica, transdérmica, subcutánea o inyecciones intramusculares o intralesionales, intracraneales, intrapulmonales, intracardiales y sublinguales. En especial, la composición farmacéutica de la invención puede administrarse vía intravesical. La cantidad adecuada de la composición farmacéutica a administrar puede determinarse por experimentos de rutina con modelos animales. Tales modelos incluyen, sin significar ninguna limitación, modelos de conejo, oveja, ratón, rata, perro y primate no humano. Las formas de dosis unitarias preferentes para la inyección incluyen soluciones estériles de agua, solución salina fisiológica o mezclas de las mismas.

Las siguientes realizaciones son composiciones específicamente preferentes de la invención que se limitan a componentes específicos.

Preferiblemente, la composición farmacéutica de la invención como se ha definido comprende al menos una imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se ha indicado y al menos un ácido orgánico seleccionado de ácido láctico - preferiblemente en una concentración tal que su pH final es pH 3 a 5, preferiblemente 3,5 a 4,5. Así, los componentes de la composición inventiva forman las estructuras de aducto de la invención. La composición farmacéutica de la invención como se define arriba comprende preferiblemente al menos una imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí y al menos un ácido orgánico seleccionado de ácido láctico, sin embargo no contienen más de 4, 3, 2, 1 o en especial ningún ácido orgánico y/o inorgánico adicional como se define en la presente o, alternativamente, menos de 2 ácidos inorgánicos y ningún ácido orgánico adicional o, todavía alternativamente sólo un ácido orgánico adicional y ningún ácido inorgánico.

Preferiblemente, la composición farmacéutica de la invención como se define arriba comprende al menos una imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí y al menos un ácido orgánico como se define arriba seleccionado de ácido láctico, y menos de 4, o 3 agentes termo-sensibles o en especial sólo un agente termo-sensible. Alternativamente, la composición también puede no comprender agente termosensible alguno. También se proporciona la combinación de un número restringido de agentes termo-sensibles en la composición farmacéutica de la invención y un número restringido de ácidos como se ha definido. En consecuencia, la composición farmacéutica de la invención tal como se ha definido puede comprender por ejemplo al menos una imidazoquinolin(amina) o un derivado de la misma como se define aquí y al menos un ácido orgánico como se define aquí seleccionado de ácido láctico, y menos de 4, 3, 2, o 1 ácidos orgánicos y/o inorgánicos adicionales como se definen aquí, y menos de 4, 3, o 2 agentes termo-sensibles, preferentemente todos de ellos de la clase de los plurónicos, en especial aquellos compuestos plurónicos que se definen como los aquí preferentes.

Preferentemente, la composición farmacéutica de la invención puede no incluir otros tensioactivos aparte de los agentes termo-sensibles (si hubiera), que pueden tener adicionalmente propiedades tensioactivas. En consecuencia, la composición también puede no incluir tensioactivo y sin agente termo-sensible.

Preferiblemente, la composición farmacéutica de la invención puede contener menos de 4, 3, o 2 ciclodextrinas o, alternativamente, sin ciclodextrina en absoluto. Estas realizaciones pueden combinarse con las arriba preferentes. Así, la composición inventiva puede por ejemplo no contener agente termosensible, ni ciclodextrina ni tensioactivo. Además, la composición puede no contener otro potenciador de solubilidad adicional, sea un tensioactivo, una ciclodextrina u otro compuesto que potencie la solubilidad, aparte de ácido láctico.

Preferiblemente, la composición de la invención comprende al menos un compuesto de imidazoquinolin(amina) como se define aquí, ácido láctico y 1, 2 o ningún agente termosensible y ningún compuesto potenciador de la solubilidad adicional y ningún ingrediente terapéuticamente activo adicional y ninguna celulosa o derivado de celulosa. En tal realización, la composición inventiva puede contener adicionalmente sólo uno o más de los siguientes componentes estándares que pertenecen a la clase de estabilizantes y conservantes.

De acuerdo con una realización específica, la composición farmacéutica de la invención comprende ácido láctico en una concentración de alrededor de 0,025 a alrededor de 0,2M, imidazoquinolin(amina) en una cantidad de alrededor de 0,1% (p/v) a alrededor del 1% (p/v), ciclodextrina(s) en una cantidad de alrededor del 2% (p/v) a alrededor del 6% (p/v) y Poloxámero 407 en una cantidad de alrededor del 10% (p/v) a alrededor del 25% (p/v), preferentemente la composición farmacéutica comprende ácido láctico en una concentración de alrededor de 0,075 a alrededor de 0,125M, por ejemplo de alrededor de 0,08M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,085M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,09M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,125M, de alrededor de 0,1M a alrededor de 0,125M, o de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,120M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,115M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,110M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,105M, de alrededor de 0,075M a alrededor de 0,105M o de alrededor de 0,08M a alrededor de 0,120M, por ejemplo de alrededor de 0,085M a alrededor de 0,115M, de alrededor de 0,09M a alrededor de 0,110M, de alrededor de 0,095M a alrededor de 0,105M, o de alrededor de 0,1M, imidazoquinolin(amina) en una cantidad de alrededor de 0,1% (p/v) a alrededor de 1% (p/v), por ejemplo en una cantidad de alrededor de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 o 1,0(p/v), ciclodextrinas en una cantidad de alrededor de 2% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), por ejemplo de alrededor de 2,5% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), de alrededor de 3% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), de alrededor de 3,5% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), de alrededor de 4% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), de alrededor de 4,5% (p/v) a alrededor de 6% (p/v), o de alrededor de 2,5% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), alrededor de 3% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), de alrededor de 3,5% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), de alrededor de 4% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), de alrededor de 4,5% (p/v) a alrededor de 5,5% (p/v), o de alrededor de 5% (p/v), y Poloxámero 407 en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 25% (p/v), por ejemplo en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 23% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 21% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 12% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), oMás particularmente en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 23% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 21% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 13% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), oMás particularmente en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 23% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 21% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 14% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), oMás particularmente en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 24% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 23% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 22% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 21% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 19% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 18% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 17% (p/v), en una cantidad de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 16% (p/v), o en una cantidad de alrededor de 16% (p/v).

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, el objeto de la presente invención se resuelve por el uso de imidazoquinolin(aminas) y derivados de las mismas como se definen aquí (para la fabricación de una composición farmacéutica, por ejemplo como se define aquí) para su uso en un método para el tratamiento de enfermedades de la vejiga, por ejemplo cáncer de vejiga y cistitis.

La resección de tumores de vejiga transuretral y la inmunoterapia intravesical adyuvante con BCG es un tratamiento estándar para la NMIBC de grado alto. Sin embargo, muchos pacientes muestran una recurrencia de la enfermedad y el impacto en el progreso de ésta sólo se ve limitado (Sylvester FJ, Van der Meijden AP, Lamm DL, intravesical bacillus Calmetie-Guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a metaanalysis of the published results of randomized clinical trials, J Urol 2002; 168:196470) o está ausente (Malmström PU, Sylvester RJ, Crawford ED, Friedrich M, Krege S, Rintala E, Solsona E, Di Stasi SM, Witjes JA, An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomized studies comparing intravesical Mitomycin C versus Bacillus Caimettte-Guerin for non-muscle-invasive bladder cancer, Eur Urol 2009; 56 (2):247256). Además, el tratamiento con BCG puede conllevar serios efectos colaterales locales y sistémicos (Witjes JA, Palou J, Soloway M, Lamm O, Brausi M, Spermon JR, Persad R, Buckley R, Akaza H, Colombel M, Böhle A, Clinical Practice recommendations for the prevention and management of intravesical therapy-associated adverse events, Eur. Urol Suppl 2008; 7: 667-74). Por tanto, se necesitan urgentemente nuevas opciones de tratamiento terapéuticas para mejorar las tasas de éxito de tratamiento generales, posiblemente con un perfil de toxicidad inferior, para cánceres de vejiga invasivos no musculares.

5 Sirprendentemente, puede mostrarse que las imidazoquinolin(aminas) administradas de manera intravesical en cerdos se bien tolerada, no provoca toxicidad en la pared de la vejiga y las formulaciones con poloxámero y HP β CD permanecen más tiempo en la vejiga con menos absorción sistémica. El perfil de seguridad de las imidazoquinolin(aminas) intravesicales se compara favorablemente con aquel de las terapias actuales, tales como con BCG.

10 En consecuencia, la presente invención comprende además el uso en un método de tratamiento de enfermedades de la vejiga, por ejemplo de cáncer de vejiga tale como cánceres de vejiga invasivos no musculares y cistitis. En este contexto, el uso tal en un método de tratamiento como se ha definido preferiblemente comprende la administración de la composición farmacéutica usando cualquier modo de administración como se ha definido, preferentemente incluyendo vías de administración tópica, pero también intravesical, intradérmica, transdérmica, subcutánea o inyecciones intramusculares o inyecciones intralesionales, intracranial, intrapulmonar, intracardial y sublingual.

15 La presente invención comprende métodos de tratamiento (intravesical) de enfermedades de la vejiga tales como, por ejemplo, cáncer de vejiga, por ejemplo cáncer de vejiga invasivo no muscular y cistitis, etc., usando la composición farmacéutica de la invención, preferiblemente como se ha definido anteriormente. En este contexto, tales métodos de tratamiento (intravesical) de enfermedades de la vejiga típicamente comprenden la administración intravesical de la composición farmacéutica inventiva. Además, la composición farmacéutica de la invención puede administrarse usando métodos no invasivos, tal como una aguja de inyección que tiene una cánula de diámetro adecuado, un tubo de inyección, métodos endoscópicos, etc.

20 Se entiende que esta invención no se limita a la metodología, protocolos y reactivos particulares aquí descritos, ya que estos pueden variar. También se entiende que la terminología aquí empleada tiene el propósito de describir sólo realizaciones particulares, y no se pretende limitar el alcance de la presente invención, que se limita sólo por las reivindicaciones anexas. A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos aquí usados tienen los mismos significados que los comúnmente entendidos por el experto en la técnica.

30 Breve Descripción De Las Figuras

Las siguientes Figuras ilustran la invención de forma adicional. No pretenden limitar el objeto de la invención.

- 35 Figura 1: muestra la viscosidad de sistemas que contienen porcentajes diferentes de Poloxámero 407 (20% y 25%) en función de la temperatura.
- Figura 2: muestra la viscosidad de sistemas que contienen porcentajes diferentes de HP- β -CD (0% a 20 %) en función de la temperatura.
- 40 Figura 3: muestra la viscosidad de sistemas que contienen proporciones diferentes de Poloxámero 407 y Poloxámero 188 (0% ta 30%) en función de la temperatura.
- Figura 4: (no según la invención) muestra la viscosidad de sistemas preparados con Poloxámero 407 al 20% o mezcla de poloxámero al 25% en una solución de ácido acético (AA), en presencia o ausencia de imiquimod (TMX, 0,4%) en función de la temperatura.
- 45 Figura 5: (no según la invención) muestra la viscosidad de sistemas preparados con Poloxámero 407 al 20% en agua o en solución de ácido acético (AA) o en presencia de imiquimod (TMX) en solución de ácido acético en función de la temperatura.
- Figura 6: (no según la invención) muestra la viscosidad de sistemas preparados con mezcla de poloxámero al 25% (Poloxámero 407 y Poloxámero 188) en agua o en solución de ácido acético, en presencia de imiquimod (TMX) en solución de ácido acético, en función de la temperatura.
- 50 Figura 7: muestra la viscosidad de sistemas preparados con Poloxámero 407 al 20% (PG) o mezcla de poloxámero al 25% (Poloxámero 407 y Poloxámero 188, PPG) en solución de ácido láctico (LA), en presencia y ausencia de imiquimod (TMX, 0,9%) en función de la temperatura.
- 55 Figura 8: muestra la viscosidad de sistemas preparados con Poloxámero 407 al 20% en agua o en solución de ácido láctico, o en presencia de imiquimod (TMX, 0,9) en solución de ácido láctico, en función de la temperatura.
- Figura 9: muestra la viscosidad de sistemas preparados con la mezcla de poloxámero al 25% (Poloxámero 407 y Poloxámero 188) en agua o en solución de ácido láctico acuoso o en presencia de imiquimod (TMX, 0,9) en solución de ácido láctico, en función de la temperatura.
- 60 Figura 10: muestra el perfil de erosión (disolución) de PG-LA1 (Poloxámero 407 en solución de ácido láctico) sin imiquimod (parte superior) y con imiquimod (TMX PG-LA1) (parte inferior) con el tiempo.
- 65 Figura 11: muestra los perfiles de difusión de imiquimod (TMX) (g) que pasan la membrana celulosa como resultado de las formulaciones en gel preparadas con ácido láctico 0,1M y

- Poloxámero 407 (PG) o mezcla de Poloxámero 407/Poloxámero 188 (PPG): en la misma figura, la difusión de imiquimod (TMX) en solución de ácido láctico 0,1 M sin formulación en gel se muestra con fines comparativos.
- 5 Figura 12: muestra la cantidad de imiquimod (TMX-101) recuperada en BE (epitelio de la vejiga) después de 4 horas de contacto con la formulación (ver Ejemplo 5), particularmente para imiquimod al 0,9% - HP- β -CD al 15% disuelta en solución de ácido láctico 0,1M, o en gel de Poloxámero 407 al 19% que contiene HP- β -CD al 15% (ácido láctico 0,1 M) o en dispersión de liposoma (lecitina de frijol de soja al 1% en solución de ácido láctico 0,1M). Se demuestra que las formulaciones de la invención tienen un efecto considerablemente mejor en la liberación sostenida que la formulación liposomal, que se muestra con fines comparativos.
- 10 Figura 13: muestra la solubilidad de imiquimod (TMX-101) en presencia de concentraciones de ácido láctico diferentes. La solubilidad aumenta en función de la concentración de ácido láctico.
- 15 Figura 14: En la parte superior, se muestran vejigas de cerdos que se extirparon, lavaron y transfirieron en una disolución NaCl a 37°C. Las formulaciones según la invención se aplicaron a la vejiga y ésta se seccionó después de 10 minutos. Se observó el estado de gel de la formulación aplicada. En la parte inferior, se muestra la vejiga después de la adición de una formulación de la invención que comprende imiquimod en Poloxámero 407 al 20% en solución de ácido láctico (0,1M)), que se tiñó previamente con azul de coomassie, todavía se observa el gel. No se observa la adhesión del gel.
- 20 Figura 15: muestra la cantidad de imiquimod (TMX) recuperada en el epitelio de la vejiga (BE) después de 4 horas de contacto con formulaciones de imiquimod diferentes (los datos se normalizan para el área de absorción y son la media de 3 experimentos).
- 25 Figura 16: muestra una tinción inmunohistoquímica para TLR-7 de (sub)mucosa de cáncer de vejiga humana de acuerdo con el ejemplo 10.3.1 (amplificación original 40x).
- Figura 17: muestra una tinción inmunohistológica para TLR-7 de (sub)mucosa de vejiga de cerdo de acuerdo con el ejemplo 10.3.1 (amplificación original 40x).
- Figura 18: muestra los parámetros farmacocinéticos en plasma de imiquimod (R-837) administrado a grupos de cerdos tratados con formulaciones diferentes de imiquimod. Los animales reciben una solución de imiquimod al 0,5% disuelta en ácido láctico 0,1M (grupo 1); una solución de imiquimod al 0,5% disuelta en ácido láctico 0,1M, poloxámero 407 al 16% como agente emulsificante y HP β CD (hidroxipropil- β -ciclodextrina) al 15% como agente estabilizante (grupo 2); una solución de imiquimod al 0,5% disuelta en ácido láctico 0,1 M, poloxámero 407 al 16% y HP β CD al 5% (grupo 3).
- 30 Figura 19: muestra la apariencia de la (sub)mucosa normal de una vejiga de cerdo (amplificación original 20x)
- Figura 20: muestra una reacción inflamatoria moderada básicamente de la submucosa linfocítica un día después de la instilación del fármaco de estudio (grupo 3) del ejemplo 10.3.2 (amplificación original 20x).
- 40 Figura 21: muestra vasculitis leucocitoclástica con necrosis de la pared del vaso fibrinoide en la submucosa de la vejiga del cerdo (grupo 1) del ejemplo 10.3.2 (amplificación original 20x).
- Figura 22: muestra la inducción de citocina y quimiocina por la administración intravesical de imiquimod en ácido láctico al 0,1% de acuerdo con el ejemplo 11.3.1. Los ratones (n=8) vía intravesical reciben varias dosis de imiquimod en formulación de ácido láctico. Dos horas después de la administración, se recolectaron suero y lavado vesical. Se midieron los niveles de TNF α (A) y KC (B) en suero, y TNF α (C) y KC (D) en el lavado vesical. Los datos mostrados son representativos de dos experimentos independientes (media \pm SEM.). * significa p<0,05 comparado con los ratones tratados con vehículo (Veh) por pruebas ANOVA de una vía con prueba post hoc de Dunnett.
- 45 Figura 23: muestra la farmacocinética de imiquimod (R-837) en ratones después de la administración intravesical según el ejemplo 11.3.2. A los ratones (A-D) (n=8) se administraron 5.000 nmol de imiquimod en formulación de ácido láctico o poloxámero. Se midieron los niveles de TNF α de suero (A), TNF α en lavado vesical (B), KC de suero (C), y KC en lavado vesical (D). * significa p<0,01 evaluado por la prueba t de Student dispar. (E) Los ratones (n=6 hasta 8) se administraron con 1.500 nmol de imiquimod en formulación de ácido láctico o poloxámero. Se recolectaron los sueros 2, 4, 6, 24 horas después de la administración. (F) Los ratones (n=6) se administraron con varias dosis de imiquimod en 100 μ l en formulaciones de ácido láctico o poloxámero. Se recolectaron los sueros a 2 hasta 4 horas después de la administración. Los niveles de imiquimod se determinaron por Chimán SRL. Los datos mostrados son valores agrupados de dos experimentos independientes (media + SEM.). * significa p<0,05 por pruebas ANOVA de una vía con prueba post hoc de Dunnett comparadas con ratones tratados en un punto de tiempo de 0 horas o ratones tratados con vehículo solo (Veh). ** significa significancia estadística (p<0,01) evaluada por pruebas ANOVA de una vía con prueba post hoc de Bonferroni.
- 50 Figura 24: muestra que la incorporación de HP β CD restablece parcialmente los niveles sistémicos de TNF α y KC según el ejemplo 11.3.3. Los ratones (n=8) se administraron con 1.500 nmol
- 55
- 60
- 65

- de imiquimod en formulación de ácido láctico, poloxámero o poloxámero-HP β CD. Se muestran los niveles de TNF α (A) y KC (B). Los datos presentados son valores agrupados de dos experimentos independientes (media + SEM). * significa $p < 0,05$ por pruebas ANOVA de una vía con prueba post hoc de Dunnett. (C) Se inyectaron ratones C57BL/6 con 5.000 nmol de imiquimod en formulaciones de ácido láctico, poloxámero o poloxámero-HP β CD. Los niveles de KC en el lavado se evaluaron por ensayo de perlas Luminex. Los datos presentados son valores agrupados de tres experimentos independientes (media + SEM.).
- 5
Figura 25: muestran una histología representativa de la vejiga murina tratada con imiquimod al 0,1% (R-837) en una formulación de poloxámero-HP β CD de acuerdo con el ejemplo 11.3.4. A: Veh un tratamiento (C57BL/6 de tipo natural) B: Veh tratamiento tres veces (C57BL/6 tipo natural) C: imiquimod un tratamiento (C57BL/6 tipo natural) D: imiquimod tratamiento tres veces (C57BL/6 de tipo natural) E: solución salina de tratamiento tres veces (C57BL/6 de tipo natural) F: imiquimod tratamiento tres veces (TLR7 ko) C57B176 (A-E) o ratones deficientes de TLR7 (ko) (F) se trataron de forma intravesical con imiquimod al 0,1% en formulación de poloxámero-HP β CD el día 0 (un tratamiento), 50 μ l en los días 0, 4, y 8 (tratamiento tres veces). Se recolectaron las vejigas el día 1 para un tratamiento (A y C) o el día 9 para tratamiento tres veces (B, D, E y F) y tiñeron con HyE. Los ratones tratados con vehículo solo (Veh, n=4) y ratones nativos sirven como control (B y E). Barra de escala: 100 μ m. La amplificación original fue 200x.
- 10
Figura 26: muestra el peso de la vejiga reducido de ratones que portan MB49 tratados con imiquimod al 0,1% en formulación de poloxámero-HP β CD según el ejemplo 11.3.5. Los ratones (n=11) que portan tumor de vejiga MB49 reciben vía intravesical 50 μ l de imiquimod al 0,1% en formulación de poloxámero-HP β CD los días 3, 6 y 9. Se sacrificaron los ratones en el día 11 y se pesó la vejiga. Los ratones nativos sin implante de tumor (nativos), ratones implantados con MB49 sin tratamiento (Ninguno) o ratones tratados con vehículo (Veh) sirven como control. Los datos mostrados son valores agrupados de tres experimentos independientes (media \pm SEM.). La importancia estadística se evaluó por pruebas ANOVA de una vía con prueba Kruskal-Wallis.
- 15
20
25

30 Ejemplos

Los siguientes Ejemplos pretenden ilustrar la invención adicionalmente. No pretenden limitar la materia objeto de la misma.

35 1. Ejemplo: Solubilidad de imiquimod

1.1. Pruebas preliminares

40 1.1.1. Solubilidad de imiquimod en ácido clorhídrico

Se pesó y agregó 48 mg de imiquimod a soluciones de ácido clorhídrico en diferentes concentraciones: en particular 48,2 mg de imiquimod se trataron con 8 ml de ácido clorhídrico 0,1N, 48,6 mg de imiquimod con 9 ml de ácido clorhídrico 0,2N y 48,4 mg de imiquimod con 8 ml de ácido clorhídrico 2N. Después de colocar en vórtice durante 5 minutos, se inspeccionaron visualmente las muestras.

45 El fármaco es ligeramente soluble en ácido clorhídrico 0,1N, 0,2N y 2N. El sistema preparado con HCl 2N es una solución transparente a 74°C. La concentración teórica del fármaco disuelto en ella fue 0,042M, correspondiente al 1,0%.

50 1.1.2. Solubilidad de imiquimod en ácido acético glacial

Una cantidad pesada de fármaco (48.2 mg) se disolvió bajo agitación en 2 ml de ácido acético glacial. Después de completar la solubilización, una alícuota pesada de imiquimod (150 mg) se agregó a esta solución con objeto de evaluar visualmente la concentración máxima de fármaco disuelto. Este experimento preliminar demuestra que es posible solubilizar 10 g de imiquimod en 100 ml de ácido acético al 100% a temperatura ambiente (10% (p/v)).

60 1.1.3. Solubilidad de imiquimod en soluciones tampón

Se determinó la solubilidad de imiquimod a valores pH diferentes. Se usaron dos procedimientos diferentes. El fármaco se dispersó en la solución tampón (sin ácido acético como co-disolvente). Se dispersaron 72 mg de imiquimod con 10 ml de solución tampón de citrato, 155 mg de imiquimod en 10 ml de solución tampón de fosfato y 192 mg en 10 ml de solución tampón de acetato. Después de colocar en vórtice durante 5 minutos, cada muestra se inspeccionó visualmente.

65 Se disolvió completamente imiquimod en ácido acético glacial y 1 ml de esta solución (imiquimod al 2,41%) se diluyó con 9 ml de agua, disolución NaCl al 0,9% p/p, solución tampón de fosfato pH 7,0 (0,1M), solución

tampón de citrato pH 6,0 (0,1M) o solución tampón de acetato pH 5,0 (0,1M). Se llevó a cabo una inspección visual de los sistemas.

- 5 Los resultados de estas pruebas preliminares indican que imiquimod es ligeramente soluble en soluciones tampón. Cuando el fármaco se disolvió en ácido acético glacial y luego se diluyó con las soluciones tampón, se obtuvieron soluciones claras transparentes: el pH de estos sistemas era siempre inferior a 3,6.

1.2. Análisis de imiquimod

10 1.2.1. Curva de calibración de imiquimod en ácido acético por espectrofotómetro

15 Una cantidad pesada de fármaco (0,0124 g) se disolvió en 100 ml de disolvente (ácido acético/agua 1:9). La concentración de la solución era 0,0005M. Se diluyeron adecuadamente cantidades diferentes de esta solución con el mismo disolvente para preparar cinco soluciones estándar con concentraciones en el intervalo de 2×10^{-6} - 5×10^{-5} M (en particular 2×10^{-6} M, 5×10^{-6} M, 10×10^{-6} M, 20×10^{-6} M, 50×10^{-6} M). Estas soluciones se analizaron espectrofotométricamente. La absorbancia se determinó a tres longitudes de onda (250, 305, 319 nm).

20 Las concentraciones de las soluciones estándar usadas para la calibración del método y los valores de absorbancia correspondientes en 319, 305 y 250 nm se muestran en la Tabla 1 siguiente.

25 Tabla 1: Concentraciones y valores de absorbancia de soluciones de imiquimod estándar.

| Concentración (10^{-6} mol/l) | Abs | | |
|----------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | $\lambda = 319$ nm | $\lambda = 305$ nm | $\lambda = 250$ nm |
| 2.0 | 0.0308 | 0.0254 | 0.0652 |
| 5.0 | 0.0669 | 0.0625 | 0.2853 |
| 10.0 | 0.13,29 | 0.1146 | 0.4213 |
| 20.0 | 0.2548 | 0.2082 | 0.6687 |
| 50.0 | 0.6164 | 0.4858 | 1.3974 |

1.2.2. Curva de calibración de imiquimod en ácido acético por HPLC

30 Una cantidad pesada de imiquimod (0,0316 g) se disolvió en 250 ml de disolvente (acetonitrilo (ACN)/agua, pH 3,5). La concentración de la solución era 0,0005M. Se diluyeron adecuadamente cantidades diferentes de esta solución con el mismo disolvente para preparar soluciones estándar con concentraciones en el intervalo de 2×10^{-6} - 3×10^{-5} M (en particular 2×10^{-6} M, 3×10^{-6} M, 10×10^{-6} M, 20×10^{-6} M, 30×10^{-6} M). Estas soluciones se analizaron por HPLC para imiquimod.

35

Las muestras se analizaron en las siguientes condiciones:

- Columna: Symmetry Shield RP18 (150 x 4,6 mm, 3,5 μ m)
 - Pre-columna: Symmetry C18 (3,9 x 20 mm, 5 μ m)
 - Fase móvil: Solución A: Acetonitrilo
- 40 Solución B: solución que contiene acetato de amonio 50 mM (3,85 g en 11 de agua)
- Flujo (ml/min): 1.0
 - Gradiente: ver Tabla 2
 - Temperatura del horno ($^{\circ}$ C): 40
 - Longitud de onda (nm): 250
- 45
- Volumen de inyección (μ l): 20

Tabla 2: Gradiente para calibración por HPLC

| Tiempo (minutos) | Solución A (%) | Solución B (%) | Elución |
|------------------|----------------|----------------|------------------|
| 0 | 20 | 80 | Equilibrio |
| 0-16 | 20-30 | 80-70 | Gradiente lineal |
| 16-18 | 30 | 70 | Isocrática |
| 18-26 | 30-50 | 70-50 | Gradiente lineal |
| 26-31 | 50-80 | 50-20 | Gradiente lineal |
| 31-40 | 80 | 20 | Isocrática |
| 40-42 | 80-20 | 20-80 | Gradiente lineal |
| 42-50 | 20 | 80 | Re-equilibrio |

5 Bajo estas condiciones de análisis, el tiempo de retención de imiquimod fue 18 minutos.

Las concentraciones de las soluciones estándar usadas por el método de calibración y las áreas pico correspondientes se muestran en la Tabla 3 siguiente.

10 Tabla 3: Concentraciones y áreas pico de soluciones estándares de imiquimod.

| Concentración (10^{-6} mol/l) | Área (U.A.) |
|----------------------------------|-------------|
| 2.0 | 55868.98 |
| 3.0 | 74818.33 |
| 10.0 | 262028.00 |
| 20.0 | 526459.49 |
| 30.0 | 824246.64 |

1.3. Estudio de solubilidad

15 1.3.1. Solubilidad de imiquimod en ácido acético glacial y soluciones tampón

Como se indica, la solubilidad de imiquimod en ácido acético glacial a temperatura ambiente era 100 mg/ml (10% p/v).

20 La solubilidad se determinó experimentalmente pesando 1.200 mg de fármaco, agregando 10 ml de ácido acético glacial y agitando suavemente la dispersión durante 24 horas. Esta muestra, después de filtración (filtro de membrana Millipore 0,22 μ m) se analizó por HPLC para el contenido de imiquimod y se midió su pH.

25 Se disolvió inicialmente imiquimod (738 mg) en ácido acético glacial (10 ml). Un volumen de esta solución se diluyó apropiadamente con solución tampón de fosfato pH 7,0 (0,1M), solución tampón de citrato pH 6,0 (0,1M) o solución tampón de acetato pH 5,0 (0,1M) para preparar sistemas con un 2,0% de fármaco. Las muestras, después de filtración por filtro de membrana Millipore 0,22 μ m, se analizaron espectrofotométricamente y cromatográficamente por el contenido de imiquimod. Se determinó el pH. Los valores de solubilidad del fármaco en ácido acético glacial o en ácido acético diluido con soluciones tampón de fosfato, citrato o acetato (0,1M) determinados por HPLC y/o espectrofotometría y los valores pH
30 correspondientes se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Composiciones, solución pH y solubilidad imiquimod de sistemas

| Porcentaje de | | | | Imiquimod (% p/v) | | |
|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|------|------|
| Ac. Acético glacial | Tampón fosfato pH 7,0 | Tampón citrato pH 6,0 | Tampón acetato pH 5,0 | UV | HPLC | pH |
| 100 | | | | | 7,50 | |
| 27 | 73 | | | 1,55 | 1,69 | 2,92 |
| 27 | | 73 | | 0,72 | 0,86 | 3,20 |
| 27 | | | 73 | 1,92 | 1,89 | 2,92 |

1.3.2. Solubilidad de imiquimod en ácidos de cadena corta

5 Algunos ácidos orgánicos e inorgánicos se consideraron como solubilizadores potenciales del fármaco. Se disolvieron 100 mg de imiquimod en 10 ml de ácido fosfórico 0,1M, ácido succínico 0,1M, ácido cítrico 0,1M, ácido acético 0,01M, 0,05M, 0,1M y ácido láctico 0,01M, 0,05M, 0,088M y 0,1M. Estos sistemas, después de filtración, se analizaron espectrofotométricamente para imiquimod y se midió su pH.

10 1.3.3. Solubilidad de imiquimod en presencia de ciclodextrina

Se disolvieron cantidades exactamente pesadas de imiquimod (200 mg) e hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) (4000 mg) en 10 ml de:

- 15 • agua
- agua en pH 5,0 (corregido con HCl)
- agua en pH 3,0 (corregido con HCl)
- solución de ácido láctico (0,1M)

20 Después de agitar durante 24 horas y filtración (filtro de membrana Millipore 0,22 μ m) se determinó espectrofotométricamente el imiquimod solubilizado. También se midió el pH de la solución.

1.3.4. Solubilidad de imiquimod en presencia de tensioactivos

25 Se pesó y mezcló imiquimod (200 mg) con cantidades diferentes de tensioactivos (Tween 20, Tween 80, Cremophor EL o Pluronic F-68) con objeto de preparar formulaciones que contienen 0,5, 2,5 y 5% de agente surfactante. Cada mezcla se agregó a 10 ml de ácido láctico (0,1M), agitó suavemente durante 24 horas, filtró y analizó por espectrofotometría y midió el pH.

30 El imiquimod presente en solución en composiciones preparadas con ácidos y tensioactivos diferentes se determina espectrofotométricamente y se muestra en la Tabla 5 junto con el pH.

35

40

45

Tabla 5: Composición, pH y cantidad de imiquimod en las formulaciones

| Ácido (M) | | | | | excipiente (%) | | | | | imiquimod (%p/v) | pH |
|--------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------|------|
| ácido fosfórico | ácido succínico | ácido cítrico | ácido acético | ácido láctico | Tween 20 | Tween 80 | Cremophor EL | Pluronic F68 | HP- β- CD | | |
| 0.100 | | | | | | | | | | 0.159 | 1.80 |
| | 0.100 | | | | | | | | | 0.079 | 2.94 |
| | | 0.100 | | | | | | | | 0.010 | 2.10 |
| | | | 0.010 | | | | | | | 0.070 | 4.37 |
| | | | 0.050 | | | | | | | 0.220 | 4.08 |
| | | | 0.100 | | | | | | | 0.430 | 3.97 |
| | | | | 0.010 | | | | | | 0.130 | 4.20 |
| | | | | 0.050 | | | | | | 0.530 | 3.90 |
| | | | | 0.088 | | | | | | 0.840 | 3.71 |
| | | | | 0.100 | | | | | | 0.980 | 3.61 |
| | | | | 0.100 | 0.5 | | | | | 0.945 | 3.88 |
| | | | | 0.100 | 2.5 | | | | | 1.004 | 3.86 |
| | | | | 0.100 | 5.0 | | | | | 1.001 | 3.89 |
| | | | | 0.100 | | 0.5 | | | | 0.997 | 3.83 |
| | | | | 0.100 | | 2.5 | | | | 1.009 | 3.82 |
| | | | | 0.100 | | 5.0 | | | | 0.872 | 3.82 |
| | | | | 0.100 | | | 0.5 | | | 0.881 | 3.90 |
| | | | | 0.100 | | | 2.5 | | | 0.989 | 3.87 |
| | | | | 0.100 | | | 5.0 | | | 0.969 | 3.88 |
| | | | | 0.100 | | | | 0.5 | | 1.048 | 3.85 |
| | | | | 0.100 | | | | 2.5 | | 1.088 | 3.87 |
| | | | | 0.100 | | | | 5.0 | | 0.972 | 3.89 |
| | | | | | | | | | 40.0 | 0.004 | 7.09 |
| | | | | | | | | | 40.0 | 0.143 | 5.17 |
| | | | | | | | | | 40.0 | 0.655 | 3.05 |
| | | | | 0.100 | | | | | 40.0 | 1.141 | 4.46 |

1.3.5. Solubilidad de imiquimod en glicerol o propilenglicol

5

Se pesó y agregó imiquimod (100 mg) a glicerol o propilenglicol a un volumen de 10 ml. Después de agitar y enfriar (a 120°C durante 24 horas), se agregaron 10 ml de agua: las dispersiones se filtraron y se determinó la cantidad de imiquimod en las fases líquidas. El sistema preparado con glicerol como disolvente tiene un pH 5,42 y una concentración imiquimod de 0,02%. Cuando se usó propilenglicol, el pH fue 3,03 y la concentración de imiquimod en solución fue 0,02%.

10

1.4. Discusión de los resultados

Imiquimod es apreciablemente soluble en ácido láctico y acético puro (>7,5% p/v). Estos dos ácidos pueden usarse como co-disolventes para preparar formulaciones que contienen cantidad relativamente alta de la sustancia activa.

15

Entre los ácidos considerados como solubilizadores para imiquimod, los ácidos acético y láctico confirman su capacidad para interactuar con el fármaco y solubilizarlo. La cantidad de fármaco en solución se relaciona directamente con la concentración ácida (esto también se confirma por el Ejemplo 6.1.). Como solubilizador el ácido láctico es más eficiente que el ácido acético.

5

Los tensioactivos asociados a ácido láctico no mejoran la solubilidad de imiquimod. Los resultados obtenidos demuestran que, para estos sistemas, la solubilidad del fármaco depende principalmente del ácido láctico e indica que el fármaco no se atrapa en las micelas que forman los tensioactivos.

10 Sobre el agente de inclusión, cuando se usa una concentración alta única de HP-β-CD, puede afirmarse que este agente de complejo no modifica sustancialmente la solubilidad del fármaco: las concentraciones incrementadas observadas en los diferentes experimentos son debido a la disminución del pH.

15 Cuando se usó HP-β-CD en asociación con ácido láctico puede observarse un incremento pequeño, pero importante (alrededor del 18%) en la solubilidad.

2. Ejemplo: Formulaciones de gel termo-reversibles de imiquimod

2.1. Formulaciones de sistemas semisólidos

20

2.1.1. Formulaciones con Poloxámero 407

Se usó Poloxámero 407 para preparar sistemas semisólidos que contienen como fase líquida:

- agua
- solución de ácido acético al 10%
- solución de ácido acético 0,1M
- solución de ácido láctico 0,1M

25

Se constituyeron todos los sistemas de polímero al 25% (cantidad/concentración general de agente termosensible)

30

2.1.2. Formulaciones con Poloxámero 407 e hidroxipropilmetilcelulosa

Se evaluó el efecto de un derivado de celulosa, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC - Methocel KL5M, Colorcon, MW 15000), en las propiedades termogelificantes de Poloxámero: HPMC puro muestra transición en fase de gel entre 40 y 50°C y su Temperatura de Solución Crítica Inferior (LCST, por sus siglas en inglés) puede disminuirse por modificación química (al reducir el grado de sustitución, la temperatura de transición del gel puede disminuirse a alrededor de 40°C). Se usaron diferentes cantidades de este polímero: la composición de formulaciones que contienen HPMC es la siguiente:

35

Tabla 6: Composiciones que contienen HPMC

| Composición (%) | | |
|-----------------|------|------|
| Poloxámero 407 | HPMC | Agua |
| 25 | 0 | 75.0 |
| 25 | 0.5 | 74.5 |
| 25 | 1.0 | 74 |
| 25 | 2.0 | 73 |

40

Como un resultado, la adición de derivados de celulosa no modifica significativamente el comportamiento reológico de las formulaciones.

2.1.3. Formulaciones con Poloxámero 407 y ciclodextrina

45

La literatura reporta el uso de ciclodextrina como componente de sistemas semisólidos termosensibles (CDG. Palmieri y col., 15th Int. Symp., en Microencapsulation, Parma, Italia 18-21, septiembre de 2005). Se usó hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD) en porcentajes altos, intervalo de 0 a 20% en sistemas constituidos de Poloxámero 407 y agua y se determinó el LCST de estas formulaciones.

50

2.1.4. Formulaciones con poloxámero y Poloxámero 188

También se evaluaron mezclas de Poloxámeros como sistemas gelificantes. El copolímero de Poloxámero 188, PEO-PPO-PEO con menor PM que Poloxámero 407, puede usarse para modular el LCST del gel. El Poloxámero 407 fue en parte sustituido por Poloxámero 188 para obtener hidrogeles con una cantidad de polímeros correspondiente al 25%.

5

Tabla 7: Mezclas diferentes de poloxámeros

| Composición (%) | | | Relación de polímero |
|-----------------|----------------|------|----------------------|
| Poloxámero 407 | Poloxámero 188 | agua | |
| 23.75 | 1.25 | 75 | 9.5/0.5 |
| 22.50 | 2.5 | 75 | 9/1 |
| 21.25 | 3.75 | 75 | 8.5/1.5 |
| 21 | 4 | 75 | 8/2 |

10

2.1.5. Formulaciones con poloxámeros y ácido láctico o acético (no según la invención)

La fase líquida (agua) se sustituyó por ácido láctico o acético: se evaluaron sus efectos y los del fármaco en el comportamiento reológico de los sistemas termosensibles. Entre las formulaciones de gel diferentes preparadas con ácidos orgánicos (ácido láctico o acético), se consideraron aquellas con temperaturas de transición de gel de alrededor de 20°C. De esta manera, los sistemas gelificados seleccionados contienen:

15

- Poloxámero 407 al 20% p/p
- Poloxámero 407/Poloxámero 188 al 25% p/p (relación en peso 9:1)

20

2.1.6. Formulaciones con imiquimod

La composición de los geles investigados fue la siguiente:

| | | |
|----|-------------------------------------|---------|
| 25 | <u>Imiquimod PPG-LA 01</u> | |
| | Imiquimod | 0,90 g |
| | Poloxámero 407 | 22,50 g |
| | Poloxámero 188 | 2,50 g |
| | Solución de ácido láctico (0,135M) | 74,02 g |
| 30 | <u>Imiquimod PG-LA 01</u> | |
| | Imiquimod | 0,90 g |
| | Poloxámero 407 | 20,00 g |
| | Solución de ácido láctico (0.125 M) | 79,02 g |
| 35 | <u>Imiquimod PPG-AA 01</u> | |
| | Imiquimod | 0,40 g |
| | Poloxámero 407 | 22,50 g |
| | Poloxámero 188 | 2,50 g |
| | Solución de ácido acético (0.135 M) | 74,02 g |
| 40 | <u>Imiquimod PG- AA 01</u> | |
| | Imiquimod | 0,40 g |
| | Poloxámero 407 | 20,00 g |
| | Solución de ácido acético (0.125 M) | 79,02 g |

2.2. Influencia de los componentes en la temperatura de solución crítica inferior (LCST)

Los valores de LCST no pueden determinarse por DSC: mientras los sistemas constituidos de Poloxámero 407 puro muestran un pico endotérmico que puede ligarse a la transición de gel, usando mezclas de poloxámeros, HP-β-CD/Poloxámero 407 o HPMC/Poloxámero 407 como agentes gelificantes, se perdió la señal de transición DSC. Así, la temperatura de transición de gel se determinó al medir la viscosidad. La viscosidad de los sistemas se evaluó en el intervalo de temperatura 1-40°C, usando un Rheometer BROOKFIELD DV-II+, equipado con el Adaptador de Muestra Pequeño y el eje S-25.

2.2.1. *Viscosidad de sistemas que contienen diferentes cantidades de Poloxámero 407*

Disminuir el porcentaje de polímero, la LCST incrementada (ver Figura 1): en concentración inferior de Poloxámero, las micelas requieren un excedente de energía para establecer las interacciones que dan consistencia semisólida de la formulación. La LCST de geles que contienen Poloxámero 407 al 20 o 25% y agua como disolvente son 19,93 y 13,9°C, respectivamente. Estos resultados son consistentes con aquellos reportados en la literatura [A. Cabana. et al, Study of the Gelation Process of Polyethylene Oxide-Polypropylene Oxide-Polyethylene Oxide Copolymer (Poloxamer 407) Aqueous Solutions, J. COLLOID INTERFACE SCI. 190, 307-312 (1997)].

2.2.2. *Viscosidad de sistemas que contienen poloxámero y HPMC*

HPMC, en el intervalo de concentraciones consideradas ($\leq 2\%$), no se encuentra para modificar la temperatura de transición del gel de la formulación que contiene Poloxámero 407 puro.

2.2.3. *Viscosidad de sistemas que contienen poloxámero y ciclodextrina*

Los porcentajes incrementados de ciclodextrina (HP-β-CD) llevan a un incremento ligero pero importante de LCST: los resultados obtenidos indican una relación no lineal entre concentración y viscosidad CD. Ya que CD incrementa la solubilidad del fármaco (alrededor de 17% de incremento), puede considerarse el uso de este componente en la formulación de gel final (no se llevaron a cabo mediciones en sistemas que contienen el fármaco) (ver Figura 2).

2.2.4. *Viscosidad de sistemas que contienen una mezcla de Poloxámero 407 y 188*

Se observa un efecto relevante de Poloxámero 188 en LCST: incrementar la proporción de este componente eleva la temperatura de transición del gel (se observa relación lineal entre concentración P188 y viscosidad del sistema) (ver Figura 3).

2.2.5. *Viscosidad de sistemas que contienen ácido acético, ácido láctico e imiquimod*

Puede apreciarse que, sin importar el sistema gelificante, el ácido acético eleva el LCST del sistema: este componente ácido incrementa el LCST tanto de imiquimod PG-AA 01 como de imiquimod PPG-AA 01 hasta 22,85°C. El imiquimod no modifica significativamente la temperatura de transición del gel (22,95 y 23,00°C para imiquimod PG-AA 01 y imiquimod PPG-AA 01 respectivamente) (Figuras 4, 5, 6).

También el ácido láctico incrementa el LCST de las formulaciones de gel: como se observa previamente con ácido acético, la temperatura de transición del gel de sistemas constituidos de Poloxámero 407 es 23,8°C. Con la mezcla de Poloxámero 407/Poloxámero 188, en presencia de ácido láctico, este valor es aún superior (=25,9°C) (Figuras 7, 8, 9).

Diferente del ácido acético, imiquimod afecta significativamente el LCST de sistemas preparados con ácido láctico: para formulación de imiquimod PG-LA 01 (Poloxámero 407 puro), el fármaco lleva a un ligero incremento adicional de la temperatura de transición del gel (Figura 8); cuando se usó la mezcla de componentes gelificantes, la temperatura disminuye hasta 24,1°C (LCST de gel en ausencia de fármaco = 25,9°C) (Figura 9).

3. Ejemplo: ensayo de disolución/erosión y experimentos de liberación de formulaciones que contienen imiquimod

3.1. Composiciones y condiciones experimentales

3.1.1. *Composiciones*

Se realiza un ensayo de disolución/erosión exploratoria en las siguientes formulaciones:

Imiquimod PG-LA 01

| | |
|------------------------------------|---------|
| Imiquimod | 0,90 g |
| Poloxámero 407 | 20,00 g |
| Solución de ácido láctico (0,125M) | 79,02 g |

PG-LA01

| | |
|------------------------------------|---------|
| Poloxámero 407 | 20,00 g |
| Solución de ácido láctico (0,125M) | 79,02 g |

3.1.2. *Condiciones experimentales*

El ensayo se ilustra en "Development and in-vitro evaluation of sustained release Poloxamer 407 (P407) gel formulations of ceftiofur" por L. Zhang -J. Control. Release, 85 (2002) 73-81. Se lleva a cabo el ensayo en viales de 10 ml cerrados con un elastómero. Una cantidad pesada de alrededor de 3 g de formulación como sol (temperatura = 4°C) se transfirió al vial y el vial se almacenó a 37°C hasta gelificarse. Posteriormente se pesó el vial, se estratificaron 2 ml de solución tampón de acetato (pH 6,0; 0,1M) en el gel. A intervalos de tiempo determinados (después de 1, 2, 3, 4 horas) se retiró completamente la fase líquida y se pesó el vial. Se estratificó la solución tampón de acetato fresca en el gel restante. La diferencia en peso del vial después de cada intervalo de tiempo corresponde a la cantidad de gel solubilizado por la solución tampón. Se reportó el porcentaje de gel disuelto en función del tiempo. Para comparación, se consideró un gel estudiado por Zhang (J. Control. Release, 85 (2002) 73-81): este fue el sistema de gel Poloxámero 407 al 25% que contiene ceftiofur.

3.2. **Resultados y discusión**

Se describen los resultados obtenidos en la Figura 10 (los valores son la media de tres replicados). Puede verse que el perfil de erosión de los sistemas considerados son completamente similares ($p > 0,973$), indicando que el fármaco no afecta la erosión del polímero. La disolución/erosión de ambos de los sistemas era un proceso cinético de orden cero, casi hasta 4 horas (alrededor de 40% de erosión): se observó una cinética idéntica por Zhang, pero la velocidad del proceso fue superior (alrededor de min^{-1} al 0,26%) que aquella obtenida (alrededor de min^{-1} al 0,19%). Zhang observa que el pH del medio de disolución tiene una influencia insignificante en la disolución del gel y usa soluciones tampón de fosfato de pH diferentes como disolvente lejano del polímero. Los hallazgos actuales pueden asociarse al pH bajo de formulaciones o a las interacciones de ácido láctico con el poloxámero.

Además, durante el experimento de disolución/erosión con la formulación de imiquimod PG-LA 01, no se observó separación/precipitación del fármaco.

4. **Ejemplo: Experimentos de difusión/liberación de imiquimod**

4.1. **Composiciones y condiciones experimentales**

4.1.1. *Composiciones*

| | | |
|----|------------------------------------|---------|
| 35 | <u>Imiquimod PPG-LA 01</u> | |
| | Imiquimod | 0,90 g |
| | Poloxámero 407 | 22,50 g |
| | Poloxámero 188 | 2,50 g |
| 40 | Solución de ácido láctico (0,135M) | 74,02 g |
| | <u>Imiquimod PG-LA 01</u> | |
| | Imiquimod | 0,90 g |
| | Poloxámero 407 | 20,00 g |
| | Solución de ácido láctico (0,125M) | 79,02 g |
| 45 | <u>PG-LA01</u> | |
| | Poloxámero 407 | 20,00 g |
| | Solución de ácido láctico (0,125M) | 79,02 g |

4.1.2. *Condiciones experimentales*

Se realizan experimentos de difusión/liberación de imiquimod con células Franz con un área de difusión efectiva de $1,76 \text{ cm}^2$ y un volumen de compartimiento recibido de 14 ml: el compartimiento donador contiene alrededor de 2 g de formulación de gel, mientras que el receptor se rellenó con una disolución de ácido láctico 0,1M (pH = 3,5). Entre los dos compartimientos se interpuso una membrana de acetato de celulosa (PMCO = 23.000). Se llevaron a cabo los experimentos a 37°C usando un baño re-circulante y se agitó continuamente el fluido en la cámara receptora a 300 rpm.

A intervalos de tiempo prefijos, se retiró y sustituyó completamente la fase recibida por solución de ácido fresca. Se sometió la solución recibida a análisis UV por imiquimod.

4.2. **Resultados y discusión**

El flujo de imiquimod a través de la barrera artificial es alto ($1,95 \times 10^{-6} \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) y constante (casi durante la primera hora), sugiriendo que la transferencia del fármaco a través de la membrana no afecta la cinética de imiquimod por los geles de poloxámero.

Los perfiles de imiquimod de formulaciones de gel son muy diferentes de aquellos de la solución, pero muy similares entre ellos. El imiquimod se difunde a través de la matriz de gel con velocidad relativamente alta: después de 6 horas, alrededor de 44,4% para formulación de imiquimod PG-LA 01 y alrededor de 48,3% para Imiquimod PPG-LA01 estuvo en la fase recibida de la célula Franz. Los perfiles de difusión del fármaco para ambas de las formulaciones de gel son lineales, sugiriendo una cinética de orden pseudo-cero: los flujos de imiquimod a través de la matriz de gel son $2,00 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ para imiquimod PG-LA 01 y $2,19 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ para sistema de imiquimod PPG-LA01 (Figura 11).

Estos hallazgos llevan a la conclusión de que la velocidad de difusión del fármaco a través de ambos de los sistemas examinados no difiere significativamente y demuestra que la composición del material gelificante no tiene efecto relevante en la difusión imiquimod en el gel: las dimensiones moleculares pequeñas (peso molecular bajo) del activo favorece su movimiento a través de la estructura micelar del gel.

Ya que el experimento procede, el polímero gradualmente se disuelve en el líquido que pasa la membrana. El flujo del líquido, en contra corriente al fármaco, puede alterar la difusión de la molécula activa del donador para recibir el compartimiento. Sin embargo, este efecto es insignificante: el flujo de imiquimod a través de la membrana es diez veces mayor que su flujo a través de los sistemas de poloxámero.

5. Ejemplo: Prueba de penetración de imiquimod

5.1. Composiciones y condiciones experimentales

5.1.1. Composiciones

Las composiciones ensayadas fueron:

- Imiquimod al 0,9% - HP- β -CD al 15% en solución de ácido láctico 0,1M
- Imiquimod al 0,9% en gel de Poloxámero 407 al 19% que contiene HP- β -CD al 15% (ácido láctico 0,1M)
- Imiquimod al 0,9% en dispersión de liposoma (lecitina de frijol de soja al 1% en solución de ácido acético 0,1M)

5.1.2. Condiciones experimentales

Se usó vejiga de cerdos hembra de 6-9 meses de edad: inmediatamente después de la excisión, se cortó la uretra en seguida y se seccionó el epitelio de la vejiga (BE) para obtener piezas de alrededor de 3 cm^2 de área. Cada porción de epitelio se montó entre los compartimientos de una célula Franz con la superficie interna cara hacia arriba. Ya que se recibe la fase (compartimiento inferior), se usó solución tampón de fosfato 0,1 M (pH 7,4): se mantuvo bajo agitación (alrededor de 300 rpm) a 37°C durante el experimento. Una de las formulaciones reportadas representa la fase donadora (compartimiento superior): se introdujo la formulación (2 g) en el compartimiento donador después de que la temperatura del aparato alcanza la temperatura de 37°C . Al final del experimento (4 horas después del inicio), el BE removido de la célula de difusión se lavó completamente con agua destilada para remover el exceso de la formulación y limpió cuidadosamente con papel de seda. Luego se congeló y seccionó el BE usando un micrótopo criostático. Se introdujeron cinco secciones BE sucesivas (cada una de 100 μm de grosor) en un tubo, se agregaron 5 ml de ácido láctico (92%) y se mantuvieron bajo agitación durante la noche. Se filtró la fase líquida (0,22 μm) y procesó por ensayo por HPLC para imiquimod.

5.2. Resultados

La Figura 12 describe los resultados obtenidos que reportan la cantidad de imiquimod recuperada en BE después de 4 horas de contacto con la formulación (se normalizan datos para el área de absorción). Los datos son la media de 3 experimentos (solución y liposomas) o 6 experimentos (formulación de gel). La formulación de gel afecta la absorción de imiquimod en el epitelio de la vejiga: la cantidad de activo liberado del gel y recuperado en BE es menor que aquel liberado de la solución. Esto es interesante para notar que la cantidad de imiquimod formulada en liposomas y presente en el BE es mayor que aquella de la solución: este resultado sugiere un efecto de promoción de las vesículas de lípido en la absorción del fármaco.

6. Ejemplo: Solubilidad, densidad y viscosidad de diferentes composiciones que comprenden imiquimod

6.1. Solubilidad

6.1.1. Composiciones

Se determina la solubilidad de imiquimod en diferentes sistemas de disolvente:

- Soluciones de ácido láctico – 0,025, 0,05, 0,1 y 0,2M

- Solución de ácido láctico 0,1 M que contiene 5 o 15% de HP-β-CD
 - Solución de ácido láctico 0,1 M que contiene Poloxámero 407 al 5, 16 y 20%
 - Solución de ácido láctico 0,1M que contiene 5 o 15% de HP-β-CD y Poloxámero 407 al 16%
 - Soluciones de ácido glicólico 0,1M, ácido tartárico y ácido glutámico
- 5
- DMSO
 - N-metilpirrolidona
 - PEG 400

6.1.2. Condiciones experimentales

10

Se agregado una cantidad que excede la solubilidad del fármaco (2 g) de los diferentes sistemas de disolvente (50 ml) y se agita durante 24 horas (400 rpm) a 25°C. Se centrifugan las dispersiones a 10.000 rpm durante 10 minutos y se recolectan y almacenan las fases líquidas a temperatura ambiente hasta su análisis. Se determinó espectrofotométricamente la concentración de imiquimod en estas soluciones ($\lambda = 319$ nm) después de la dilución apropiada.

15

6.1.3. Resultados y discusión

20

En la Tabla 8, se muestran los resultados obtenidos. Los valores son la media de 3 determinaciones. Se determinará la solubilidad de imiquimod en solución de ácido maleico en pocos días.

Tabla 8: Estudio de solubilidad de imiquimod en diferentes sistemas de solvente

| Formulación | % de imiquimod p/p | pH |
|------------------------|--------------------|------|
| LA 0.025 M | 0.33 | 3.93 |
| LA 0.05 M | 0.58 | 3.81 |
| LA 0.1 M | 1.18 | 3.73 |
| LA 0.2 M | 2.20 | 3.52 |
| 5% CD LA 01 | 1.23 | 3.90 |
| 15%CD LA 01 | 1.37 | 4.03 |
| 5% PF127 LA 01 | 1.19 | 3.92 |
| 16% PF127 LA 01 | 1.10 | 3.99 |
| 20% PF127 LA 01 | 1.04 | 4.16 |
| 5%CD-16%PF127 LA 01 | 1.15 | 4.05 |
| 15%CD-16%PF127 LA 01 | 1.22 | 4.25 |
| Ácido glicólico 0,1M | 0.68 | 3.82 |
| Ácido tartárico 0,1M | 0.01 | 2.48 |
| Ácido glutámico 0,072M | 0.54 | 3.95 |
| DMSO | 0.09 | n.d. |
| N-metilpirrolidona | 0.16 | n.d. |
| PEG 400 | 0.03 | n.d. |

Los resultados obtenidos indican que:

25

- existe una relación lineal entre ácido láctico e imiquimod (Figura 13, parte superior): la solubilidad del fármaco incrementa al aumentar la concentración del ácido carboxílico
- la ciclodextrina incrementa la solubilidad de imiquimod: también en este caso, el incremento de fármaco disuelto se relaciona linealmente con la cantidad de ciclodextrina empleada (Figura 13, parte inferior).
- Poloxámero 407 tiene un efecto negativo en la solubilidad del fármaco: ya que el porcentaje de polímero incrementa, la concentración de imiquimod en solución disminuye.

30

- Cuando están presentes tanto el Poloxámero 407 como ciclodextrina en la formulación, se equilibran los efectos opuestos de estos componentes y no se modifica sustancialmente la solubilidad de imiquimod respecto a aquella de la solución de ácido láctico 0,1M.
- En presencia de ácidos carboxílicos tipo glicólico, tartárico y glutámico, la solubilidad del fármaco es menor que con ácido láctico (se usó ácido glutámico en una concentración correspondiente a su solubilidad, esto es 10,6 g/l). La solubilidad de imiquimod observada en presencia de ácido tartárico puede explicarse considerando las diferencias estructurales de este ácido (dicarboxílico) respecto a los otros compuestos ácidos (ácidos hidroxicarboxílicos): el valor de solubilidad inferior sugiere la participación de la función alcohólica en la formación del aducto de fármaco/ácido hidroxicarboxílico. Para ácido glutámico, el papel del grupo hidroxilo lo juega el grupo amino primario del aminoácido.
- Es muy baja la solubilidad de imiquimod en disolvente no acuoso hidrofílico.

6.2. Densidad

6.2.1. Composiciones

Se llevó a cabo la evaluación de densidad en 5 ml de las siguientes composiciones:

- solución de ácido láctico 0,1 M con Poloxámero 407 al 16%
- solución de ácido láctico 0,1M con 5 o 15% de HP-β-CD y Poloxámero 407 al 16%
- solución de ácido láctico 0,1M que contiene 5 o 15% de HP-β-CD, Poloxámero 407 al 16%, e imiquimod al 0,5%
- solución de ácido láctico 0,1M que contiene 5 de HP-β-CD e imiquimod al 0,5%

6.2.2. Condiciones experimentales

Se hicieron 5 mediciones y se calcularon los valores promedio y desviaciones estándares.

6.2.3. Resultados

Tabla 9: Determinación de la densidad

| Formulación | Densidad ± S.D. (g/ml) |
|--------------------------------------|------------------------|
| 16%PF127 LA 01 | 1.0155 ± 0.0032 |
| 5%CD-16%PF127 LA 01 | 1.0299 ± 0.0039 |
| 15%CD-16%PF127 LA 01 | 1.0639 ± 0.0040 |
| 5%CD-16%PF127 LA 01 - 0.5%imiquimod | 1.0359 ± 0.0033 |
| 15%CD-16%PF127 LA 01 - 0.5%imiquimod | 1.0670 ± 0.0023 |
| 5%CD LA 01 - 0.5%imiquimod | 1.0158 ± 0.0036 |

6.3. Viscosidad

6.3.1. Composiciones

Se determinó la viscosidad en las siguientes composiciones:

- gel que contiene 16% de Poloxámero 407
- gel que contiene 16% de Poloxámero 407 y HP-β-CD al 15%
- gel que contiene 16% de Poloxámero 407 y HP-β-CD al 5%
- solución de ácido láctico e imiquimod al 0,5% (0,1M) con HP-β-CD al 15%
- solución de ácido láctico e imiquimod al 0,5% (0,1M) con HP-β-CD al 5%
- formulación de gel imiquimod al 0,5% con 16% de Poloxámero 407 y HP-β-CD al 15%
- formulación de gel imiquimod al 0,5% con 16% de Poloxámero 407 y HP-β-CD al 5%

6.3.2. Resultados

En la Tabla 10 se muestran la viscosidad de los otros sistemas. Los valores son la media de 3 mediciones ± S. D.

Tabla 10: Viscosidad del gel (20 RPM) a 10, 25 y 37°C

| Formulación | Viscosidad a 20 RPM (cP) ± S.D. . | | |
|---|-----------------------------------|--------------------|--------------------|
| | 10 °C ¹ | 25 °C ¹ | 37 °C ² |
| 16%PF127 LA01 | 22.47±0.45 | 63.03±1.93 | 1103.00±82.31 |
| 5%CD-16%PF127 LA 01 | 31.90±0.35 | 65.80±1.08 | 571.77±94.73 |
| 15%CD-16%PF127 LA 01 | 64.27±1.33 | 76.43±0.47 | 573.33±50.14 |
| 5%CD-16%PF127 LA 01 - 0.5%imiquimod | 32.27±0.40 | 68.20±1.82 | 963.05±3.32 |
| 15%CD-16%PF127 LA 01 - 0.5%imiquimod | 70.33±0.51 | 93.47±2.64 | 795.13±110.56 |

'Eje SC18

'Eje SC29

5

Para las formulaciones estudiadas, se observa un comportamiento significativamente diferente a temperaturas diferentes: a 10 y 25°C, la adicción de ciclodextrina y/o imiquimod a la solución polimérica lleva al incremento de la viscosidad, mientras que a 37°C, disminuye la viscosidad por la ciclodextrina e incrementada por el fármaco.

10

7. Ejemplo: Solubilidad de imiquimod en soluciones de sal y en solución de Orina Artificial

7.1. Composiciones

15 Se evaluó la solubilidad de imiquimod contenida en formulaciones de gel en diversas soluciones de sal. Se realizó el estudio en formulaciones de imiquimod constituidas por:

| | | | |
|----|--------------------------|------|-----------|
| | Gel de imiquimod al 0,9% | | |
| | | mg | 160,162 |
| 20 | Poloxámero 407 | mg | 50,025 |
| | HPβCD | mg | 9,005 |
| | Imiquimod | mg | 10,017 |
| | Ácido láctico (90,3%) | mg | 1.000,000 |
| | Agua para inyección | q.b. | |
| | Gel de imiquimod al 0,5% | | |
| 25 | Poloxámero 407 | mg | 160,157 |
| | HPβCD | mg | 50,031 |
| | Imiquimod | mg | 5,002 |
| | Ácido láctico (90,3%) | mg | 10,024 |
| | Agua para inyección | q.b. | 1.000,000 |
| 30 | Gel de imiquimod al 0,1% | | |
| | Poloxámero 407 | mg | 160,098 |
| | HPβCD | mg | 50,013 |
| | Imiquimod | mg | 1,007 |
| | Ácido láctico (90,3%) | mg | 10,028 |
| 35 | Agua para inyección | q.b. | 1.000,00 |

Como disolventes para el fármaco se emplearon las siguientes soluciones:

- Agua
- Sulfato de Na 10 mM
- 40 • Fosfato K 14 mM
- Bicarbonato de Na 25 mM
- AUS

Se corrigió el pH hasta 6,50 ± 0,05 con HCl 1M.

45 La solución de Orina Artificial (AUS) tiene la siguiente composición:

Bicarbonato de Na 25 mM
Urea 170 mM
Ácido úrico 0,4 mM

Creatinina 7 mM
 Cloruro de Na 90 mM
 Sulfato de Na 10 mM
 hidrogenofosfato K₂ 7 mM
 di-hidrogenofosfato K 7 mM
 Cloruro de NH₄ 25 mM

Se corrigió el pH hasta $6,50 \pm 0,05$ con HCl 1M.

7.2. Condiciones experimentales

Se transfirieron volúmenes prefijados de formulación y disolvente a un matraz de 10 ml con objeto de obtener mezclas donde la relación en volumen disolvente/formulación fueron 0,5, 1, 5 y 10. Se mantuvieron estos sistemas bajo agitación durante diferentes periodos de tiempo (25, 50, 240 y 240 minutos para sistemas de relación en volumen disolvente/formulación 0,5, 1, 5 y 10 respectivamente). Los tiempos seleccionados corresponden a tiempos presumibles de formación de orina (velocidad de producción de orina = 1 ml/min) (para sistema de relación de volumen del disolvente/formulación 10 el periodo de tiempo aplicado de 240 minutos es menor que el esperado debido a que el tiempo calculado (500 minutos) excede el tiempo efectivo de contacto de la formulación con la vejiga). Después de esto, se midió el pH de cada sistema. Se centrifugaron los sistemas a 5.000 rpm durante 15 minutos y las fracciones líquidas recuperadas se sometieron a análisis espectrofotométrico ($A = 319 \text{ nm}$) para contenido de imiquimod.

7.3. Resultados y discusión

Se muestran los resultados (medio de 3 replicas) como unidades de pH y como porcentajes precipitados de imiquimod en las siguientes Tablas 11 y 12.

Tabla 11: Mediciones de pH

| Relación sol/formul | | H ₂ O | SO ₄ ²⁻ | H ₂ KO ₄ P/ HK ₂ O ₄ P | HCO ₃ ³⁻ | A.U.S. | gel al 0,9% |
|--------------------------|----------|------------------|-------------------------------|---|--------------------------------|--------|-------------|
| gel de imiquimod al 0,9% | solución | | | | | | |
| 0 | | | 6.53 | 6.50 | 6.52 | 6.51 | 3.40 |
| 1 | 0.5 | 3.34 | 3.30 | 3.38 | 3.48 | 3.56 | |
| 1 | 1 | 3.25 | 3.31 | 3.36 | 3.50 | 3.80 | |
| 1 | 5 | 4.50 | 3.28 | 3.57 | 4.49 | 5.73 | |
| 1 | 10 | 3.30 | 3.30 | 3.89 | 6.10 | 6.33 | |

| Relación sol/formul | | H ₂ O | SO ₄ ²⁻ | H ₂ KO ₄ P/ HK ₂ O ₄ P | HCO ₃ ³⁻ | A.U.S. | gel al 0,5% |
|--------------------------|----------|------------------|-------------------------------|---|--------------------------------|--------|-------------|
| gel de imiquimod al 0,5% | solución | | | | | | |
| 0 | | | 6.53 | 6.50 | 6.52 | 6.51 | 3.21 |
| 1 | 0.5 | 3.28 | 3.30 | 3.33 | 3.49 | 3.72 | |
| 1 | 1 | 3.36 | 3.35 | 3.42 | 3.66 | 4.06 | |
| 1 | 5 | 3.26 | 3.30 | 3.68 | 5.10 | 6.41 | |
| 1 | 10 | 3.33 | 3.35 | 4.08 | 6.55 | 6.60 | |

| Relación sol/formul | | H ₂ O | SO ₄ ²⁻ | H ₂ KO ₄ P/ HK ₂ O ₄ P | HCO ₃ ³⁻ | A.U.S. | gel al 0,1% |
|--------------------------|----------|------------------|-------------------------------|---|--------------------------------|--------|-------------|
| gel de imiquimod al 0,1% | solución | | | | | | |
| 0 | | | 6.53 | 6.50 | 6.52 | 6.51 | 3.21 |
| 1 | 0.5 | 2.88 | 2.85 | 2.91 | 3.06 | 3.31 | |
| 1 | 1 | 2.80 | 2.81 | 2.95 | 3.25 | 3.62 | |
| 1 | 5 | 2.90 | 2.94 | 3.34 | 4.88 | 6.14 | |
| 1 | 10 | 3.02 | 3.09 | 3.78 | 8.29 | 6.53 | |

Tabla 12: Precipitación de imiquimod

| Imiquimod precipitado (% p/p) | | | | | |
|-------------------------------------|-----|-------|-------|-------|-------|
| Solución de sulfato | | | | | |
| Relación sol/formul (v/v) | 0.5 | 1 | 5 | 10 | |
| % inicial de Imiquimod | 0.9 | 22.46 | 47.56 | 83.54 | 75.84 |
| | 0.5 | 43.17 | 69.28 | 71.54 | 68.56 |
| | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Solución de bicarbonato | | | | | |
| Relación sol/formul (v/v) | 0.5 | 1 | 5 | 10 | |
| % inicial de Imiquimod | 0.9 | 0.00 | 0.00 | 43.22 | 99.76 |
| | 0.5 | 0.00 | 0.00 | 74.82 | 99.77 |
| | 0.1 | 0.00 | 1.86 | 0.00 | 98.84 |
| Solución tampón de fosfato | | | | | |
| Relación sol/formul (v/v) | 0.5 | 1 | 5 | 10 | |
| % inicial de Imiquimod | 0.9 | 0.00 | 0.00 | 0.33 | 4.29 |
| | 0.5 | 2.21 | 0.00 | 1.30 | 2.19 |
| | 0.1 | 0.00 | 0.26 | 0.00 | 1.29 |
| Agua | | | | | |
| Relación sol/formul (v/v) | 0.5 | 1 | 5 | 10 | |
| % inicial de Imiquimod | 0.9 | 30.36 | 0.00 | 2.60 | 3.06 |
| | 0.5 | 0.39 | 0.00 | 0.74 | 2.74 |
| | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Solución de Orina Artificial | | | | | |
| Relación sol/formul (v/v) | 0.5 | 1 | 5 | 10 | |
| % inicial de Imiquimod | 0.9 | 23.23 | 44.02 | 96.60 | 98.92 |
| | 0.5 | 38.89 | 57.75 | 97.93 | 98.63 |
| | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 84.29 | 86.35 |

5

Se corrige el pH de las diferentes soluciones (excepto AUS) hasta alrededor de 6,5. Hay que señalar que

- un volumen pequeño de solución (sin importar el tipo de sal) no es capaz de controlar el pH de la mezcla.
- A.U.S. y solución de bicarbonato en relación de volumen alto con la formulación muestra un pH significativamente no diferente de su valor inicial.
- la cantidad de fármaco presente en la formulación no altera sustancialmente la capacidad tampón de AU. S y solución de bicarbonato: una disminución ligera de pH se ha observado como el porcentaje de imiquimod en la formulación disminuida (incremento de ácido láctico libre).

15

La dilución con agua no provoca una precipitación importante del fármaco, independientemente de la relación del gel/solución: se representa una excepción por el sistema de agua/gel de imiquimod al 0,9% (relación de volumen 0,5:1) para el cual se ha observado una disminución constante de concentración de fármaco solubilizado (mayor que 30%).

20

Con solución tampón fosfato la precipitación del fármaco no fue evidente macroscópicamente: max 4,29% de incremento de fármaco en solución para la formulación que contiene la cantidad más alta de imiquimod (0,9%) y en la relación de dilución máxima.

Entre los aniones, el bicarbonato determina la mayor precipitación de fármaco: se observa en relación de volumen 10:1 en precipitación casi completa de imiquimod para todas las formulaciones.

La solución de sulfato separada del fármaco de geles al 0,9% y 0,5%, pero no del sistema de fármaco al 0,1%: para el gel que contiene fármaco más alto, se presentó una relación parabólica entre el porcentaje de imiquimod precipitado y la relación de dilución.

Los resultados obtenidos con Solución de Orina Artificial pueden atribuirse principalmente a la presencia de iones bicarbonato y sulfato, mientras que un efecto aditivo/sinérgico de otro mismo componente de AUS no puede excluirse.

8. Ejemplo: Comparación de formulaciones de imiquimod que contienen diferentes porcentajes de poloxámero

8.1. Composiciones

Se digirió el trabajo experimental para comparar algunas características químico-físicas de formulaciones imiquimod que contienen cantidades diferentes de poloxámero 407 y de fármaco.

Los sistemas investigados tienen las siguientes composiciones:

Formulación 0,5% - 16

| | |
|-----------------------|------------------|
| Poloxámero 407 | 160,06 mg |
| Imiquimod | 5,02 mg |
| HPβCD | 50,06 mg |
| Ácido láctico (90,3%) | 10,00 mg |
| Agua para inyección | q.b. 1.000,00 mg |

Formulación 0,1 % - 16

| | |
|-----------------------|------------------|
| Poloxámero 407 | 160,05 mg |
| Imiquimod | 1,01 mg |
| HPβCD | 50,02 mg |
| Ácido láctico (90,3%) | 10,00 mg |
| Agua para inyección | q.b. 1.000,00 mg |

Formulación 0,5% - 10

| | |
|-----------------------|------------------|
| Poloxámero 407 | 160,03 mg |
| Imiquimod | 5,01 mg |
| HPβCD | 50,06 mg |
| Ácido láctico (90,3%) | 10,00 mg |
| Agua para inyección | q.b. 1.000,00 mg |

Formulación 0,1 % - 10

| | |
|-----------------------|------------------|
| Poloxámero 407 | 100,06 mg |
| Imiquimod | 1,04 mg |
| HPβCD | 50,01 mg |
| Ácido láctico (90,3%) | 10,00 mg |
| Agua para inyección | q.b. 1.000,00 mg |

8.2. Resultados

Se determinaron la viscosidad y el pH de estas formulaciones a 25 y 37°C, los resultados se muestran en la siguiente tabla 13:

| Formulación | Viscosidad a 25°C (*) | | | Viscosidad a 37°C (**) | | | pH |
|--------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------|------|
| | Velocidad de rotación (rpm) | Fuerza de torsión (%) | Viscosidad (cP) | Velocidad de rotación (rpm) | Fuerza de torsión (%) | Viscosidad (cP) | |
| F. 0.5% - 16 | 20 | 47.8 | 2221 | 8 | 72.1 | 270.7 | 3.26 |
| F. 0.1% - 16 | 20 | 50.3 | 2350 | 15 | 83.1 | 166.2 | 2.99 |
| F. 0.5% - 10 | 35 | 12.5 | 334.8 | 35 | 11.9 | 10.2 | 3.23 |
| F. 0.1% - 10 | 35 | 12.7 | 340.0 | 35 | 11.5 | 9.86 | 2.60 |

(*) Eje nr. 25

(**) Eje nr. 18

9. Ejemplo: Evaluación *in vitro* de la toxicidad de la formulación de imiquimod en epitelio de la vejiga urinaria del cerdo

9.1. Material y Métodos

9.1.1. Diseño del estudio

- 5 Se llevó a cabo el estudio en epitelio de vejiga de dos cerdos usando los siguientes tratamientos:
- formulación de imiquimod al 0,1% (una mezcla de Poloxámero al 16%, hidroxipropil-Beta-ciclodextrina al 5%, en ácido láctico 0,1M)
 - Vehículo (una mezcla de Poloxámero al 16%, hidroxipropil-Beta-ciclodextrina al 5%, en ácido láctico 0,1M)
- 10 • Solución de NaCl al 0,9%

Se colocaron porciones de la vejiga del cerdo entre las cámaras donadoras (tratamiento) y aceptadoras de células Franz. Se usó el medio PBS recibido (pH 7,4) en todos los experimentos. Una hora después de comenzar el experimento, el medio recibido se retiró y analizó para su contenido de imiquimod. Se recuperó la vejiga; se separó la porción tratada y dividió en dos partes: una se fijó en formalina, incrustó, seccionó y tiñó (HyE) para examen histológico; y la otra parte se sometió para extracción y análisis del fármaco.

9.1.2. Revisión de iguales

- 20 Se llevó a cabo el examen histopatológico en cinco secciones de la vejiga urinaria esto es 2 lados del cerdo 1 (etiquetado imiquimod 1 y vehículo 1), 2 lados del cerdo 2 (etiquetado imiquimod 2 y vehículo 2) y un lado con una disolución de NaCl (etiquetado control). Se examinaron los lados principalmente para integridad urotelial y cualquiera de los cambios sub-mucosos incluyendo inflamación.

25

9.2. Resultados y conclusión

El tejido de urotelio y sub-mucosa aparecen normales en todos los lados examinados. No existieron diferencias importantes entre los tratamientos (datos no mostrados).

30

9.3. Experimentos de penetración de imiquimod para evaluar la toxicidad

9.3.1. Objetivo

- 35 Con objeto de evaluar la penetración de la molécula activa en el epitelio vesical del cerdo, se llevó a cabo una serie de experimentos de penetración *in vitro*. Las formulaciones de imiquimod investigadas fueron:
- Imiquimod al 0,5% en solución de ácido láctico 0,1 M
 - Imiquimod al 0,5% - HP-β-CD al 5% en solución de ácido láctico 0,1 M
- 40 – Imiquimod al 0,5% en gel de poloxámero 407 al 16%
- Imiquimod al 0,5% - HP-β-CD al 5% en gel de poloxámero 407 al 16%

La composición de sistemas fue la siguiente:

| | | |
|----|---|-------------------|
| 45 | Imiquimod al 0,5% en solución de ácido láctico 0,1M | |
| | Imiquimod | 5,020 mg |
| | Ácido láctico (90,3%) | 10,020 mg |
| | Agua para inyección | q.b. 1000,00 mg |
| | Imiquimod al 0,5% - HP-β-CD al 5% en solución de ácido acético 0,1M | |
| 50 | HP-β-CD | 50,080 mg |
| | Imiquimod | 5,020 mg |
| | Ácido láctico (90,3%) | 10,080 mg |
| | Agua para inyección | q.b. 1.000,000 mg |
| | Imiquimod al 0,5% en gel de poloxámero 407 al 16% | |
| 55 | Poloxámero 407 | 160,020 mg |
| | Imiquimod | 5,000 mg |
| | Ácido láctico (90,3%) | 10,100 mg |
| | Agua para inyección | q.b. 1.000,000 mg |
| | Imiquimod al 0,5% - HP-β-CD al 5% en gel de poloxámero 407 al 16% | |
| 60 | Poloxámero 407 | 160,162 mg |
| | HP-β-CD | 50,025 mg |
| | Imiquimod | 5,005 mg |
| | Ácido láctico (90,3%) | 10,017 mg |
| 65 | Agua para inyección | q.b. 1.000,000 mg |

9.3.2. Método

La vejiga de un cerdo hembra de 6-9 meses de edad se seccionó y montó entre los compartimientos de una célula Franz con la superficie interna de cara hacia arriba. En todos los experimentos, se usó solución tampón de fosfato 0,1M (pH 7,4) como fase receptora: se mantuvo bajo agitación (alrededor de 300 rpm) a 37°C durante el experimento. Una formulación que contiene imiquimod (2 g) representa la fase donadora. Al final del experimento (4 horas después del inicio), el epitelio de la vejiga (BE) retirado de la célula de difusión se lavó completamente con agua destilada para eliminar el exceso de la formulación y se limpió cuidadosamente con papel de seda. Luego se congeló el BE y seccionó usando un micrótopo criostático. Se introdujeron cinco secciones BE sucesivas (cada una de 100 µm de grosor) en un tubo, se agregaron 5 ml de ácido láctico (92%) y se mantuvieron bajo agitación durante la noche. Se filtró la fase líquida (0,22 µm) y se procesó por ensayo por HPLC para imiquimod.

9.3.3. Resultados

La Figura 15 describe los resultados obtenidos que muestran la cantidad de imiquimod recuperada en BE después de 4 horas de contacto con la formulación (se normalizan datos para el área de absorción). Los datos son la media de 3 experimentos.

10. Ejemplo: Farmacocinética y toxicidad de imiquimod intravesical: un estudio preclínico en cerdos

10.1. Introducción

Para probar si el cáncer de vejiga puede ser un objetivo adecuado para terapia con imidazoquinolina(aminas) se estudió la expresión TLR-17 en cáncer de vejiga humano y tejido de vejiga normal. Se estudiaron las muestras del tejido de cerdo para validar el modelo. Posteriormente, para probar el potencial y los riesgos de las imidazoquinolina(aminas) cuando se usan vía intravesical, se realizó un estudio en animales donde se probaron tres diferentes formulaciones intravesicales de imiquimod y un control de vehículo. Se estudió el bienestar del animal, propiedades farmacocinéticas, producción de citocina e histología de la pared de la vejiga.

10.2. Animales, Material y Métodos

10.2.1. Detección de expresión TLR-7

Se tiñeron quince especímenes de cáncer de vejiga humano incrustados en parafina y fijados en formalina y seis especímenes de vejiga normal para TLR-7 por Mosaic Laboratories, LLC (Lake Forest, CA, EUA). Adicionalmente, se tiñeron 28 diferentes especímenes de tejido humano normal (diferente de vejiga) para la expresión TLR-7. Además, se probaron muestras de tejido de vejiga de porcino, amígdala, corazón, hígado, bazo, y riñón.

Se juzgó la intensidad de tinción de cada espécimen con relación a la intensidad de un portaobjeto de control que contiene una sección adyacente teñida con una especie irrelevante - y anticuerpo de isotipo igualado. La tinción de la sección etiquetada con el control de reactivo negativo se consideró "de respaldo". Las secciones se registraron como sigue: 0 sin tinción relativa al respaldo, 1+ tinción débil, 2+ tinción moderada, y 3+ tinción fuerte. La tinción positiva total (la suma de todas las tinciones en 1+, 2+, y 3+ se registró para cada espécimen. El registro H se calculó basado en la suma del producto de porcentaje de células teñidas en cada intensidad usando la siguiente ecuación: $(3 \times \% \text{ de células teñidas en } 3+) + (2 \times \% \text{ de células teñidas en } 2+) + (1 \times \% \text{ de células teñidas en } 1+)$. Los valores de registro H están en el intervalo desde 0-300.

10.2.2. Modelo de cerdo

Los procedimientos de animales se realizaron de acuerdo con el protocolo aprobado por el Comité de Cuidado y Uso Animal Institucional (IACUC, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Los Países Bajos) y de acuerdo con las regulaciones nacional y europea. Para este estudio se usaron cerdos hembra (Landrace Holandés). El tracto urogenital del cerdo se asemeja cercanamente al sistema urogenital humano, y la forma del pene y el divertículo prepucial previene cateterización transuretral de un cerdo macho. Las cerdas se alojaron en jaulas en batería de acero inoxidable de cerdo especiales y se alimentaron con alimento para cerdos universal. Los cerdos se dividieron en cuatro grupos de seis animales. Los procedimientos experimentales se realizaron bajo anestesia general. La pre-medicación contiene una mezcla de cetamina 10 mg/kg y midazolam i.m. de 0,5 a 1,0 mg/kg en una sola toma. El mantenimiento de sedación se hizo por la misma mezcla en la mitad de la dosificación cada 45 minutos. La vejiga se vació sin trauma de succión antes del inicio de tratamiento (con catéter de Foley Francés 12) y 50 ml del fármaco de estudio se administró intravesicalmente. Los animales recibieron una solución de imiquimod 0,5% disuelto en 0,1M ácido láctico (grupo 1); una solución de imiquimod 0,5% disuelto en ácido láctico 0,1M, poloxámero 407 16% como agente emulsionante y HPβCD (hidroxipropil-β-ciclodextrina) 15% como estabilizante (grupo 2); una solución de imiquimod 0,5% disuelto en ácido láctico 0,1M, poloxámero 407 16% y HPβCD 5% (grupo 3) o un control de

vehículo (ácido láctico 0,1M) (grupo 4). El catéter se sujetó y el fluido de instilación se mantuvo en la vejiga por 60 minutos, después de lo cual la vejiga se vació. La vejiga no se enjuagó después de vaciar.

Se obtuvieron muestras de sangre para análisis farmacocinético (PK), mediciones de citocina (IL-6), mediciones de creatinina y recuento de glóbulos completo. La vena cefálica o vena yugular interna, externa, o

5 comunal se pinchó, dependiendo del ángulo de la punción y profundidad de la penetración de la aguja. Las muestras para recuento de sangre y medición de creatinina se recolectaron en tubos EDTA- potasio de 3 ml y tubos de heparina-litio de 3 ml con divisor de gel, respectivamente, antes de la instilación y 60 minutos, 24 horas y 1 semana (justo antes de la cistectomía) después del comienzo de la instilación. Las muestras se almacenaron en hielo y llevaron al laboratorio para análisis.

10 Las muestras de sangre para análisis farmacocinético y medición de citocina se recolectaron en tubos de heparina- litio de 4 ml con divisor de gel antes de la instilación del fármaco de estudio y 15, 30, 60, 120, 240 y 480 minutos después del comienzo de la instilación de fármaco y también justo antes de la cistectomía. Las muestras se llevaron en hielo al laboratorio para procesamiento de plasma dentro de 30 minutos. La sangre se centrifugó 15 minutos a 3.200 rpm a 4°C, el plasma se recolectó por PK y análisis de citocina, almacenó a

15 -80°C, y se transportó en hielo seco para análisis.

El contenido de vejiga evacuado posterior al tratamiento y la orina evacuada justo antes de la necropsia se colectaron para análisis de concentración de imiquimod. La orina se congeló inmediatamente y almacenó en tubos plásticos a -80°C y se transportó en hielo seco para determinación de imiquimod. Se realizó un urianálisis de tira reactiva en la orina pre y post-tratamiento evacuada y en la orina recogida justo antes de la necropsia. Las concentraciones de imiquimod en plasma y orina se determinó por CHIMAN s.r.l. (Rottofreno, Italia) por cromatografía líquida-espectroscopía de masa/espectroscopía de masa (LC-MSMS). Las muestras de plasma para medición de IL-6 se analizaron por Areta International s.r.l. (Gerenzano, Italis) usando el kit de "IL-6 de Porcino Quantikine" (P6000; R&D System).

20 La temperatura corporal se midió rectalmente antes y 1, 8 y 24 horas y una semana después del iniciar el tratamiento. El bienestar de los animales se monitoreo por personal experimentado por una lista protocolariamente seleccionada de posibles signos y síntomas de toxicidad antes del experimento, justo después de la instilación y justo antes de la cistectomía.

25 24 horas después del tratamiento tres animales por grupo se sacrificaron y cistectomizaron y 7 días después del tratamiento los animales restantes se sometieron al mismo procedimiento. Se recogió el material de las vejigas y se procesó para histología como sigue: se tomaron biopsias de vejiga de 1 cm² de la cúpula, trigono, pared lateral derecha y pared lateral izquierda y se transfirieron en formalina al 10% en PBS. El material se incorporó en parafina, seccionada, y teñida con H&E. Los porta objetos se evaluaron para signos de inflamación y reacción alérgica en submucosa y mucosa. Las anomalías microscópicas se clasificaron como ninguna reacción, reacción leve, moderada o severa.

35

10.3. Resultados

10.3.1. Expresión de TLR-7

40 La expresión de TLR-7 de los 15 especímenes de cáncer de vejiga humano se demuestra por tinción positiva en todas las muestras, variando desde el 70% al 100% con un promedio del 90% (SD=9%). La tinción más intensa fue en la membrana nuclear/perinuclear y la tinción citoplásmica fue más débil (Figura 16) La puntuación H varía desde 90 hasta 155 con un promedio de 127 (SD=23). También se observó tinción positiva en 6 especímenes epiteliales de vejiga normal, variando desde 80% hasta 100% con un promedio de 95% (SD=8%). La puntuación H varía desde 100 hasta 230 con un promedio de 179 (SD=55). La expresión TLR-7 se observó en casi todos los tejidos sin vejiga examinados (datos no mostrados), especialmente en tejido linfóide. Se observó falta de tinción en el músculo cardiaco y liso. La expresión de TLR-7 en tejidos de cerdo (Figura 17) fue similar a la de los tejidos humanos correspondientes.

50 10.3.2. Experimento en cerdos

Veinticuatro cerdos con un peso medio de 57,1 kg (intervalo, 40,0-85,0 kg) se dividieron en cuatro grupos de seis cerdos tratados con diversas formulaciones de imiquimod como instilación intravesical única de 50 minutos. A lo largo de una semana de periodo de seguimiento después de la instilación (3 cerdos por grupo) no se observó deterioro del bienestar del animal alguno. Se observaron signos menores de toxicidad, posiblemente debido al fármaco de estudio, en cuatro cerdos (esto es, baja ingesta de alimentos en tres cerdos, grupo 1, 2 y 4 y heces blandas en un cerdo, grupo 1). No se observaron otros signos de deterioro del bienestar animal.

60 La temperatura corporal posterior al tratamiento no se vió influenciada por la instilación del fármaco de estudio y era comparable con la temperatura corporal pre-tratamiento en todos los grupos tratados. A pesar de que se observó un ligero incremento en los niveles de creatinina una semana después de la instilación en el grupo 1 y 2, posiblemente indicativa de insuficiencia renal leve, no se observó ninguna correlación obvia con las modalidades de tratamiento.

65 Los valores hematológicos estaban dentro del intervalo normal, con excepción de un cerdo del grupo 1, que mostró valores hematológicos anormales (concentración de hemoglobina 2,5 mmol/l, hematocrito 12%, recuento de trombocito 18 x10⁹/l, recuento de leucocitos 8,8 x10⁹/l al final del periodo de instilación de 50

minutos). Sin embargo, en T=24h casi todos los valores hematológicos de este animal estaban en el intervalo normal, excepto para el recuento de trombocitos ($53 \times 10^9/l$), que cayó al intervalo normal una semana después de la instilación.

El análisis de orina post-tratamiento (50 minutos después del comienzo de la instilación) muestra altas cantidades de imiquimod (Tabla 14) para todos los grupos tratados, excepto para el grupo control de vehículo. La cantidad de imiquimod recogido en la orina de los animales del grupo 1 fue casi 2 veces mayor que la de los animales del grupo 2 y 3, con sin diferencias importantes entre el grupo 2 y el 3. Después de 24 horas, los niveles de imiquimod eran muy bajos ($<5 \mu g/ml$).

10 Tabla 14. Por grupo de tratamiento, la cantidad de Imiquimod administrada y medida al final del tratamiento

| Grupo | Cantidad total administrada de Imiquimod (μg) | Cantidad total al final del tratamiento de Imiquimod (μg , intervalo, %) |
|-------|--|--|
| 1 | 268950 | 218860 (23440-320400) (81, 4) |
| 2 | 257500 | 132735 (23440-320400) (81, 4) |
| 3 | 247850 | 121636 (46260-219075) (49.1) |

Los análisis farmacocinéticos revelan únicamente poca absorción sistémica (Tabla 15 y Figura 18). Los niveles en plasma máximos de los animales del grupo 1 fueron tres veces mayores que los niveles en plasma máximos de los animales del grupo 2 y 3, que resulta en un AUC doble. Después de ocho horas, apenas se puede detectar imiquimod ($<2,10 \text{ ng/ml}$) en cualquier plasma de cerdo.

15

Tabla 15. Parámetros farmacocinéticos en plasma de Imiquimod, por grupo de tratamiento (media \pm sd)

| Grupo | C_{max} (ng/ml) | AUC (ng·h/ml) | $T_{1/2}$ (h) |
|-------|-------------------|-------------------|-----------------|
| 1 | $45,17 \pm 29,96$ | $96,75 \pm 50,42$ | $1,18 \pm 0,2$ |
| 2 | $16,23 \pm 10,22$ | $45,67 \pm 26,53$ | $1,58 \pm 1,05$ |
| 3 | $17,00 \pm 6,57$ | $56,65 \pm 24,94$ | $1,90 \pm 1,06$ |

C_{max} = Concentración máxima; AUC = Área bajo la Curva; $T_{1/2}$ = vida media

Los niveles de citocina IL-6 fueron similares en todos los grupos, incluyendo el grupo control de vehículo, con niveles IL-6 máximos alcanzados ocho horas después de la instalación de los fármacos de estudio (datos no mostrados).

20

El examen macroscópico de las vejigas resecadas no muestra anomalías, excepto algunas áreas con apariencia hemorrágica en los cerdos sacrificados 24 horas después de la instilación de imiquimod (Grupo 1-3), que fue menos evidente o ausente en los cerdos sacrificados después de siete días.

25

El examen microscópico de las vejigas resecadas no revelan diferencia entre las cuatro regiones muestreadas (pared lateral izquierda, pared lateral derecha, cúpula, triángulo). En la mayoría de los animales de los tres grupos de tratamiento se observó una reacción inflamatoria submucosal predominantemente linfocítica moderada 24 horas después de la instilación intravesical (Figura 20), que disminuyó a inflamación leve en los cerdos sacrificados después de siete días. Veinticuatro horas después de la instilación, se observó vasculitis en tres cerdos, igualmente dividida sobre los tres brazos de tratamiento (Figura 21). Se observó miositis moderada en un cerdo del grupo 1. Se observó epitelio de vejiga atípica reactiva leve en casi todos los animales sacrificados después de 24 horas, que desapareció con el tiempo y no fue visible en los animales sacrificados después de otra semana. La erosión, edema submucosal y sangrado fueron leves, no se observó reacción alérgica.

30

Se observó miositis moderada en un cerdo del grupo 1. Se observó epitelio de vejiga atípica reactiva leve en casi todos los animales sacrificados después de 24 horas, que desapareció con el tiempo y no fue visible en los animales sacrificados después de otra semana. La erosión, edema submucosal y sangrado fueron leves, no se observó reacción alérgica.

35

10.4. Discusión

Como ya se estableció en la descripción, imiquimod, un miembro principal de la familia de imidazoquinolin(aminas), ha demostrado su eficacia contra muchos tipos de tumores (Schön MP, Schön M. Imiquimod: modo de acción. Br J Dermatol 2007; 157: 8-13). El compuesto enlaza a TLR-7, que induce la producción y secreción de citocinas pro-inflamatorias, que consecutivamente inducen una respuesta inmunitaria mediada por célula específica de tumor profundo, muy similar al mecanismo de trabajo propuesto para el BCG. Además, imiquimod puede ejercer efectos apoptóticos directos en células tumorales, puede estimular la expresión génica independiente de TLR y puede interferir con las trayectorias de señalización del receptor de adenosina (Schön MP, Schön M. Imiquimod: mode of action. Br J Dermatol 2007; 157: 8-13).

40

45

El imiquimod es efectivo y bien tolerado como agente tópico para el tratamiento de diversas lesiones dermatológicas benignas y malignas. Las reacciones locales de la piel son los efectos secundarios más comunes (Geisse J, Caro I, Lindholm J, Golitz L, Stampone P, Owens M. Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: Results from two phase III, randomized, vehicle-controlled studies. J Am Acad Dermatol 2004; 50: 722-33). El Imiquimod también se ha estudiado como modalidad de tratamiento sistémico: la administración semanal de altas dosis orales de imiquimod se estudió en un ensayo de fase I en pacientes con cáncer (Witt PL, Ritch PS, Reding D, McAuliffe TL, Westrick L, Grossberg SE, Borden EC. Phase I trial of an oral immunomodulator and interferon inducer in cancer patients. Cancer Res 1993; 53: 5176-5180). Los efectos secundarios que limitan la dosis fueron síntomas de tipo gripal y

50

55

linfocitopenia leve.

El cáncer de vejiga podría ser un objetivo de interés para el tratamiento con imiquimod: la administración intravesical de imiquimod se asemeja al tratamiento tópico de lesiones de la piel con contacto directo con las células malignas y citotoxicidad directa o apoptosis inducida por imiquimod independiente de la respuesta inmunitaria. Por otra parte, la instilación intravesical evita la pérdida del metabolismo de primer paso y permite el efecto terapéutico de un fármaco a localizar en el sitio deseado con efectos secundarios sistémicos mínimos.

La evidencia experimental de que las imidazoquinolina(aminas) de hecho pueden ser modalidades de tratamiento apropiadas para el cáncer de vejiga es proporcionada por Smith y col. Estos investigadores demuestran que TLR-7 se expresa en líneas celulares de cáncer de vejiga murino y humano y que la imidazoquinolina tiene efectos biológicos directos en estas líneas celulares: la viabilidad celular disminuyó y se indujo la apoptosis y producción de citocina. Además, los resultados iniciales en un modelo de ratón ortotópico inmunocompetente sugiere efectos antitumorales *in vivo* (Smith EB, Schwartz M, Kawamoto H, y col., Antitumour effects of Imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder. J Urol 2007; 177:2347; Liu H, Schwartz MJ, Hwang DH, Scherr OS), Tumour growth inhibition by an imidazoquinoline is associated with c-Myc down-regulation in urothelial cell carcinoma. BJU Int 2008; 101: 894-901)

Para investigar si la diana de imiquimod, TLR-7, se expresa en el cáncer de vejiga humano, se evaluó la expresión de TLR-7 en 15 especímenes. Se demostró una tinción positiva en todas las muestras con un promedio del 90%, sin embargo hubo alguna heterogeneidad en la intensidad que lleva a puntuaciones H que varían de 90 a 165. Estos resultados demuestran que el cáncer de vejiga puede ser un objetivo atractivo para terapia con imiquimod.

Para evaluar la farmacocinética y posible toxicidad de las instalaciones de imiquimod, se realizaron los experimentos con cerdos. La expresión TLR-7 en muestras de tejido de vejiga porcino y humano era similar, corroborando la viabilidad del modelo de cerdo. Se evaluaron tres diferentes soluciones intravesicales de imiquimod y un control de vehículo (solución de ácido láctico). Ninguna de las formulaciones probadas afectaron al bienestar general de los cerdos, como se juzga por, por ejemplo, apariencia de la mucosa, comportamiento, ingesta de alimento/agua, etc. El análisis plasmático sólo mostró escasa absorción sistémica del imiquimod después de la instilación de la vejiga, independientemente de la formulación usada. Así, se recuperaron altas cantidades de imiquimod en la orina tras la instilación. Sin embargo, los niveles de imiquimod en la orina post-tratamiento en los animales tratados con imiquimod en solución de ácido láctico únicamente (Grupo 1) fueron casi 2 veces mayores que en animales tratados con formulaciones de imiquimod con poloxámero y HPβCD (Grupos 2 y 3). Por otra parte, el nivel en plasma máximo medio de imiquimod en el Grupo 1 fue 3 veces mayor que en los Grupos 2 y 3. Esta diferencia es probablemente resultado del aumento y la prolongación de la bio-adherencia de las formulaciones del fármaco con poloxámero y HPβCD a la pared de la vejiga. Sin embargo, este efecto fue de corta duración, ya que después de ocho horas casi no se podía detectar más imiquimod en el plasma del cerdo y después de 24 horas apenas se podía detectar más imiquimod en la orina en ninguno de los animales, independientemente de la formulación de imiquimod. Es posible que las formulaciones del fármaco 2 y 3 lleven a unos niveles sostenidos de membrana de imiquimod.

Los niveles en plasma de IL-6 fueron similares en todos los grupos, incluyendo el grupo control de vehículo, alcanzándose valores máximos ocho horas después de las instilaciones de las vejigas, muy probablemente debido a la reacción de tensión después de la anestesia general y cateterización de la vejiga, en lugar de a la inmunoestimulación por imiquimod. Por otra parte, los niveles de imiquimod en plasma eran demasiado bajos para alcanzar una respuesta de citocina sistémica.

El examen histopatológico de la pared de la vejiga revela la reacción inflamatoria pretendida en los grupos tratados con imiquimod. Aparte de esta reacción inflamatoria pretendida no se observaron anomalías significativas. Únicamente la vasculitis puede representar alguna reacción tóxica, aunque transitoria: no se observó vasculitis en los animales sacrificados el día 7. No es posible hacer comparaciones intergrupo significativas con estos pequeños números por grupo, sin embargo, no se observaron diferencias importantes entre las soluciones de imiquimod probadas.

En conclusión, el imiquimod administrado intravesicalmente a cerdos es bien tolerado, no causa toxicidad en la pared de la vejiga y las formulaciones con poloxámero y HPβCD permanece más tiempo en la vejiga con menos absorción sistémica. El perfil de seguridad del imiquimod intravesical resulta comparativamente favorable al de las terapias actuales, tales como BCG. Considerando las características farmacocinéticas muy similares se iniciará un estudio de lesión de marcador de escalada de dosis de fase I con imiquimod 0,5% en ácido láctico 0,1M, poloxámero 407 16% y HPβCD 5% en pacientes con NMIBC.

11. Ejemplo: Optimización de una formulación intravesical de un agonista del receptor 7 tipo toll para la terapia del cáncer de vejiga

60 11.1. Introducción

El objetivo de este estudio fue optimizar la formulación de imiquimod para mejorar la aplicación terapéutica. Se comparó la inflamación sistémica y local inducida por diversas formulaciones de imiquimod. Se evaluó la eficacia anticáncer de imiquimod en polímero de poloxámero termosensible en modelos de cáncer de vejiga ortópicos murinos.

11.2. Material y Métodos

11.2.1. Ratones

5 Se adquirieron ratones C57BL/6 hembras de 6 a 8 semanas de edad de Charles River Laboratory (Wilmington, MA). Los ratones deficientes en TLR7 fueron un regalo de S. Akira (Osaka University, Osaka, Japón) y se cruzaron nuevamente por 10 generaciones sobre los ratones de respaldo C57BL/6. Todos los ratones se alojaron bajo condiciones estándar en la Instalación Animal de la Universidad de California, San Diego. Todos los procedimientos y protocolos recibieron la aprobación previa por la junta de revisión institucional de UCSD.

11.2.2. Reactivos

15 El Imiquimod (TMX, TMX-101, R-837) y Lutrol®F127 fueron proporcionados por Telormedix SA (Bioggio, Suiza). El ácido láctico se adquirió de Fisher Scientific (Pittsburgh, PA). La 2-(hidroxipropil)-β-ciclodextrina (HPβCD) se adquirió de Sigma Aldrich (St. Louis, MO). El Imiquimod se resolvió a la concentración final de 1% (p/v, 41,7 mM) en ácido láctico 0,1% (formulación de ácido láctico). El Lutrol®F127 (poloxámero 407) se agregó al ácido láctico 0,1M para conseguir 20% (formulación de poloxámero). El HPβCD al 5% se incorporó en Lutrol®F127 al 16%, en ácido láctico 0,1M (formulación de poloxámero-HPβCD). Todas las soluciones se filtraron con filtros de 0,22 micras antes de la administración.

11.2.3. Estudio farmacológico in vivo

25 Los ratones se anestesiaron y cateterizaron usando un catéter intravenoso de Teflón 20G (Terumo Co. Somerset, NJ). Se administraron respectivamente 150, 500 o 1.500 nmol de imiquimod en 50 o 100μl de vehículo intravesicalmente. Se usó un volumen de 120μl para la instalación de 5.000 nmol. La solución de imiquimod se mantuvo en la vejiga durante 20 min. Los niveles de citocinas se midieron por ensayo de microesferas Luminex (Invitrogen, Carlsbad, CA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los niveles de detección mínimos de TNFα, y KC fueron 5 pg/ml y 25 pg/ml, respectivamente. El nivel de imiquimod en suero se analizó por Chimán SRL (Rottofreno, Italy).

11.2.4. Examen histológico

35 A los ratones se les administraron 100μl de imiquimod 0,1% en formulación de poloxámero-HPβCD una vez, o 50μl tres veces a intervalos de cuatro días. 24 horas después de la última administración, se recogieron las vejigas. Las vejigas fijadas se incrustaron en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E) por el Cancer Center Histology Core de UCSD.

11.2.5. Implantación, tratamiento y evaluación tumoral

40 Después de 20 min de tratamiento con poli-L-lisina (0,1 mg/ml), 1×10^6 células MB49 se implantaron como se describió previamente (Hegele A, Dalpke A, Barth P y col. Antineoplastic effect of immunostimulatory DNA (CpG-ODN) in a murine C57-BL6/MB-49 transitional cell carcinoma model. Anticancer research. 2004; 24: 2225-30). El tratamiento se realizó el día 3, 6 y 9. Los ratones implantados con MB49 sin tratamiento o tratados con vehículo sirvieron como controles. Los ratones se sacrificaron el día 11 y se midió el peso de la vejiga.

11.2.6. Análisis estadístico

50 Se empleó el paquete de software (Prism 4.0, GraphPad, San Diego CA) para el análisis estadístico como se indica en las leyendas de las figuras. El valor $p < 0,05$ se consideró de alta significancia.

11.3. Resultados

11.3.1. La administración intravesical de imiquimod indujo inflamación sistémica

55 El Imiquimod se conoce por ser insoluble en agua y muy poco soluble en los disolventes farmacéuticos comunes. Como se ha demostrado, la solución de ácido acético y/o láctico incrementa la solubilidad de imiquimod. Por tanto, se empleó ácido láctico 0,1M para preparar una solución imiquimod al 1% (~41,7 mM). Los ratones recibieron 150, 500, 1500 y 5.000 nmol intravesicalmente. El TNFα y KC de suero se indujeron de forma dosis-dependiente (ácido láctico 0,1M en la Figura 22A y B). Los niveles de estos factores en la vejiga fueron 10 hasta 100 veces menores que los niveles en suero ($p < 0,001$ en 1.500 y 5.000 nmol, Figura 22C y D).

11.3.2. La adición de polímero de poloxámero previene la absorción de imiquimod y la inducción sistémica de citocinas

La inducción sistémica de citocinas pro-inflamatorias causa anorexia y fatiga, llamadas "síndrome de la enfermedad" en el huésped (Hayashi T, Cottam HB, Chan M u col., Mast cell-dependent anorexia and hypothermia induced by mucosal activation of Toll-like receptor 7. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008; 295: R123-32). Para evitar la absorción sistémica así como para incrementar el contacto local del imiquimod con el urotelio, se agregó a la formulación un polímero de poloxámero termosensible, Lutrol®F127. Los niveles de TNF α (Figura 23A y 23B) y KC (Figura 23C y 23D) tanto en suero como en la vejiga se redujeron significativamente en los ratones que recibieron 5.000 nmol de imiquimod en esta formulación comparada con la formulación con ácido láctico.

Para evaluar el efecto del polímero de poloxámero en la absorción sistémica de imiquimod por parte del urotelio de la vejiga, se recogieron sueros de ratones que recibieron imiquimod 1.500 nmol a las 2, 4, 6, 24 y 48 horas. En los ratones que recibieron imiquimod ya sea en ácido láctico únicamente o en formulación de poloxámero, 2 horas después de la administración se observó una concentración en suero máxima de imiquimod (Figura 23E) ($p < 0,01$). Los niveles de imiquimod en suero se incrementaron de manera dosis-dependiente (Figura 23F). Además del polímero de poloxámero en la formulación se redujeron los niveles de suero de imiquimod en tiempos de 2 horas ($p < 0,01$, Figura 23E) y en 5.000 nmol ($p < 0,01$, Figura 23F). Estos datos indican que la inclusión de poloxámero en la formulación reduce significativamente la absorción sistémica de imiquimod.

11.3.3. La incorporación de HP β CD restablece la inflamación sistémica y local

Para mejorar la estabilidad física y alcanzar una solución homogénea clara y una liberación completa del polímero de poloxámero, el imiquimod se incorporó con HP β CD a poloxámero en ácido láctico (formulación poloxámero-HP β CD). Los niveles sistémicos de TNF α y KC se evaluaron y compararon con las otras formulaciones (Figura 24). Agregar el polímero de poloxámero reduce los niveles de KC de suero a casi los niveles de la línea base, comparado con la formulación de ácido láctico ($p < 0,001$, Figura 24A y 24B). La adición de HP β CD a la formulación de poloxámero resablece significativamente el nivel de KC en suero (Figura 24B), pero no de TNF α (Figura 24A). Se observó una tendencia similar en los niveles locales de KC (Figura 24C).

11.3.4. Evaluación de la inflamación local en la vejiga por administración intravesical de imiquimod en formulación poloxámero-HP β CD

Para evaluar la inflamación local en la vejiga, los ratones recibieron intravesicalmente imiquimod 0,1% en una formulación poloxámero-HP β CD como vehículo. La afluencia de células inflamatorias en la vejiga se evaluó por examen histológico (Figura 25). Ya que los pacientes recibieron tratamientos intravesicales repetidos en la aplicación clínica, se ensayó el efecto de la administración repetida de imiquimod en una formulación de poloxámero-HP β CD en los días 0, 4, y 8. Después de la primera instilación de imiquimod, se inició la infiltración celular (Figura 25C), comparado con el vehículo únicamente (Figura 25A). Después del tercer tratamiento, se observó una infiltración sustancial de células mononucleares en la lámina propia de la vejiga tratada con imiquimod (Figura 25D), mientras que pocas células infiltradas en las vejigas tratadas con vehículo o solución salina (Figura 25B y E). La Infiltración celular reducida se observó en la vejiga de ratones deficientes de TLR7 tratados con imiquimod en formulación poloxámero-HP β CD, similar a ratones tratados con solución salina, que indican que la inflamación inducida por imiquimod en la vejiga era dependiente de TLR7 (Figura 25F).

11.3.5. Evaluación de la eficacia terapéutica en modelos de cáncer de vejiga ortotópicos de ratón

Los modelos de tumor de vejiga ortotópicos se generaron usando MB49, una línea celular derivada de carcinoma celular transicional del tracto urinario murino. Los ratones que portan el tumor de vejiga MB49 se trataron tres veces (días 3, 6 y 9) con 50 μ l de imiquimod al 0,1% en formulación poloxámero-HP β CD como vehículo. El grupo de tratamiento muestra una significativamente menor carga tumoral promedio comparada con la del grupo tratado con vehículo o no tratado ($p < 0,01$, Figura 26). Por tanto, el tratamiento con imiquimod en formulación poloxámero-HP β CD mantiene el peso de la vejiga casi como el de los ratones que no tienen tumores (sin experiencia previa al tratamiento).

11.4. Discusión

En este estudio se empleó el polímero de poloxámero termosensible para asegurar el contacto local prolongado y minimizar la absorción sistémica de imiquimod. La formulación de polímero reduce la absorción sistémica de imiquimod en el urotelio de la vejiga, con infiltración local sostenida de células inmunitarias. Incorporar HP CD en la formulación mejora la estabilidad física, alcanzando una solución homogénea clara. Esta formulación mejora la inducción de quimioquina local y demuestra efectos anti-tumorales en un modelo de ratón ortotópico de cáncer de vejiga.

La administración de BCG intravesical es una terapia inmunitaria bien establecida para el cáncer de vejiga superficial (Alexandrov AB, Jackson AM, O'Donnell MA, James K. BCG immunotherapy of bladder cancer: 20 years on. *Lancet.* 1999; 353: 1689-94). Aunque los bacilos BCG vivos proporcionan una ventaja importante

para evocar la respuesta inmunitaria, el uso de BCG vivo requiere de una cuidadosa precaución de riesgo biológico para el cuidado de la salud del personal y pacientes (Games J. Nursing implications in the management of superficial bladder cancer. *Seminars in urologic oncology*. 1996; 14: 36-40). BCG sigue siendo sólo parcialmente efectivo y pueden provocarse efectos secundarios serios, incluyendo fiebre alta, neumonía, hepatitis y sepsis. Los esfuerzos continúan para desarrollar terapia más segura y más efectiva para cáncer de vejiga. Entre ellos, se han reportado intentos para utilizar el agonista TLR individual para tratar el cáncer de vejiga (Smith EB, Schwartz M, Kawamoto H y col. Antitumor effects of imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder. *The Journal of urology*. 2007; 177: 347-51; Mangsbo SM, Ninalga C, Essand M, Loskog A, Totterman TH. CpG therapy is superior to BCG in an orthotopic bladder cancer model and generates CD4+ T-cell. *Immunity*. 2008; 31: 34-42.) La aplicación repetida de agonista TLR9 mejora la supervivencia y reduce las cargas tumorales (Mangsbo SM, Ninalga C, Essand M, Loskog A, Totterman TH. CpG therapy is superior to BCG in an orthotopic bladder cancer model and generates CD4+ T-cell immunity. *J Immunother*. 2008; 31: 34-42). El agonista TLR7 imiquimod afecta directamente las células de cáncer de vejiga de humano y de ratón para inducir la secreción de quimiocina y para inducir apoptosis, reduciendo el crecimiento del tumor (Smith EB, Schwartz M, Kawamoto H et al. Antitumor effects of imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder. *The Journal of urology*. 2007; 177: 2347-51).

En este estudio se demostró que el imiquimod en formulación poloxámero-HP CD podría iniciar una reacción inmunitaria innata local sustancial. Debido a que la formulación en ácido incrementa la solubilidad del imiquimod, éste se probó inicialmente disuelto en ácido láctico 0,1M, que se usa comúnmente en la industria farmacéutica. El imiquimod en formulación de ácido láctico se absorbe sistémicamente y causa la inducción significativa de inflamación sistémica. Los bacilos BCG vivos se adhieren a la superficie de la pared de la vejiga (Atkins H, Davies BR, Kirby JA, Kelly JD. Polarisation of a T-helper cell immune response by activation of dendritic cells with CpG-containing oligonucleotides: a potential therapeutic regime for bladder cancer immunotherapy. *British journal of cancer*. 2003; 89: 2312-9; Akazawa T, Masuda H, Saeki Y et al. Adjuvant-mediated tumor regression and tumor-specific cytotoxic response are impaired in MyD88-deficient mice. *Cancer research*. 2004; 64: 757-64) y proporcionan una estimulación inmunitaria sostenida al urotelio y a las células inmunitarias locales por periodos prolongados. El polímero de poloxámero termosensible reduce el fármaco liberado y mantiene la concentración de fármaco en la superficie de las células, previniendo la absorción sistémica del fármaco (Anderson BC, Pandit NK, Mallapragada SK. Understanding drug release from poly(ethylene oxide)-b-poly(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide) gels. *J Control Release*. 2001; 70: 157-67). En resumen para conseguir las propiedades pro-inflamatorias ventajosas de la infección por bacilos BCG vivos y para reducir la absorción sistémica así como para incrementar el contacto en superficie del fármaco, se agregó un polímero de poloxámero termosensible a la formulación de ácido láctico. La formulación de poloxámero reduce significativamente la absorción sistémica de imiquimod a través de la superficie de la vejiga y reduce la inducción de citocina sistémica a los niveles de la línea base.

El componente de este estudio que tenía interés particular fue que la formulación incluyendo HPβCD restablece la inducción de KC por imiquimod comparado con el de poloxámero solamente. La formación de complejos usando HPβCD es un enfoque común para incrementar la solubilidad farmacológica y la estabilidad en medio acuoso (Brewster ME, Loftsson T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced drug delivery reviews*. 2007; 59: 645-66. [25] Bilensoy E, Rouf MA, Vural I, Sen M, Hincal AA. Mucoadhesive, thermosensitive, prolonged-release vaginal gel for clotrimazole:beta-ciclodextrin complex. *AAPS PharmSciTech*. 2006; 7: E38). Por otra parte, la inclusión de HPβCD en polímeros se usa en sistemas de suministro vaginal (Chang JY, Oh YK, Kong HS et al. Prolonged antifungal effects of clotrimazole containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis. *J Control Release*. 2002; 82: 39-50.) Debido a que un 20% de poloxámero termosensible era suficiente para solidificar en la vejiga en un tiempo corto, causando la obstrucción de uretra, la concentración de poloxámero se redujo al 16%. Específicamente, incorporando HPβCD en la formulación de polímero se mejora la solubilidad acuosa y la eficacia del imiquimod, con efectos anti-tumorales en un modelo de ratón ortotópico de cáncer de vejiga. Este descubrimiento refuerza el uso de la formulación poloxámero- HPβCD para estudios clínicos posteriores.

La terapia inmunitaria anti-tumoral efectiva requiere un reclutamiento apropiado de células inmunitarias (Simons MP, O'Donnell MA, Griffith TS. Role of neutrophils in BCG immunotherapy for bladder cancer. *Urologic oncology*. 2008; 26: 341-5; Saban MR, Simpson C, Davis C et al. Discriminators of mouse bladder response to intravesical Bacillus Calmette-Guerin (BCG). *BMC immunology*. 2007; 8:6). El examen histológico muestra infiltración celular inmunitaria sustancial en la lámina propia por imiquimod. La infiltración celular en la vejiga inducida por imiquimod disminuye en ratones deficientes en TLR7, indicando que la inflamación era dependiente de TLR7, no causada por el vehículo o por una lesión mecánica. La integridad del urotelio se mantuvo así después de la administración repetida del vehículo sólo (formulación poloxámero-HPβCD). Se reportó que 1V270, un conjugado de fosfolípido de un agonista TLR7, ejerce 12 respuestas inmunitarias de adaptación Th1 excelentes y rápidas. Ya que la terapia inmunitaria por instalación de BCG vivo lleva a una activación inmunitaria de adaptación tipo Th1, que es específico tumoral (Luo Y, Chen X, O'Donnell MA. Role of Th1 and Th2 cytokines in BCG-induced IFN-gamma production: cytokine promotion and simulation of BCG effect. *Cytokine*. 2003; 21: 17-26), el conjugado de fosfolípido tiene potencial para aumentar la potencia terapéutica del agonista TLR7 no conjugado en cáncer de vejiga.

En resumen, estos resultados sugieren que la formulación de poloxámero y HPβCD de los fármacos con baja solubilidad puede ejercer propiedades favorables, tales como un perfil de liberación lenta y contacto superficial prolongado, mientras que se evitan posibles efectos adversos sistémicos. Las formulaciones de

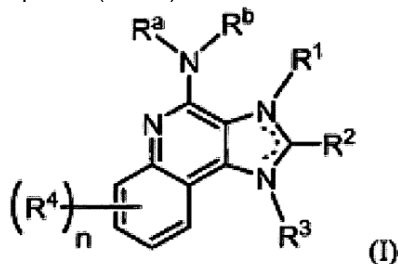
poloxámero-HP CD optimizadas pueden incrementar la dosis tolerada máxima de imiquimod y mejorar el cumplimiento del paciente.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica comprende una imidazoquinolin(amina) y ácido láctico para su uso en el tratamiento de enfermedades de vejiga, caracterizada porque la imidazoquinolin(amina) en la composición farmacéutica se selecciona de un compuesto definido por uno de los siguiente grupos (a), (b) y (c):

a) 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;

b) un compuesto de imidazoquinolin(amina) seleccionado de la siguiente fórmula (I):



donde

R^1 , R^2 , y R^3 se seleccionan independientemente, en cada caso, de entre hidrógeno; cicloalquiloalquilo de tres, cuatro o cinco átomos de carbono; alquilo de cadena lineal o ramificada de uno a diez átomos de carbono y alquilo de cadena lineal o ramificada sustituido de uno a diez átomos de carbono, seleccionándose el sustituyente del grupo consistente en cicloalquilo de tres a seis átomos de carbono y cicloalquilo de tres a seis átomos de carbono sustituido con un alquilo lineal o ramificado de uno a cuatro átomos de carbono; fluoro- o cloroalquilo de uno a diez átomos de carbono y con uno o más átomos de flúor o cloro; alqueno lineal o ramificado de dos a diez átomos de carbono y alqueno lineal o ramificado de dos a diez átomos de carbono sustituido, donde el sustituyente se selecciona del grupo consistente en cicloalquilo de tres a seis átomos de carbono y cicloalquilo de tres a seis átomos de carbono sustituido con alquilo lineal o ramificado de uno a cuatro átomos de carbono; hidroxialquilo de uno a seis átomos de carbono; alcoxialquilo, donde la parte alcoxi tiene de uno a cuatro átomos de carbono y la parte alquilo tiene de uno a seis átomos de carbono; aciloxialquilo, donde la parte aciloxi es un alcanoiloxi de dos a cuatro átomos de carbono o benzoiloxi, y la parte alquilo tiene de uno a seis átomos de carbono, con la condición de que cualquier grupo alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, hidroxialquilo, alcoxialquilo o aciloxialquilo no tenga un átomo de carbono totalmente sustituido el carbono enlazado directamente al átomo de nitrógeno; bencilo; (fenil)etilo; y fenilo; donde el bencilo, (fenil)etilo o el sustituyente fenilo está opcionalmente sustituido en el anillo bencénico con uno o dos grupos seleccionados independientemente del grupo consistente en alquilo de uno a cuatro átomos de carbono, alcoxi de uno a cuatro átomos de carbono y halógeno, con la condición de que cuando el anillo bencénico esté sustituido con dos de tales grupos, entonces los grupos juntos no contienen más de seis átomos de carbono;

$-CHR_xR_y$, donde R_y es hidrógeno o un enlace carbono-carbono, con la condición de que cuando R_y sea hidrógeno R_x es alcoxi de uno a cuatro átomos de carbono, hidroxialcoxi de uno a cuatro átomos de carbono, 1-alquino de dos a diez átomos de carbono, tetrahidropirano, alcoxialquilo, donde la parte alcoxi tiene de uno a cuatro átomos de carbono y la parte alquilo tiene de uno a cuatro átomos de carbono, 2-, 3-, o 4-piridilo, y con la condición además de que cuando R_y sea un enlace carbono-carbono, R_y y R_x juntos forman un grupo tetrahidrofuranilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo consistente en hidroxilo o hidroxialquilo de uno a cuatro átomos de carbono;

alquilo de cadena lineal o ramificada de uno a ocho átomos de carbono, hidroxialquilo lineal o ramificado de uno a seis átomos de carbono, morfolinmetilo, bencilo, (fenil)etilo y fenilo, pudiendo el bencilo, (fenil)etilo o el sustituyente fenilo estar opcionalmente sustituido en el anillo bencénico con un grupo seleccionado del grupo consistente en metilo, metoxi o halógeno;

$-C(R_S)(R_T)(X)$, donde R_S y R_T se seleccionan independientemente del grupo consistente en hidrógeno, alquilo de uno a cuatro átomos de carbono, fenilo y fenilo sustituido, donde el sustituyente se selecciona del grupo consistente en alquilo de uno a cuatro átomos de carbono, alcoxi de uno a cuatro átomos de carbono y halógeno; X es alcoxi de uno a cuatro átomos de carbono, alcoxialquilo donde la parte alcoxi tiene de uno a cuatro átomos de carbono y la parte alquilo tiene de uno a cuatro átomos de carbono, haloalquilo de uno a cuatro átomos de carbono, alquilamido donde el grupo alquilo tiene de uno a cuatro átomos de carbono, amino, amino sustituido, donde el sustituyente es alquilo o hidroxialquilo de uno a cuatro átomos de carbono, azido, alquiltio de uno a cuatro átomos de carbono, o morfolinálquilo donde la parte alquilo tiene de uno a cuatro átomos de carbono;

R_4 es hidrógeno, alquilo(C_{1-8}), alcoxi(C_{1-8}) o halógeno;

n es 1, 2, 3, ó 4;

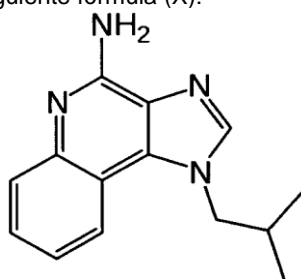
R^a y R^b en cada caso independientemente es hidrógeno, alquilo(C₁-C₆), hidroxialquilo(C₁-C₆), aminoalquilo(C₁-C₆), aminosulfonilo, alcanilo(C₁-C₆), arilo o bencilo, todos ellos opcionalmente sustituidos con uno o más grupos amino; o

5 R^a y R^b junto con el nitrógeno al cual se enlazan forman un grupo pirrolidino, piperidino o morfolino; las líneas discontinuas en el anillo de cinco miembros de la fórmula (I) anterior denota un enlace opcional que une un nitrógeno del anillo de cinco miembros al carbono que está entre los dos nitrógenos del anillo de cinco miembros y, cuando el enlace está presente, o bien R¹ o bien R³ no está;

10 siempre que R^a y R^b juntos permitan la formación de un ión amonio cuaternario ya sea en el nitrógeno del elemento de estructura central N(R^a)(R^b) o por cualquier ión amonio cuaternario que se proporcione por R^a y/o R^b;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

15 c) imiquimod, que tiene la fórmula específica 1-isobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina, seleccionado de la siguiente fórmula (X):



(X);

20 2. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, caracterizada porque además comprende al menos un agente termo-sensible, seleccionándose el al menos un agente termo-sensible de entre quitosano o de un copolímero de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (también llamado PEO-PPO-PEO o poloxámero).

25 3. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizada porque además comprende ácido láctico en una concentración de 0,025M a 0,200M, preferentemente en una concentración de 0,025M a 0,100M o en una concentración de 0,100M a 0,200M o en una concentración de 0,075 a 1,125M.

30 4. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque comprende imidazoquinolin(amina) en una cantidad del 0,005% (p/v) al 5% (p/v), incluyendo una cantidad del 0,01% (p/v) al 5% (p/v), una cantidad del 0,1% (p/v) al 4% (p/v), una cantidad del 0,1% (p/v) al 3% (p/v), una cantidad del 0,2% (p/v) al 2% (p/v), una cantidad del 0,2% (p/v) al 1% (p/v), una cantidad del 0,5% (p/v) al 1% (p/v) o una cantidad del 0,1% (p/v) al 1% (p/v).

35 5. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque:

40 i) la composición farmacéutica además comprende una o más ciclodextrinas seleccionadas de entre α -ciclodextrinas, β -ciclodextrinas, γ -ciclodextrinas, δ -ciclodextrinas y ϵ -ciclodextrinas, preferentemente de β -ciclodextrinas, incluyendo hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD); en particular comprendiendo las ciclodextrinas en una cantidad del 0,1% (p/v) a 30% (p/v), típicamente en una cantidad del 1% (p/v) al 20% (p/v), preferiblemente en una cantidad del 2% (p/v) al 20% (p/v), más preferiblemente en una cantidad del 5% (p/v) al 20% (p/v), aún más preferiblemente en una cantidad del 5% (p/v) al 15% (p/v), y más preferiblemente en una cantidad del 10% (p/v) al 15% (p/v) o en una cantidad del 2% (p/v) al 6% (p/v) y/o

50 ii) la composición farmacéutica comprende al menos un agente termosensible, seleccionándose el al menos un agente termosensible de quitosano, o de un copolímero de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (también llamado PEO-PPO-PEO o poloxámero), y donde el al menos un agente termosensible tiene una "temperatura de solución crítica inferior" específica (LCST) medida a presión ambiente en un intervalo de 15°C a 35°C, más preferiblemente en un intervalo de 15°C a 30°C, aún más preferiblemente en un intervalo de 15°C ó 20°C ó 25°C a 30°C, más preferiblemente en un intervalo de 15°C ó 20°C a 25°C.

6. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, caracterizada porque comprende el al menos un agente termosensible en una cantidad del 0,1% (p/v) al 40% (p/v), típicamente en una cantidad del 2% (p/v) al 30% (p/v), preferiblemente en una cantidad del 5% (p/v) al 30% (p/v), más preferiblemente en una cantidad del 10% (p/v) al 30% (p/v), y más preferiblemente en una cantidad del 10% (p/v) al 25% (p/v) o en una cantidad del 10% (p/v) al 20% (p/v); en particular donde cualquiera de dos de los agentes termosensibles están contenidos en la composición farmacéutica como una mezcla en una relación 1:20 a 20:1, incluyendo una relación 1:20, 2:20, 3:30, 4:20, 5:20, 6:20, 7:20, 8:20, 9:20, 10:20, 11:20, 12:20, 13:20, 14:20, 15:20, 16:20, 17:20, 18:20, 19:20, 20:20 (= 1:1), o en una relación 20:20, 19:20, 18:20, 17:20, 16:20, 15:20, 14:20, 13:20, 12:20, 11:20, 10:20, 9:20, 8:20, 7:20, 6:20, 5:20, 4:20, 3:20, 2:20 o 1:20, o en un intervalo formado por cualquiera de dos de la relaciones de valores definidas.
7. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, caracterizada porque el al menos un agente termosensible es poloxámero 407 y/o poloxámero 188 o una mezcla de poloxámero 407 y poloxámero 188.
8. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 7, caracterizada porque:
- i) el al menos un agente termosensible es poloxámero 407 en una cantidad del 10% (p/v) al 25% (p/v) o en una cantidad del 12% (p/v) al 25% (p/v); en particular donde el al menos un agente termosensible es poloxámero 407 en una cantidad (total) del 17,5% (p/v)/(p/p) al 22,5% (p/v)/(p/p), preferiblemente en una cantidad (total) del 17,5% (p/v)/(p/p), del 18,0% (p/v)/(p/p), del 18,5% (p/v)/(p/p), del 19,0% (p/v)/(p/p), del 19,5% (p/v)/(p/p), del 20,0% (p/v)/(p/p), del 20,5% (p/v)/(p/p), del 21,0% (p/v)/(p/p), del 21,5% (p/v)/(p/p), del 22,0% (p/v)/(p/p) o del 22,5% (p/v)/(p/p), o cualquier intervalo formado por cualquiera de dos de estos valores;
- ii) el al menos un agente termosensible es una mezcla de poloxámero 407 y poloxámero 188 en una cantidad (total) del 22,5% (p/v)/(p/p) al 27,5% (p/v)/(p/p), más preferiblemente en una cantidad total del 25% (p/v)/(p/p), y en una relación Poloxámero 407:Poloxámero 188 15:5, 16:4, 17:3, 18:2, 19:1 ó 20:1, o un intervalo formado por cualquiera de dos de estos valores de relación, más preferiblemente en una relación 9,5:0,5, 9:1, 8,5:1,5 o 8:2, o un intervalo formado por cualquiera de dos de estos valores de relación.
9. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada porque comprende ácido láctico en una concentración del 0,025 al 0,2M, preferiblemente en una concentración del 0,075 al 1,125 M, imidazoquinolin(amina) en una cantidad del 0,1% (p/v) al 1% (p/v), ciclodextrina en una cantidad del 2% (p/v) al 6% (p/v) y poloxámero 407 en una cantidad del 10% (p/v) al 25% (p/v), preferiblemente en una cantidad del 12% (p/v) al 25% (p/v).
10. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizada porque las enfermedades de la vejiga se seleccionan de cáncer de vejiga y cistitis.
11. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para el tratamiento intravesical de enfermedades de la vejiga, en particular donde las enfermedades de la vejiga son cáncer de vejiga y cistitis.
12. Uso de una composición farmacéutica tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades de la vejiga, incluyendo, cáncer de vejiga y cistitis, comprendiendo la administración de una composición farmacéutica tal como se define en las reivindicaciones 1 a 11 a un paciente que lo necesita.
13. Uso según la reivindicación 12, caracterizado porque la composición farmacéutica se administra intravesicalmente y/o porque las enfermedades de la vejiga son cistitis y cáncer de vejiga.

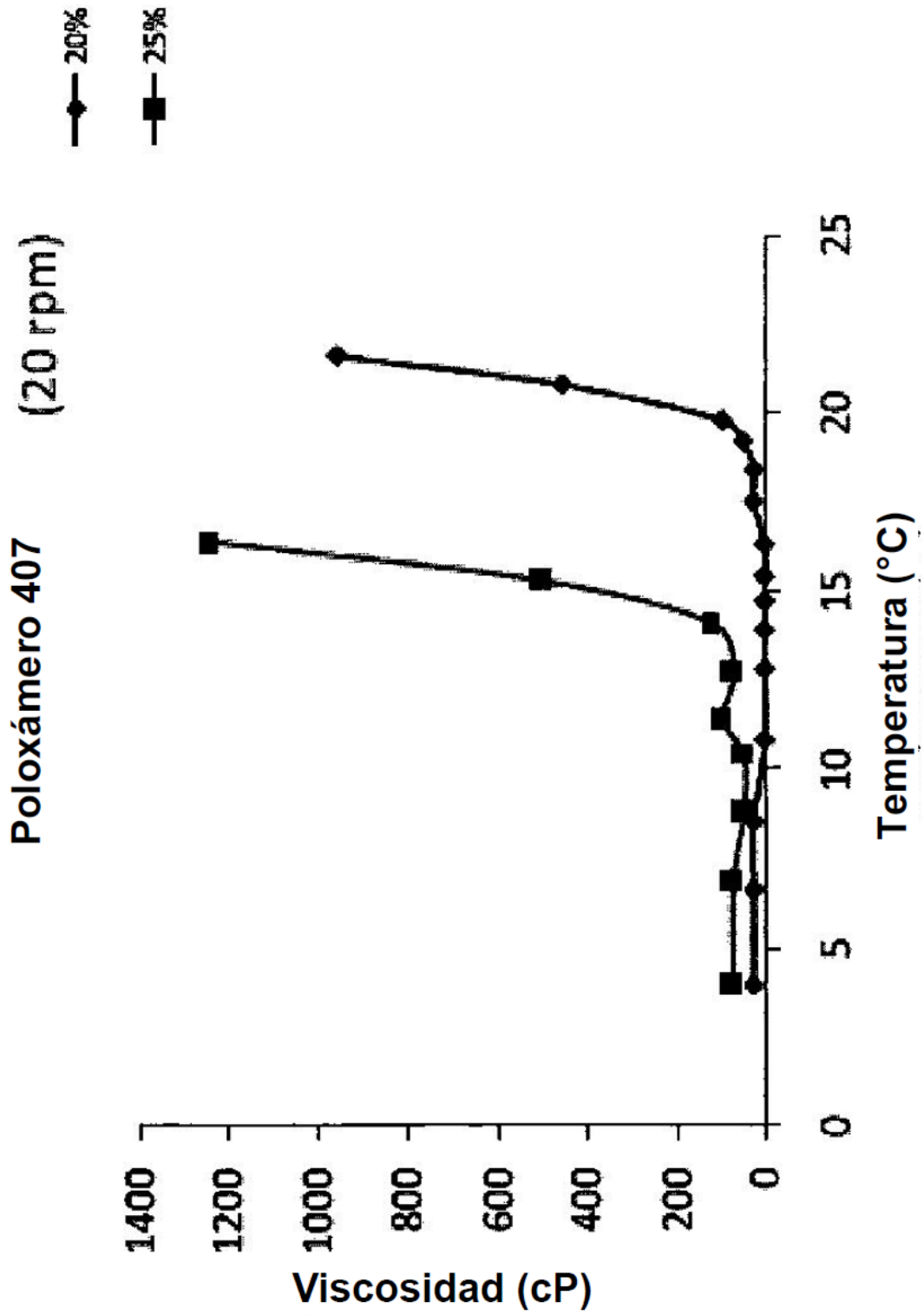


Figura 1

HP- β -CD-25% poloxámero 407 (20 rpm)
en agua

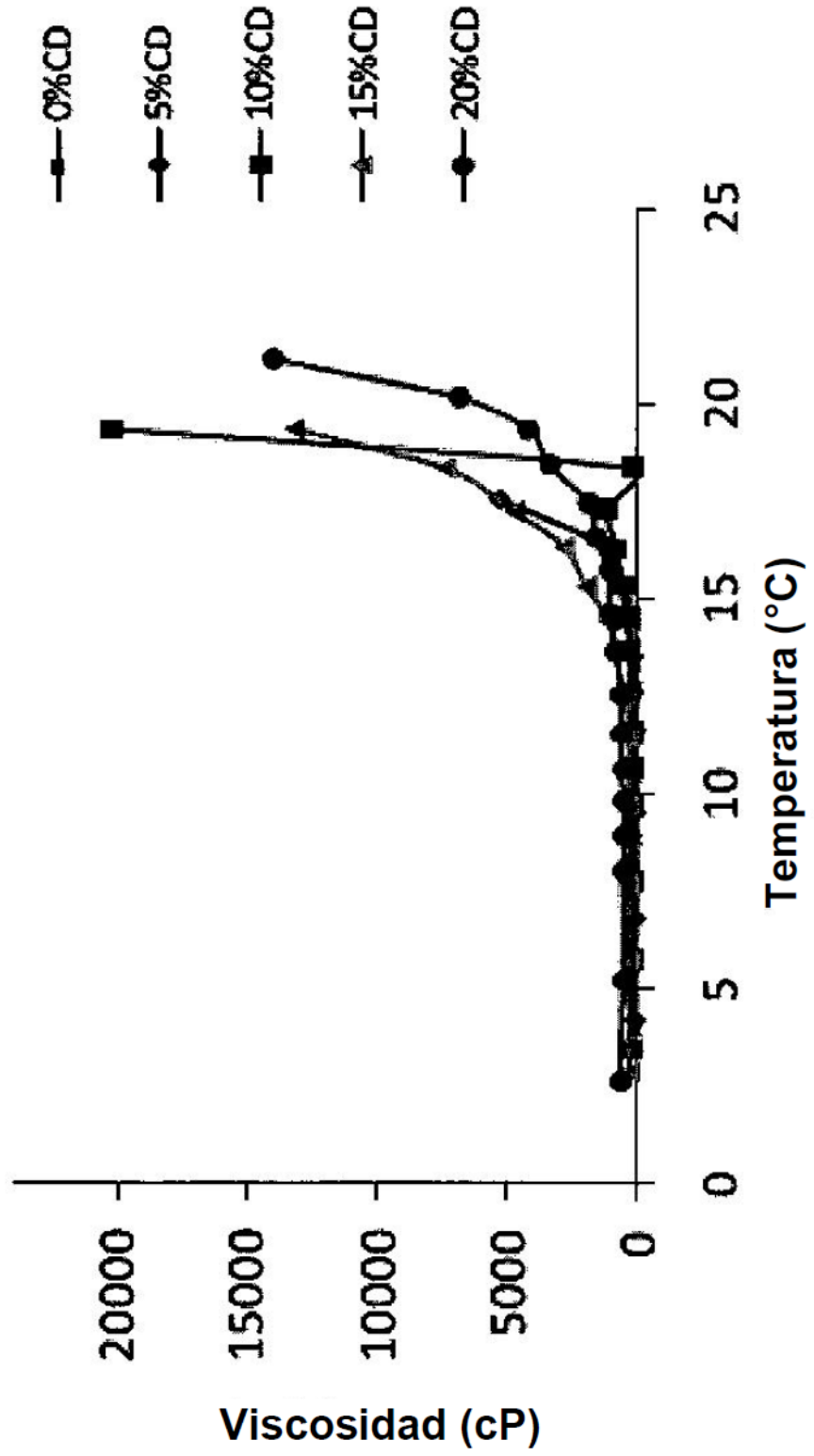


Figura 2

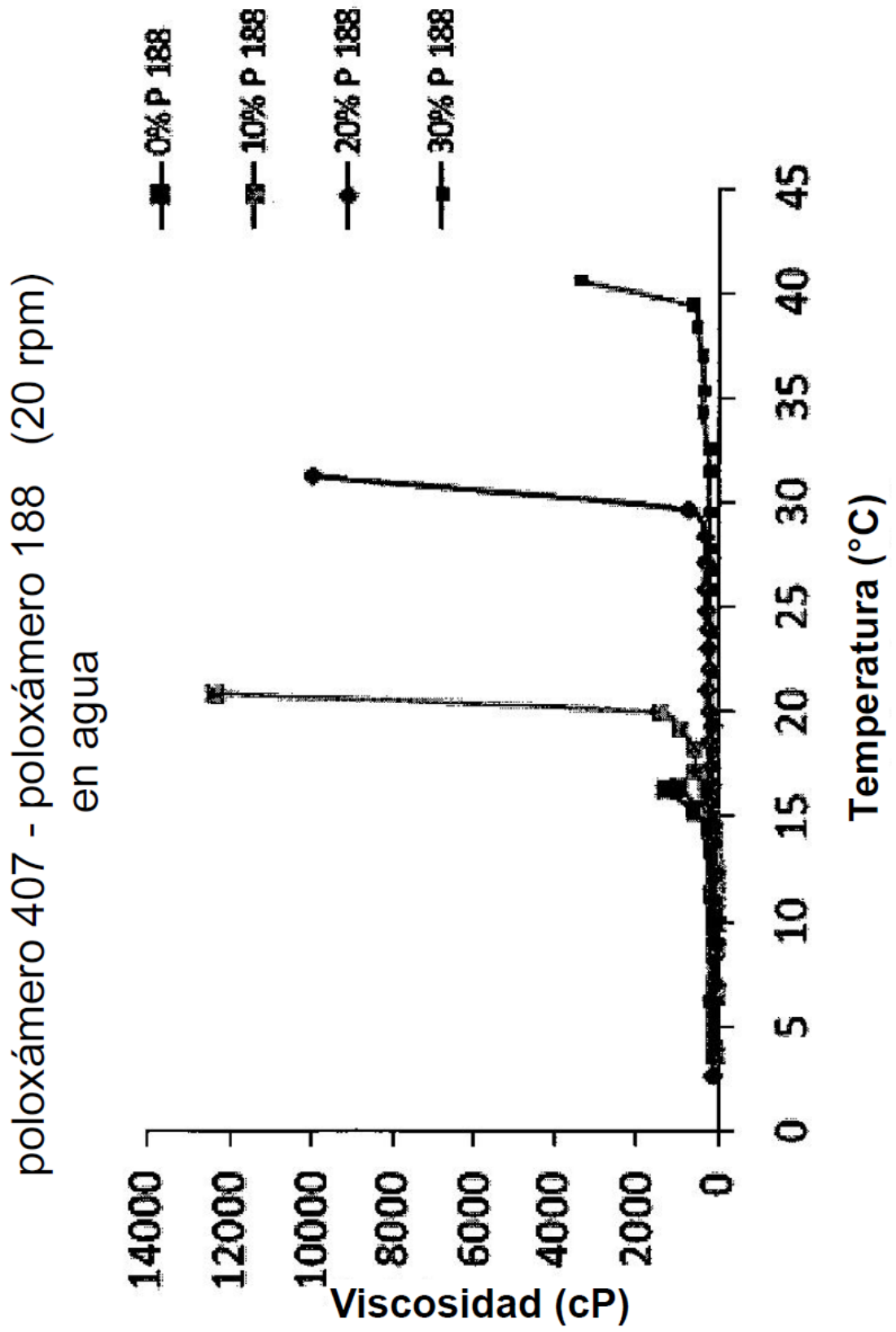


Figura 3

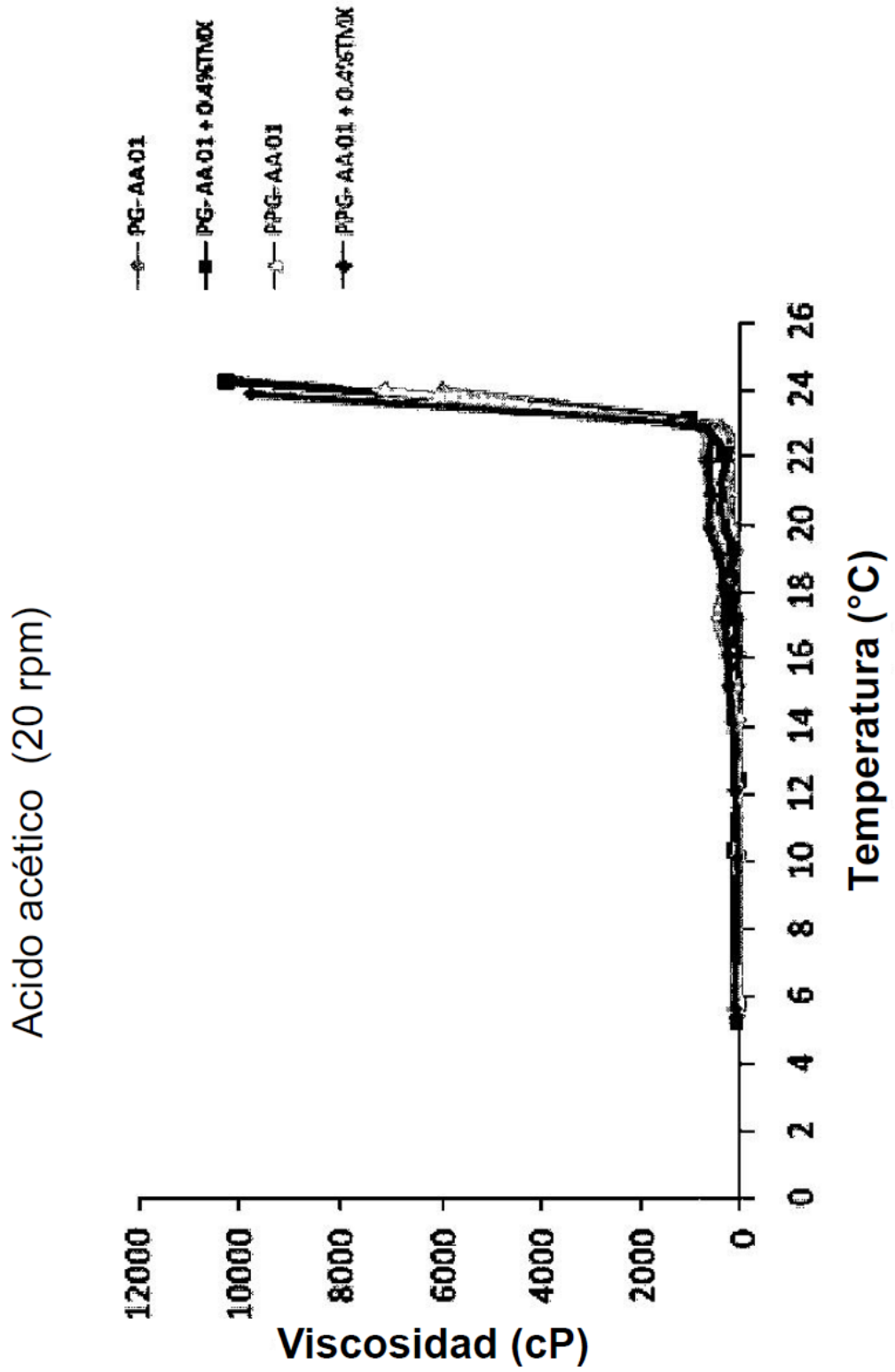


Figura 4

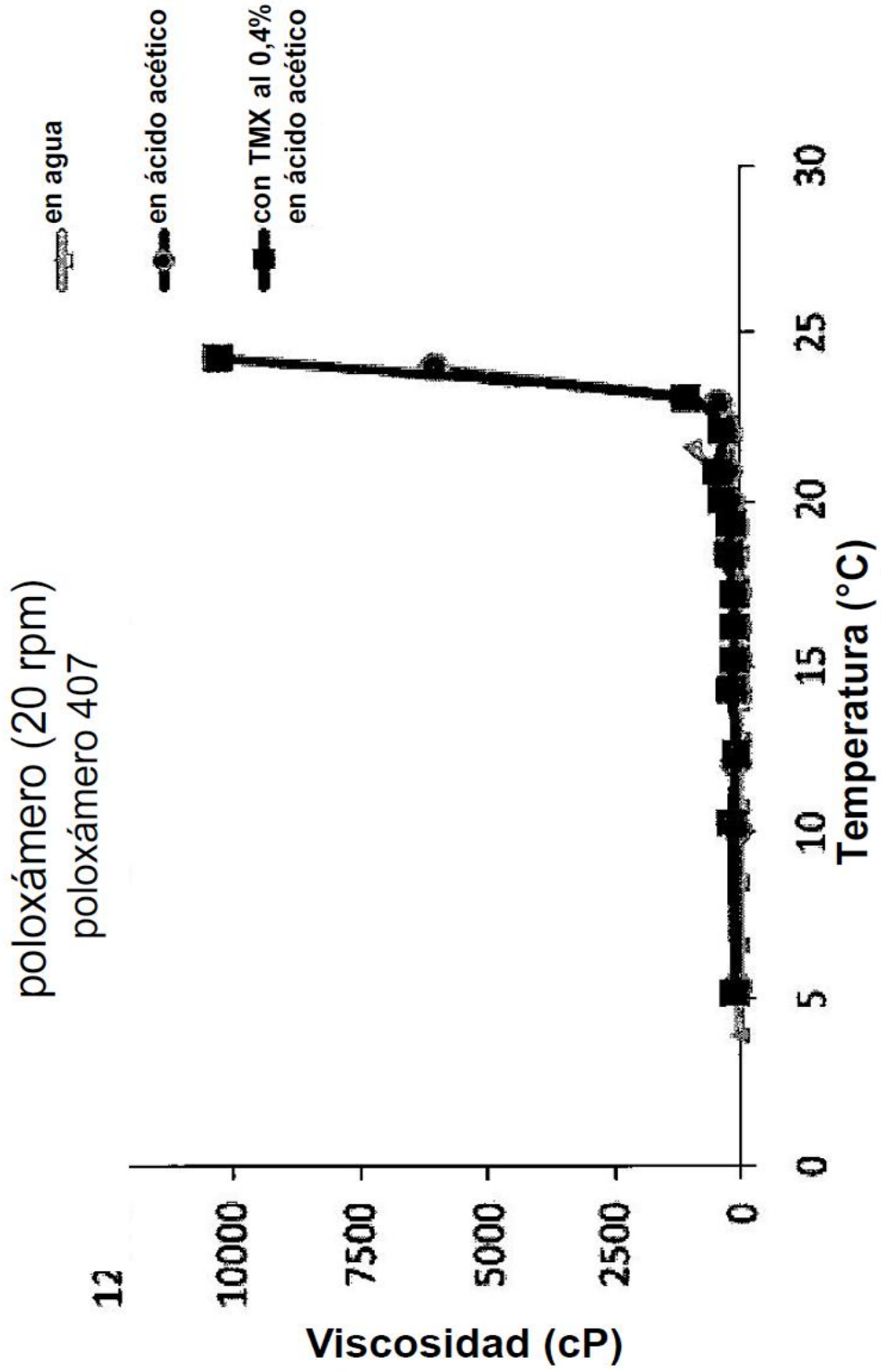


Figura 5

Mezcla de poloxámero (20 rpm)
(Poloxámero 407 / poloxámero 188)

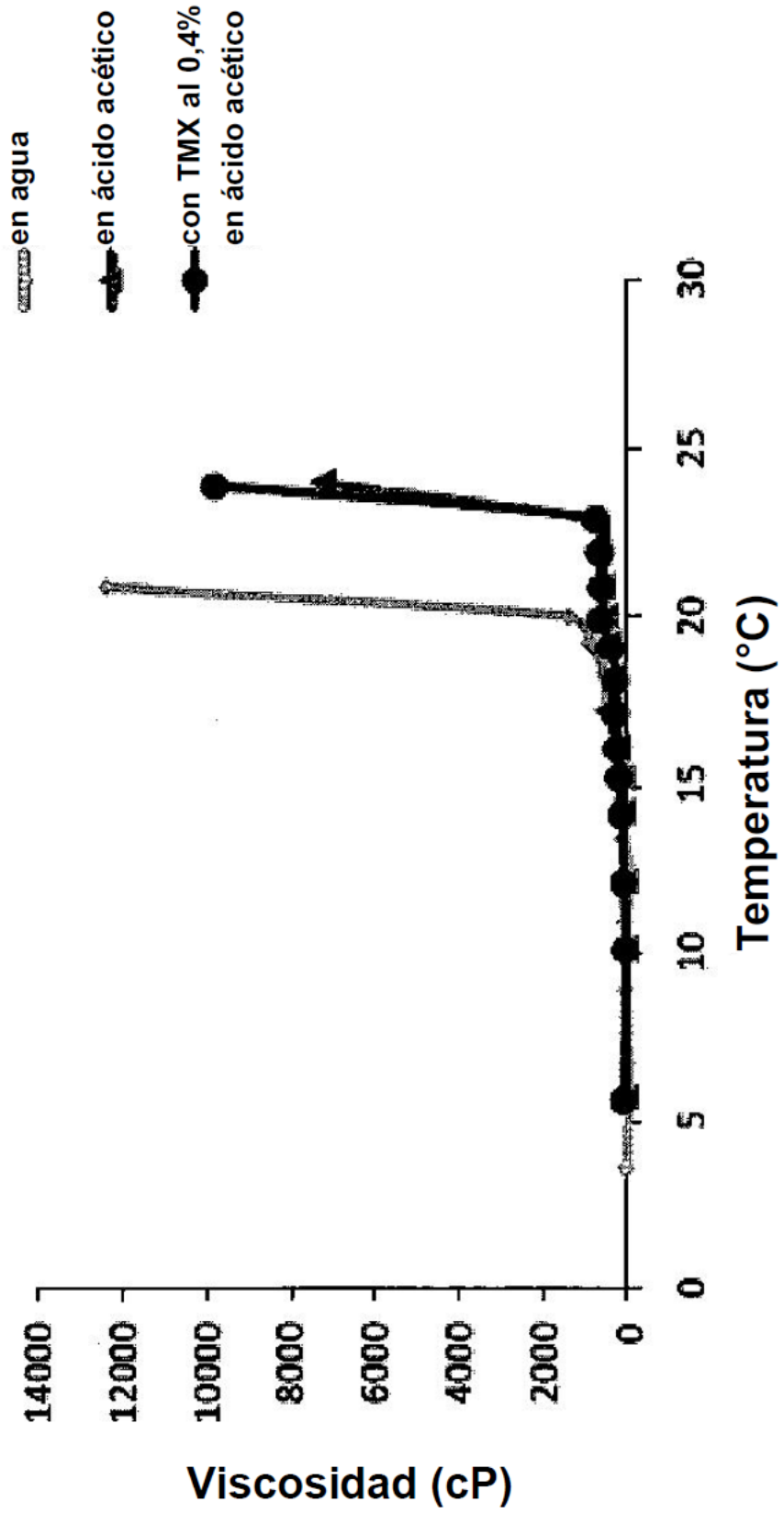


Figura 6

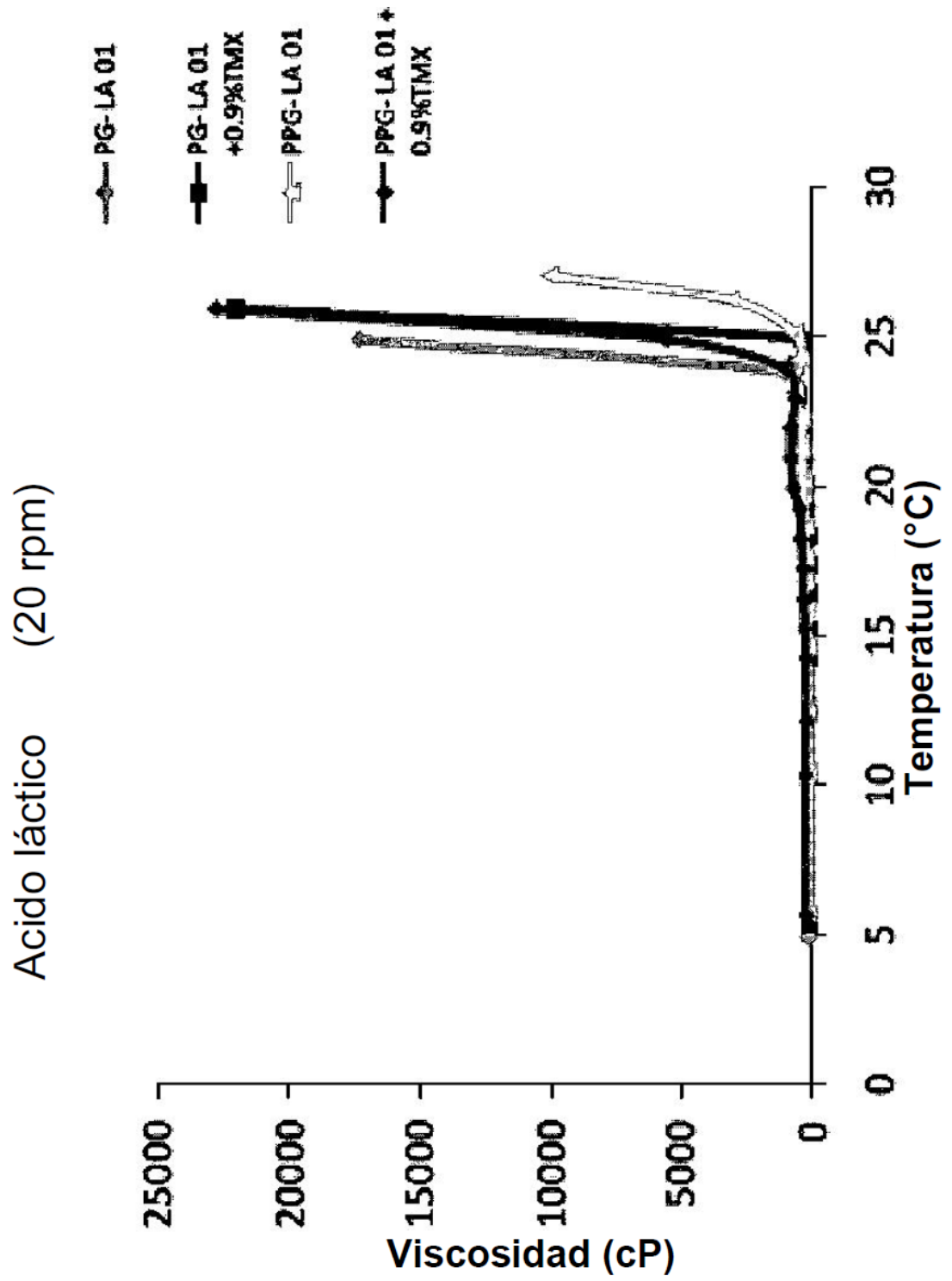


Figura 7

Poloxámero (20 rpm)
(poloxámero 407)

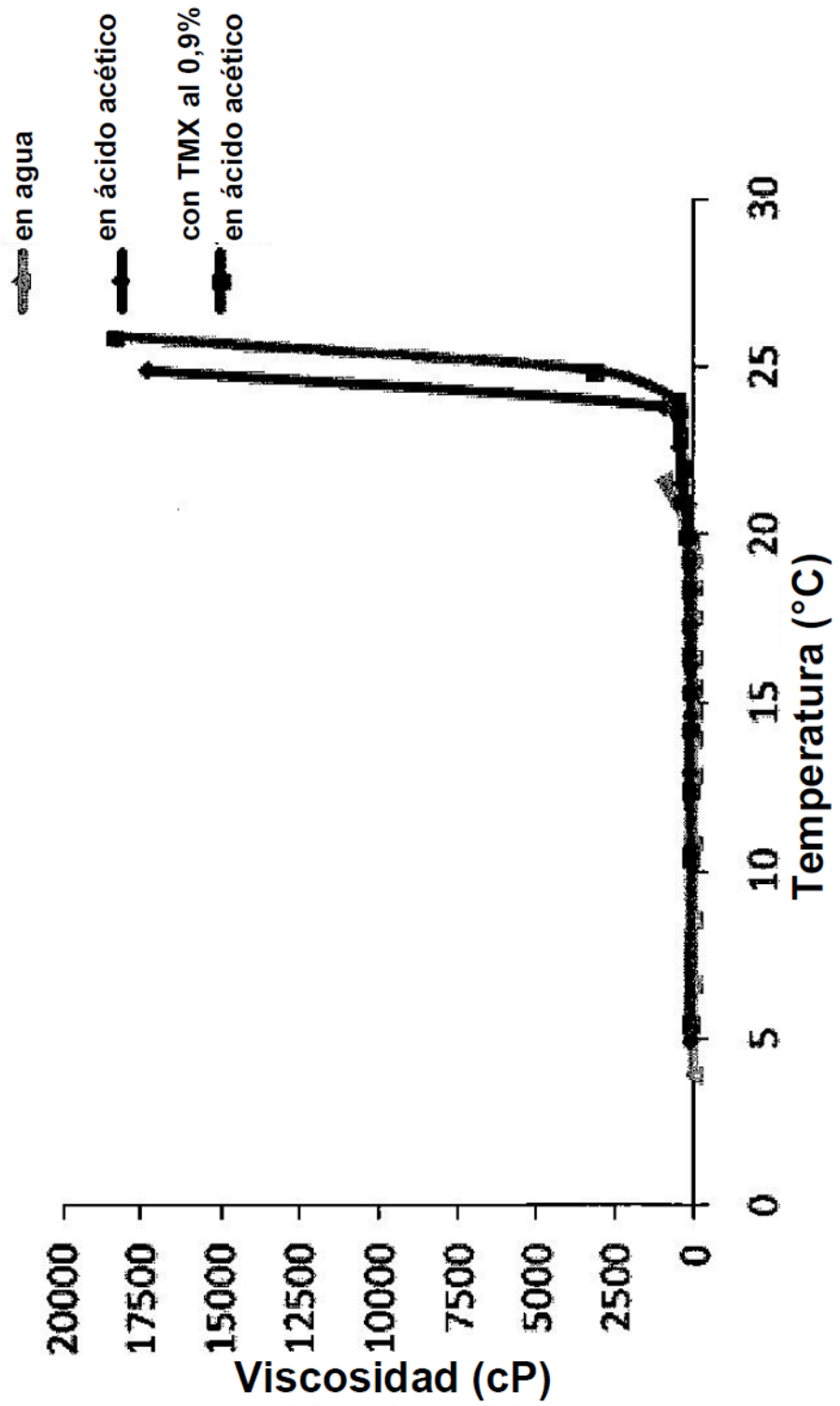


Figura 8

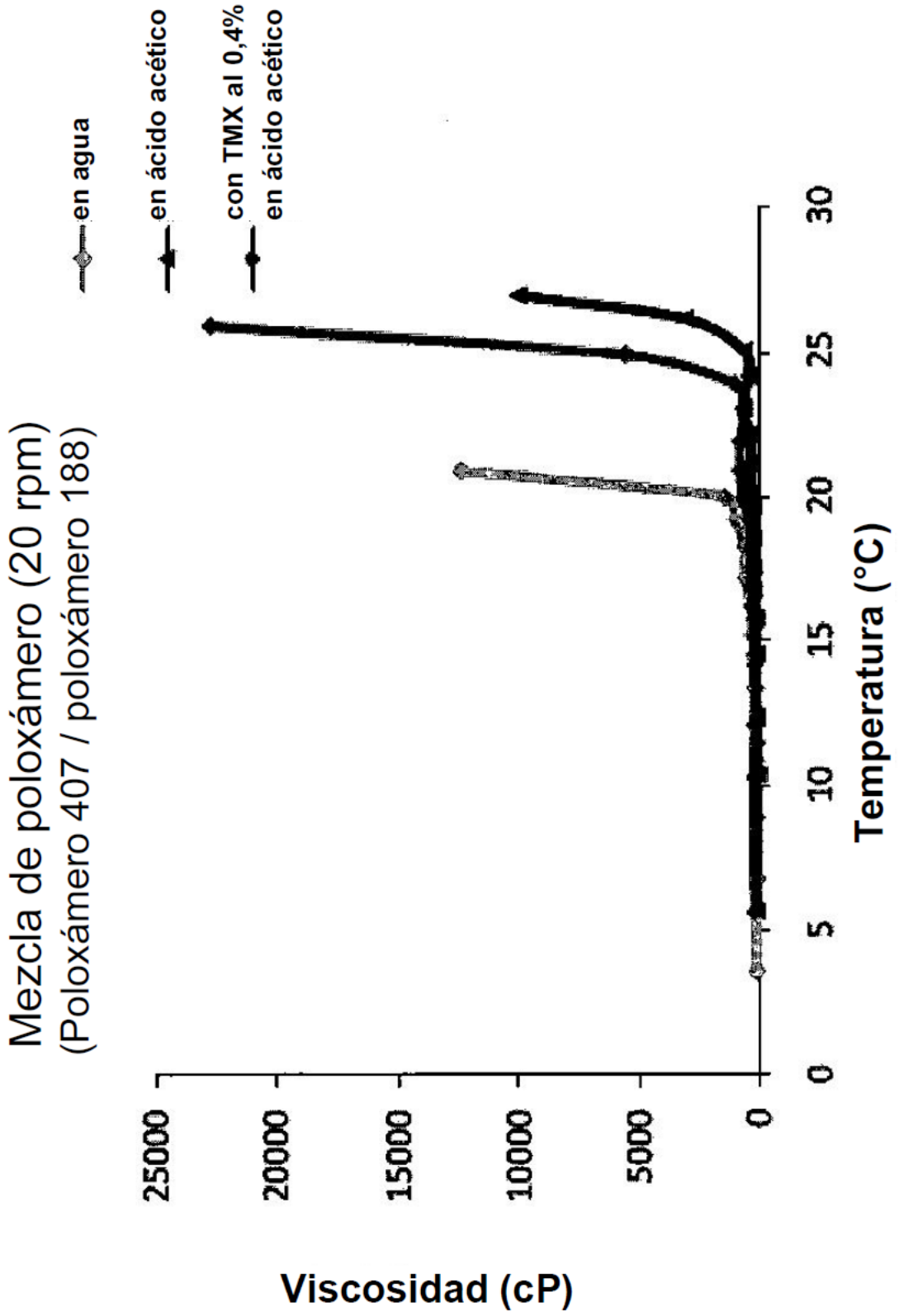


Figura 9

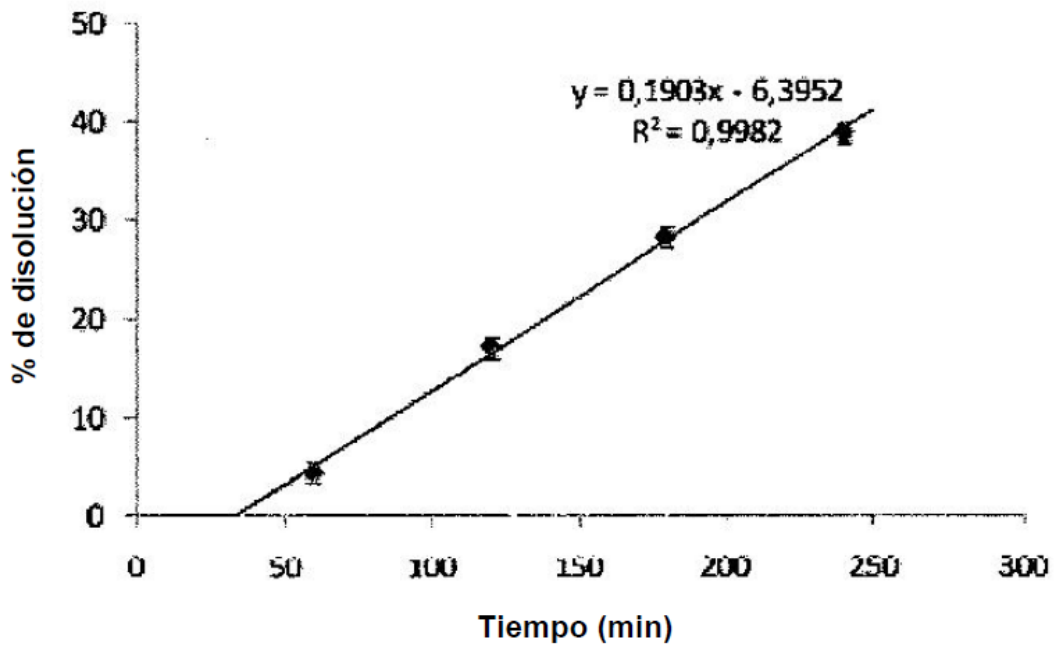
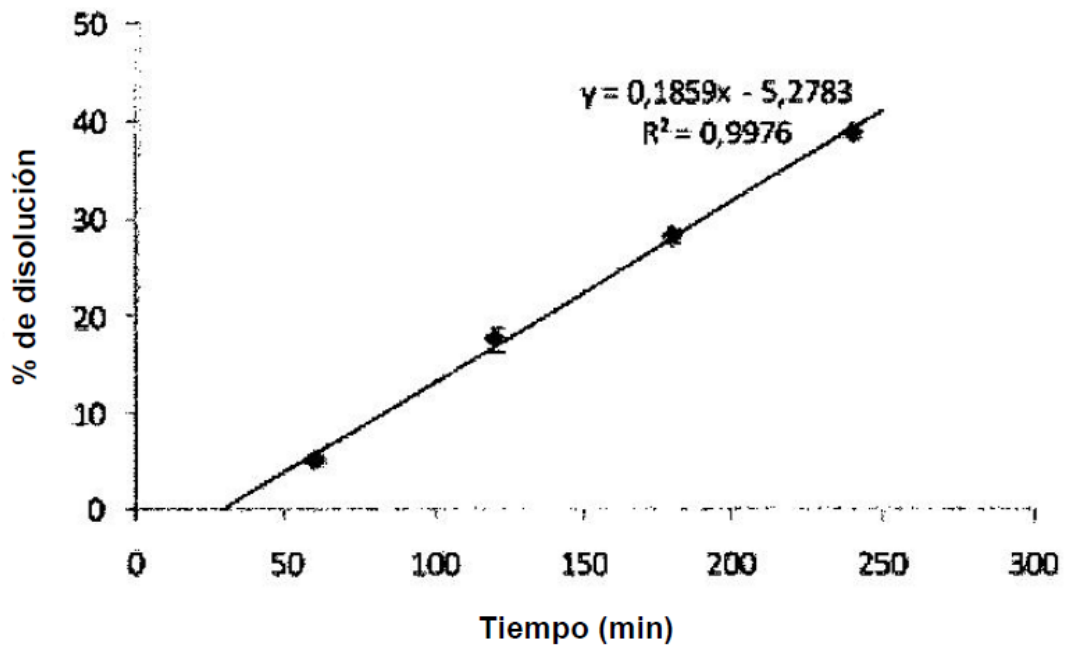


Figura 10

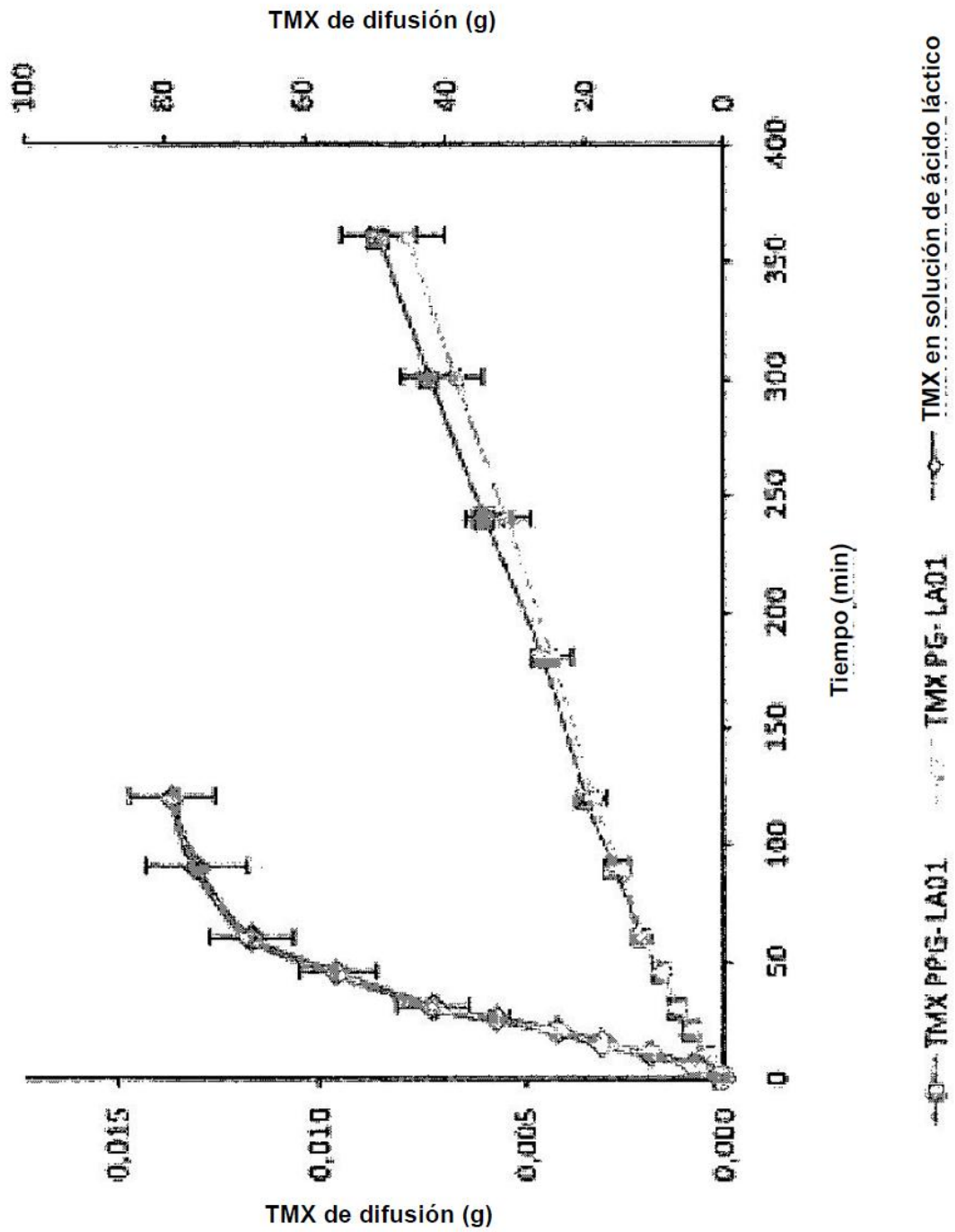


Figura 11

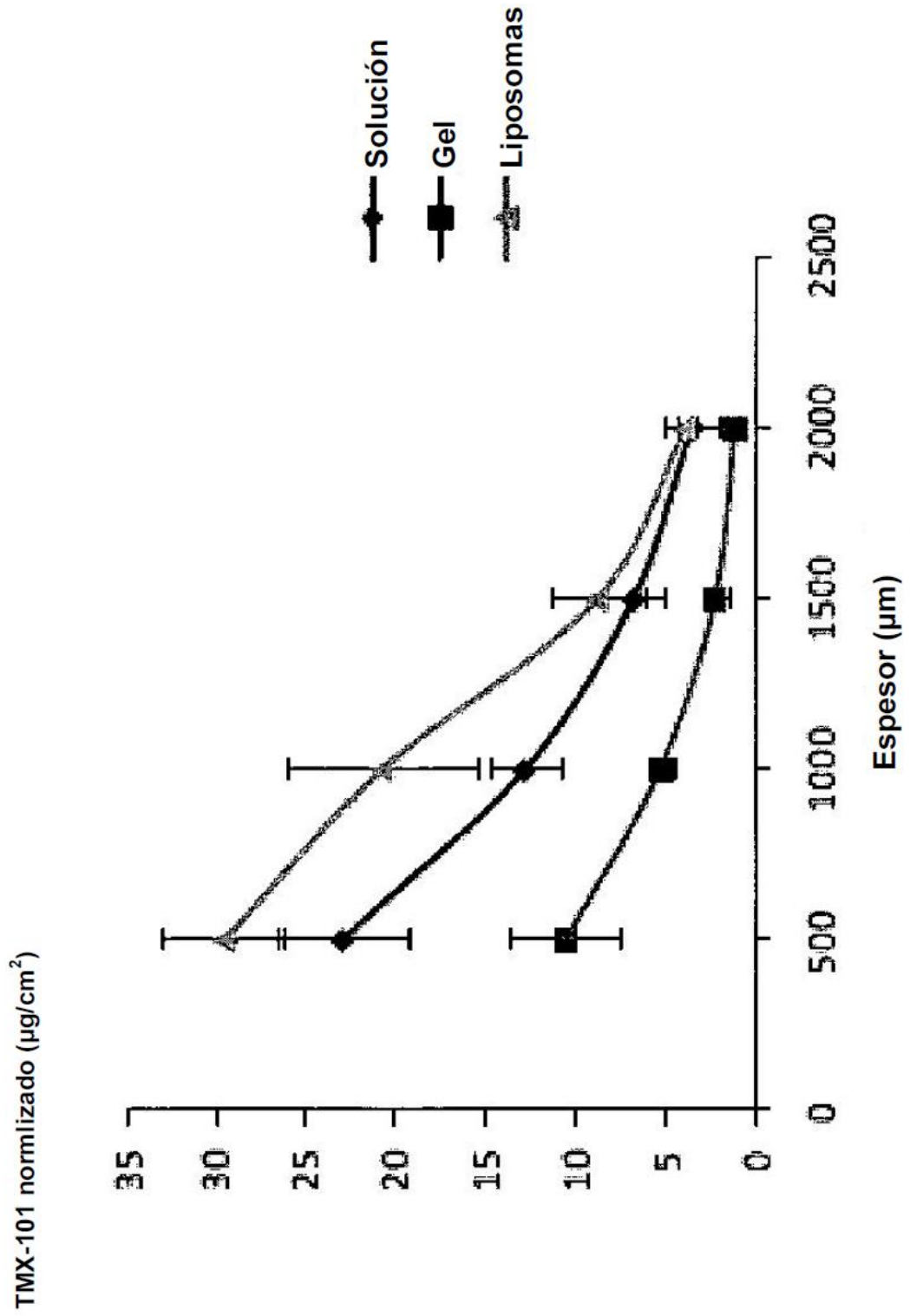


Figura 12

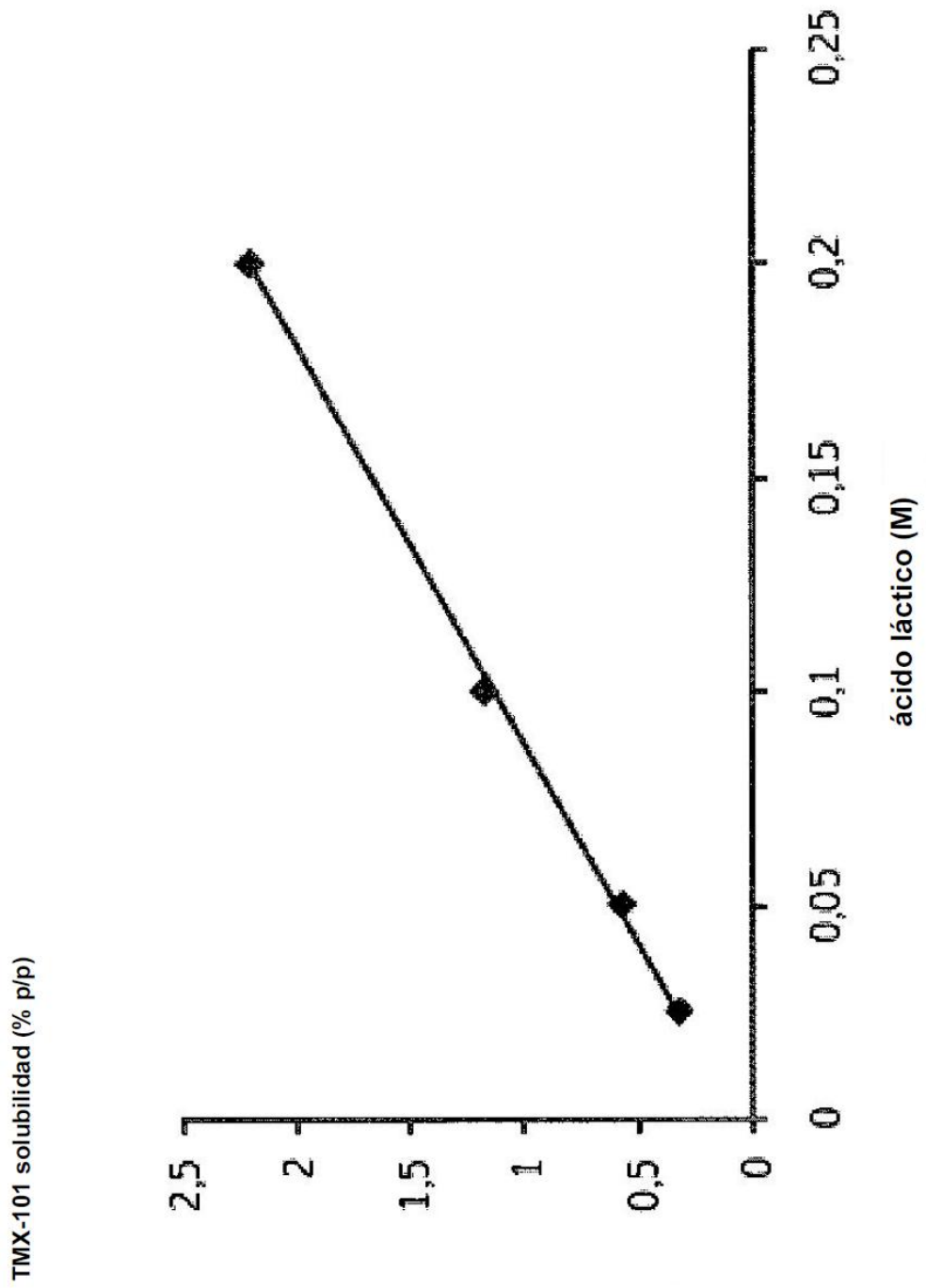


Figura 13

A



B

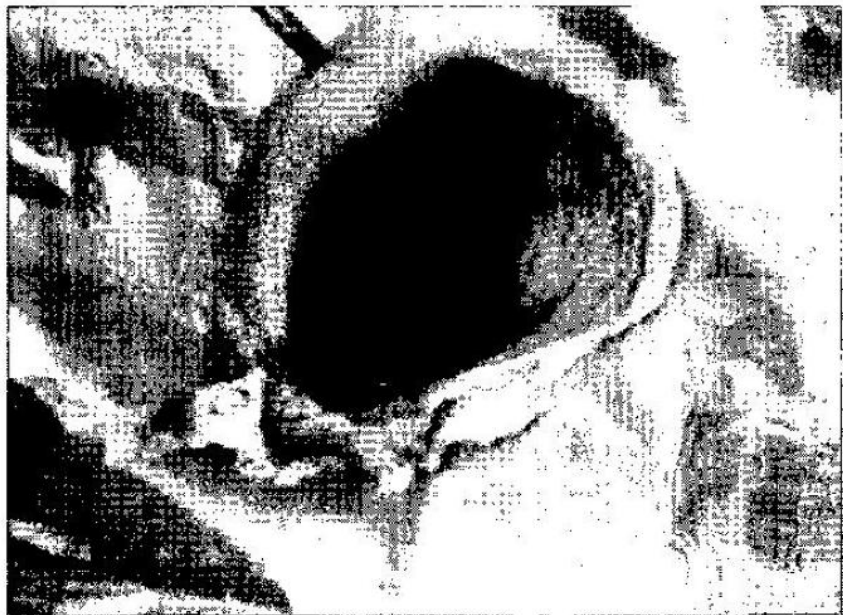


Figura 14

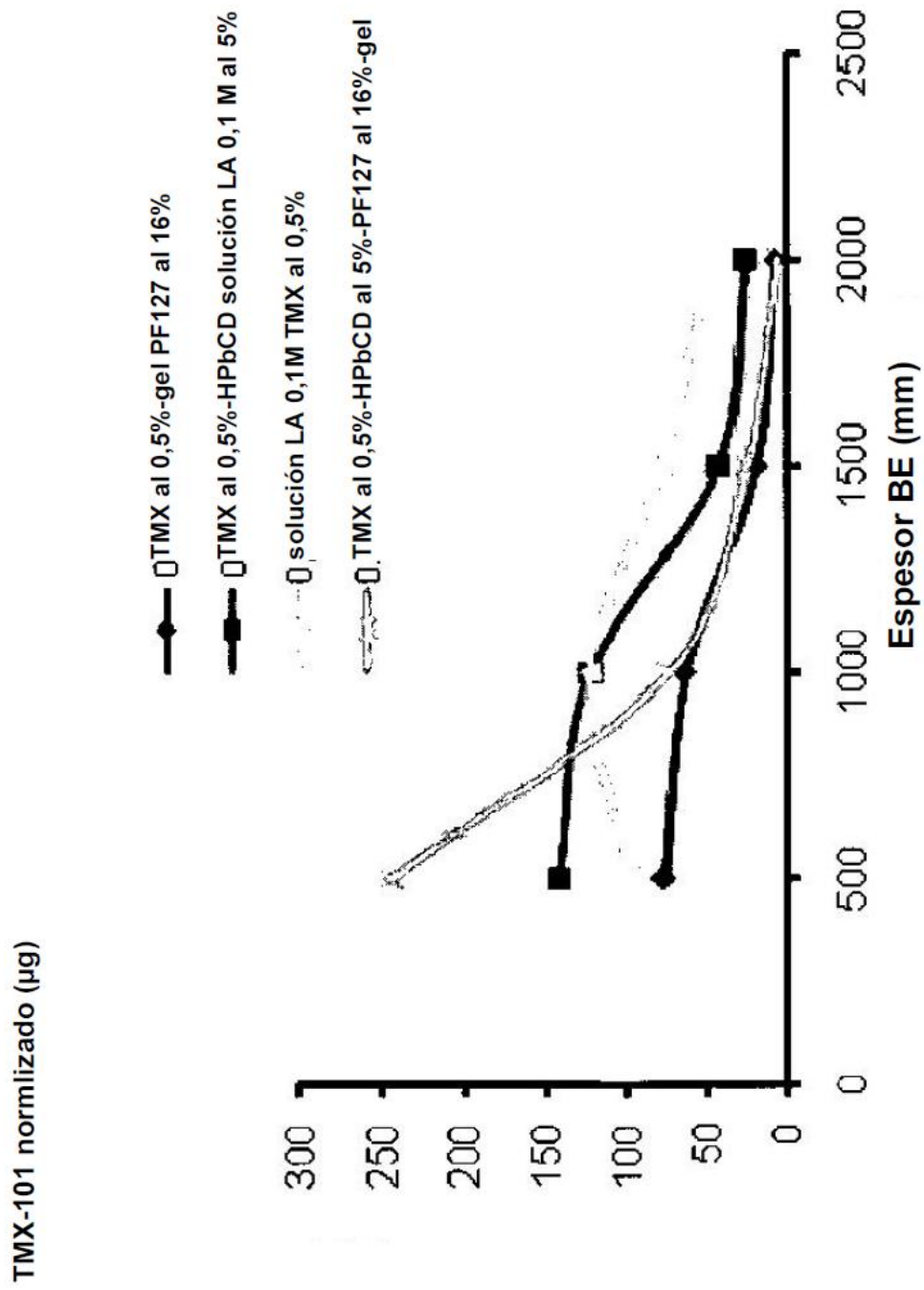


Figura 15

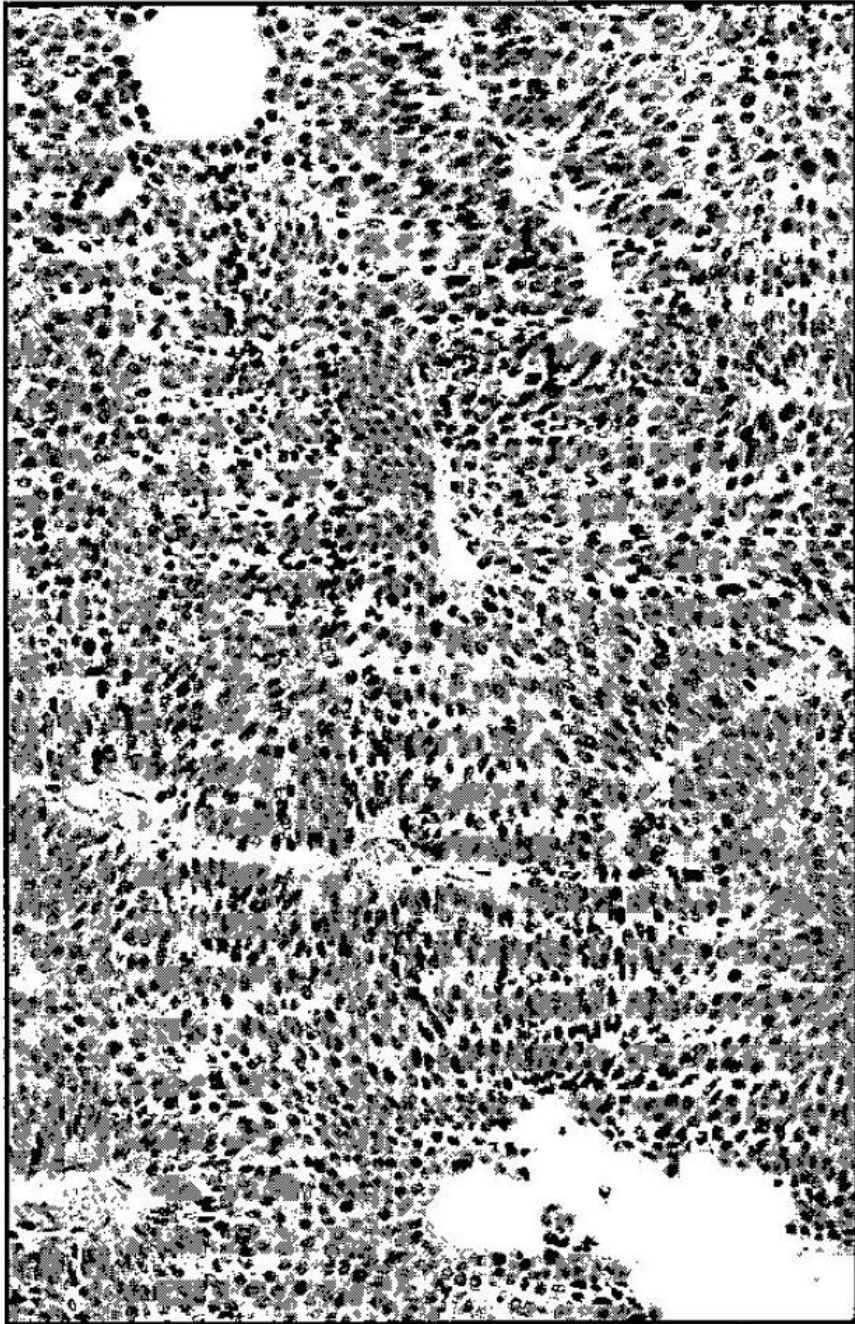


Figura 16



Figura 17

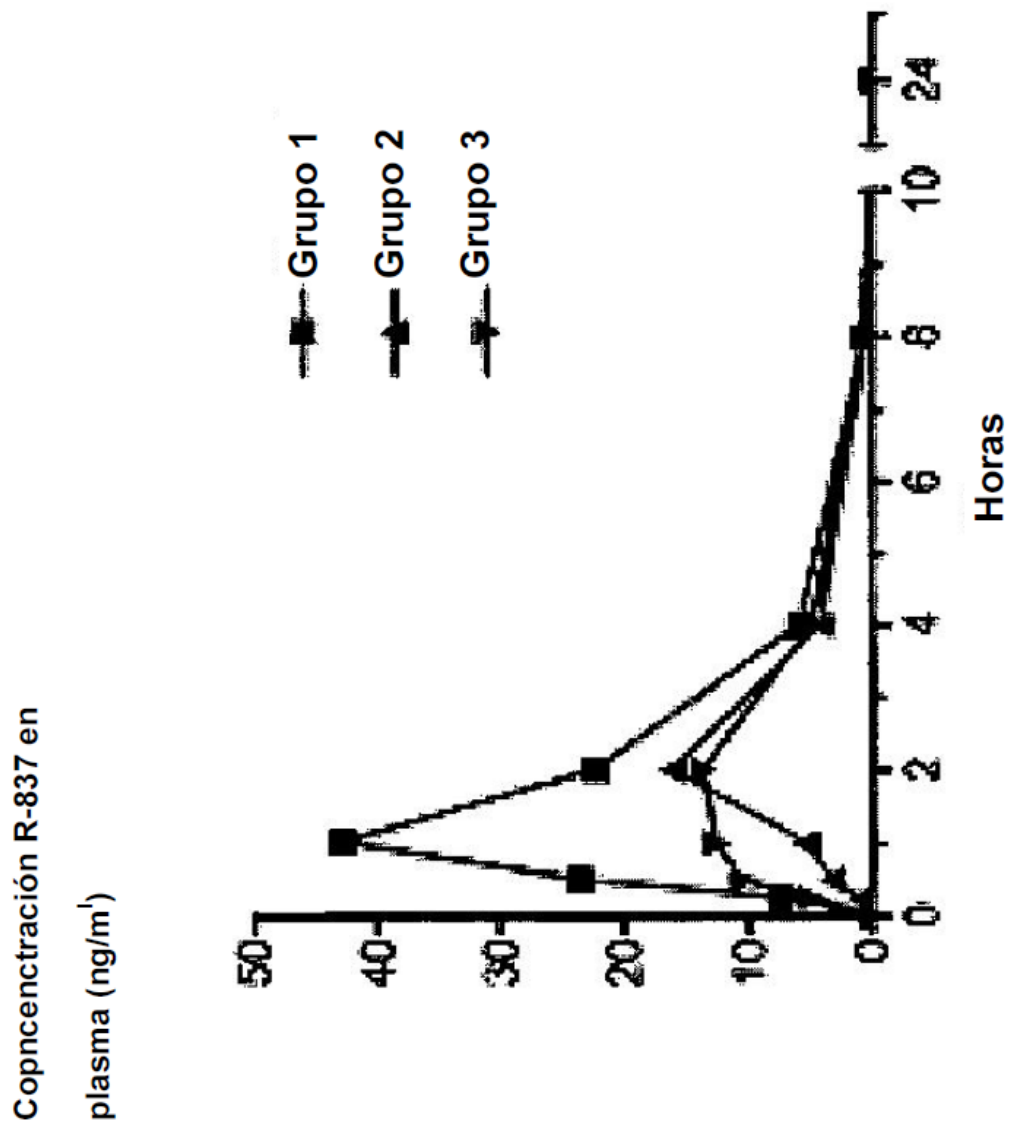


Figura 18



Figura 19



Figura 20



Figura 21

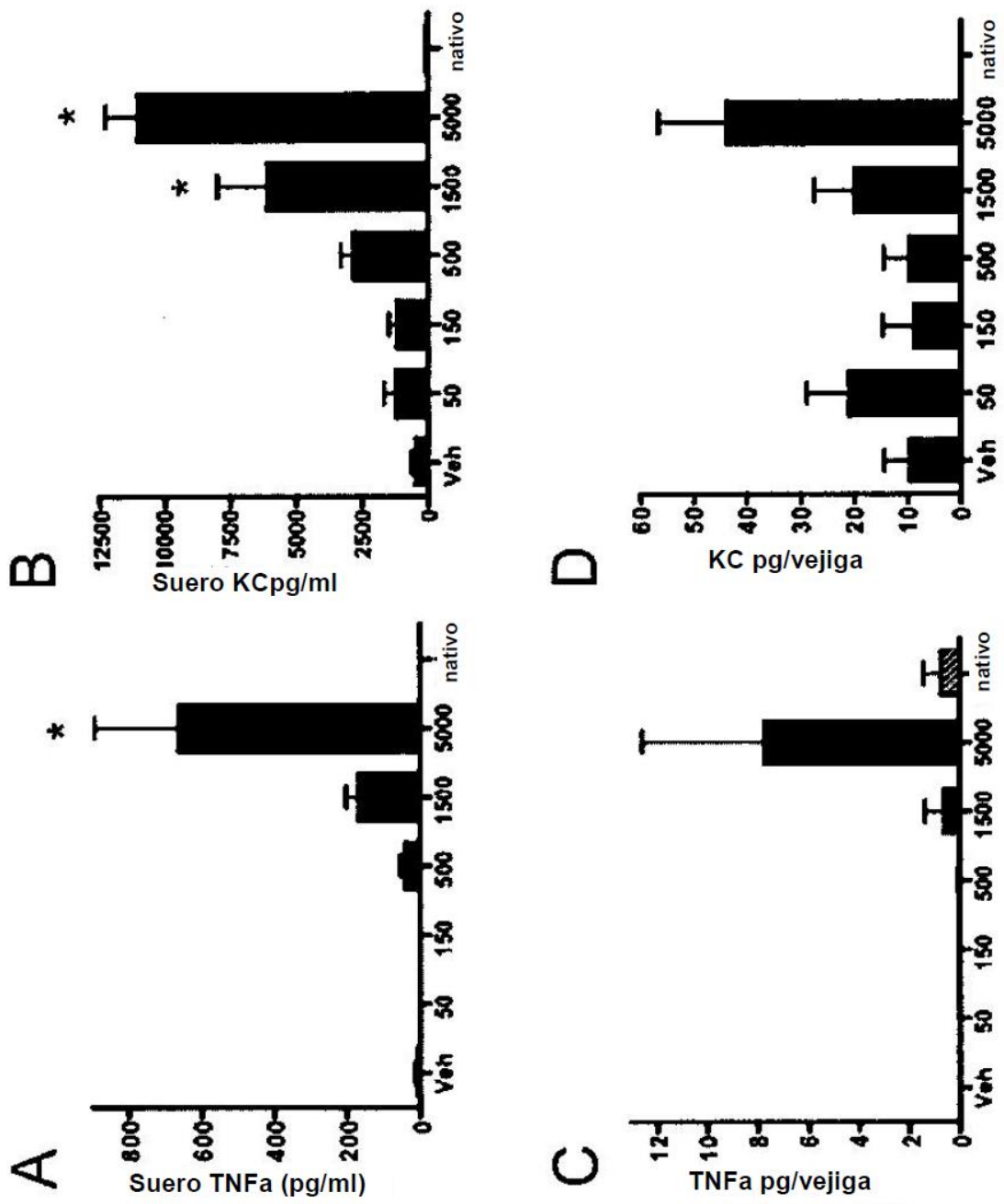


Figura 22

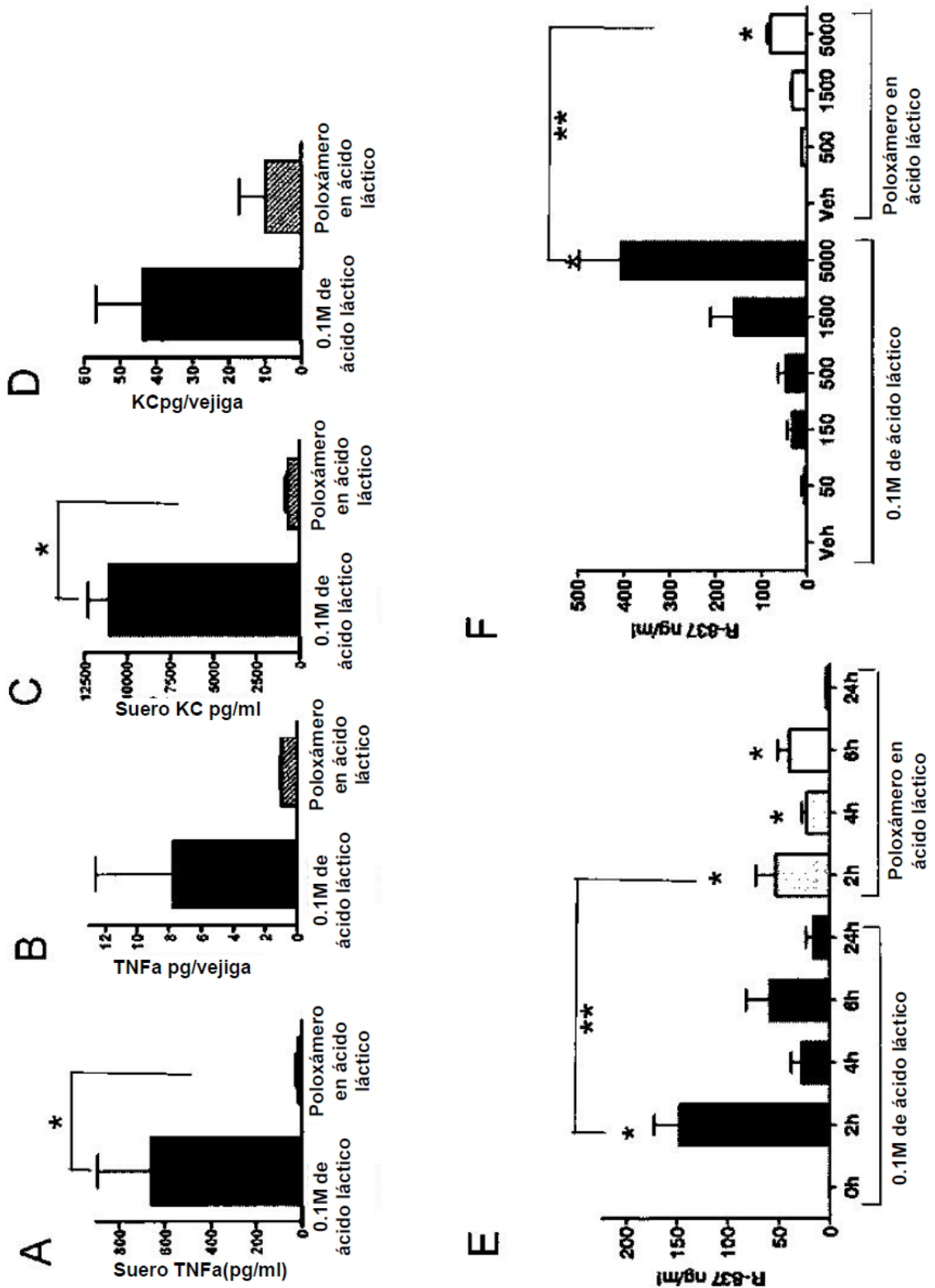


Figura 23

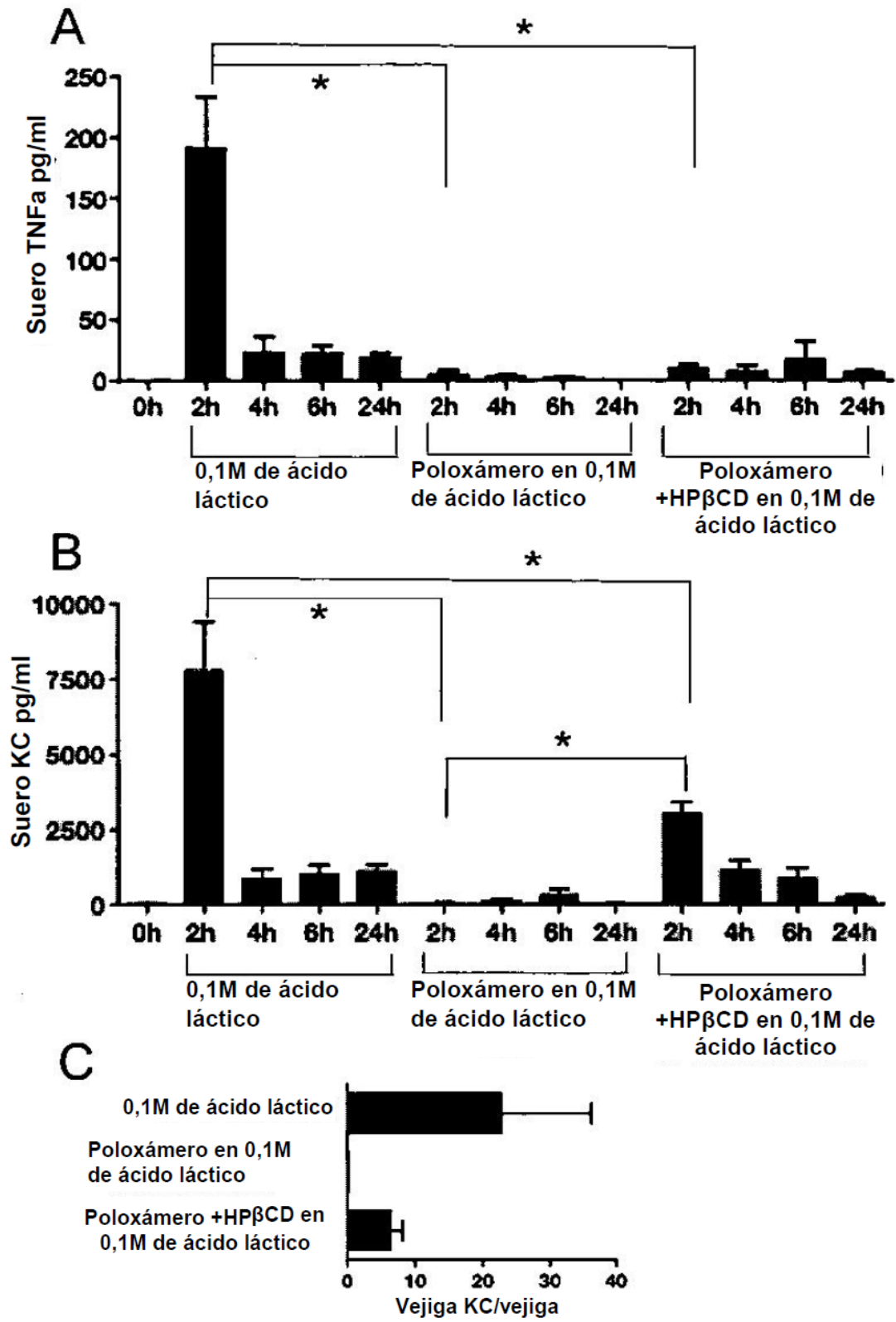


Figura 24

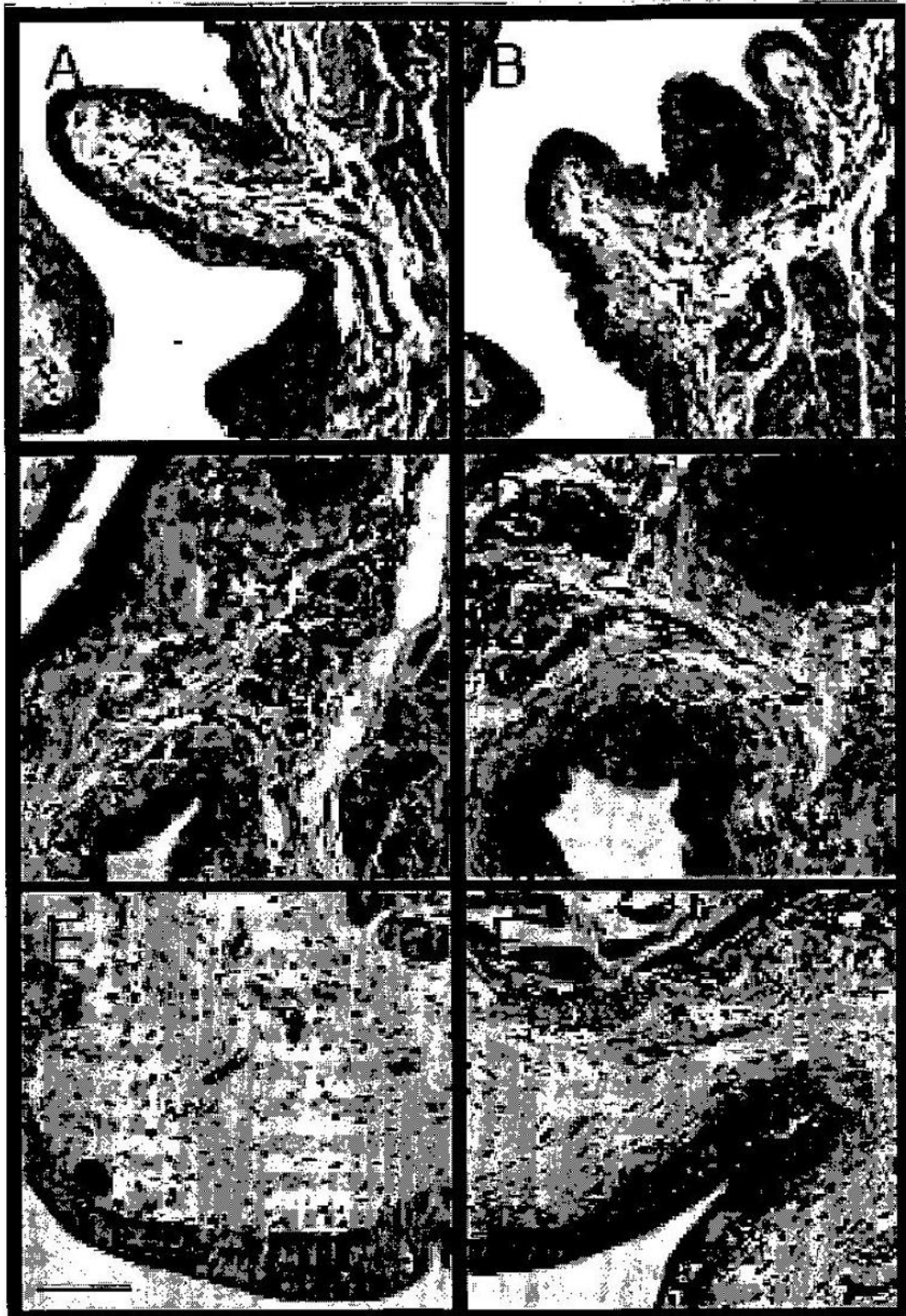


Figura 25

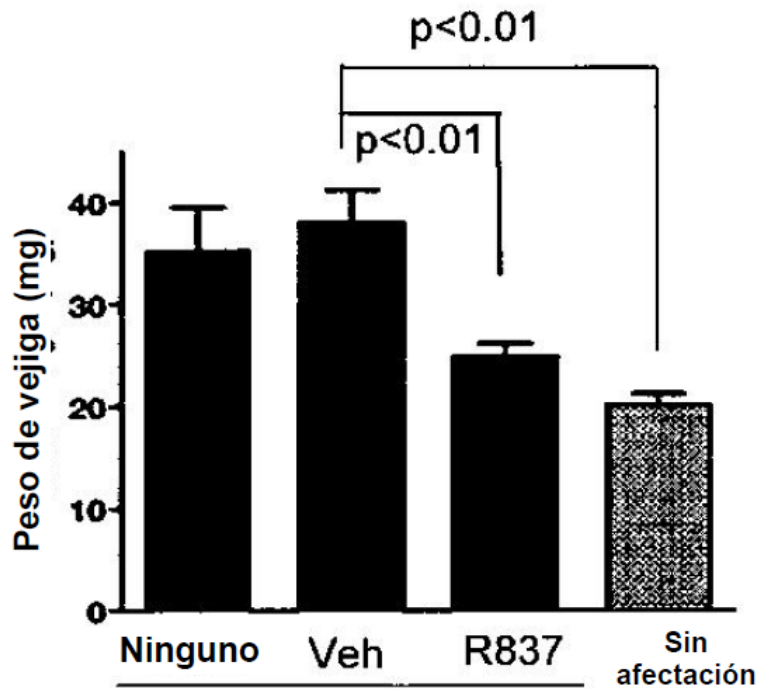


Figura 26