

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 640**

51 Int. Cl.:

A61K 47/24	(2006.01)
A61K 47/44	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)
A61K 9/107	(2006.01)
A61K 47/14	(2006.01)
A61K 31/44	(2006.01)
A61P 1/08	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.08.2010 PCT/US2010/045317**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **17.02.2011 WO11019911**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.08.2010 E 10808756 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016 EP 2464230**

54 Título: **Formulaciones intravenosas de rolapitant**

30 Prioridad:

14.08.2009 US 234129 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.04.2017

73 Titular/es:

**OPKO HEALTH, INC (100.0%)
4400 Biscayne Blvd.
Miami, FL 33137, US**

72 Inventor/es:

**WAN, JIANGSHENG;
GUPTA, PRANAV;
MONTEITH, DAVID y
BHATTACHARYA, SOUMENDU**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 609 640 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

Formulaciones intravenosas de rolapitant.

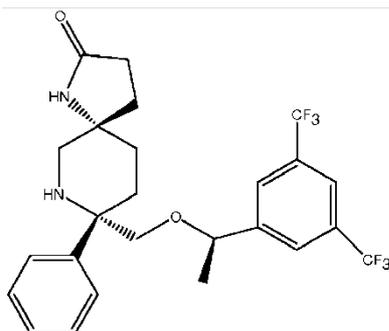
5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas de un antagonista de neurocinina-1 para administración intravenosa, a la producción de las composiciones farmacéuticas y a su uso.

10 **Antecedentes de la invención**

La (5S,8S)-8-[(1R)-1-(3,5-Bis-(trifluorometil)fenil)-etoxi]-metil-8-fenil-1,7-diazaspiro[4.5]decan-2-ona (el compuesto de fórmula I; también denominado en la presente el Compuesto 1) y sus sales se describieron en la patente U.S. nº 7.049.320 (la patente '320), expedida el 23 de mayo de 2006. Un procedimiento para la síntesis del Compuesto 1 se ejemplifica específicamente en el Ejemplo 72a de la patente '320 (véase la patente '320 en la columna 43, línea 55 a columna 45, línea 20; columna 75, línea 55 a columna 80, línea 21; columna 90 líneas 35 a 63; y columna 98, línea 1 a columna 99, línea 24, que se incorpora aquí como referencia; véanse también los Ejemplos 1-6 del documento WO 2008/11833, que se incorpora aquí como referencia). El documento WO 2005/063243 describe algunas composiciones farmacéuticas que comprenden antagonistas de NK-1. Las formulaciones descritas en esa referencia requieren un derivado de beta-ciclodextrina polianiónico con aproximadamente 1 a 7 grupos de sulfonato de sodio, separados de la cavidad lipofílica por al menos un grupo espaciador de éter butílico - es decir, Captisol®. No hay referencia allí a formulaciones i.v. que minimicen la hemólisis. Además, se han descrito varias formas de sal de un compuesto de fórmula I, por ejemplo en la publicación de la patente U.S. 2007/0244142, y que también se incorpora como referencia.

25



Fórmula I

El compuesto de fórmula I se clasifica como un compuesto de taquicinina y es un antagonista de los receptores del neuropéptido neurocinina-1 (NK-1). El compuesto de fórmula I puede estar en forma de una base libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. La base libre o la sal pueden estar en la forma amorfa, o la sal farmacéuticamente aceptable usada en la presente puede estar en una forma cristalina o en una forma de hidrato o solvato cristalino. En disolución, y dependiendo del pH de dicha disolución, el compuesto de fórmula I puede estar en una forma mixta de amina libre/forma de sal. Los profármacos de un compuesto de fórmula I también se pueden utilizar en formulaciones aptas para administración parenteral. Para usarse en la presente son adecuados los profármacos en los que cualquiera de las aminas libres (o las dos) en un compuesto de fórmula I tiene el hidrógeno sustituido por un grupo seleccionado de -Y y sales del mismo, en el que Y se selecciona de -P(O)(OH)₂, -S(O)_{n1}R¹, -C(O)(alquilo de C₁₋₆)X, -C(O)(alquilo de C₁₋₆)(arilo), -C(O)OR⁴; X se selecciona de -NR²R³, -P(O)(OH)₂ o -S(O)_{n1}R¹; R¹ es H o alquilo de C₁₋₆; R² es H o alquilo de C₁₋₆; R³ es H o alquilo de C₁₋₆; R⁴ es H o alquilo de C₁₋₆; n1 es 0-4. Los cationes o dicaciones adecuados para la forma o formas ionizadas de los profármacos incluyen sales de metal o cationes de aminas orgánicas, que incluyen sales de meglumina y similares (N-metil-D-glucamina). Dichos profármacos se pueden utilizar con o sin los vehículos de suministro parenteral descritos en una formulación líquida apta para tratar a los pacientes en necesidad de dicho tratamiento. Tales profármacos son convertidos a la forma no profármaco del fármaco (o sal del mismo) tras la administración parenteral al paciente. Tales profármacos pueden estar en forma amorfa o en forma cristalina, o en forma de solvato/hidrato cristalino.

45

Se ha mostrado que los antagonistas del receptor de NK-1 son agentes terapéuticos útiles, por ejemplo en el tratamiento del dolor, inflamación, migraña, náusea, emesis (vómito) y nocicepción.

50 **Sumario de la invención**

50

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, 17 a 24, y 26 y 27, a un procedimiento para obtener una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, y a una combinación según la reivindicación 25.

55 La presente invención se refiere ampliamente a formulaciones aptas para administración intravenosa a un paciente

en necesidad de tratamiento del mismo, en el que dichas formulaciones comprenden un compuesto de Fórmula I o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y un vehículo seleccionado de entre el grupo que consiste en disolventes orgánicos solubles en agua, agentes tensioactivos no iónicos, lípidos insolubles en agua, lípidos/semisólidos orgánicos, y fosfolípidos. Los disolventes orgánicos solubles en agua se pueden seleccionar por ejemplo de polietilenglicol 300, polietilenglicol 400, etanol, propilenglicol, glicerina, N-metil-2-pirrolidona, dimetilacetamida, y sulfóxido de dimetilo. Los agentes tensioactivos no iónicos se pueden seleccionar de Cremophor EL, Cremophor RH 40, Cremophor RH 60, d- α -tocoferol, succinato de polietilenglicol 1000, polisorbato 80, Solutol HS 15, monooleato de sorbitán, poloxámero 407, Labrifil M-1944CS, Labrafil M-2125CS, Labrasol, Gellucire 44/14, Softigen 767, y ésteres de ácido mono- y di-graso de PEG 300, 400 o 1750. Los lípidos insolubles en agua se seleccionan de entre aceite de ricino, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de menta, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de soja, aceites vegetales hidrogenados, aceite de soja hidrogenado y triglicéridos de cadena media de aceite de coco y aceite de semilla palma. Los lípidos orgánicos se pueden seleccionar de cera de abejas, d- α -tocoferol, ácido oleico y mono- y diglicéridos de cadena media. Los fosfolípidos se seleccionan de entre lecitina, fosfatidilcolina de soja hidrogenada, diestearoilfosfatidilglicerol, L- α -dimiristoilfosfatidilcolina y L- α -dimiristoilfosfatidilglicerol, y otros, como se describe en la presente. Las formulaciones se obtienen para proporcionar suficiente solubilidad y estabilidad química que se define como una degradación < 5-10% durante un año (preferentemente dos años) bajo las condiciones de almacenamiento especificadas, que pueden variar dependiendo de la formulación particular, localización, etc. Preferentemente, las formulaciones son útiles como formulaciones intravenosas. Conforme sea necesario o prescrito, las formulaciones también se pueden usar ampliamente como formulaciones parenterales aptas para suministro por los medios conocidos en la técnica que incluyen administración intravenosa (i.v.), intramuscular (i.m.) o subcutánea (s.c.). Los profármacos se pueden usar en forma oral o en formulaciones parenterales que comprenden un sistema de suministro acuoso/salino con o sin los vehículos de suministro opcionales indicados arriba.

La presente invención describe, entre otros, composiciones farmacéuticas y formulaciones del Compuesto 1 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para su uso en el tratamiento de la náusea y/o emesis. La forma preferida del Compuesto 1 usada para formular las composiciones citadas en la presente que incluyen las formulaciones i.v., es la sal de hidrocloreto monohidratada cristalina. El desarrollo de las formulaciones reivindicadas requirió experimentación y esfuerzo sustanciales como se describe más abajo y en los Ejemplos, para superar el problema de la baja solubilidad del fármaco y, en particular, el problema de la hemólisis (la alteración, disolución o destrucción de los eritrocitos que produce fuga de sangre en la orina), que se cree es causada por las concentraciones libres locales transitorias de cierta forma del Compuesto 1 cuando se le administra intravenosamente mediante bolo a mamíferos experimentales. La hemólisis de la sangre no ocurre después de la administración de formas farmacéuticas orales convencionales del Compuesto 1. En la mayoría de los casos, no ocurre hemólisis cuando se administra oralmente o muy lentamente al mamífero, pero sí ocurre durante la infusión lenta y/o la administración de bolo con algunas formulaciones.

Una dificultad encontrada inicialmente en el desarrollo de una formulación del Compuesto 1 para administración intravenosa era que el Compuesto 1 tiene solubilidad baja al pH fisiológico de 7,4 (< 4 mcg/ml), y por lo tanto se requería un mejoramiento de la solubilidad para alcanzar concentraciones plasmáticas terapéuticas en el cuerpo y a una dosis anticipada de 100 mg. Además, se deseaba aumentar la concentración del fármaco y la dosis en la formulación, ya que esto serviría para reducir el volumen de infusión administrado a los pacientes.

Para resolver el problema de la solubilidad baja del Compuesto 1 al pH fisiológico, se hicieron estudios para encontrar sistemas disolventes que incrementaran la solubilidad del Compuesto 1. El Captisol® (un derivado de β -ciclodextrina también denominado aquí Captisol) y formulaciones basadas en codisolvente que contienen propilenglicol y etanol aumentaron significativamente la solubilidad del Compuesto 1. Sin embargo, las formulaciones de codisolvente causaron inesperadamente hemólisis tras la administración intravenosa. Intentos adicionales para reducir/minimizar la incidencia de la hemólisis observada con la administración intravenosa de formulaciones de Captisol del Compuesto 1, variando la concentración del Captisol, el volumen, velocidad de administración o adición de amortiguadores, o utilizando varias combinaciones de etanol, propilenglicol y polietilenglicol 400, fueron exitosos en algunos casos. Por ejemplo, una formulación de Captisol administrada por infusión durante un período de 15 minutos a ratas a dosis de 10 mg/kg y 5 mg/kg, y con un volumen de dosis de 10 ml/kg (concentración de dosis 1 mg/ml y 0,5 mg/ml, respectivamente), produjo una baja incidencia de hemólisis (1/5). Además, la administración en bolo de una formulación de Captisol a una dosis de 10 mg/kg y en un volumen de dosis de 5 ml/kg (concentración de dosis 2 mg/ml) causó hemólisis en 2/5 ratas. La administración en bolo del Captisol a una concentración más baja (por ejemplo comparable con las concentraciones de infusión de 1 mg/ml y 0,5 mg/ml) probablemente produciría aún menos hemólisis. Se supuso que la alta concentración local transitoria del Compuesto 1 libre en el sitio de inyección podría ser la causa principal de la hemólisis.

Para probar la hipótesis anterior se hicieron estudios en ratas administrando por vía intravenosa (bolo manual lento de 1-2 minutos) una formulación micelar que contenía 15-hidroxiestearato de macrogol (Solutol® HS15, también denominado en la presente Solutol) (10 mg/ml de fármaco, 22% de Solutol HS15, amortiguador de fosfato 20 mM, pH 7,0), y determinando la incidencia de hemólisis en varios intervalos de tiempo y con dosis variables (10 mg/kg; 20 mg/kg; y 30 mg/kg) tras la dosificación. Se observó que la incidencia de hemólisis en las ratas se redujo

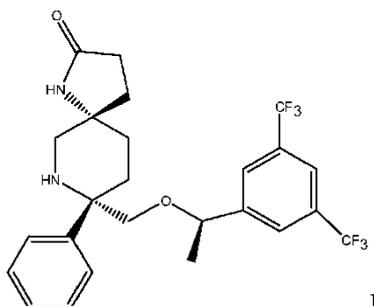
significativamente 30-60 minutos después de la dosificación en comparación con el período de dosificación de 15 minutos. Este resultado, en combinación con el hecho de que el Compuesto 1 tiene una disponibilidad oral alta, llevó a la conclusión de que la alta concentración local del Compuesto 1 libre fue la responsable de la hemólisis transitoria que ocurrió en el transcurso de los primeros 30 minutos después de la dosificación intravenosa.

Para minimizar/reducir la hemólisis asociada con el Compuesto 1, se exploró una estrategia basada en la suposición de que una velocidad baja de administración del fármaco produciría una incidencia más baja de hemólisis. Esto implicó experimentos que administran disoluciones micelares (7,5% de Solutol, 25 mg/kg; 5 ml/kg; 5 mg/ml) de Compuesto 1 a ratas mediante una infusión lenta de 15 minutos y también mediante el modo de administración por bolo. Se observó una alta incidencia de hemólisis en las ratas cuando la formulación micelar se administró mediante el modo de administración en bolo (5/5), mientras que no se observó hemólisis mediante la vía de infusión (0/10).

De esta manera, al disminuir la concentración de Solutol en la formulación micelar del Compuesto 1, de 22% a, por ejemplo, 7,5%, y administrando la formulación mediante infusión lenta a las ratas, se redujo la incidencia de hemólisis. Sin embargo, en la vía de administración de bolo para la formulación de 7,5% de Solutol (por ejemplo, una concentración baja de Solutol), se observó hemólisis como se indica arriba. De esta manera, algunas de las formulaciones reivindicadas citadas en la presente son aptas para infusión lenta pero no para administración en bolo. Otras formulaciones que se describen más abajo son aptas para administración tanto en infusión lenta como en bolo.

Se hicieron más experimentos sobre la formulación de Solutol para evaluar la adición de varios tipos de aceites, porcentajes de incorporación de aceite y escala de pH de la formulación de Solutol, sobre la aparición de hemólisis en ratas. Se creyó que la adición de aceite a la disolución micelar para formar microemulsiones, es decir, micelas cargadas de aceite, serviría adicionalmente para retardar la liberación del Compuesto 1 del núcleo hidrófobo y prevenir la partición/transferencia rápida del Compuesto 1 hacia los eritrocitos.

La presente invención se refiere a formulaciones parenterales que comprenden: a) un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



y b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" significa cualquier componente adecuado que incrementa la solubilidad de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para facilitar el suministro parenteral de una concentración terapéutica de dicho compuesto o su sal al sitio o sitios diana del receptor de NK-1. Los vehículos se seleccionan de entre el grupo que consiste en cremophor, emulsiones, microemulsiones, micelas, micelas cargadas negativamente, micelas cargadas con aceite, intralípidos, HSA, liposomas y aminoácidos cargados negativa y positivamente, etc., como se describe adicionalmente en la presente. Los vehículos farmacéuticamente aceptables no incluyen formulaciones de β -ciclodextrina. En el caso de liposomas, emulsiones, micelas y micelas cargadas con aceite, se cree que dichos vehículos retendrían el fármaco dentro del núcleo lipofílico para aumentar la retención del fármaco, protegiendo al mismo tiempo al fármaco en el núcleo. Las formulaciones basadas en seroalbúmina humana se refieren a la fuerte unión de HSA al Compuesto 1, lo que minimizaría el reparto del fármaco libre hacia los eritrocitos. Dichas formulaciones podrían ser coformuladas con Solutol, Miglyol y vitamina E. Los aminoácidos cargados negativamente formarían complejos y neutralizarían una porción del Compuesto 1 que retiene una carga positiva, y de esta manera previenen el reparto del Compuesto 1 hacia los eritrocitos. Los aminoácidos cargados positivamente se complejarían con una porción cargada negativamente del Compuesto 1 y la neutralizarían, y reducirían la exposición del compuesto a los eritrocitos. Una micela cargada negativamente repele los eritrocitos cargados negativamente e impediría el contacto del Compuesto 1 con los eritrocitos.

La expresión "formulación micelar" significa que la formulación está en forma de una micela y deriva de, o está hecha de, cualquier componente que forma o que puede formar una micela en un sistema de suministro farmacéuticamente aceptable, como agua, disolución salina, agua con dextrosa, y similar.

La expresión "formulación de emulsión" significa que la formulación está en forma de una emulsión y que deriva de,

o está hecha de, cualquier componente que forma o que puede formar una emulsión cuando se presenta o se combina con un sistema de suministro farmacéuticamente aceptable, tal como agua, disolución salina, agua con dextrosa, y similar. Las formulaciones de emulsión preferidas que evitan cualquier efecto hemolítico por administración de bolo o infusión lenta tienen un contenido de aceite de aproximadamente 10% o menos. La concentración de fármaco se puede variar de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml, prefiriéndose menos volumen y concentración más alta para el suministro intravenoso. Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar para incrementar o mejorar la solubilidad del antagonista de NK-1, y también se pueden diluir significativamente para evitar cualquier resultado hemolítico posible, aunque algunos volúmenes de dilución pueden no ser prácticos para administrar a un paciente en necesidad del tratamiento.

Una formulación de emulsión o formulación micelar de la presente invención comprende adicionalmente un ingrediente farmacéutico activo seleccionado de un compuesto de fórmula I o la, y/o sales, hidratos, polimorfos o formas físicas farmacéuticamente aceptables del mismo. Dichas formulaciones de emulsión o micelares cargadas de fármaco pueden contener adicionalmente excipientes que facilitan el suministro y/o que son útiles para prevenir o mitigar factores tales como la hemolisis. Así, estos excipientes adicionales pueden incluir, por ejemplo, aceites u otros componentes que aumenten o realcen la solubilidad mientras que mitigan cualquier efecto hemolítico potencial.

Tales formulaciones de emulsión o formulaciones micelares se pueden procesar adicionalmente para formar formas físicas o disoluciones más estables, y se pueden procesar adicionalmente, por ejemplo, para proporcionar disoluciones parenterales esterilizadas.

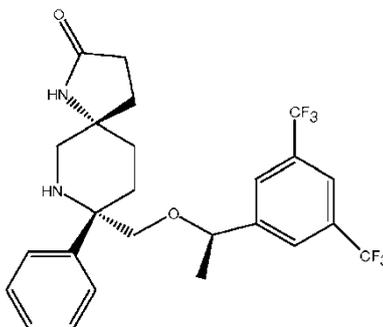
La presente invención también se refiere a formulaciones parenterales que comprenden un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en forma de nanopartículas. Las nanopartículas de un compuesto de fórmula I o sal del mismo se pueden incorporar entonces en una disolución para suministrar dicha nanopartícula por medios intravenosos. Las nanopartículas del compuesto 1 y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir también un vehículo farmacéuticamente aceptable. Se cree que la disolución lenta de dichas nanopartículas (~200 nm) daría como resultado menos hemolisis debido a que hay menos fármaco disuelto en una fracción solubilizada.

La presente invención también se refiere a la composición según la invención para su uso en un procedimiento de suministro de un compuesto de fórmula I o sales farmacéuticamente aceptables del mismo a un paciente, que comprende (a) combinar un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un vehículo farmacéuticamente aceptable para formar una formulación intravenosa; (b) suministrar la formulación parenteral a un paciente en necesidad del tratamiento.

Después de pruebas y esfuerzos considerables por parte de los inventores para solucionar los problemas anteriormente mencionados con respecto a una formulación que contiene Solutol, se ha encontrado que la adición al Solutol de un aceite tanto de cadena media como de cadena larga en una relación específica, produce una formulación de microemulsión solubilizada, estable (química y físicamente) del Compuesto 1, que cuando se le administra intravenosamente a mamíferos experimentales da como resultado hemolisis mínima.

En un aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica apta para administración parenteral, que comprende:

- a) un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

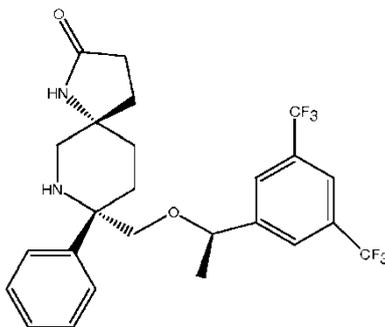


y

- b) un solubilizante seleccionado de entre el grupo que consiste en una micela cargada de aceite o una microemulsión.

Una forma de realización preferida de la invención comprende una formulación farmacéutica intravenosa que comprende:

a) un compuesto de la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



5

y

b) un emulsionante.

10 La invención también comprende una formulación intravenosa que comprende un compuesto de la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y seroalbúmina humana (HSA).

15 La invención también comprende una formulación intravenosa que comprende un compuesto de la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto o la sal del mismo está en forma de una nanopartícula.

Adicionalmente, la invención comprende una formulación intravenosa que comprende un compuesto de la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo de suministro seleccionado de Cremophor.

20 La invención también comprende una formulación intravenosa que comprende un compuesto de la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo de suministro seleccionado de una micela.

25 La invención también comprende una formulación intravenosa que comprende un compuesto de la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo de suministro seleccionado de un liposoma.

Preferentemente, la invención se refiere a una formulación de emulsión intravenosa que es apta para administración por bolo y por infusión.

30 Una forma de realización preferida de la invención comprende una formulación intravenosa que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y por lo menos un emulsionante, en la que se forma una emulsión y se somete a microfluidización para formar gotitas que tienen diámetros de la mediana menores de 500 nm y/o un D_{90} de aproximadamente 600 nm o menos.

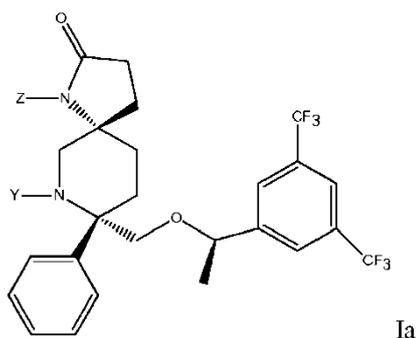
35 Además, la invención se refiere a una formulación intravenosa que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un aminoácido cargado positiva o negativamente.

Además, la invención comprende una formulación intravenosa que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que está liofilizada.

40 Además, la invención comprende una formulación intravenosa que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en forma de un polvo. El polvo se reconstituye o se añade a un líquido para formar una formulación intravenosa líquida que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo, que se administra a un paciente en necesidad del tratamiento. A esta formulación se le pueden añadir emulsionantes tales como Polysorbate 80 (Tween 80) y similares, así como también otros ingredientes inactivos tales como ajustadores de pH, conservantes (EDTA), etc.

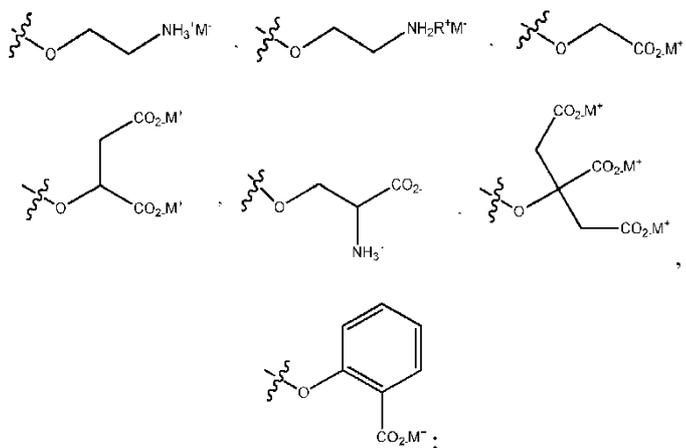
En cada una de las realizaciones anteriores, la forma preferida del compuesto de Fórmula I o una sal del mismo añadido a la formulación es como la sal de hidrocloreto monohidratada cristalina sólida.

50 También se describe un profármaco de un compuesto de fórmula I seleccionado de un compuesto de Fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo:



Ia

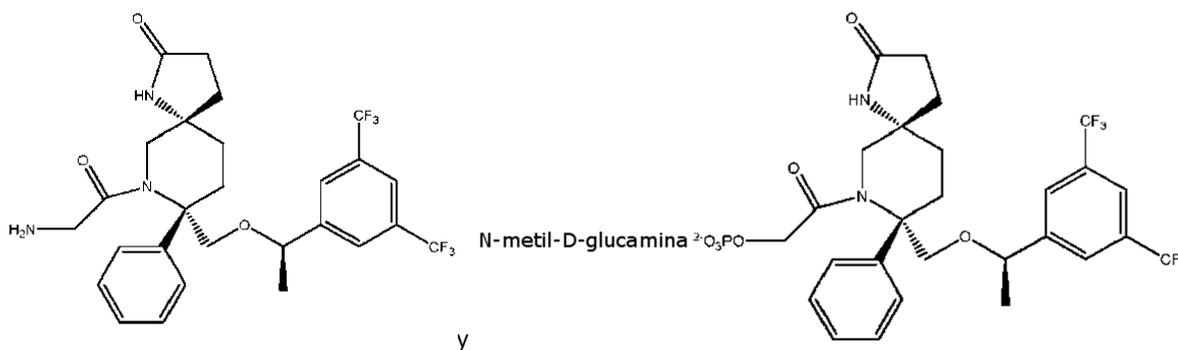
5 en la que Z e Y se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en H, $-\text{PO}(\text{OH})\text{O}^-\text{M}^+$, $-\text{PO}(\text{O}^-)_2\text{M}^+$, $-\text{PO}(\text{O}^-)_2\text{D}^{2+}$, $-\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)]_n-\text{PO}(\text{OH})\text{O}^-\text{M}^+$, $-\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)]_n-\text{PO}(\text{O}^-)_2\text{M}^+$, $-\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)]_n-\text{PO}(\text{O}^-)_2\text{D}^{2+}$, $-\text{C}(\text{O})[\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)]_m-\text{OPO}(\text{O}^-)_2\text{M}^+$, $-\text{C}(\text{O})[\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)]_o\text{NR}^1\text{R}^2$, $-\text{C}(\text{O})[\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)]_p\text{CO}_2-\text{M}^+$, $-\text{SO}_3-\text{M}^+$, $-\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)]_q\text{SO}_3-\text{M}^+$ y $-\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)]_r\text{OC}(\text{O})\text{OR}^3$, en el que R^3 se selecciona de entre el grupo que consiste en:



10

15 con la condición de que Z e Y no pueden ser ambos H; M^+ se selecciona de un catión monovalente; D^+ se selecciona de un catión divalente; R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de entre H o alquilo de C_{1-6} ; n es 1-4; m, o y p se seleccionan independientemente de entre 0 y 4; y R se selecciona de alquilo de C_{1-6} .

20 En una forma de realización preferida del profármaco, Z se selecciona de H, e Y se selecciona de entre cualquiera de los grupos mostrados arriba para Z e Y, exceptuando H. En una forma de realización más preferida, dichos profármacos se seleccionan de entre:



y

25 Las sales de M^+ preferidas se seleccionan, por ejemplo, de entre sales de amonio, sales de metal alcalino tal como sodio, sales de metal alcalino-térreo tales como calcio y magnesio, sales con bases orgánicas tales como N-metil-D-glucamina o dicitohexilamina, sales de aminoácidos tales como arginina, lisina, y similares.

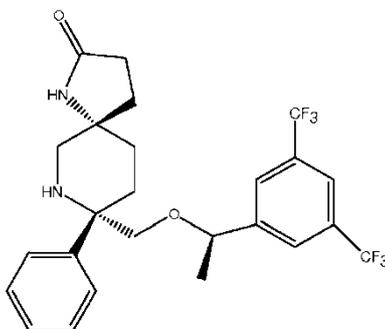
30 Los profármacos se obtienen haciendo reaccionar la amina o la amina adecuadamente protegida con un grupo Z-X o Y-X activado, o mediante cualquier medio convencional para formar la variante de profármaco de un compuesto de fórmula I.

Los profármacos tienen mayor solubilidad sobre el compuesto original y por lo tanto son útiles y adecuados para administración intravenosa.

Una forma de realización preferida de la invención es una composición farmacéutica que comprende:

5

- a) un compuesto de Fórmula I



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

- b) 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 0,50% a aproximadamente 10,0% en peso de la composición total;

15

- c) un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 2,5% en peso de la composición total;

- d) un triglicérido de cadena larga en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 1,5% en peso de la composición total; y

20

- e) por lo menos un amortiguador, en la que la relación en peso de 15-hidroxiestearato de macrogol:triglicérido de cadena media: triglicérido de cadena larga en la composición es aproximadamente 5-100:1-5:1, y

en la que el pH de la composición es de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,0.

25

La formulación anterior puede estar en forma de una micela cargada de aceite o microemulsión.

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 0,50% a aproximadamente 7,5% en peso de la composición total; un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,15% a aproximadamente 1,5% en peso de la composición total; y un triglicérido de cadena larga en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 1,2% en peso de la composición total.

30

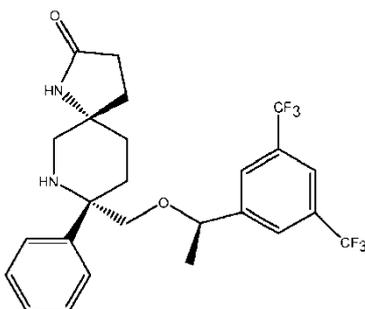
En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 0,88% a aproximadamente 4,84% en peso de la composición total; un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,20% a aproximadamente 1,20% en peso de la composición total; y un triglicérido de cadena larga en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 0,75% en peso de la composición total.

35

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

40

- (a) un compuesto de Fórmula I



45

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(b) 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 4,4% en peso de la composición total;

5 (c) por lo menos un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 1,1% en peso de la composición total;

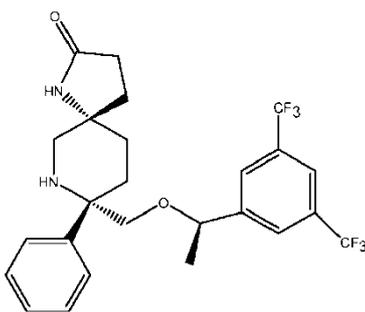
(d) aceite de soja refinado en una cantidad de aproximadamente 0,66% en peso de la composición total; y

10 (e) un amortiguador de fosfato, en el que el pH de la composición es aproximadamente 7,5.

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

(a) un compuesto de Fórmula I

15



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

20 (b) 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 0,88% en peso de la composición total;

(c) por lo menos un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,22% en peso de la composición total;

25

(d) aceite de soja refinado en una cantidad de aproximadamente 0,12% en peso de la composición total; y

(e) un amortiguador de fosfato, en el que el pH de la composición es aproximadamente 7,5.

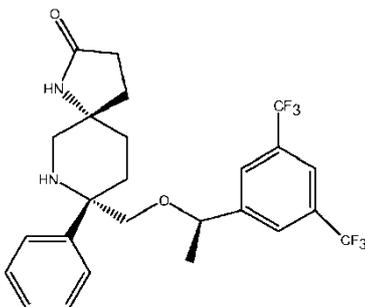
30 En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende:

a) calentar (i) 15-hidroxiestearato de macrogol fundido, (ii) un triglicérido de cadena media y (iii) un triglicérido de cadena larga para formar una composición;

35

b) añadir agua a la composición para formar una composición de microemulsión;

c) añadir a la composición de microemulsión un compuesto de Fórmula I



40

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

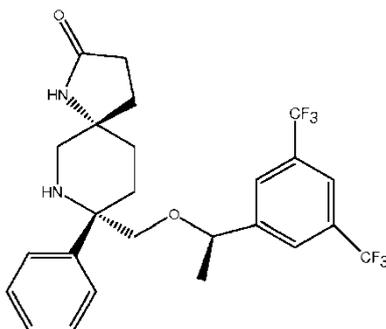
d) añadir por lo menos un amortiguador y ajustar el pH de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,0 para formar una composición farmacéutica, en la que el 15-hidroxiestearato de macrogol está presente en una

45

cantidad de aproximadamente 0,50% a aproximadamente 10,0% en peso de la composición farmacéutica total, el triglicérido de cadena media está presente en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 2,5% en peso de la composición farmacéutica total, y el triglicérido de cadena larga está presente en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 1,5% en peso de la composición farmacéutica total, y en la que la relación en peso de 15-hidroxiestearato de macrogol:triglicérido de cadena media:triglicérido de cadena larga en la composición farmacéutica es aproximadamente 5-100:1-5:1.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- 10 a) un compuesto de Fórmula I

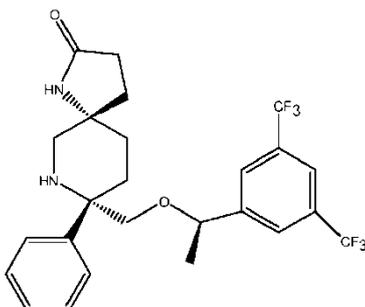


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

- 15 b) hidroxiestearato pegilado en una cantidad de aproximadamente 0,88% a aproximadamente 5,0% en peso de la composición total, en la que el hidroxiestearato pegilado está sustancialmente libre de polietilenglicol libre, y en la que el pH de la composición es de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8.

20 En otro aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas según la invención para su uso en un procedimiento para tratar náuseas y/o emesis en un paciente en necesidad del tratamiento, que comprende administrar al paciente por infusión intravenosa una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de la presente invención, en el que se minimiza la hemólisis en el paciente.

25 En otro aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas según la invención para su uso en un procedimiento para minimizar la hemólisis en un paciente después de la administración intravenosa de un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



30 comprendiendo el procedimiento administrar al paciente por infusión intravenosa una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de la presente invención.

35 En otra forma de realización, las formulaciones intravenosas citadas se pueden usar en combinación con otros medicamentos antieméticos o contra la náusea, agentes antiinflamatorios o esteroideos (por ejemplo, dexametasona) y con agentes quimioterapéuticos. Las formulaciones intravenosas citadas se pueden dar al paciente de acuerdo con la prescripción y régimen provistos por un médico. Estos otros medicamentos incluyen ondansetron y otros antagonistas de 5HT₃ conocidos. De esta manera, un compuesto de fórmula I y las sales del mismo para inyección se pueden utilizar con otros agentes antieméticos para la prevención de la náusea y vómito agudo y retrasado asociados con los cursos iniciales y repetidos de una quimioterapia para el cáncer altamente emetogénica, incluyendo, por ejemplo, el tratamiento con cisplatino. Un compuesto de fórmula I y sus sales para inyección también se pueden utilizar con otros agentes antieméticos para la prevención de la náusea y vómito agudo y retrasado asociados con el curso inicial y repetido de una quimioterapia para el cáncer moderadamente emetogénica. Además del tratamiento con cisplatino, otros agentes anticancerosos que se administran en este régimen de administración combinada incluyen etopósido, fluorouracilo, gemcitabina, vinorelbina, paclitaxel, ciclofosfamida, doxorubicina,

docetaxel, y también pueden incluir temozolomida. El tratamiento con un compuesto de fórmula I debe empezar 30 minutos antes del tratamiento de quimioterapia el día 1 de dicho tratamiento. La formulación i.v. se puede administrar mediante infusión lenta durante 15 minutos o mediante inyección de bolo, dependiendo de la formulación.

5 En otra forma de realización, las formulaciones i.v. de un compuesto de Fórmula I y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se pueden administrar solas o en combinación con otros agentes para el tratamiento y/o prevención de la náusea y vómito postoperatorios. Tales agentes de combinación incluyen otros agentes terapéuticos antieméticos tales como ondansetron y otros antagonistas de 5HT₃.

10 **Breve descripción de los dibujos**

Figura 1. Preparación de formulaciones de microemulsión del Compuesto 1 intravenosas (diagrama de flujo esquemático).

15 Figura 2. Solubilidad en equilibrio del Compuesto 1 en formulación con 20% de Solutol (diamantes) y formulación con 16% de Captisol (cuadrados) en función del pH.

20 Figura 3. Representación esquemática del procedimiento de fabricación de formulaciones de emulsión del Compuesto 1.

Figura 4. Distribución del tamaño de partículas de la formulación no procesada, BOL15SO, y una formulación procesada que implica 3 pasadas a 13,79 MPa usando la cámara de interacción H30Z.

25 Figura 5. Distribución del tamaño de partículas de la formulación no procesada INFWSO, y la formulación procesada que implica 3 pasadas a 13,79 MPa usando la cámara de interacción H30Z, y 28,27 MPa usando la cámara de interacción H20Y.

30 Figura 6. Distribución del tamaño de partículas de la formulación no procesada BOL10WS, y la formulación procesada que implica 2 y 3 pasadas de la formulación usando la cámara de interacción H30Z a 13,79 MPa y 28,27 MPa.

Figura 7. Imágenes de microscopía óptica de las formulaciones BOL15SO e INFWSO durante la microfluidización.

35 Figura 8. Imágenes de microscopía óptica de las formulaciones BOL10WSO durante la microfluidización.

Figura 9. Imágenes de microscopía óptica de las formulaciones INFWSO durante la microfluidización.

Figura 10. Imágenes de microscopía óptica de las formulaciones BOL10SO durante la microfluidización.

40 Figura 11. Curva de PSD para INFWSO después de la esterilización.

Figura 12. Curva de PSD para BOL10WSO después de la esterilización.

45 Figura 13. Niveles en la sangre del Compuesto 1 en ng/ml, administrado por vía intravenosa a diversas dosis.

Descripción detallada de la invención

50 Como se usan aquí, se entiende que los siguientes términos tienen los siguientes significados, a menos que se indique de otra manera:

El término "micela" o "micelar", como se usa aquí, se refiere a un agregado coloidal de moléculas anfifílicas (tensioactivos), que ocurre a una concentración bien definida o por encima de la misma, denominada la concentración micelar crítica. El 15-hidroxiestearato de macrogol (Solutol® HS15, disponible de BASF Ludwigshafen, Alemania) es un ejemplo específico de un agente tensioactivo con una concentración micelar crítica en el intervalo de 0,005% a 0,02%.

El término "microemulsión", como se usa aquí, se refiere a una mezcla líquida isotrópica clara, estable, de aceite, agua y el agente tensioactivo. Este término también significa una micela cargada de aceite.

60 El término "hemolisis", como se usa aquí, significa la destrucción de los eritrocitos, que produce la liberación de hemoglobina desde dentro de los eritrocitos hacia el plasma sanguíneo. La hemolisis se puede medir mediante procedimientos muy conocidos en la técnica, por ejemplo con las tiras reactivas Hemastix® (Bayer Corp., Elkhart, IN) que detectan sangre en la orina. Las tiras reactivas Hemastix® se tornan de amarillas a verdes oscuras dependiendo de la cantidad de hemoglobina encontrada en la orina. La escala de la Hemastix® es de la siguiente manera: 0 = negativa, 1 = traza no hemolizada, 3 = traza hemolizada, 4 = poca +, 5 = moderada ++, y 6 = mucha

+++.

Las frases “hemolisis mínima” y “la hemolisis se minimiza”, como se usan aquí, significan que, tras la administración a mamíferos experimentales de una formulación del Compuesto 1, no se observa hemolisis en los mamíferos experimentales, o no más de dos de los mamíferos experimentales de diez de ellos exhiben un nivel en trazas de hemolisis, medido por ejemplo sobre la escala de Hemastix® como tres o menos.

El término “estable”, como se usa aquí, se refiere a estabilidad tanto química como física.

La estabilidad física se refiere a micelas y microemulsiones que no muestran diferencias significativas en el tamaño de partículas/tamaño de gotitas y no muestran ninguna separación de fases.

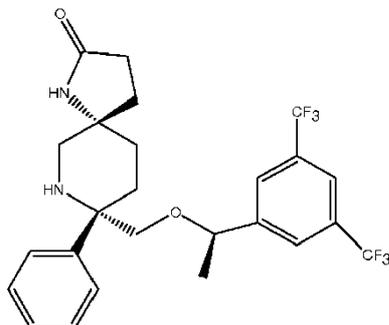
La estabilidad química, como se usa aquí, se refiere al mantenimiento de la potencia activa del Compuesto 1 en la escala admisible (más de 90% de la concentración marcada).

La expresión “cantidad eficaz”, como se usa aquí, se refiere a la cantidad de Compuesto 1 o su sal farmacéuticamente aceptable que previene, mejora o reduce la náusea y/o la emesis en un paciente, por ejemplo en un mamífero tal como un ser humano o primate no humano, o un animal de compañía como un perro o un gato.

El término “tratar”, “tratando”, o “tratamiento”, como se usa aquí, se refiere a la prevención o mejora o reducción de la náusea y/o emesis.

El término “aproximadamente”, como se usa aquí, será entendido por las personas de pericia normal en la técnica que significa hasta más o menos 10% del término particular.

La presente invención está dirigida a composiciones farmacéuticas en forma de microemulsiones para administración intravenosa, que comprenden un compuesto de Fórmula I (también denominado aquí el Compuesto 1),



Fórmula I,

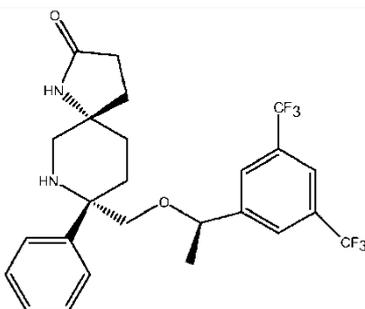
a procedimientos para preparar las composiciones farmacéuticas, y a su uso en procedimientos para tratar náusea y/o emesis utilizando las composiciones farmacéuticas.

A diferencia de las formulaciones de codisolvente del Compuesto 1 que cuando se probaron en mamíferos experimentales causaron hemolisis, el problema de la hemolisis causada por la administración intravenosa del Compuesto 1 fue resuelto exitosamente en mamíferos experimentales por medio de una composición farmacéutica de la presente invención que comprende de aproximadamente 0,50% a aproximadamente 10,0% de Solutol, de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 2,5% de un triglicérido de cadena media, y de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 1,5% de un triglicérido de cadena larga, en la que la relación en peso de 15-hidroxiestearato de macrogol:triglicérido de cadena media:triglicérido de cadena larga en la composición es de aproximadamente 5-100:1-5:1. Sin desear limitarse por ningún mecanismo de acción particular del sistema de disolvente, se piensa que la administración intravenosa de la composición farmacéutica da como resultado una hemolisis significativamente reducida al reducirse la velocidad de transferencia del Compuesto 1 del núcleo micelar a los eritrocitos. La concentración preferida estaba en el intervalo de 1-15 mg/ml.

El problema de la hemolisis causada por la administración intravenosa del Compuesto 1 también se resolvió utilizando una formulación que comprende hidroxiestearato pegilado solo, en una escala de concentración particular, en la que el hidroxiestearato pegilado está sustancialmente libre de polietilenglicol libre.

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- a) un compuesto de Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

- 5 b) 15-hidroxiestearato de macrogol (Solutol® HS15) en una cantidad de aproximadamente 0,50% a aproximadamente 10,0% en peso de la composición total;
- 10 c) un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2,5% en peso de la composición total;
- 15 d) un triglicérido de cadena larga en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 1,5% en peso de la composición total; y
- 20 e) por lo menos un amortiguador, en la que la relación en peso de 15-hidroxiestearato de macrogol:triglicérido de cadena media:triglicérido de cadena larga en la composición es aproximadamente 5-100:1-5:1, y en la que el pH de la composición es de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,0.

Sorprendentemente, la composición de la presente invención se asocia con una hemólisis mínima cuando se le administra por infusión intravenosa a un paciente.

El compuesto de Fórmula I puede formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos orgánicos e inorgánicos. Los ejemplos de los ácidos adecuados para la formación de la sal son los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, acético, cítrico, malónico, salicílico, málico, fumárico, succínico, ascórbico, maleico, metanosulfónico y otros ácidos minerales y carboxílicos bien conocidos para los expertos en la técnica. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I está presente como una sal de hidrocloreuro. Las sales se preparan poniendo en contacto la forma de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir una sal de la manera convencional.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está presente en la composición farmacéutica en una concentración de 1 mg/ml a 15 mg/ml, de 2,0 mg/ml a 10 mg/ml, o 2,0 mg/ml de la composición total.

El 15-hidroxiestearato de macrogol (Solutol® HS15, disponible de BASF Ludwigshafen, Alemania) es un agente tensioactivo con una concentración micelar crítica en el intervalo de 0,005% a 0,02%.

Sin desear limitarse a ningún mecanismo de acción particular, los inventores creen que una concentración por encima de su concentración micelar crítica da como resultado la formación de micelas que proporcionan un medio hidrófobo para encapsular el Compuesto 1 y reducir la exposición del Compuesto 1 a los eritrocitos. El Solutol® HS15 está presente en la composición farmacéutica en una cantidad de aproximadamente 0,50% a aproximadamente 10,0% en peso de la composición total.

Los triglicéridos de cadena media adecuados incluyen, sin limitación, triglicérido de ácido caprílico, triglicérido de ácido cáprico, y triglicérido de ácido caprílico/cáprico, vendido como dicaprilato/dicaprato de propilenglicol - MIGLYOL® 812 o MIGLYOL® 810 por SASOL North America; triglicérido de aceite de coco, vendido como CAPTEX 300/CAPTEX 850® por Abitech Corp; triglicérido caprílico/caprílico, vendido como CAPTEX 355® por Abitech Corp; triglicérido caprílico/caprílico/láurico vendido como CAPTEX 350® por Abitech Corp; triglicérido caprílico/caprílico/linoleico, vendido como CAPTEX 810® por Abitech Corp; triglicérido caprílico/caprílico/esteárico, vendido como CAPTEX SBE® por Abitech Corp, y combinaciones de dos o más de los mismos. El triglicérido de cadena media está presente en la composición farmacéutica en una cantidad de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2,5% en peso de la composición total.

Los triglicéridos de cadena larga y/o ácidos grasos de cadena larga adecuados incluyen, sin limitación, el aceite de soja vendido como SUPER-REFINED SOYBEAN OIL USP® por Croda; aceite de maíz vendido como SUPER-REFINED CORN OIL NF® por Croda; aceite de algodón vendido como SUPER-REFINED COTTONSEED OIL NF® por Croda; aceite de oliva vendido como SUPER-REFINED OLIVE OIL NF® por Croda; aceite de cacahuete vendido como SUPER-REFINED PEANUT OIL BF® por Croda; aceite de cártamo vendido como SUPER-REFINED SAFFLOWER OIL USP® por Croda; aceite de ajonjolí vendido como SUPER-REFINED SESAME OIL NF® por Croda; aceite

de hígado de tiburón vendido como SUPER-REFINED SHARK LIVER® por Croda; oleato de etilo vendido como Crodamol EO® por Croda, aceite de ricino, ácido graso omega 9 monoinsaturado, vendido como Oleic Acid por Croda, y combinaciones de dos o más de los mismos. El triglicérido de cadena larga o el ácido graso de cadena larga, o ambos, están presentes en la composición farmacéutica en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 1,5% en peso de la composición total.

En una forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 0,50% a aproximadamente 7,5% en peso de la composición total; un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,15% a aproximadamente 1,5% en peso de la composición total; y un triglicérido de cadena larga en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 1,2% en peso de la composición total.

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 0,88% a aproximadamente 4,84% en peso de la composición total; un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,20% a aproximadamente 1,20% en peso de la composición total; y un triglicérido de cadena larga en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 0,75% en peso de la composición total.

En otra forma de realización, el triglicérido de cadena media es triglicérido caprílico/cáprico vendido como dicaprilato/dicaprato de propilenglicol-MIGLYOL® 810 o MIGLYOL® 812 por SASOL North America (Houston, Texas), y el triglicérido de cadena larga es aceite de soja en una forma super refinada.

La composición farmacéutica también comprende por lo menos un amortiguador. Los ejemplos no limitantes de amortiguadores adecuados que se pueden incluir en la composición farmacéutica incluyen los amortiguadores de fosfato (pH 7-8), tales como fosfato de sodio, fosfato de potasio y fosfato de calcio, amortiguadores de succinato (pH 4-6), amortiguadores de citrato (pH 2-6), TRIS (pH 7-8) de 5-20 mM, y mezclas de los mismos.

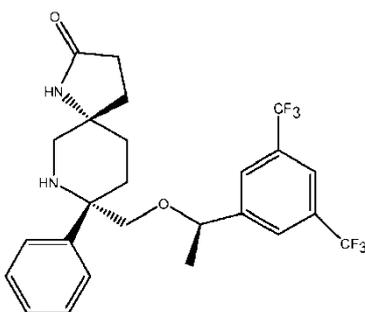
La cantidad de amortiguador en la composición farmacéutica puede depender del tipo y concentración del amortiguador. Por ejemplo, suponiendo un amortiguador de fosfato 10-20 mM para ajustar el pH entre 6,5 y 8,0, el fosfato se puede añadir a la composición en una cantidad de 0,01% a 0,5% en peso; o aproximadamente 0,05% a 0,02% en peso, o 0,4% a 0,2% en peso de la composición total. Como un ejemplo, cuando se utiliza un sistema de fosfato de sodio dibásico anhidro/monobásico dihidratado, se añade a la composición aproximadamente 0,2% en peso de fosfato monobásico de sodio y aproximadamente 0,284% en peso de fosfato dibásico de sodio (anhidro).

El pH de la composición de la presente invención se ajusta, si es necesario, por medio de un álcali tal como hidróxido de sodio, a un pH de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,0. En algunas realizaciones, el pH de la composición es de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 8,0, un pH de aproximadamente 7,5, o un pH de 7,5.

Si se desea, la composición farmacéutica de la presente invención también puede comprender otros excipientes, por ejemplo antioxidantes (conservantes), agentes antimicrobianos, agentes quelantes, albúmina, ajustadores de tonicidad, agentes de relleno, etc. Como ejemplo, los agentes antimicrobianos son BAC (0,1%-0,025%), ácido benzoico (0,1-0,2%), alcohol bencílico (0,0001-1,5%); los antioxidantes son BHT, BHA (0,0001-0,001%), histidina, metionina, glicina, sulfito/bisulfito de sodio (0,01-0,2%) y ácido ascórbico (0,02-0,2%); los agentes quelantes son EDTA (0,01-1,0%), DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético); albúmina (0,05-1,2%); ajustadores de tonicidad (NaCl, manitol (1-10%), glicerol (0,2-2,5%); y los agentes de relleno son manitol (1-10%), sacarosa, glicina (0,1%-2,5%), trehalosa y lactosa (0,1-3,0%).

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

(a) un compuesto de Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(b) 15-hidroxiestearato de macrogol (Solutol® HS 15) en una cantidad de aproximadamente 4,4%, o 4,4% en

peso de la composición total;

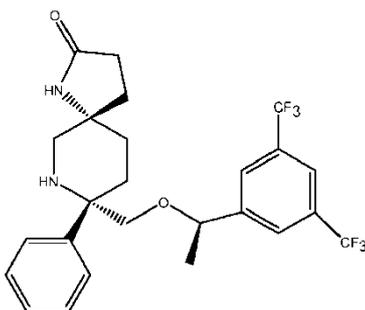
(c) por lo menos un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 1,1%, o 1,1% en peso de la composición total;

(d) aceite de soja refinado en una cantidad de aproximadamente 0,66%, o 0,66% en peso de la composición total; y

(e) un amortiguador de fosfato, en la que el pH de la composición es aproximadamente 7,5.

En una forma de realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

(a) un compuesto de Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(b) 15-hidroxiestearato de macrogol (Solutol® HS 15) en una cantidad de aproximadamente 0,88%, o 0,88% en peso de la composición total;

(c) por lo menos un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,22%, o 0,22% en peso de la composición total;

(d) aceite de soja refinado en una cantidad de aproximadamente 0,12%, o 0,12% en peso de la composición total; y

(e) un amortiguador de fosfato, en la que el pH de la composición es aproximadamente 7,5.

Los ejemplos de triglicéridos de cadena media son como se describen arriba.

La composición farmacéutica de la presente invención se puede esterilizar por medio de varias técnicas de esterilización que incluyen esterilización por filtración y esterilización por autoclave. En una forma de realización, la composición farmacéutica se esteriliza por medio de un procedimiento de filtración, por ejemplo utilizando un filtro que tiene un tamaño de poros de 0,01 a aproximadamente 0,45 μm , por ejemplo un filtro de 0,22 μm .

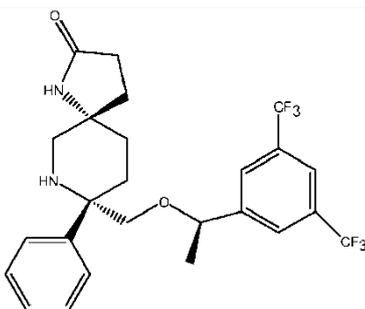
Convenientemente, la composición farmacéutica de la presente invención es estable química y físicamente durante 1 a 6 meses, normalmente 3 meses, a una temperatura de 5°C a 40°C/75% HR (humedad relativa).

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar la composición farmacéutica, que comprende las etapas de:

a) mezclar y calentar (i) 15-hidroxiestearato de macrogol fundido, (ii) un triglicérido de cadena media y (iii) un triglicérido de cadena larga, para formar una composición;

b) añadir agua a la composición para formar una composición de microemulsión;

c) añadir a la composición de microemulsión un compuesto de Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

- 5 d) añadir por lo menos un amortiguador y ajustar el pH de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8 para formar una composición farmacéutica, en la que el 15-hidroxiestearato de macrogol está presente en una cantidad de aproximadamente 0,50% a aproximadamente 10,0% en peso de la composición farmacéutica total, el triglicérido de cadena media está presente en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 2,5% en peso de la composición farmacéutica total, y el triglicérido de cadena larga está presente en una cantidad de aproximadamente 0,10% a aproximadamente 1,5% en peso de la composición farmacéutica total, y en la que la relación en peso de 15-hidroxiestearato de macrogol:triglicérido de cadena media:triglicérido de cadena larga en la composición farmacéutica es aproximadamente 5-100:1-5:1.

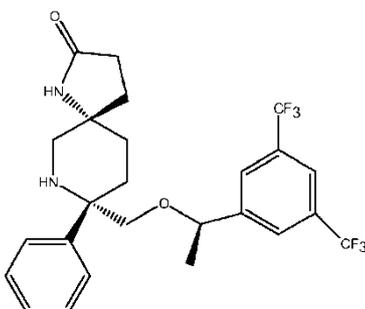
15 Los ejemplos de los triglicéridos de cadena media y de cadena larga y la concentración del Compuesto 1 se describen anteriormente.

20 Como un ejemplo del presente procedimiento para preparar la composición farmacéutica, el Solutol® HS15 se funde calentando el Solutol® HS15 a una temperatura de 60°C a 65°C, o a una temperatura de aproximadamente 65°C. El Solutol® HS15 fundido y los triglicéridos de cadena media y larga se mezclan a una temperatura de 50°C a 65°C, o a aproximadamente 60°C, durante aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 15 minutos, para formar una composición. Entonces se añade agua para inyección para formar una composición de microemulsión, seguido de la adición del Compuesto 1 para formar una composición farmacéutica. Después se añade a la composición farmacéutica fosfato monobásico/dibásico de sodio. El pH de la composición farmacéutica se ajusta a un pH de, por ejemplo, 7,5, usando hidróxido de sodio, y la tonicidad de la composición se ajusta con el agente de tonicidad, cloruro de sodio, a aproximadamente 290 mM. Después se añade agua hasta el volumen deseado, seguido de la esterilización de la composición por filtración a través de un filtro de 0,22 µm (véase más abajo el Ejemplo 5).

30 El procedimiento para preparar el Compuesto 1 se describe en la patente '320 como la preparación del Ejemplo 72a, y se lleva a cabo en 18 etapas individuales partiendo de materiales iniciales disponibles comercialmente (véase la patente '320 en la columna 43 línea 55 a columna 45 línea 20; columna 75 línea 55 a columna 80 línea 21; columna 90 líneas 35 a 63; y columna 98 línea 1 a columna 99 línea 24, que se incorpora aquí como referencia; véanse también los Ejemplos 1-6 del documento WO 2008/11833, que se incorpora aquí como referencia).

35 En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- a) un compuesto de Fórmula I



40 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

- 45 b) hidroxiestearato pegilado en una cantidad de aproximadamente 0,88% a aproximadamente 5% en peso de la composición total, en la que el hidroxiestearato pegilado está sustancialmente libre de polietilenglicol (PEG) libre, y en la que el pH de la composición es de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,0. La expresión "sustancialmente libre" significa que la composición de hidroxiestearato pegilado no contiene más de 2% de

PEG libre.

Para preparar el hidroxistearato pegilado sustancialmente libre de PEG libre, el PEG libre contenido en el hidroxistearato pegilado, por ejemplo en el Solutol® HS15, se puede eliminar mediante técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo diálisis (véase más abajo el Ejemplo 5, "Preparación de solutol dializado en disolución salina amortiguada con fosfato", y la Tabla 9).

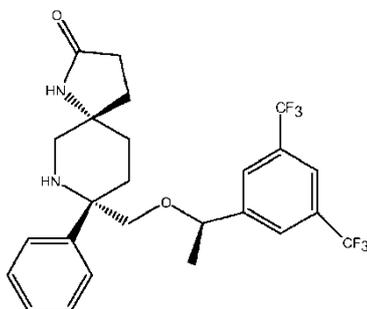
Las composiciones farmacéuticas de la presente invención son útiles para el tratamiento de la náusea y/o emesis. Por consiguiente, en otro aspecto, la composición de la presente invención se proporciona para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la náusea y/o emesis en un paciente en necesidad del tratamiento, por ejemplo un ser humano o un primate no humano tal como un mono, o un animal de compañía tal como un perro o un gato. El procedimiento comprende administrar al paciente por infusión intravenosa una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de la presente invención, en el que la hemólisis se minimiza tras la administración intravenosa de la composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas son útiles en el tratamiento de la emesis de inicio retardado, tal como la que es experimentada de 24 horas a varios días después de la administración de quimioterapia. Véase Gonzales Oncology Special Edition, Vol. 5 (2002), p. 53-58. Las composiciones farmacéuticas también son útiles en el tratamiento de la náusea y/o emesis aguda inducida por quimioterapia, radiación, movimiento y alcohol (por ejemplo etanol), dosis altas de antibióticos orales, gastroenteritis viral o bacteriana. Las composiciones farmacéuticas también se pueden coformular para incluir por lo menos otro agente antiemético, por ejemplo dexametasona u ondansetrón HCl. Las composiciones farmacéuticas de la presente también se pueden proporcionar en combinación con estos otros agentes contra la náusea y/o antieméticos y/o agentes quimioterapéuticos prescritos por un médico.

La composición farmacéutica se puede diluir antes de su administración con un diluyente o diluyentes acuosos adecuados, tales como disolución salina normal, dextrosa, agua filtrada con dextrosa, y manitol, para obtener cualquier composición intermedia de entre aproximadamente 0,88% y aproximadamente 4,4% de Solutol® HS15 en peso de la composición total.

El régimen de administración utilizado para la composición farmacéutica de la presente invención se selecciona considerando una variedad de factores que incluyen la especie, edad, peso, sexo y condición médica del paciente en necesidad del tratamiento, y la severidad de la náusea y/o vómito experimentados por el paciente. Un médico experto puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz del Compuesto 1 para prevenir, mejorar o reducir la náusea y/o emesis. Por ejemplo, la dosis diaria total del compuesto de fórmula I para un adulto humano es de 1 mg/kg a 9 mg/kg de peso corporal del paciente, o de 1 mg/kg a 3 mg/kg de peso corporal del paciente (suponiendo una dosis de 200 mg para un paciente de 70 kg).

La composición farmacéutica se puede administrar intravenosamente por infusión durante un período de 15 a 90 minutos, 15 a 60 minutos, o 15 a 30 minutos. En algunas formulaciones, la composición se puede administrar por medio de una inyección de bolo.

En otro aspecto, la composición de la presente invención se proporciona para su uso en un procedimiento para minimizar la hemólisis en un paciente, por ejemplo un mamífero, tal como un ser humano o primate no humano, o un animal de compañía tal como un perro o un gato, después de la administración intravenosa de un compuesto de la fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende administrar al paciente por infusión intravenosa una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de la presente invención.

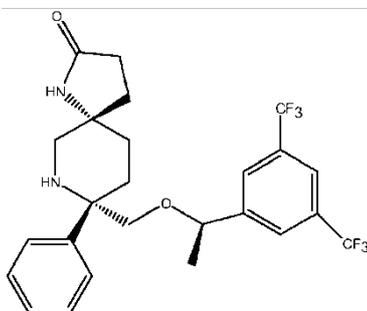
La presente invención se refiere a la composición de la invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de un paciente en necesidad del mismo con una formulación intravenosa que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que la dosis varía de 100 a 200 mg de dicho compuesto, y la formulación se administra al paciente como una sola dosis una vez antes de un ciclo de quimioterapia o radiación, o una vez antes o después de una cirugía, para el tratamiento de CINV (Náusea y Vómito Inducidos por Quimioterapia), PONV (Náusea y Vómito Postoperatorios) o RINV (Náusea y Vómito Inducidos por Radiación).

Además de las formulaciones que contienen Solutol descritas anteriormente, la presente invención también se refiere a formulaciones de emulsión que son aptas para su administración intravenosa, tanto por bolo como por infusión lenta. Los compuestos útiles en dichas formulaciones incluyen los compuestos de fórmula I y Ia, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Se formularon emulsiones parenterales basadas en triglicéridos de cadena media y larga y con excipientes adicionales tales como lecitinas de huevo. Algunas de estas formulaciones preparadas con PC de huevo y Lipoid E80S dieron como resultado formulaciones limpias (es decir, que produjeron poca o ninguna hemólisis) cuando se administraron mediante bolo e infusión a mamíferos (ratas). Las formulaciones preferidas se sometieron a microfluidización para dar como resultado emulsiones con un tamaño de gotita menor y una distribución de tamaño de partículas relativamente estrecha (diámetro de la mediana sub 500 nm, y un D₉₀ menor de aproximadamente 600 nm). Tales formulaciones también fueron estables físicamente después de su esterilización en autoclave a 121°C.

De esta manera, en otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- a) un compuesto de Fórmula I

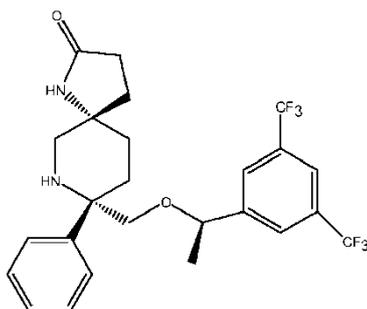


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

- b) un fosfolípido.

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- a) un compuesto de Fórmula I

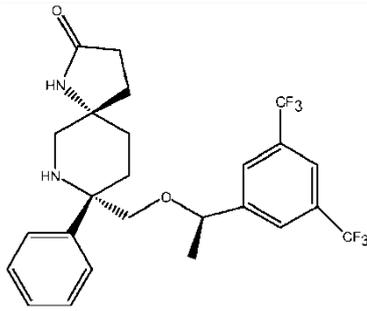


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

- b) un ácido graso de cadena larga y/o un triglicérido de cadena larga.

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- a) un compuesto de Fórmula I

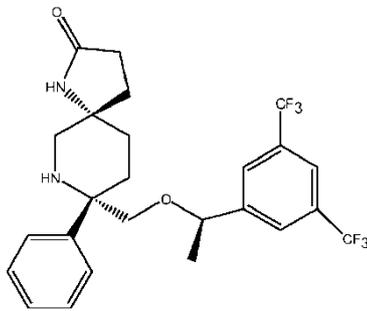


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

5 b) un triglicérido de cadena media.

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

10 a) un compuesto de Fórmula I



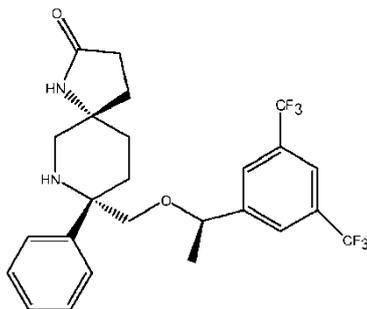
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

15 b) un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

c) un fosfolípido.

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

20 a) un compuesto de Fórmula I



25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

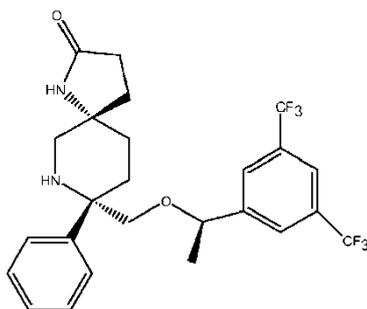
b) un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

30 c) un fosfolípido, y

d) glicerina.

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

35 a) un compuesto de Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

5

b) un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

c) un fosfolípido;

10

d) glicerina, y

e) etanol.

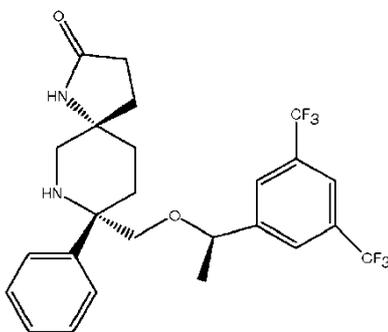
En una forma de realización preferida, el porcentaje en peso de la carga de aceite (por ejemplo, el o los componentes b)) es aproximadamente 10% p/p basado en el peso de la composición total.

15

En otra forma de realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

a) un compuesto de Fórmula I

20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

25

b) 10% de un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

c) 1,2% de un fosfolípido, y

30

d) 2,25% de glicerina.

En otra forma de realización de la invención, se puede usar una cantidad eficaz de una o más de las formulaciones citadas en la presente en combinación con otros ingredientes activos, en dosis separadas y antes o después de la administración del ingrediente activo adicional (o concurrentemente con ellos), o en dosis combinadas fijas del antagonista de NK-1 en combinación con el otro ingrediente activo. Las formulaciones de la invención se pueden administrar en combinación con uno o más inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina ("SSRIs") para tratar la depresión o la ansiedad. Los SSRIs representativos incluyen fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina, y las sales farmacéuticamente aceptables de las mismas. En otro aspecto, la invención se refiere a un procedimiento de tratamiento de la emesis o la emesis de inicio retardado, tal como la experimentada de horas a días después de recibir quimioterapia. Las combinaciones de las formulaciones i.v. de la presente invención con otros agentes antieméticos tales como un antagonista del receptor 5-HT₃ de serotonina, un corticosteroide o una benzamida sustituida, se pueden usar para tratar otras formas de emesis que incluyen emesis aguda inducida por quimioterapia, radiación, movimiento y/o alcohol (etanol), y náusea y vómito postoperatorios. Los ejemplos de los antagonistas de 5-HT₃ incluyen palosetrón, dolasetrón, ondansetrón y granisetrón, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Un ejemplo de un corticosteroide adecuado es la dexametasona. Un ejemplo de una benzamida apta es la

35

40

metoclopramida. Las combinaciones preferidas incluyen combinaciones de dos cualesquiera de los anteriores, o uno cualquiera de los anteriores con (o dentro de) la formulación i.v. de NK-1.

5 La presente invención se refiere a la composición de la invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de la náusea y vómito agudo y retardado asociados con los cursos iniciales y repetidos de la quimioterapia para cáncer altamente emetogénica, que comprende la administración de una formulación intravenosa de un compuesto de fórmula I en combinación con al menos un agente antiemético adicional.

10 La presente invención se refiere a la composición de la invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de la náusea y vómito agudo y retardado asociado con los cursos iniciales y repetidos de la quimioterapia para cáncer moderadamente emetogénica, que comprende la administración de una formulación intravenosa de un compuesto de fórmula I en combinación con al menos un agente antiemético adicional.

15 La presente invención se refiere a la composición de la invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de la náusea y vómito agudo y retardado asociados con los cursos iniciales y repetidos de la quimioterapia para cáncer altamente emetogénica, que comprende la administración de una formulación intravenosa de un compuesto de fórmula la en combinación con al menos un agente antiemético adicional.

20 La presente invención se refiere a la composición de la invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de la náusea y vómito agudo y retardado asociado con los cursos iniciales y repetidos de la quimioterapia para cáncer moderadamente emetogénica, que comprende la administración de una formulación intravenosa de un compuesto de fórmula la en combinación con al menos un agente antiemético adicional.

25 A continuación se exponen los siguientes ejemplos como una guía para el profesional, y se considera que no limitan en modo alguno el alcance de la presente invención.

Ejemplos

30 Los Ejemplos 1-4 describen el desarrollo de algunas formulaciones intravenosas del Compuesto 1 u otros estudios con respecto a la hemólisis. El Ejemplo 5 proporciona una descripción del desarrollo de la formulación de microemulsión intravenosa (micela cargada de aceite) del Compuesto 1 de la presente invención. El Ejemplo 6 proporciona formulaciones adicionales. El Ejemplo 7 describe una formulación de emulsión apta para administración i.v. por bolo e infusión lenta.

35 **Ejemplo 1. Evaluación de la solubilidad del Compuesto 1 en sistemas basados en ciclodextrina y otros codisolventes**

40 La solubilidad del Compuesto 1 en Captisol® al 16% (un derivado de éter sulfobutílico de β -ciclodextrina, disponible de Cydex Inc. de Overland Park, Kansas) y en un sistema de codisolvente de propilenglicol:etanol (PG:EtOH, 40%:10%) se evaluó determinando la solubilidad en equilibrio del Compuesto 1 en estos sistemas disolventes. La concentración del Compuesto 1 se analizó por medio del procedimiento de cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) como se describe en el Ejemplo 5, en puntos de tiempo diferentes para la determinación de la solubilidad en equilibrio, lo que se obtuvo una vez que la solubilidad alcanzó una meseta (no cambia apreciablemente) con el tiempo. Se encontró que la solubilidad óptima del Compuesto 1 fue con Captisol al 16% (datos no mostrados).

50 **Ejemplo 2. Estudios de administración intravenosa de formulaciones de NK-1 que contienen Captisol® y otros sistemas de codisolvente en ratas**

Se administró intravenosamente a ratas Captisol® al 16% y el sistema de codisolvente de PG:EtOH 40%:10%.

55 Las muestras de orina de las ratas se analizaron para determinar la hemólisis usando tiras reactivas Hemastix® (No. 2190, Bayer Corp., Elkhart IN). La presencia de sangre en la orina se detectó usando las tiras reactivas Hemastix® (No. 2190, Bayer Corp., Elkhart IN). Las tiras reactivas Hemastix® detectan la actividad similar a peróxido de la hemoglobina. Las tiras se tornan de color amarillo a verde oscuro dependiendo de la cantidad de hemoglobina presente en la orina. La escala de Hemastix® es como sigue: 0 = negativa, 1 = traza no hemolizada, 3 = traza hemolizada, 4 = poca +, 5 = moderada ++, y 6 = mucha +++.

60 Aunque con las formulaciones de ciclodextrina y de codisolvente se mejoró la solubilidad del Compuesto 1, las formulaciones con codisolvente produjeron inesperadamente hemólisis severa (en una escala de 6 en la escala de Hemastix®) en la administración vía infusión intravenosa. La vía de infusión lenta de 15 minutos con la formulación de Captisol tuvo una incidencia más baja de hemólisis (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de los ensayos hemolíticos de Captisol® y codisolvente en la administración intravenosa

Formulación	Bolo (B) o Infusión (I)	Dosis (mg/kg)	Vol. de la dosis (ml/kg)	Conc. de la dosis (mg/ml)	Incidencia + hb-uria/sexo
Captisol al 16%	I	10	10	1	1/5
Captisol al 16%	B	10	5	2	2/5
Codisolvente (40% PG: 10% EtOH)	I	2,5	1,7	1,5	3/5

5 Se formuló la hipótesis de que la alta concentración libre local transitoria del compuesto en el sitio de la inyección era la causa principal de la hemolisis. Experimentos posteriores en las ratas para evaluar si el uso del Captisol® a concentraciones, volúmenes y velocidades de suministro variables o adición de amortiguadores podría reducir la incidencia de la hemolisis durante la administración por bolo, fueron infructuosos.

10 Ejemplo 3. Estudios para evaluar la aparición de hemolisis en las ratas tras la administración por bolo de una formulación que contenía 22% de Solutol

15 Después se hicieron estudios en ratas machos y hembras con la finalidad de reducir la concentración alta local del Compuesto 1 libre: 1) incorporando el Compuesto 1 en el núcleo hidrófobo de micelas usando Solutol® HS15 (15-hidroxiestearato de macrogol, también denominado aquí Solutol), 2) inyectando mediante bolo el Compuesto 1 incorporado en Solutol y 3) analizando la aparición de hemolisis (usando las tiras reactivas Hemastix®) a diversos intervalos de tiempo (15-60 minutos).

20 Los resultados indicaron que en las ratas tanto machos como hembras la aparición de hemolisis se redujo significativamente con el tiempo (Tabla 2), y llevaron a la conclusión de que la alta concentración local del Compuesto 1 libre era responsable de la hemolisis transitoria que ocurrió en los primeros minutos después de la dosificación intravenosa.

Tabla 2. Naturaleza transitoria de la hemolisis causada por el Compuesto 1 en la administración intravenosa

Grupo de dosis	Punto de tiempo	Hemolisis (ratas macho)	Hemolisis (ratas hembra)
10 mg/kg	15 min.	3	1
	30 min.	0	1
	60 min.	0	0
20 mg/kg	15 min.	3	3
	30 min.	3	0
	60 min.	0	0
30 mg/kg	15 min.	3	3
	30 min.	0	2
	60 min.	0	0

25 Un solo bolo intravenoso lento de 1-2 minutos usando una aguja y jeringa dimensionadas apropiadamente en la vena de la cola. Formulación: 10 mg/ml de fármaco, 22% de Solutol® HS15, amortiguador de fosfato 20 mM, pH 7,0

30 Ejemplo 4. Estudios para evaluar la aparición de hemolisis en las ratas variando el tipo de administración intravenosa

35 Para reducir la incidencia de la hemolisis, se usó una estrategia que incluyó experimentos para evaluar si la velocidad de entrada del fármaco tenía un impacto sobre la hemolisis. Esto implicó experimentos para administrar a las ratas el Compuesto 1 en una disolución micelar (HS Solutol® 15) por vía tanto de infusión como de bolo. Se observó una incidencia alta de hemolisis en las ratas cuando se les administró la disolución micelar mediante bolo, mientras que no se observó hemolisis a la misma dosis mediante una infusión intravenosa lenta de 15 minutos (Tabla 3).

Tabla 3. Impacto de la administración del Compuesto 1 sobre la hemolisis por infusión en comparación con bolo

Formulación	Bolo (B) o Infusión (I)	Dosis (mg/kg)	Vol. de la dosis (ml/kg)	Conc. de la dosis (ml/ml)	Incidencia + hb-uria/sexo
7,5% de Solutol	I	25	5	5	0/10 M
7,5% de Solutol	B	25	5	5	5/5 M
Infusión = dosis administrada como infusión durante 15 minutos en la vena de la cola					

Ejemplo 5. Desarrollo de una formulación de microemulsión intravenosa del Compuesto 1 de la presente invención**Materiales y procedimientos**

5

Materiales para el desarrollo de la formulación de microemulsión

Los materiales usados en este estudio se resumen en la Tabla 4.

10 Tabla 4. Materiales, composición y función de los excipientes usados en la formulación de microemulsión del Compuesto 1

Materiales	Composición	Función
Compuesto 1*	0,2-1,0%	Fármaco/principio activo
Solutol HS-15	0,88-4,84%	Emulsionante
Fosfato monobásico de sodio	0,2%	Agente amortiguador
Fosfato dibásico de sodio (anhidro)	0,284%	Agente amortiguador
NaCl (Salmuera)	según se necesite	Ajustador de tonicidad
NaOH	según se necesite	Ajustador de pH
MIGLYOL®812N (MCT*)	0,2-12,1%	Solubilizante/componente hidrófobo
Aceite de soja (LCT*)	0,12-0,73%	Solubilizante/componente hidrófobo

* MCT- triglicérido de cadena media; *LCT- triglicéridos de cadena larga

15 * como la sal de hidrocloreto monohidratada del compuesto de fórmula I

Pruebas hemolíticas en las ratas

20 La metodología para este estudio fue administrar cada formulación (en la vena de la cola de una rata) durante 15 minutos por infusión intravenosa usando una bomba de infusión, o administrar la formulación en el transcurso de dos minutos como un bolo usando una jeringa. La orina se analizó para determinar la presencia de hemoglobina libre usando el procedimiento de recolección de orina reunida, en un intervalo de seis horas. Para la recolección de la orina reunida a las seis horas, las ratas recibieron las dosis y luego se pusieron en una jaula de metabolismo. Seis horas después de la dosis, las ratas se sometieron a eutanasia por sobreinhalación de dióxido de carbono, y se recogieron las muestras de orina. Para cada formulación se analizaron cinco sujetos como mínimo, y las muestras de orina se analizaron para determinar la hemólisis usando tiras reactivas Hemastix® como se indica en el Ejemplo Comparativo 2.

30 Para las muestras de 15 minutos y una hora, las ratas recibieron las dosis y luego se devolvieron a su jaula (alojadas individualmente) sin lecho. Si la rata evacuaba orina en la jaula, la orina se analizaba usando las tiras reactivas Hemastix® para determinar la presencia de hemoglobinuria. Si la rata no evacuaba en la jaula pero evacuaba tras la eutanasia, se analizaba la orina de la cámara de eutanasia.

Preparación de Solutol dializado en disolución salina amortiguada con fosfato/agua destilada

35 El Solutol es una molécula anfifílica y tiene aproximadamente 30% de polietilenglicol (PEG) libre en la molécula. El objetivo del estudio de diálisis fue minimizar/eliminar la porción hidrofílica en la molécula. Para obtener Solutol sin PEG libre, se prepararon 50 ml de formulación de placebo (que consistía en 20% de Solutol en amortiguador de fosfato) y se filtró a través de un filtro de 0,22 µm. La bolsa de diálisis se mojó con el amortiguador de fosfato a pH 7,0. Se registró el peso de la bolsa mojada. La bolsa de diálisis se llenó entonces con 50 ml de la formulación de placebo anterior, y esta bolsa se colocó en no menos de 750 ml de amortiguador de fosfato a pH 7,0, y el medio se agitó usando una barra agitadora. El amortiguador fuera de la bolsa de diálisis se cambió dos veces al día, y el proceso se repitió durante un total de 72 horas, con un total de por lo menos 6 intercambios hechos en 72 horas. Al terminarse las 72 horas, se registró el peso de la bolsa dializada junto con la disolución placebo dentro de la bolsa. 45 La formulación de placebo también se analizó por HPLC para confirmar los niveles de PEG en la disolución.

Procedimiento de ensayo analítico para determinar el contenido de polietilenglicol (PEG) libre en el Solutol

Las condiciones de HPLC para analizar el PEG libre en la molécula de Solutol son como sigue:

50

Columna: Nucleosil CIS Sum 150 x 4,6 mm

Fase móvil A: Disolución de ácido fosfórico al 0,025%

55

Fase móvil B: Acetonitrilo

ES 2 609 640 T3

Temp. de la columna: 30°C Temp. de la muestra: 20°C Volumen de inyección: 20 µl Caudal: 1 ml/min Longitud de onda UV: 190 nm Tiempo del experimento: 60 min. Diluyente de la muestra: Metanol

Programa de gradiente:

5

Tiempo (min.)	% de MPA	% de MPB
0	100	0
40	36	64
40,1	20	80
50	20	80
50,1	100	0

Procedimiento de preparación de la formulación de microemulsión del Compuesto 1

10 A continuación se indica el procedimiento para obtener la composición de microemulsión para el Compuesto 1. En la Figura 1 se representa un diagrama de flujo esquemático del procedimiento de fabricación de la formulación de microemulsión.

- (i) Tarar un vaso de precipitados de vidrio vacío.
- 15 (ii) Pesar y cargar Solutol, previamente fundido en su contenedor original a 65°C durante aproximadamente 15 minutos en el vaso de precipitados de vidrio anterior.
- (iii) Pesar y cargar aceite de soja en el vaso de precipitados anterior.
- 20 (iv) Pesar y cargar Miglyol en el vaso de precipitados anterior.
- (v) Mezclar bien los componentes anteriores durante aproximadamente cinco minutos, usando una barra agitadora.
- 25 (vi) Añadir agua para inyección al vaso de precipitados anterior después de tarar el vaso de precipitados anterior, para formar una microemulsión, seguido del Compuesto 1, y mézclase.
- (vii) La formulación de microemulsión se mezcla homogéneamente durante 15 minutos usando una barra de agitación magnética.
- 30 (viii) Pesar y cargar fosfato monobásico y dibásico de sodio en la formulación anterior.
- (ix) Probar el pH de la formulación y ajustarlo con NaOH 1 N hasta un pH de 7,5.
- 35 (x) Comprobar la osmolalidad de la disolución y ajustar la tonicidad con salmuera saturada (NaCl) a aproximadamente 290 mM ± 30 mM.
- (xi) Llevar al volumen final del producto con c.s. de agua.
- 40 (xii) Filtrar la disolución a través de un filtro de 0,22 µm usando un filtro Millipore Durapore-GV bajo una campana de flujo laminar.
- (xiii) Sellar asépticamente la formulación en viales de vidrio de 10 o 20 ml para su uso final.

Procedimiento de ensayo analítico para el análisis de las muestras que contienen el compuesto de fórmula I

Las condiciones de HPLC para el análisis del Compuesto I son como sigue:

50 Columna: Prodigy ODS (3) 150 x 4,6 mm, 3 µm

Fase móvil A: Disolución de ácido fosfórico al 0,1%

Fase móvil B: Acetonitrilo

55 Temp. de la columna: 30°C Temp. de la muestra: 5°C Volumen de inyección: 10 µl

Caudal: 1 ml/min. Longitud de onda UV: 215 nm Tiempo del experimento: 60 min.

Diluyente de la muestra: Metanol

Programa de gradiente:

Tiempo (min.)	% de MPA	% de MPB
0	80	20
35	20	80
45	20	80
45,1	80	20
60	80	20

5 A. Evaluación de la solubilidad del Compuesto 1 en Solutol frente a Captisol®

Se construyó una curva de solubilidad en el equilibrio del Compuesto 1 en 20% de Solutol como una función del pH. Como se muestra en la Figura 2, la solubilidad en el equilibrio del Compuesto 1 fue sustancialmente más alta (~ 50 mg/ml) en 20% de Solutol a un pH de 7,0 en comparación con < 6 µg/ml obtenidos con la formulación de ciclodextrina de 16% de Captisol®, que es más cercana a la solubilidad acuosa del Compuesto 1 a pH 7,0. Por lo tanto, el enorme aumento de solubilidad del Compuesto 1 fue evidentemente significativo en la formulación micelar de Solutol en comparación con la formulación basada en Captisol®.

15 B. Evaluación de la aparición de hemolisis en ratas tras la administración intravenosa de la formulación de Solutol que contiene Compuesto 1

Se usó una disolución micelar con 22% de Solutol a 10 mg/ml del Compuesto 1 a pH 8,0 como un punto de partida para la formulación del Compuesto 1. Se escogió un pH de formulación de 8,0 para que quedara por encima del pKa de 6,9 del Compuesto 1, de modo que el Compuesto 1 no estuviera ionizado y residiera preferentemente en el núcleo hidrófobo de la micela. Sin embargo, cuando la formulación micelar con 22% de Solutol se evaluó en ratas, se obtuvieron resultados muy inesperados *in vivo*. Se observó hemolisis severa en las ratas al administrar la formulación por infusión de bolo en todo el intervalo de dosis ensayado desde 10-30 mg/kg de Compuesto 1 (Tabla 5).

25 Tabla 5. Sumario de la administración por bolo de la formulación del compuesto 1 en 22% de Solutol en ratas.

Grupo de dosis (mg/kg)	Orina teñida de rojo (observada sobre la piel del animal)		Plasma teñido de rojo (observado después de centrifugación)	
	M	F	M	F
10	0/3	0/3	3/3	1/3
20	0/3	3/3	3/3	2/3
30	1/3	3/3	3/3	3/3

La hemolisis resulta después de una única administración intravenosa en forma de bolo manual lenta de 1-2 minutos en la vena de la cola de la formulación de 22% de Solutol HS15, 10 mg/ml de fármaco, amortiguador de fosfato 20 mM, usando una jeringa y aguja de tamaño apropiado. Las observaciones anteriores se hicieron 15-60 minutos después de administrar la dosis.

Se formuló la hipótesis de que altas concentraciones de Solutol pueden ser las responsables de la actividad hemolítica con las formulaciones micelares anteriores que se administraron como una inyección de bolo. El Solutol es una molécula de fármaco anfifílica que tiene una porción lipofílica (ácido 12-hidroxiesteárico) que constituye aproximadamente 70% de la molécula de fármaco, y una porción hidrofílica que consiste en 30% de PEG libre. También se formuló la hipótesis de que la presencia del PEG libre en la molécula de Solutol aumenta la hidrofilia general y facilita la transferencia del núcleo lipofílico a la fase acuosa, aumentando así la exposición del fármaco a los eritrocitos.

La hipótesis anterior se ensayó reduciendo el contenido de Solutol en la formulación, lo que reduciría por lo tanto el contenido de PEG libre en la molécula. Al reducirse la concentración de Solutol, la incidencia de la hemolisis se redujo significativamente desde 6 de 10 ratas ensayadas con la formulación de 22% de Solutol (dosis de 20 mg/kg por infusión) a 0 en 10 ratas ensayadas con la formulación de 7,5% de Solutol, a una dosis mucho más alta de 25 mg/kg. A una concentración de 6% de Solutol, la incidencia de la hemolisis también se redujo significativamente a 1/10 y 2/10 casos de aparición hemolítica en dos estudios separados (Tabla 6). La incidencia de hemolisis observada a las concentraciones más bajas de Solutol se podría atribuir a la incidencia de fondo y a la variabilidad que se observó durante los ensayos hemolíticas en las ratas.

Tabla 6. Sumario de la administración por infusión de la formulación del Compuesto 1 en Solutol en ratas.

Formulación	Dosis (mg/kg)	Volumen de la dosis (ml/kg) ^a	Concentración de la dosis (mg/ml)	Incidencia + hb-uria
6% de Solutol	20	7 ^b	2,86	1/10
6% de Solutol	20	7 ^b	2,86	2/10
7,5% de Solutol	5	5	1	0/5
7,5% de Solutol	25	5	5	0/5
15% de Solutol	25	2,5	10	1/5
22% de Solutol	20	2	10	8/10
22% de Solutol	20	2	10	6/10
a: dosis administrada por infusión durante 15 minutos en la vena de la cola				
b: volumen diluido con dextrosa al 5% en agua (D5W)				

5 Para confirmar adicionalmente las hipótesis anteriores, el PEG libre se eliminó de la molécula de Solutol por medio de diálisis. La reducción del contenido de PEG libre de 8,5% a 0% redujo la aparición hemolítica significativamente. La incidencia de hemólisis se redujo de una aparición de 10/10 en las ratas que recibieron la formulación de 15% de Solutol, que tenía 8,5% de PEG libre, a 1/10 ratas y 2/10 ratas, respectivamente con 6% y 8% de Solutol que contenía 2% y 0% de PEG libre (Tabla 7).

10 Tabla 7. Impacto de los niveles de PEG sobre la hemólisis

Formulación	Dosis (mg/kg)	Volumen de la dosis (ml/kg) ^a	Concentración de la dosis (mg/ml)	Incidencia + hb-uria
(8,5% de Solutol, 0% de PEG)	20	2	10	2/10
(6% de Solutol, ~2% de PEG) ^c	20	7	2,86	1/10
(22% de Solutol, 7,26% de PEG)	20	2	10	8/10
(15% de Solutol, 8,5% de PEG)	20	2	10	10/10 ^b

15 Basándose en la curva de solubilidad en el equilibrio, se determinó que 10 mg/ml del Compuesto 1 se pueden solubilizar con una concentración cinco veces más baja de la formulación guía actual de 22% de Solutol que podría solubilizar 50 mg/ml del Compuesto 1. De esta manera, se escogió una formulación micelar de 4,4% de Solutol (cantidad reducida 5 veces del 22% de Solutol) para 10 mg/ml del Compuesto 1, pH 8,0, como la formulación para todo análisis ulterior. Sin embargo, cuando se ensayó en ratas esta formulación de 10 mg/ml del Compuesto 1 a una dosis de 20 mg/kg, se observó que la incidencia de hemólisis era todavía alta, dando como resultado 14 apariciones de hemólisis en 20 ratas ensayadas en un grupo de dos, con 10 ratas en cada grupo (Tabla 8). Pruebas repetidas de la formulación de 4,4% de Solutol a pH 8,0 produjeron resultados similares, con 7 de 8 sujetos presentando hemólisis (Tabla 8).

25 Tabla 8. Resultados de hemólisis con una formulación intravenosa de 4,4% de Solutol que contenía 10 mg/ml del Compuesto 1

Formulación	Dosis* mg/kg	Volumen, ml/kg	Conc., mg/ml	pH	% de Solutol	% de PEG libre	Incidencia + hb-uria
4,4% de Solutol	20	2	10	8,0	4,4	1,45	7/8
4,4% de Solutol	20	2	10	7,0	22	6,6	8/10
4,4% de Solutol	20	2	10	7,0	22	6,6	6/10

* Dosis como infusión durante 15 minutos

30 C. Evaluación de la aparición de hemólisis en ratas por administración intravenosa de formulaciones de microemulsión del Compuesto 1

35 Debido a la limitación de la micela para prevenir por sí sola la aparición hemolítica a concentraciones más altas, se cargaron aceites en las micelas (formando una microemulsión) para proteger al fármaco dentro del núcleo hidrófobo y retrasar el reparto del Compuesto 1 hacia los eritrocitos, aumentando la hidrofobia general de las micelas por la inclusión de un triglicérido. Se formuló la hipótesis de que la inclusión de un triglicérido también puede servir para aumentar la vida media de una micela, que de otra manera es una estructura altamente dinámica que tiene una vida media corta. Las micelas están en equilibrio con las moléculas/monómeros tensioactivos individuales que experimentan intercambio constante entre la masa y las micelas, además de que las micelas mismas experimentan desintegración y reensamblaje continuos.

40 Se cargaron en las micelas varios triglicéridos de cadena corta media y larga, incluyendo caproílo, aceite de maíz,

aceite de soja y MIGLYOL® 812 (también denominado Miglyol en la presente), para producir una formulación de microemulsión físicamente estable con una carga alta de aceite. La cantidad de aceite más alta a una concentración de 20% de Solutol se pudo cargar usando el triglicérido de cadena media Miglyol. Hasta 5% de este triglicérido de cadena media se pudo cargar en la disolución de 20% de Solutol sin comprometer la estabilidad física de la formulación.

De esta manera, la formulación que contiene 20% de Solutol, 4,4% de Miglyol y 10 mg/ml del Compuesto 1 se ensayó en ratas para determinar la hemólisis por infusión a una dosis de 20 mg/kg del Compuesto 1. Esta formulación no produjo hemólisis en las 8 ratas ensayadas. Los resultados fueron similares a las concentraciones reducidas de Solutol y MCT de 4,4% de Solutol y 1,1% de Miglyol a 10 mg/ml del Compuesto 1, dando como resultado solo 1 caso de hemólisis de los 8 sujetos ensayados (Tabla 9).

Tabla 9. Ensayos de hemólisis con formulaciones de microemulsión (basadas en Miglyol-Solutol) del Compuesto 1

Formulación	Dosis* mg/kg	Volumen, ml/kg	Conc., mg/ml	pH	% de composición	% de PEG libre	Incidencia + hburia
Solutol intensificado con aceite	20	2	10	8,0	20% de Solutol + 5% de Miglyol	6,6	0/8
Solutol intensificado con aceite	20	2	10	8,0	4,4% de Solutol + 1,1% de Miglyol	1,45	1 ^a /8

a- representa hemólisis en trazas en el animal afectado
* Dosis como infusión durante 15 minutos

Para confirmar los resultados positivos obtenidos con la formulación intensificada con aceite, estas formulaciones se ensayaron nuevamente en ratas en un estudio separado para determinar la aparición de hemólisis. Sorprendentemente, esta vez la formulación con 20% de Solutol y 4,4% de Miglyol produjo una alta incidencia de hemólisis, con 4 casos de hemólisis en los 8 sujetos ensayados. Los resultados con 4,4% de Solutol y 1,1% de Miglyol, sin embargo, fueron comparables con los resultados previos, produciendo solo un caso de hemólisis en los 7 sujetos que recibieron esta formulación (Tabla 10).

Para reducir la aparición hemolítica observada con las formulaciones anteriores, éstas se modificaron adicionalmente para incluir un triglicérido de cadena larga (LCT) para aumentar más la carga de aceite en la micela y producir una hidrofobia más pronunciada aumentando la retención del fármaco. Se usó aceite de soja, un triglicérido de cadena larga, para aumentar la carga de aceite en la formulación de Solutol y Miglyol. La cantidad máxima de aceite de soja que se pudo cargar sobre 20% de Solutol y 5% de Miglyol fue de aproximadamente 3%. El aceite de soja también sirvió para aumentar la estabilidad física de la formulación anterior, posiblemente por un reacomodo de la configuración micelar mediante la inclusión de la cadena de hidrocarburo larga al triglicérido de cadena media, Miglyol, para formar una estructura más compacta.

Los resultados no fueron diferentes con 20% de Solutol, 4,4% de Miglyol y 3% de aceite de soja a 10 mg/ml del Compuesto 1 que una formulación similar sin aceite de soja. La formulación anterior dio como resultado hemólisis en 5 de las 8 ratas ensayadas con esta formulación. Por el contrario, 4,4% de Solutol, 1,1% de Miglyol y 0,66% de aceite de soja a 10 mg/ml del Compuesto 1 produjo resultados absolutamente limpios en 8 sujetos (Tabla 10). Sin embargo, con 20% de Solutol, 4,4% de Miglyol y 1,5% de vitamina E a 10 mg/ml del Compuesto 1, se obtuvieron resultados libres de hemólisis en 8 sujetos a una dosis de 20 mg/kg por infusión (Tabla 10).

Las conclusiones derivadas de los estudios anteriores fueron (a) un % menor de Solutol da mejores resultados, igual que un % menor de PEG libre en la molécula de Solutol; (b) la carga de aceite aumenta la retención del fármaco en el núcleo micelar y da mejores resultados reduciendo la aparición de hemólisis en comparación con disoluciones micelares simples, y (c) un % mayor de Solutol da resultados más variables incluso en presencia de los aceites, como se observó con 20% de Solutol y Miglyol solo y con Miglyol y aceite de soja combinados, en comparación con 4,4% de Solutol en combinación con los aceites anteriores. La adición de aceite mejora notablemente las formulaciones de Solutol con porcentaje alto de Solutol (por ejemplo las de vitamina E).

Tabla 10. Ensayo de hemólisis con formulaciones de microemulsión del Compuesto 1

Grupo	Dosis mg/kg	Volumen, ml/kg	Conc. mg/ml	pH	Incidencia + hburia
4,4% de Solutol/1,1% de Miglyol	20	2	10	8,0	1 ^a /7
20% de Solutol/5% de Miglyol	20	2	10	8,0	7 ^b /8
Resultados para comparación de la tabla 9					
4,4% de Solutol/1% de Miglyol	20	2	10	8,0	1 ^a /8

20% de Solutol/5% de Miglyol	20	2	10	8,0	0/8
4,4% de Solutol/1,1% de Miglyol/0,66% de aceite de soja	20	2	10	8,0	0/8
20% de Solutol/5% de Miglyol/3% de aceite de soja	20	2	10	8,0	5 ^c /8
20% de Solutol/1,5% de Miglyol/1,5% de α-tocoferol	20	2	10	8,0	0 ^c /8
Severidad de los animales afectados: a: traza; b: 3+, 3+, traza, traza; c: 1+, 3+, 2+, 1+, traza					

De esta manera, para tener un nivel de confianza razonable para asegurar resultados no hemolíticos con las formulaciones intravenosas del Compuesto 1 intensificadas con aceite, se usaron tres criterios para ayudar a seleccionar la formulación guía.

- 5
- (a) Para ensayar/verificar la confiabilidad (la formulación debe resultar limpia en > 1 estudio)
 - (b) Para tener un rendimiento consistente entre los lotes (la formulación debe resultar limpia en > 1 lote)
 - 10 (c) Debe ser robusta (la formulación debe resultar limpia por lo menos en n = 10 sujetos)

Las formulaciones que se ensayaron basadas en las guías anteriores incluían 4,4% de Solutol, 1,1% de Miglyol y 0,66% de aceite de soja, y 0,88% de Solutol, 0,2% de Miglyol y 0,12% de aceite de soja, a 2 mg/ml de Compuesto 1 a pH 8,0. Los niveles de Solutol se redujeron 5 veces en el caso anterior de 4,4% a 0,88% para reducir más la probabilidad de aparición de hemolisis y obtener resultados reproducibles que fueran más consistentes a los niveles más bajos de Solutol, como lo confirmaron los datos anteriores.

20 Tabla 11. Ensayos hemolíticos en diferentes sitios con la formulación de microemulsión que contenía 4,4% de Solutol, 1,1% de Miglyol y 0,66% de aceite de soja, y 2 mg/ml del Compuesto 1 a pH 8,0

Estudio No.	Dosis, mg/kg	Minutos de infusión	Volumen, ml/kg	Concentración mg/ml	Incidencia + hb-uria
SN 1	20	15	2	10	0/8
SN 2	20	15	10	2	1/7(1 a 2+)
SN 3	10	15	5	2	0/10
SN 4	10	15	5	2	1/20 (1 a traza)
SN 5	20	15	10	2	1/6 (1 a 1+)
SN6	20	15	10	2	0/8

25 La formulación de 4,4% de Solutol, 1,1% de Miglyol y 0,6% de aceite de soja a 2 mg/ml del Compuesto 1, administrada por infusión, solo produjo tres casos de hemolisis en 59 ratas ensayadas con esta formulación. Este estudio incluyó resultados obtenidos (a) de cuatro estudios separados realizados en tres sitios diferentes, (b) realizados con al menos cuatro lotes diferentes, y (c) realizados en un número grande de sujetos, hasta 20 ratas (n = 20) en uno de tales estudios (Tabla 11). De esta manera, la formulación cumple exitosamente con los criterios anteriores (a-c).

30 Los resultados fueron ligeramente mejores con la formulación de 0,88% de Solutol, 0,2% de Miglyol y 0,12% de aceite de soja, con 2 mg/ml del Compuesto 1, a pH 8,0, produciendo solo un caso de hemolisis en 50 ratas que recibieron esta formulación. Estos resultados también incluyeron datos obtenidos (a) de tres estudios separados, (b) realizados con tres lotes diferentes, y (c) realizados en un número grande de ratas (n = 20) en dos de tales estudios (Tabla 12).

35 Tabla 12. Ensayo hemolítico realizado en diferentes sitios con la formulación de microemulsión que contenía 0,88% de Solutol, 0,2% de Miglyol y 0,12% de aceite de soja, y 2 mg/ml del Compuesto 1, a pH 8,0

Estudio No.	Dosis, mg/kg	Infusión, min.	Volumen, ml/kg	Concentración mg/ml	Incidencia + hb-uria
SN1	20	15	10	2	0/8
SN2	20	15	10	2	0/2
SN3	20	15	10	2	1/20(1 a 1+)
SN4	10	15	5	2	0/20

40 D. Evaluación de la aparición de hemolisis en monos por administración intravenosa de la formulación de microemulsión del compuesto 1

Se ensayaron formulaciones con 1,5%, 3,5% y 5,0% de Solutol con aceites (Solutol:Miglyol:Aceite de soja a 6,67:1,67:1) a pH 7,5 (el pH 7,5 fue elegido por la estabilidad química), y con la fracción reducida del Compuesto 1

ionizado, pKa de 6,9, disponible para los eritrocitos) en 3 monos, para observar la aparición de hemólisis. Las formulaciones de 1,5% de Solutol produjeron hemólisis en uno de los tres monos ensayados. El mono que resultó positivo para hemólisis tuvo una puntuación de +1 en una escala de 6 en función de la severidad de la hemólisis. Similarmente, con 2,5% de Solutol también condujo a un caso de hemólisis en 3 monos que recibieron esta formulación (severidad de +2 en el mono que resultó positivo para hemólisis) (Tabla 18). Sin embargo, el 5,0% de Solutol dio resultados limpios sin incidencia de hemólisis en ninguno de los 3 monos que recibieron esta formulación (Tabla 13).

10 Tabla 13. Ensayos de hemólisis con formulaciones de microemulsión con 1,5%, 3,5% y 5,0% de Solutol con aceites (Solutol:Miglyol: Aceite de soja - 6,67:1,67:1) y 2 mg/ml del Compuesto 1; pH 7,5, a dosis de 20 mg/kg

Formulación de ensayo	Dosis, mg/kg	Infusión, min.	Volumen, ml/kg	Concentración mg/ml	Incidencia + hb-uria
1,5% de Solutol con aceites*	20	15	10	2	1/3 (1 a 1+)
3,5% de Solutol con aceites*	20	15	10	2	1/3 (1 a 2+)
5,0% de Solutol con aceites*	20	15	10	2	0/3

* Todas las formulaciones tienen componentes de aceite que incluyen Miglyol y aceite de soja en la siguiente relación con respecto al Solutol (Solutol:Miglyol: Aceite de soja - 6,67:1,67:1).

15 **Ejemplo 6. Estudios con formulaciones adicionales**

La Tabla 14 proporciona una lista de otras formulaciones que se prepararon y se ensayaron para determinar los resultados de hemólisis, además de las formulaciones de Solutol, codisolvente y ciclodextrina previamente expuestas.

20 Tabla 14

Formulación	Dosis, mg/kg	Infusión, min.	Volumen, ml/kg	Concentración mg/ml	Incidencia + hb-uria
Intralipid®	5	15	5	1	0/2
Emulsión	5	15	5	1	0/4
HSA	5	15	5	1	0/2
Micela	5	15	5	1	0/5
Micela	25	15	5	5	0/5
Nanodimensionada	5	15	5	1	0/5
Cremophor RH40	20	15	10	2	0/12
Cremophor EL	20	15	10	2	1/6

25 Además, se prepararon y se ensayaron múltiples formulaciones diferentes/iguales como se muestra más abajo. En cada caso, el fármaco del Compuesto 1 estaba en forma de la sal monohidratada de HCl.

Formulación 1:

30 Compuesto 1 + ciclodextrina (Captisol);

Procedimiento de suministro (Dosis Diaria Total)(Volumen de la Dosis)(Concentración de la Dosis)-Resultados de la hemólisis: Bolo (TTD 5 mg/kg)(DV 5 ml/kg)(DC 1 mg/ml)-5/5

35 Infusión lenta (TDD 10 mg/kg)(DV 10 ml/kg)(1 mg/ml)-1/5

Formulación 2:

40 Compuesto 1 + codisolvente (PEG/EtOH)

B-

SI(TDD 2,5 mg/kg)(1,5 ml/kg)(1,5 mg/ml)-3/5

45 Formulación 3:

Compuesto 1 + Polietilenglicol 660-

hidroxiestearato, Solutol® HS 15 (22%), amortiguador de fosfato 20 mM; pH 7 el Solutol HS 15 forma una micela

ES 2 609 640 T3

10 mg/ml de fármaco; 10, 20 y 30 mg/kg hemolisis en machos; más común en los períodos iniciales de la infusión de bolo lenta.

5 Formulación 4:

Bolo o infusión dosis (mg/kg) Vol. dosis (ml/kg) Conc. dosis (mg/ml) Incidencia + hb-uria/sexo

7,5% de Solutol I 25 5 5 0/10 M

7,5% de Solutol B 25 5 5 5/5 M

10 Para las siguientes formulaciones, las dosis se administraron en la vena de la cola de las ratas mediante infusión durante un período de 15 min. Los datos para algunas de las formulaciones de la Tabla 14 se repiten abajo en las formulaciones 5-10. Los datos se muestran como dosis (mg/kg); volumen de la dosis (ml/kg); concentración de la dosis (mg/ml) e incidencia de hemolisis.

15 Formulación 5: 10 ml intralípido (20% de aceite de soja, 1,2% de fosfolípido de huevo, 2,25% de glicerol); 100 ul de NK-1/etanol 1 mg/ml; 80 ul NaOH 0,1 N, pH 6,07

Intralípido 5 5 1 0/2

(emulsión)

20

Formulación 6: (similar a intralípido)

Emulsión 5 5 1 0/4

Formulación 7: 10 ml HAS (20%); 100 ul NK-1/disolución etanólica (1 mg/ml) pH 6,66

25

HSA 5 5 1 0/2

Formulación 8: 45 g Solutol 15 HS; 15 g propilenglicol, 250 mg NK-1; 8 g PBS (1X) diluida con 2 g disolución de NK-1 Solutol, pH 6,5, o 50 mg/ml de fármaco en Solutol:PG (3:1 p/p) diluido con disolución salina a 1 o 5 mg/ml de fármaco antes de usar.

30

Micela 7,5% de Solutol

5 5 1 0/5

25 5 5 0/5

Micela = menos de 25 nm de diámetro

35

Formulación 9:

Nanodimensionada

5 5 1 0/5

40

Formulación 10

22% de Solutol; pH 7; amortiguador de fosfato, 10 mg/ml, hemolisis con bolo manual lento en la vena de la cola de la rata

45

Formulación 11

6% de Solutol 20 7 2,86 1/10

20 7 2,86 2/10

Formulación 12

50

7,5% de Solutol 5 5 1 0/5

25 5 5 0/5

Formulación 13

15% de Solutol 25 2,5 10 1/5

11-13-infusión lenta en la vena de la cola durante 15 minutos

5

Formulación 14

8,5% de Solutol; 0% de PEG (eliminado)

20 2 10 2/10

10

Formulación 15

6% de Solutol; 2% de PEG

20 7 2,86 1/10

15

Formulación 16*

Micela intensificada con aceite (Solutol HS 15 + Miglyol H12N (aceite de triglicérido de cadena media)/aceite de soja)

20 Los ácidos grasos insaturados principales en los triglicéridos del aceite de soja son 7% de ácido alfa-linolénico (C-18:3); 51% de ácido linoleico (C-18:2); y 23% de ácido oleico (C-18:1). También contiene los ácidos grasos saturados ácido esteárico, 4%, y ácido palmítico, 10%.

4,4% de Solutol (1,45% de PEG libre)/1,1% de Miglyol (pH 8)

25

20 2 10 1/8

20% de Solutol (6,6% de PEG libre)/5% de Miglyol (pH 8)

20 2 10 0/8

30 Formulación 17

4,4% de Solutol/1% de Miglyol (pH 8)

20 2 10 1/7 (1 = traza)

35 Formulación 18

4,4% de solutol/1% de Miglyol/0,66% de aceite de soja (pH 8)

20 2 10 0/8

40 Formulación 19

20% de Solutol/5% de Miglyol (pH 8)

20 2 10 4/8 (3+, 3+, traza traza)

45 Formulación 20

20% de Solutol/5% de Miglyol/3% de soja (pH 8)

20 2 10 5/8 (1+, 2+, 3+, 1+, traza)

50 Formulación 21

20% de Solutol/5% de Miglyol/1,5% de alfatocoferol (pH 8)

ES 2 609 640 T3

20 2 10 0/8

Formulación 21A

4,4% de Solutol/1% de Miglyol/1,5% de alfatocoferol

5

20 10 2 2/10

Formulación 21B

4,4% de solutol/1% de Miglyol/1,5% de α -tocoferol/0,6% de aceite de soja

10

20 10 2 0/8

Formulación 22

Compuesto 1 2 mg/ml 0,88% de Solutol/0,2% de Miglyol/0,12% de soja infusión 15 minutos

15

20 10 2 0/8

20 10 2 0/2

20 10 2 1/20

10 5 2 0/20

Formulación 23

Compuesto 1 2mg/ml 4,4% de Solutol/1% de Miglyol/0,6% de soja pH 7,5, infusión 15 minutos

20

20 2 10 0/8

20 10 2 1/7

10 5 2 0/10

20 10 2 1/6

10 5 2 1/20

Formulaciones 24-26:

25

- Cremophor RH40 1,25%; Dosis-20 mg/kg; conc. de fármaco: - 2 mg/ml; hemolisis: - 0/8; infusión 15 min.

- Cremophor EL 1,25%; Dosis-20 mg/kg; conc. de fármaco - 2 mg/ml; hemolisis: - 1/6; infusión lenta 15 min.

Cremophor EL 6%; Dosis-20 mg/kg; conc. de fármaco: - 2 mg/ml; hemolisis: 4/4; modo de administración de bolo

30

Formulación 27 (micela mixta):

960 μ l mezcla POPC/etanol (240 mg POPC)

35

200 mg ácido glicólico-Na

15 mg Compuesto 1 (HCl monohidratado)

40

3 ml PBS (1x)

Conc. diana: 5 mg/ml

pH: 6,6

45

Agitar bien antes de diluir. Diluir la disolución madre con PBS (pH 7,4) hasta la concentración deseada.

La inyección se debe terminar en el transcurso de 2 h después de la dilución.

POPC: Fosfatidilcolina palmítica y oleica

5 Nota-Esta formulación dio una incidencia alta de hemólisis durante infusión lenta de 15 min. a 5 mg/kg; 5 ml/kg y a una concentración de dosis de 1 mg/ml. Sin más información, esta formulación no es apta como formulación intravenosa por la vía de administración particular usada. Para minimizar la hemólisis podrían ser aptas o necesarias infusiones más prolongadas.

Formulación 28

10 6,7% de Solutol y 13,3% de fármaco intralipido, 2 mg/ml

15 En una forma de realización preferida, las formulaciones del Compuesto 1 se administran por infusión i.v. durante un período de 15-30 min., y se presentarían en una botella, 100 mg/botella, con 50 ml de disolución que tiene una concentración de fármaco de 2 mg/ml. La dosis y el volumen se pueden ajustar para proporcionar dosis diana adicionales (por ejemplo, dosis diana de 100 a 200 mg).

20 Una ventaja particular del Compuesto 1 es que tiene una vida media ($T_{1/2}$) de 180 h - esto lo hace particularmente conveniente para un régimen de una dosis por ciclo de tratamiento CINV; $T_{1/2}$ a dosis que varían de 5-200 mg como ng/ml de api por tiempo a dosis diferentes: la concentración en ng/ml en el momento directamente tras la administración varía de 850 ng/ml (200 mg); 430 ng/ml (100 mg); 280 ng/ml (50 mg), con una concentración media alcanzada para todas las dosis a aproximadamente 180 h después de la administración.

25 Las formulaciones i.v. se pueden premezclar a 2 mg/ml o se pueden concentrar para dilución (concentración de 10 mg/ml y 20 mg/ml para diluir hasta 2 mg/ml).

La formulación Intralipid® contenía 10 ml de Intralipid® (20%) (20% aceite de soja, 1,2% de fosfolípidos de yema de huevo, 2,25% de glicerina, y agua para inyección); 100 µl de disolución de Compuesto 1/etanol (1 mg/ml); 80 ul de NaOH 0,1 N para formar un pH de 6,07. La formulación Intralipid es una emulsión.

30 La formulación de Emulsión (formulación 6) estaba compuesta de palmitoil-oleoil-fosfatidilcolina (POPC), ácido oleico, glicerol y Tween 80.

35 Los tamaños de partículas de la Micela normalmente son menores de 100 nm y están dentro de un intervalo de 15 a 100 nm. La formulación de Micela es 45 g de Solutol HS; 15 g de propilenglicol; 250 mg del Compuesto 1 (como la sal de hidrocloreto monohidratada cristalina); 8 g de PBS (1X) diluida con 2 g disolución de Compuesto 1, Solutol 15S y propilenglicol; pH 6,5 a 10 mg/ml; se diluye antes de usar o se prepara como una disolución 50 mg/ml con fármaco en Solutol:PG (3:1, p:p), diluido con disolución salina, a 1 o 5 mg/ml de fármaco antes de usarse.

40 La formulación de HSA era de 10 ml de HSA al 20%; 100 ul de disolución de Compuesto 1/etanol (1 mg/ml); pH 6,66.

Ejemplo 7 - Formulación de emulsión adecuada para administración por bolo e infusión lenta

45 También se prepararon formulaciones de emulsión parenterales basadas en triglicéridos de cadena media y larga, y usando emulsionantes apropiados como lecitina de huevo y oleato de sodio. Algunas de estas formulaciones que se mencionan más abajo producen resultados limpios cuando se administran mediante bolo y mediante infusión lenta. Además, las emulsiones presentan hemólisis reducida incluso a dosis muy altas de 30 mg/kg. Las formulaciones se sometieron a microfluidización, en la que las condiciones de procesamiento se optimizaron para dar como resultado una emulsión con tamaños de gotita más pequeños y distribución de tamaño de partículas (psd) estrecha. Todas las formulaciones procesadas con una cámara de interacción H30Z (200 micrómetros) a 13,79 MPa alcanzaron diámetros de la mediana sub 500 nm y D_{90} menores de 600 nm. También se determinó que algunas formulaciones eran físicamente estables después de un ciclo de esterilización en autoclave a 121°C durante 20 minutos. Tales formulaciones no dieron como resultado un aumento apreciable del tamaño de la gotita después del proceso de esterilización. De esta manera, una formulación físicamente estable que tiene el Compuesto 1 (en su forma de sal de hidrocloreto monohidratada cristalina cuando se formula), fue apta para administración por bolo e intravenosa de infusión lenta y sin producir hemólisis en los animales ensayados.

60 Las formulaciones de emulsión descritas más abajo tienen la ventaja de una mayor retención del fármaco en el núcleo hidrófobo; el tamaño de gotita aumenta en comparación con la formulación micelar para retrasar la transferencia/reparto del fármaco de las gotitas de aceite a los eritrocitos, y da mayor flexibilidad en la formulación al utilizar lípidos naturales como emulsionantes, evitando así por ejemplo el polietilenglicol libre que está presente en el Solutol, y que por lo tanto impide adicionalmente la transferencia de fármaco del medio hidrófobo a los eritrocitos. Las emulsiones parenterales se usan para transportar fármacos escasamente solubles en agua y normalmente constituyen gotitas de aceite pequeñas en una disolución acuosa. El emulsionante preferido se selecciona de los que se consideran seguros para usarse en administración parenteral. En la presente formulación, la lecitina es el emulsionante preferido. La lecitina de huevo purificada es el más preferido.

Se pueden añadir estabilizantes adicionales que incluyen por ejemplo ácido oleico u oleato de sodio. También se pueden añadir triglicéridos de cadena media (Miglyol) y de cadena larga (aceite de soja). Se puede usar fosfatidilcolina de huevo como estabilizante, y también Lipoid E 80 (77,7% de PC, 7,8% de PE, 2,5% de LPC, 3,0% de SPM) (PC = fosfatidilcolina; PE = fosfatidiletanolamina; LPC = liso-PC; SPM = esfingomielina) o Lipoid E80S. Se puede usar glicerina como ajustador de tonicidad, y se puede usar etanol como codisolvente/solubilizante para la lecitina y fármaco (compuesto de fórmula 1 o una sal del mismo - por ejemplo el Compuesto 1).

Los siguientes materiales usados en este ejemplo se resumen en la Tabla 15.

Tabla 15

Materiales	Composición, %	Función
Compuesto 1*	0,4-1,5%	Fármaco/p. activo
PC de huevo	3,0%	Emulsionante
Lipoid E 80S	1,2%	Emulsionante
Lipoid E80	1,2%	Emulsionante
Oleato de sodio	0,3%	Emulsionante
Glicerina	2,25%	Estabilizante/coemulsionante
Etanol	1,6-4,0%	Codisolvente
Myglyol (MCT)	5-10%	Solubilizante/componente hidrófobo
Aceite de soja (LCT)	5-10%	Solubilizante/componente hidrófobo

* El Compuesto 1 en forma de la sal de hidrocloreuro monohidratada sólida
MCT = triglicérido de cadena media; LCT= triglicérido/ácido graso de cadena larga

Ensayo hemolítico en animales

La metodología de este ejemplo fue administrar cada formulación durante 15 minutos por infusión i.v. usando una bomba de infusión, o administrar la formulación en 2 minutos por inyección de bolo usando una jeringa y suministrando la formulación en la vena de la cola de una rata. La orina se comprobó mediante tiras de inmersión para detectar la presencia de hemoglobina libre usando el procedimiento de recolección de orina reunida, en el intervalo de 6 horas. Se ensayo un mínimo de cuatro sujetos para cada formulación, y se observó la frecuencia de hemolisis en dichos animales.

Preparación de la formulación de emulsión no procesada

El procedimiento general para preparar la emulsión fue el siguiente (Figura 3):

- (1) Pesar la cantidad requerida de Miglyol y aceite de soja en un vaso de precipitados;
- (2) Homogeneizar 5 minutos la premezcla anterior para mezclar los dos componentes;
- (3) Añadir la cantidad requerida de Lipoid E80®/Lipoid E80S al vaso de precipitados anterior;
- (4) Añadir la cantidad requerida de etanol que contiene 200-250 mcg/ml del Compuesto 1 como la sal de hidrocloreuro monohidratada;
- (5) Pesar la cantidad requerida de agua estéril en un vaso de precipitados separado;
- (6) Añadir la cantidad especificada de glicerina a la fase acuosa y mezclarla 2-3 minutos;
- (7) Si está presente en la fórmula, añadir la cantidad especificada de oleato de sodio a la fase acuosa;
- (8) Calentar la fase oleosa y la fase acuosa separadamente a aproximadamente 65-70°C durante 15-20 minutos;
- (9) Añadir la fase acuosa a la fase oleosa, llevar al volumen final con c.s. de agua esterilizada, y homogeneizar la dispersión durante aproximadamente 1-2 minutos;
- (10) Enfriar la dispersión a temperatura ambiente antes de rellenar un vial.

Preparación de formulaciones de emulsión procesadas usando microfluidización

La emulsión no procesada descrita arriba o dentro del alcance de la invención se puede pasar subsiguientemente a través de un microfluidizador para producir emulsiones más estables con una estrecha distribución de tamaño de

gotita. Un proceso de microfluidización incluye el uso de un microfluidizador que está diseñado para suministrar la presión deseada al producto a una velocidad constante a la corriente de producto. Como resultado, la corriente de producto se acelera a alta velocidad a través de microcanales de geometría fija diseñada con precisión (cámara de interacción), creando velocidades de cizallamiento en la corriente de producto que son mucho más altas que con cualquier otro procedimiento convencional. Esto hace que las gotitas se rompan en tamaños más pequeños y den como resultado una formulación con una distribución de tamaños de gotita más uniforme y estrecha para aumentar la estabilidad física.

Procedimiento de procesamiento/caracterización de las formulaciones usando el microfluidizador

Las emulsiones coloidales se procesaron usando la cámara de interacción F20Y (75 micrómetros) con una escala de presión entre 28,27 MPa y 68,95 MPa, o H30Z (200 micrómetros) a una presión entre 13,79 MPa y 34,47 MPa. El número de pasadas varió de uno a tres. Se usó un baño de agua que rodeaba la cámara de interacción para impedir el aumento de temperatura del producto durante la etapa de microfluidización. El análisis incluyó el uso de un microscopio óptico y un analizador del tamaño de partículas. Se tomaron imágenes de cada muestra recogida después del procesamiento. El análisis de tamaño de partículas se hizo en la muestra no procesada y al final de cada ciclo de microfluidización.

Esterilización con vapor

Las formulaciones introdujeron y se cerraron herméticamente en un vial de vidrio, y se colocaron en un autoclave para esterilización final en un ciclo de 121°C durante 20 minutos. El tamaño de partículas se midió usando el Malvern Zetasizer Nano-ZS para observar los cambios en la distribución del tamaño de gotitas después del proceso de esterilización. El instrumento opera sobre el principio de dispersión dinámica de la luz.

Formulaciones y resultados

Se hicieron dos formulaciones de emulsión con PC de huevo y una combinación de triglicéridos de cadena media y larga. La formulación de emulsión no produjo hemólisis por administración en bolo ni por infusión en 4 y 6 ratas, respectivamente (Tabla 16). Sin embargo, estas formulaciones particulares no fueron estables más allá de un período de 24 horas, a menos que se agitaran para impartir un esfuerzo cortante y obtener la dispersión adecuada.

Tabla 16

Lote No.	Composición de formulaciones	Concentración de fármaco, mg/ml	Dosis diana (mg/kg)	Vía de la dosis	Punto de tiempo	Hemoglobinuria
85266 MCT-LCTinf	Aceite de soja-5% Myglyol 5% PC de huevo-1,2% Etanol 2%	10	20	Infusión Iv	6	0/4
85266 MCT-LCTbol	Aceite de soja-5% Myglyol 5% PC de huevo -3,0% Etanol 2%	10	20	Iv bolus	6	0/6
	Myglyol 5% PC de huevo-3,0%					

Se prepararon formulaciones de emulsión para análisis ulterior en ratas con 20% p/p de carga de aceite, y se hicieron físicamente estables usando Lipoid E80S como emulsionante. El alto contenido de aceite fue deseable para retener el Compuesto 1 en el núcleo hidrófobo. El Lipoid E80S tiene un contenido alto de fosfatidiletanolamina (PE) y actúa como un emulsionante aniónico. Este producto está disponible comercialmente de Lipoid KG de Ludwigshafen, Alemania. El contenido de PE en Lipoid E80S es de aproximadamente 20%, mientras que la fosfatilcolina de huevo constituye aproximadamente 80% de la sustancia. Estas formulaciones se ensayaron a una dosis de 20 mg/kg del Compuesto 1 por bolo y por infusión. La incidencia de hemólisis fue alta a esta carga de aceite, como puede verse en la Tabla 17.

Tabla 17

Lote No.	Composición de la formulación	Concentración de fármaco (mg/ml)	Dosis diana (mg/kg)	Vía de la dosis	Punto de tiempo (h)	Hemoglobinuria
85266-M/L20%inf	Aceite de soja-10% Myglyol-10% Lipoid E80S-1,2% Glicerina- 2,25% Etanol-1,6%	4	20	Infusión i.v.	6	3/6

ES 2 609 640 T3

85266-M/L20%	Aceite de soja-10% Myglyol-10% Lipoid E80S-1,2% Glicerina-2,25% etanol-4,0%	10	20	Bolo i.v.	6	4/6
--------------	---	----	----	-----------	---	-----

La reducción de la carga de aceite de 20% a 10% en la formulación produjo resultados limpios de hemólisis por vía tanto de bolo como de infusión lenta (Tabla 18).

5 Tabla 18

Lote No.	Composición de la formulación	Concentración de fármaco (mg/ml)	Dosis diana (mg/kg)	Vía de la dosis	Punto de tiempo (h)	Hemoglobinuria
85266-M/L20%inf	Aceite de soja-5% Myglyol-5% Lipoid E80S-1,2% Glicerina- 2,25% Etanol-1,6%	4	20	Infusión i.v.	6	0/6
85266-M/L10%	Aceite de soja-5% Myglyol-5% Lipoid E80S-1,2% Glicerina-2,25% etanol-4,0%	10	20	Bolo i.v.	6	0/6

Así, la formulación de emulsión preferida contiene una carga de aceite de 10%. Se le añadió oleato de sodio como ingrediente adicional, pero no produce resultados hemolíticos favorables en todas las vías de suministro (Tabla 19).

10

Tabla 19

Lote No.	Composición de la formulación	Concentración de fármaco (mg/ml)	Dosis diana (mg/kg)	Vía de la dosis	Punto de tiempo (h)	Hemoglobinuria
85266-M/L10%SOinf	Aceite de soja-5% Myglyol-5% Lipoid E80*-1,2% Oleato de sodio 0,3% Glicerina- 2,25% Etanol-1,6%	4	20	Infusión i.v.	6	1/5
85266-M/L10%SObol	Aceite de soja-5% Myglyol-5% Lipoid E80-1,2% Oleato de sodio 0,3% Glicerina-2,25% etanol-4,0%	4	8	Bolo i.v.	6	2/5

Lipoid E80 tiene un contenido de 10%de PE, en comparación con 20% en Lipoid E80S

15

También se ensayaron formulaciones sin oleato de sodio y con una concentración más alta de carga de fármaco (30 mg/kg) (Tabla 20).

Tabla 20

20

Lote No.	Composición de la formulación	Concentración de fármaco (mg/ml)	Dosis diana (mg/kg)	Vía de la dosis	Punto de tiempo (h)	Hemoglobi nuria
85266 M/L 10% inf2	Aceite de soja-5% Myglyol-5% Lipoid E80-1,2% Glicerina- 2,25% Etanol-2,0%	5	30	Infusión i.v.	6	1/5
85266 M/L 10%bol3	Aceite de soja-5% Myglyol-5% Lipoid E80-1,2% Glicerina-2,25%	15	30	Bolo i.v.	6	1/5

ES 2 609 640 T3

	etanol-4,0%		
--	-------------	--	--

Las cinco formulaciones de emulsión listadas más abajo se procesaron usando la técnica de microfluidización. En la tabla 21 se tabula el tamaño de partículas final (D_{10} , D_{50} y D_{90}) obtenido después de procesar estas formulaciones junto con el número de pasadas implicadas, la presión usada para forzar el líquido a través de la cámara de interacción, y el tipo de cámara de interacción usada.

5

Tabla 21

Muestra	Cámara de interacción	Presión (MPa)	Pasadas	D10 (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)
INFWSO	No procesada	0	0	1365	2643	4868
INFWSO	F20Y	68,95	1	198	316	4205
INFWSO	F20Y	28,27	1	237	390	728
INFWSO	F20Y	28,27	2	228	334	461
INFWSO	F20Y	28,27	3	217	318	437
INFWSO	H30Z	13,79	1	352	914	2862
INFWSO	H30Z	13,79	2	323	566	992
INFWSO	H30Z	13,79	3	309	442	578
INFWSO	No procesada	0	0	1949	4911	15.186
INFWSO	H30Z	13,79	1	474	699	972
INFWSO	H30Z	13,79	2	358	501	655
INFWSO	H30Z	13,79	3	335	464	608
INFWSO	H30Z	34,47	1	344	544	818
INFWSO	H30Z	34,47	2	272	386	503
INFWSO	H30Z	34,47	3	231	327	433
BOL10WSO	No procesada	0	0	1967	3892	6.873
BOL10WSO	H30Z	13,79	1	313	597	1.119
BOL10WSO	H30Z	13,79	2	308	498	735
BOL10WSO	H30Z	13,79	3	276	422	595
BOL10WSO	H30Z	34,47	1	266	529	3192
BOL10WSO	H30Z	34,47	3	227	341	482
BOL10SO	No procesada	0	0	885	2.028	3.868
BOL10SO	H30Z	13,79	1	284	507	905
SOL1OSO	H30Z	13,79	2	299	461	661
BOL10SO	H30Z	13,79	3	259	370	493
BOL10SO	H30Z	34,47	1	262	479	1.186
BOL10SO	H30Z	34,47	2	235	365	541
BOL10SO	H30Z	34,47	3	213	312	431
BOL15SO	No procesada	0	0	1.383	4.505	10.745
BOL15SO	H30Z	13,79	1	345	652	1.259
BOL15SO	H30Z	13,79	2	289	470	720
BOL15SO	H30Z	13,79	3	273	410	569

10

INFWSO es la misma composición de formulación que el lote No.:85266-M/L10%inf
 INFWSO es la misma composición de formulación que el lote No.: 85266-M/L10%SOinf
 BOL10WSO es la misma composición de formulación que el lote No.: 85266-M/L10%
 BOL10SO es la misma composición de formulación que el lote No.:85266-M/L10%SObol
 BOL15SO es la misma composición de formulación que el lote No: 85266-M/L10%bol3

15

Se obtuvo una distribución de tamaño de partículas (psd) más uniforme para todas las formulaciones procesadas. Como puede verse en la Figura 4, la curva de psd para BOL15SO se desplazó significativamente a la izquierda después de la microfluidización en comparación con la formulación no procesada sometida a tres pasadas a una presión de 13,79 MPa. Los valores de D_{50} y D_{90} para la BOL15SO no procesada fueron 4,505 μm y 10,745 μm , respectivamente, y se desplazaron a 410 nm y 569 nm, respectivamente, después de hacer pasar la formulación a través de tres pasadas usando una cámara de interacción H30Z (200 micrómetros) a una presión de 13,79 MPa. Las imágenes microscópicas confirman la uniformidad en la psd de las gotitas de aceite obtenidas después de someter la formulación a 3 pasadas de microfluidización a 13,79 MPa, en comparación con una pasada a 13,79 MPa (Figura 7).

20

La Figura 7 muestra las imágenes de microscopía óptica de las formulaciones BOL15SO e INFWSO durante la microfluidización. Los resultados de microscopía óptica muestran claramente el impacto del número de ciclos de microfluidización sobre la formulación BOL15SO (2 imágenes superiores) e INFWSO (4 imágenes inferiores). Se observa que las imágenes del lado derecho carecen de glóbulos de aceite muy grandes, con una distribución de tamaño más uniforme y estrecha.

25

30

Se hizo una observación similar con respecto a INFWSO. Los valores de D_{50} y D_{90} cambiaron de 2,643 μm y 4,848 μm de la formulación no procesada, a 442 nm y 578 nm con tres pasadas a 13,79 MPa usando la cámara de interacción H30Z. La curva de psd se desplazó adicionalmente a la izquierda, y los valores de D_{50} y D_{90} se registraron a 318 nm y 437 nm, respectivamente, usando la cámara de interacción F20Y con canales de microporo de 75 micrómetros, después de someter la formulación a 3 pasadas a una presión de 28,27 MPa (Figura 5). Las imágenes de microscopía de la formulación procesada después de una pasada a 13,79 MPa y 28,27 MPa muestran glóbulos de aceite grandes y una psd no uniforme que se hizo claramente más uniforme después de someter la formulación a más pasadas (Figura 7).

BOL10WSO produjo resultados similares sobre el procesamiento, desplazándose la curva para la psd de las gotitas de aceite significativamente a la izquierda después de la microfluidización. Los valores de D_{50} y D_{90} se registraron a 422 μm y 595 μm usando la cámara de interacción H30Z al procesar estas emulsiones a una presión de 13,70 MPa después de tres ciclos, en comparación con las formulaciones no procesadas que tenían una D_{50} y D_{90} de 3,892 μm y 6,873 μm . El uso de una presión más alta de 34,47 MPa usando la misma cámara de interacción en tres pasadas, desplazó adicionalmente la curva hacia la izquierda, produciendo valores de D_{50} y D_{90} de 341 nm y 482 nm, respectivamente (Figura 6). En las imágenes microscópicas (Figura 8) se observó claramente el efecto de la microfluidización sobre el número de ciclos y las gotitas de aceite más pequeñas obtenidas después de someter la formulación a una presión más alta.

La Figura 8 muestra imágenes de microscopía óptica de las formulaciones BOL10WSO durante la microfluidización.

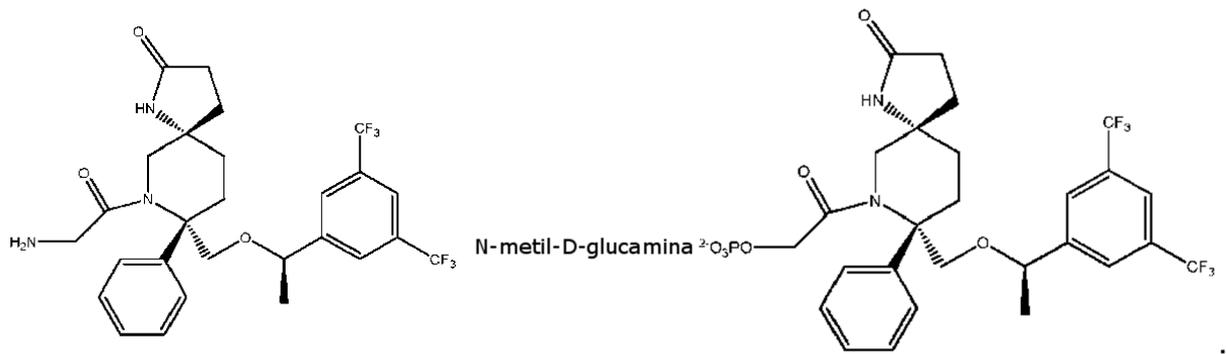
Los resultados de la microscopía óptica muestran claramente el impacto de la presión y el número de ciclos de microfluidización sobre la formulación, BOL10WSO. En las imágenes del lado derecho se observa la ausencia de glóbulos de aceite muy grandes con una distribución de tamaño más uniforme y estrecha. Además, como era de esperar, también las gotitas de aceite son más pequeñas cuando la formulación se somete a microfluidización a una presión más alta.

Se hicieron observaciones similares con las formulaciones INFWSO y BOL10SO (Figuras 9 y 10). La Figura 9 muestra imágenes de microscopía óptica de las formulaciones BOL15SO e INFWSO durante la microfluidización. Los resultados de microscopía óptica muestran claramente el impacto del número de ciclos de microfluidización sobre la formulación, INFWSO. Un número más alto de ciclos produce una distribución de tamaño de partículas más uniforme. La Figura 10 muestra imágenes de microscopía óptica de las formulaciones BOL10SO durante la microfluidización.

Los resultados de microscopía óptica muestran claramente el impacto del número de ciclos de microfluidización sobre la formulación BOL10SO. Un número más alto de ciclos produce una distribución de tamaño de partículas más uniforme.

De esta manera, el procesamiento de microfluidización produjo formulaciones de emulsión físicamente estables que comprenden un compuesto de Fórmula I y sales farmacéuticamente aceptables del mismo. La presente invención también se refiere a formulaciones de emulsión del compuesto de Fórmula I y sales del mismo que tienen gotitas con diámetros de la mediana de aproximadamente 500 nm o menos y un D_{90} de aproximadamente 600 nm o menos. Se obtuvieron tamaños de partículas de gotita aún más pequeños sometiendo las formulaciones a pasadas adicionales y presiones más altas. Después, las formulaciones se esterilizaron en autoclave para esterilizar las formulaciones para administración intravenosa. No se presentaron problemas visibles de estabilidad como resultado de la esterilización en autoclave. Las formulaciones INFWSO y BOL10WSO se esterilizaron en autoclave y después de una inspección visual se determinó que el tamaño de partículas medio obtenido después de un ciclo era de 353,4 nm y 336,7 nm, respectivamente (Figuras 11 y 12). De esta manera, se lograron resultados no hemolíticos reproduciblemente usando formulaciones de emulsión basadas en fosfolípido para administración tanto por bolo como por infusión lenta.

Como se indica anteriormente, las formulaciones son útiles en la prevención y tratamiento de la náusea y vómito asociados con la terapia de radiación para el tratamiento del cáncer; en quimioterapia para el tratamiento del cáncer, y en la náusea y vómito postoperatorios asociados. El curso de la terapia comprende una sola dosis de la formulación que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo, un día antes del inicio de la quimioterapia, seguido de administración una vez al día, los días dos y tres. El curso de la terapia también comprende la administración de una sola dosis el día 1. La disolución i.v. puede estar en forma de una disolución de 2 mg/ml, siendo necesarios 50 ml para suministrar 100 mg al paciente en necesidad del tratamiento. La formulación puede ser una disolución premezclada lista para usarse, o un concentrado que se puede diluir antes de usarse. Las formulaciones liofilizadas descritas en la presente pueden estar en forma de un polvo que se mezcla con disolución salina o una disolución amortiguadora apropiada antes del uso.



Datos de hemolisis para el profármaco de sal de fosfato de glucamina en dextrosa/agua:

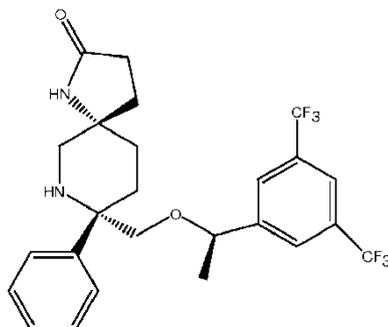
- 5 dosis 20 mg/kg 2 ml/kg 10 mg/ml 0/4 orina; 1/4 plasma punto de tiempo 0,25 horas
 20 2 10 0/3 orina; 0/3 plasma punto de tiempo 1 h

Datos para la amina generada con un vehículo (10% de Solutol) 0,25 h, hemolisis 3/3.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica apta para la administración intravenosa, que comprende:

5 a) un compuesto de Fórmula I



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

b) un vehículo farmacéuticamente aceptable seleccionado de entre:

- 15 i. micelas cargadas con aceite, micelas, micelas cargadas negativamente, cremophores, emulsiones, microemulsiones, intralípidos, seroalbúmina humana, liposomas y aminoácidos cargados negativa y positivamente; o
- ii. disolventes orgánicos solubles en agua, tensioactivos no iónicos, lípidos insolubles en agua, lípidos/semisólidos orgánicos y fosfolípidos,

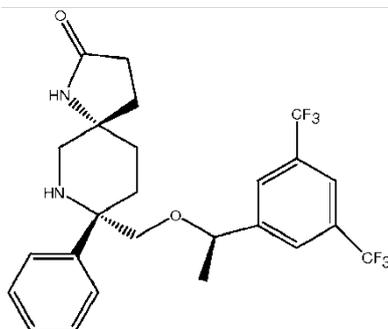
20 y en la que dicho vehículo farmacéuticamente aceptable no incluye β -ciclodextrina.

2. Composición según la reivindicación 1, en la que el vehículo farmacéuticamente aceptable está en forma de una micela cargada de aceite, en la que la micela cargada de aceite comprende preferentemente 15-hidroxiestearato de macrogol en combinación con un triglicérido de cadena larga y de cadena media.

3. Composición según la reivindicación 1, en la que el vehículo farmacéuticamente aceptable está en forma de una emulsión, en la que la emulsión comprende preferentemente un triglicérido de cadena larga y un triglicérido de cadena corta.

30 4. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende:

a) un compuesto de Fórmula I



35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

b) 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,50% y aproximadamente 10,0% en peso de la composición total;

40 c) un triglicérido de cadena media, seleccionado preferentemente de entre el grupo que consiste en triglicérido de ácido caprílico, triglicérido de ácido cáprico, triglicérido de ácido caprílico/cáprico, triglicérido de aceite de coco, triglicérido caprílico/caprílico/láurico, triglicérido caprílico/caprílico/linoleico, triglicérido caprílico/caprílico/esteárico, y combinaciones de dos o más de los mismos, en una cantidad comprendida

entre aproximadamente 0,10% y aproximadamente 2,5% en peso de la composición total;

d) un triglicérido de cadena larga, seleccionado preferentemente de entre el grupo que consiste en aceite de soja, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de cártamo, aceite de ajonjolí, aceite de hígado de tiburón, oleato de etilo, aceite de ricino, ácido graso monoinsaturado omega 9, y combinaciones de dos o más de los mismos, en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,10% y aproximadamente 1,5% en peso de la composición total; y

e) por lo menos un amortiguador, siendo la relación en peso de 15-hidroxiestearato de macrogol:triglicérido de cadena media:triglicérido de cadena larga en la composición aproximadamente 5-100:1-5:1, y estando el pH de la composición comprendido aproximadamente entre 6,5 y aproximadamente 8,0.

5. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que el 15-hidroxiestearato de macrogol está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,5% y aproximadamente 10,0% en peso de la composición total; el triglicérido de cadena media está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,15% y aproximadamente 1,5% en peso de la composición total; y el triglicérido de cadena larga está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,10% y aproximadamente 1,2% en peso de la composición total; o en la que el 15-hidroxiestearato de macrogol está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,88% y aproximadamente 4,84% en peso de la composición total; el triglicérido de cadena media está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,20% y aproximadamente 1,20% en peso de la composición total; y el triglicérido de cadena larga está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,10% y aproximadamente 0,75% en peso de la composición total.

6. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que el triglicérido de cadena media es el triglicérido de ácido caprílico/cáprico, y el triglicérido de cadena larga es el aceite de soja refinado.

7. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de hidrócloruro.

8. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que el compuesto de Fórmula I está presente en una concentración comprendida entre 1 mg/ml y 15 mg/ml, preferentemente entre 2 mg/ml y 10 mg/ml, más preferentemente 2 mg/ml.

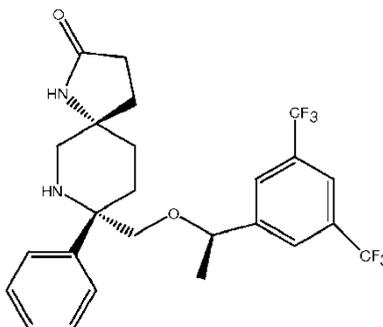
9. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que el pH de la composición está comprendido entre aproximadamente 7 y aproximadamente 8, preferentemente aproximadamente 7,5.

10. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que la composición además comprende un ajustador de la tonicidad y/o un ajustador del pH.

11. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que dicho por lo menos un amortiguador es un amortiguador de fosfato, preferentemente un amortiguador de fosfato de sodio.

12. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, que comprende:

(a) un compuesto de Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto de Fórmula I está presente preferentemente en una concentración comprendida entre 1 mg/ml y 15 mg/ml;

(b) 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 4,4% en peso de la composición total;

(c) por lo menos un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 1,1% en peso de la composición total;

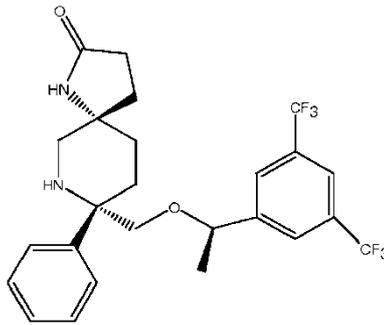
(d) aceite de soja refinado en una cantidad de aproximadamente 0,66% en peso de la composición total; y

(e) un amortiguador de fosfato, en la que el pH de la composición es de aproximadamente 7,5;

5

o que comprende:

(a) un compuesto de Fórmula I



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto de Fórmula I está presente preferentemente en una concentración comprendida entre 1 mg/ml y 15 mg/ml;

15

(b) 15-hidroxiestearato de macrogol en una cantidad de aproximadamente 0,88% en peso de la composición total;

20

(c) por lo menos un triglicérido de cadena media en una cantidad de aproximadamente 0,22% en peso de la composición total;

(d) aceite de soja refinado en una cantidad de aproximadamente 0,12% en peso de la composición total; y

(e) un amortiguador de fosfato, en la que el pH de la composición es de aproximadamente 7,5.

25

13. Procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende:

30

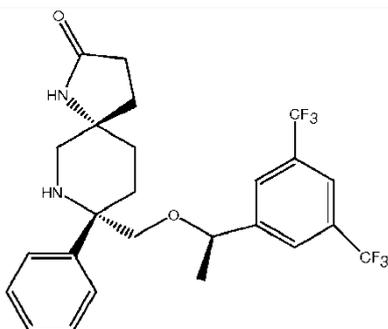
a) calentar (i) 15-hidroxiestearato de macrogol fundido, en el que el 15-hidroxiestearato de macrogol fundido se obtiene preferentemente calentando el 15-hidroxiestearato de macrogol a una temperatura comprendida entre 60°C y 65°C, (ii) un triglicérido de cadena media, en el que el triglicérido de cadena media se selecciona preferentemente de entre el grupo que consiste en triglicérido de ácido caprílico, triglicérido de ácido cáprico, triglicérido de ácido caprílico/cáprico, triglicérido de aceite de coco, triglicérido caprílico/caprílico/láurico, triglicérido caprílico/caprílico/linoleico, triglicérido caprílico/caprílico/esteárico, y combinaciones de dos o más de los mismos, y (iii) un triglicérido de cadena larga, en el que el triglicérido de cadena larga se selecciona preferentemente de entre el grupo que consiste en aceite de soja, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de cártamo, aceite de ajonjolí, aceite de hígado de tiburón, oleato de etilo, aceite de ricino, ácido graso monoinsaturado omega 9, y combinaciones de dos o más de los mismos, para formar una composición;

35

40

b) añadir agua a la composición para formar una composición de microemulsión, y calentar opcionalmente la mezcla a una temperatura de aproximadamente 60°C;

c) añadir a la composición de microemulsión un compuesto de Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

- 5 d) añadir por lo menos un amortiguador y ajustar el pH entre aproximadamente 6,5 y aproximadamente 8,0, preferentemente 7,5 aproximadamente, para formar una composición farmacéutica, en la que el 15-hidroxiestearato de macrogol está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,50% y aproximadamente 10,0% en peso de la composición farmacéutica total, el triglicérido de cadena media está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,10% y aproximadamente 2,5% en peso de la composición farmacéutica total, y el triglicérido de cadena larga está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,10% y aproximadamente 1,5% en peso de la composición farmacéutica total, y en la que la relación en peso de 15-hidroxiestearato de macrogol:triglicérido de cadena media:triglicérido de cadena larga en la composición es aproximadamente 5-100:1-5:1.

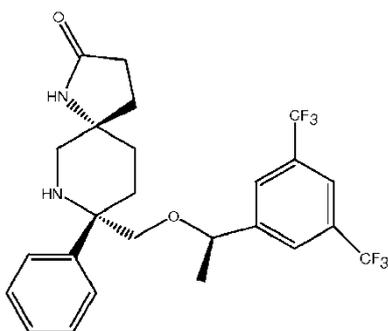
- 15 14. Procedimiento según la reivindicación 13, en el que el triglicérido de cadena media es triglicérido de ácido caprílico/cáprico, y el triglicérido de cadena larga es aceite de soja.

- 20 15. Procedimiento según la reivindicación 13, en el que el compuesto de Fórmula I está presente en la composición farmacéutica en una concentración comprendida entre 1 mg/ml y 15 mg/ml.

16. Procedimiento según la reivindicación 13, que además comprende añadir un ajustador de la tonicidad a la composición de microemulsión.

- 25 17. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende:

- a) un compuesto de Fórmula I



30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; e

- 35 b) hidroxiestearato pegilado en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,88% y aproximadamente 5% en peso de la composición total, estando el hidroxiestearato pegilado sustancialmente libre de polietilenglicol libre, y estando el pH de la composición comprendido entre aproximadamente 6,5 y aproximadamente 8,0.

- 40 18. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o 17, o preparada según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, para su uso en un procedimiento para tratar náusea y/o emesis en un paciente que necesite tratamiento, en la que la composición está en una forma para administración intravenosa por infusión.

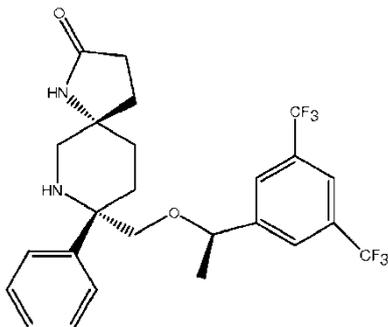
19. Composición farmacéutica según la reivindicación 18, en la que la náusea y/o emesis son inducidas por quimioterapia o son náusea y/o vómito postoperatorios.

20. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 18, en la que el compuesto de Fórmula I o sal

farmacéuticamente aceptable del mismo está presente en una concentración comprendida entre 1 mg/ml y 15 mg/ml, o en la que la dosis diaria del compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo está comprendida entre 1 mg/kg y 9 mg/kg de peso corporal del paciente.

5 21. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 18, en la que la composición está en una forma para administración intravenosa mediante infusión durante un período comprendido entre 15 y 90 minutos.

10 22. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o 17, o preparada según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, para su uso en un procedimiento para minimizar la hemólisis en un paciente tras la administración intravenosa de un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

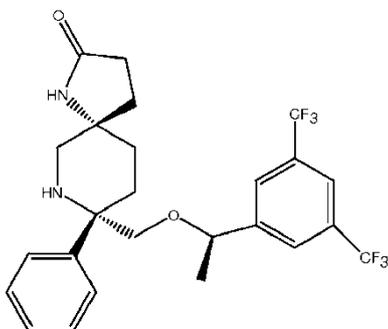


15 en la que la composición está en una forma para administración intravenosa por infusión.

23. Composición según la reivindicación 18 o 22, en la que el paciente es un primate, preferentemente un ser humano, o un animal de compañía.

20 24. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende:

a) un compuesto de Fórmula I

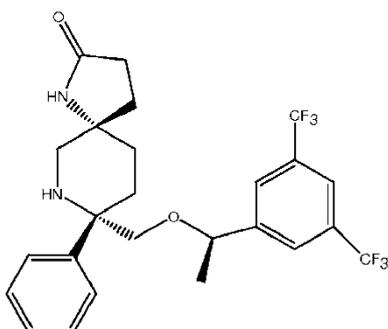


25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) un fosfolípido;

o que comprende:

30 a) un compuesto de Fórmula I



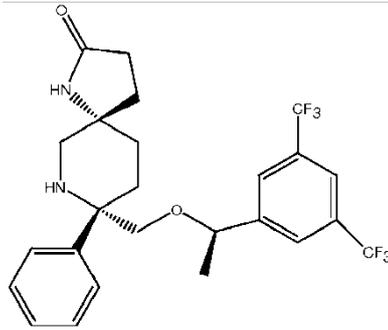
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) un ácido graso de cadena larga o triglicérido de cadena larga;

5

o que comprende:

a) un compuesto de Fórmula I



10

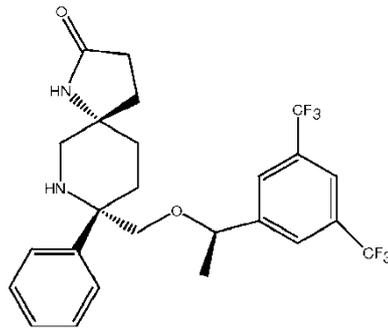
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) un triglicérido o ácido graso de cadena media;

15

o que comprende:

a) un compuesto de Fórmula I:



20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

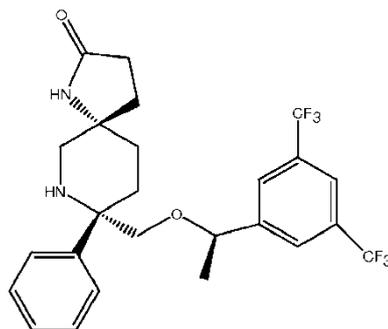
25

c) un fosfolípido;

o que comprende:

30

a) un compuesto de la fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

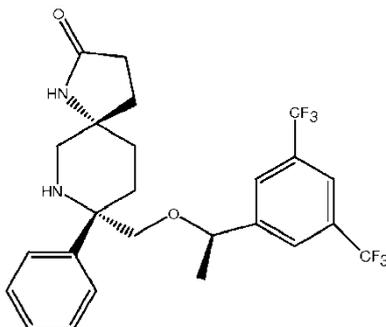
5 c) un fosfolípido; y

d) glicerina;

o que comprende:

10

a) un compuesto de Fórmula I



15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

a) un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

20

b) un fosfolípido, en la que el porcentaje en peso de componente b) basado en el peso total de la composición es preferentemente del 10% aproximadamente;

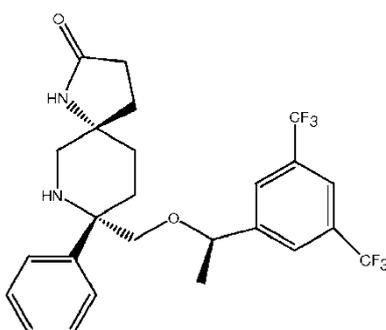
c) glicerina; y

d) etanol;

25

o que comprende:

a) un compuesto de Fórmula I



30

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) 10% de un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

35

c) 1,2% de un fosfolípido; y

d) 2,25% de glicerina.

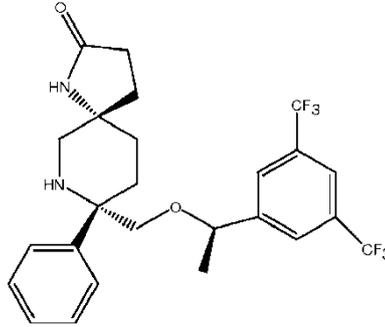
40

25. Combinación que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o 17, o preparada según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, y por lo menos un ingrediente farmacéutico activo adicional seleccionado de entre el grupo que consiste en un antidepresivo, siendo el antidepresivo seleccionado preferentemente de entre SSRI, una medicación contra la náusea o antiemética, siendo la medicación contra la náusea/antiemética seleccionada preferentemente de entre un antagonista del receptor de 5-

HT₃, un agente quimioterápico o un agente antiinflamatorio.

26. Composición farmacéutica según la reivindicación 24, que comprende

- 5 a) un compuesto de Fórmula I



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) un triglicérido de cadena media y/o un ácido graso o triglicérido de cadena larga; y

15 c) un fosfolípido, en el que el porcentaje en peso del fosfolípido basado en el peso total de la composición es aproximadamente del 10% preferentemente;

d) glicerina; y

e) etanol;

20 para su uso en un procedimiento para tratar emesis en un paciente que necesita tratamiento, estando la composición preferentemente en una forma para administración como una dosis de bolo.

25 27. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o 17, o preparada según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, para su uso en un procedimiento para tratar un paciente que necesite tratamiento para náusea y vómito inducido por quimioterapia, estando la composición en una forma para administración de una formulación intravenosa a una dosis por ciclo de tratamiento quimioterápico.

Figura 1

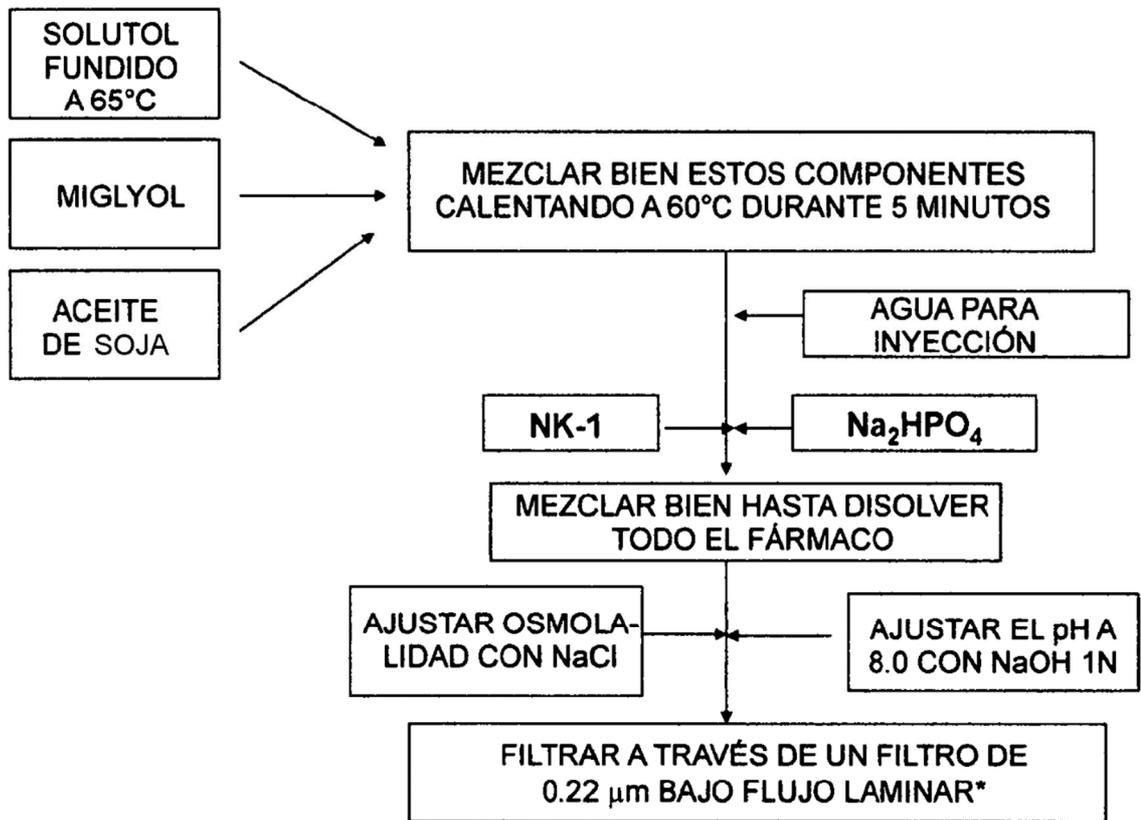
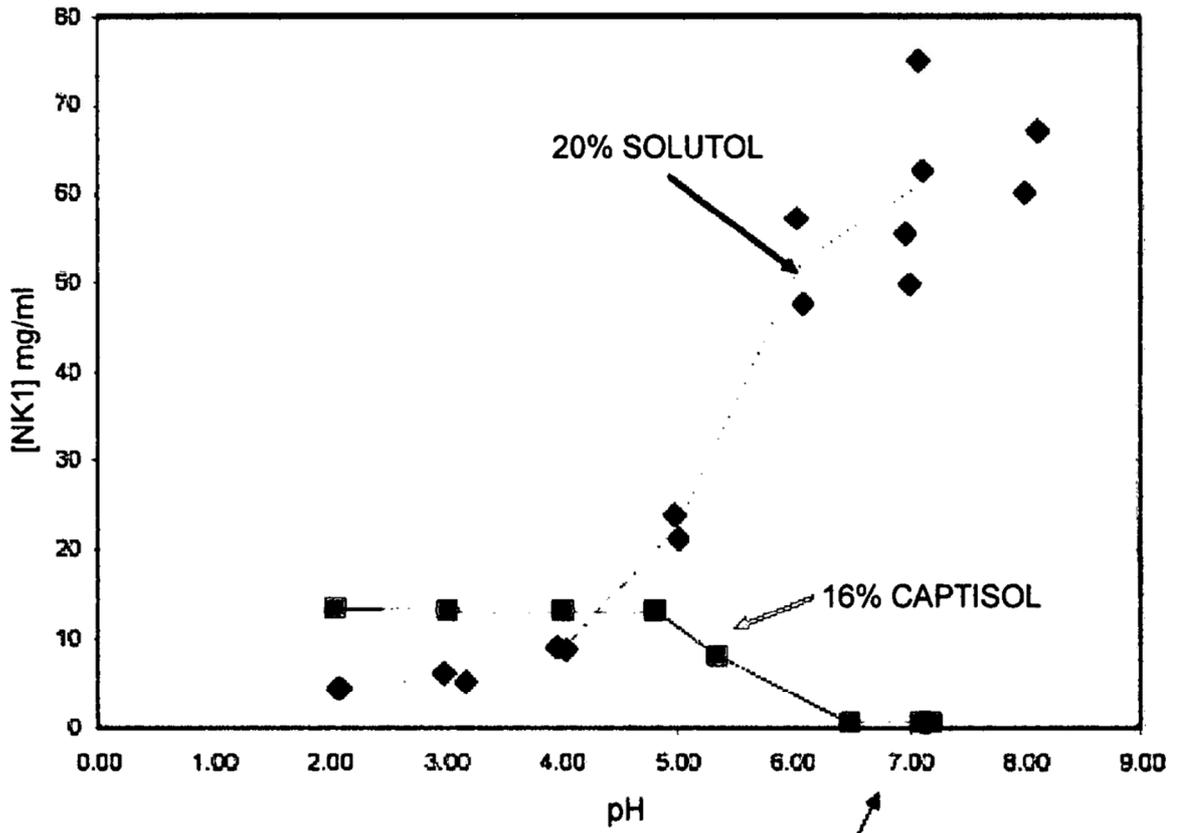


Figura 2



A pH 7, LA SOLUBILIDAD DE NK-1
ACUOSO ES DE <6 µg/ml

Figura 3

Representación esquemática del método para fabricar formulaciones en emulsión de NK-1

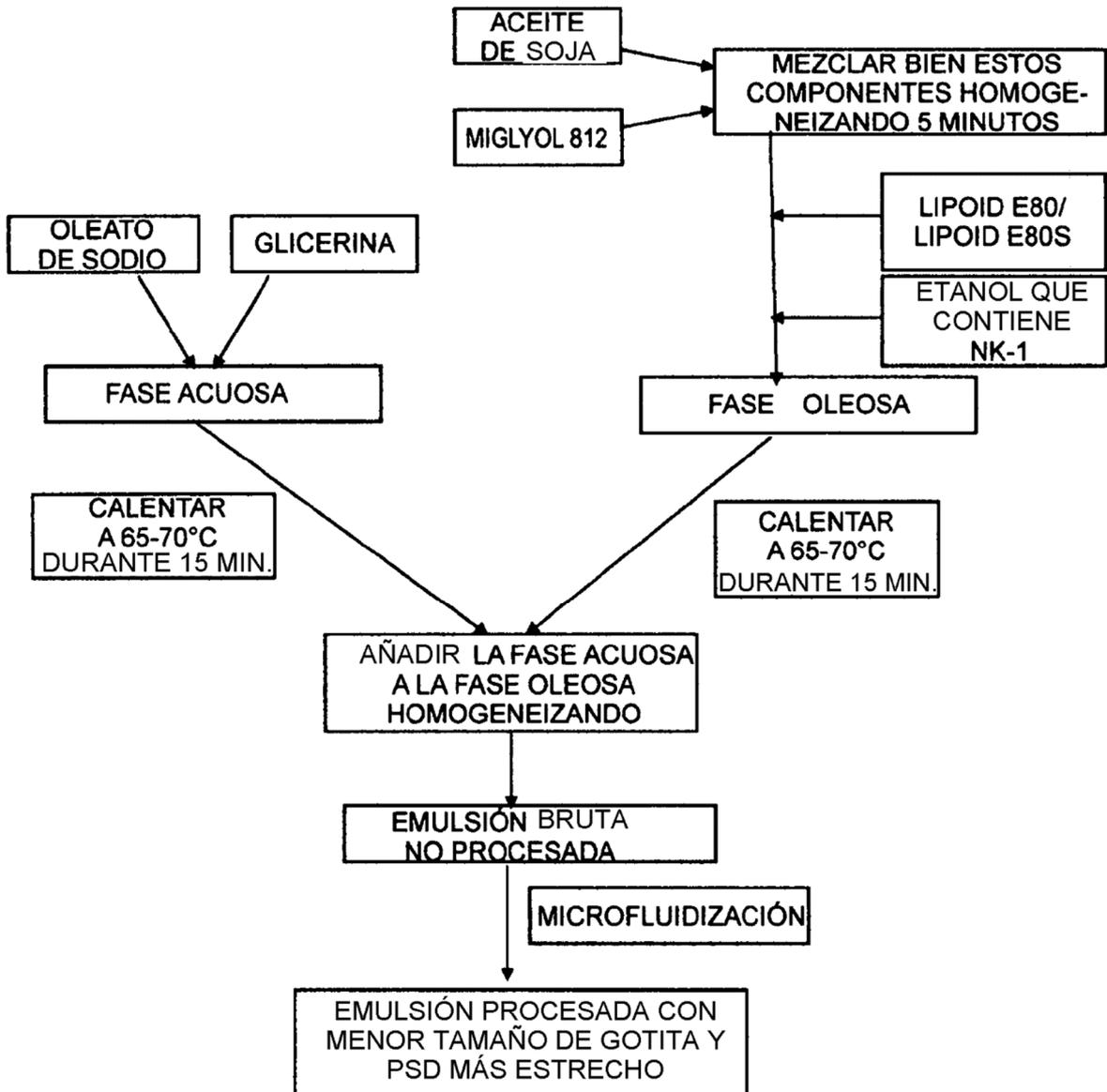


Figura 4

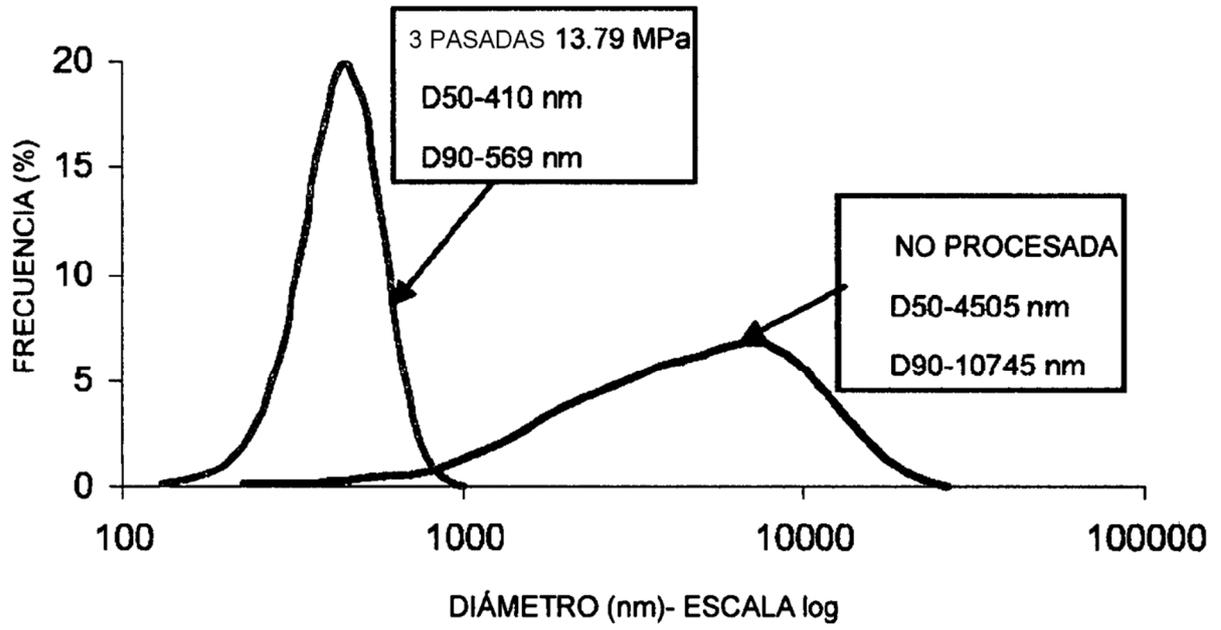


Figura 5

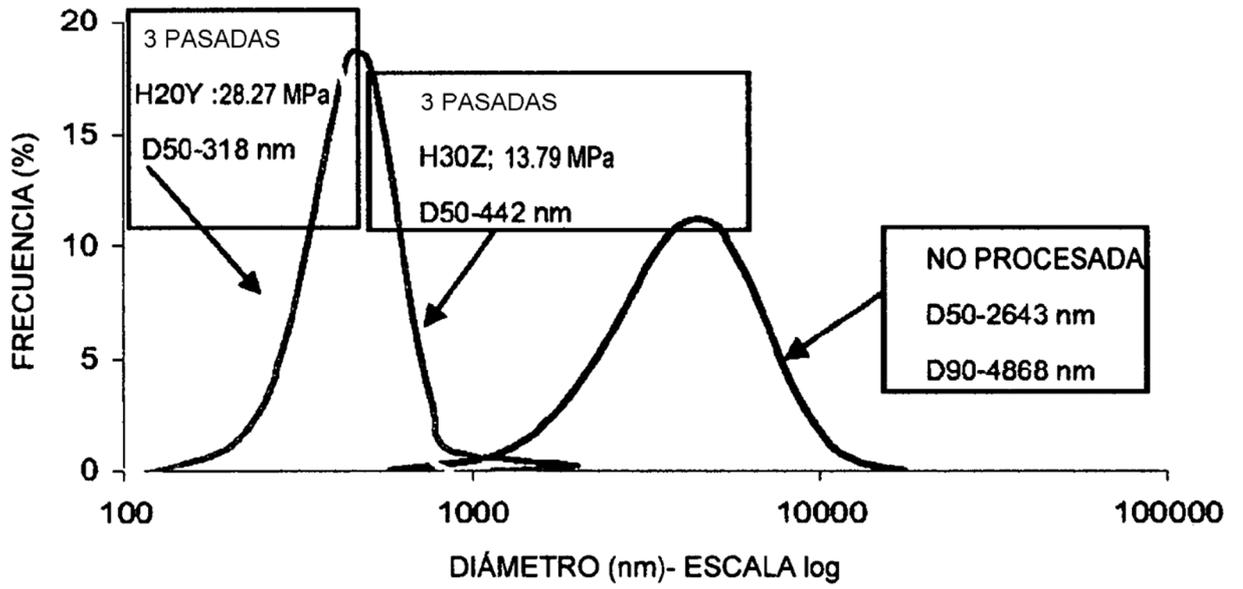


Figura 6

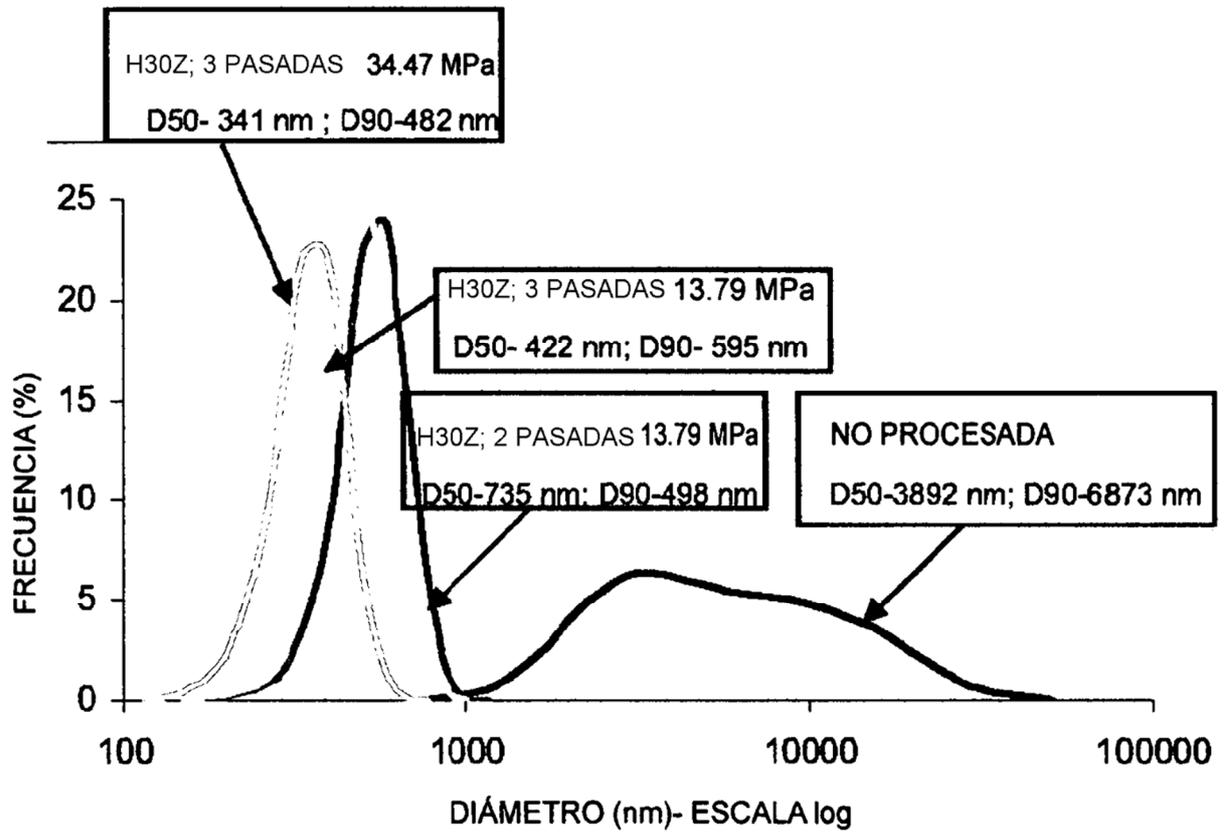
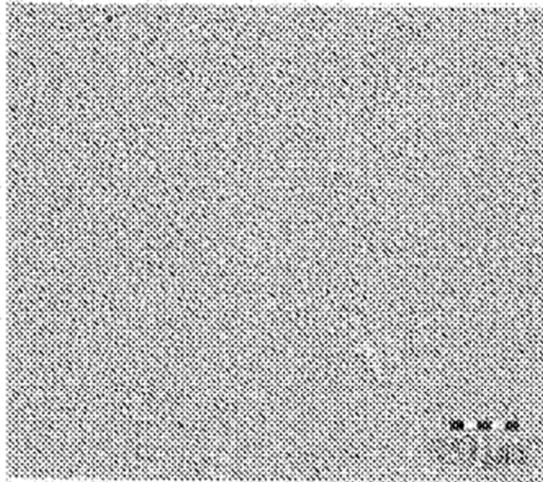
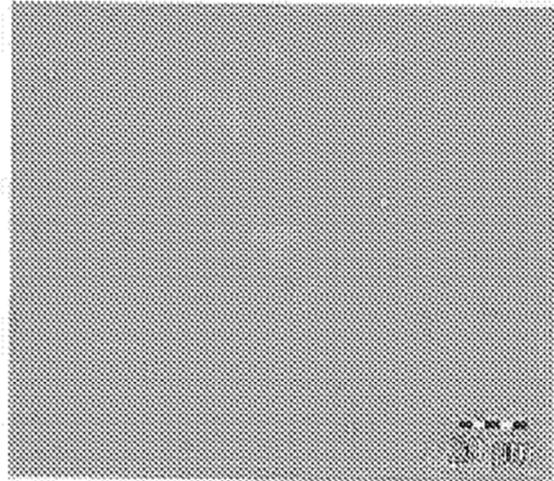


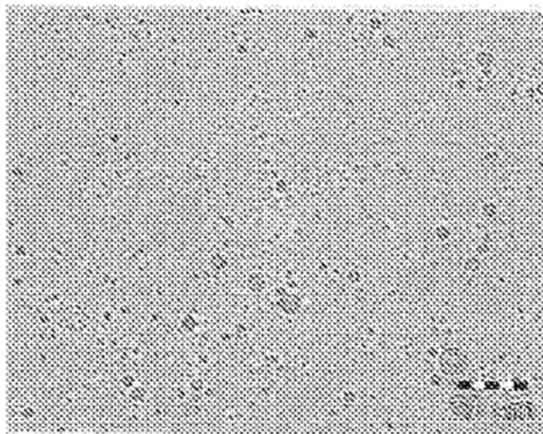
Figura 7



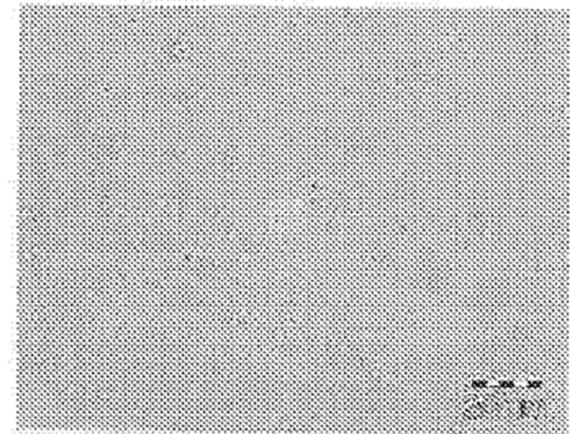
1 pasada H3OZ 2000 psi



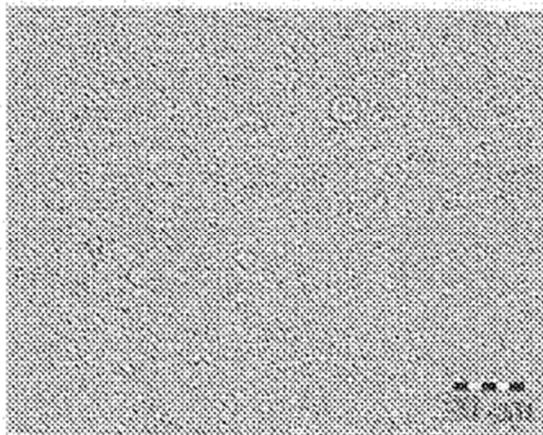
3 pasadas H3OZ 2000 psi



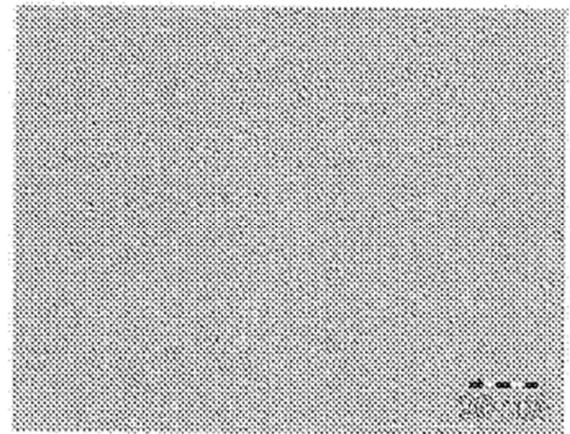
1 pasada H3OZ 5000 psi



3 pasadas H3OZ 5000 psi



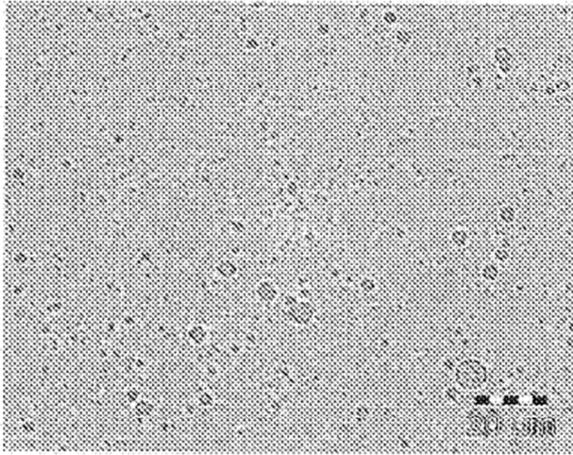
1 pasada H3OZ 2000 psi



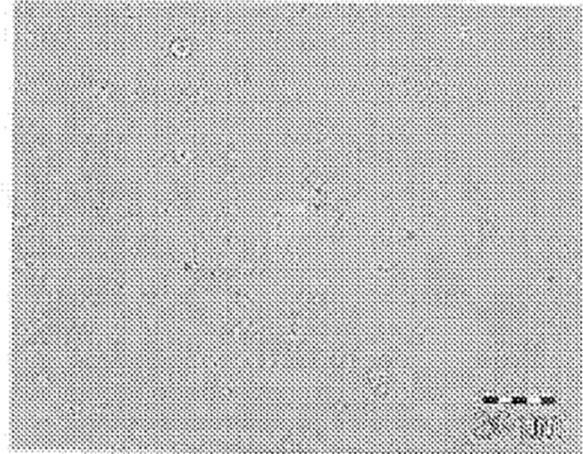
3 pasadas H3OZ 2000 psi

Figura 8

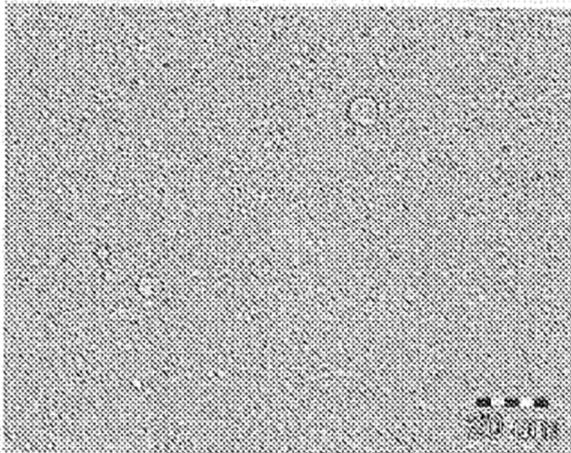
BOL10WSO



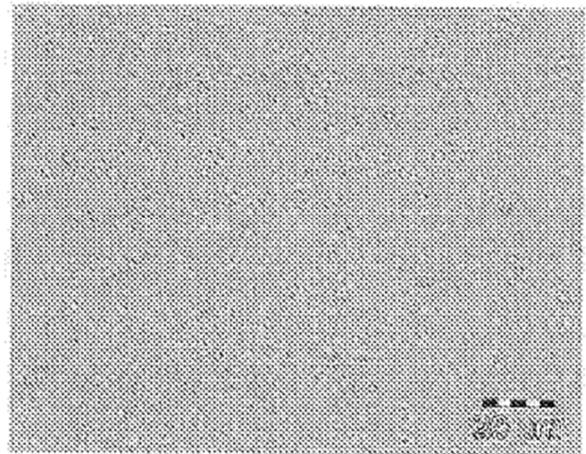
1 pasada H3OZ 5000 psi



3 pasadas H3OZ 5000 psi



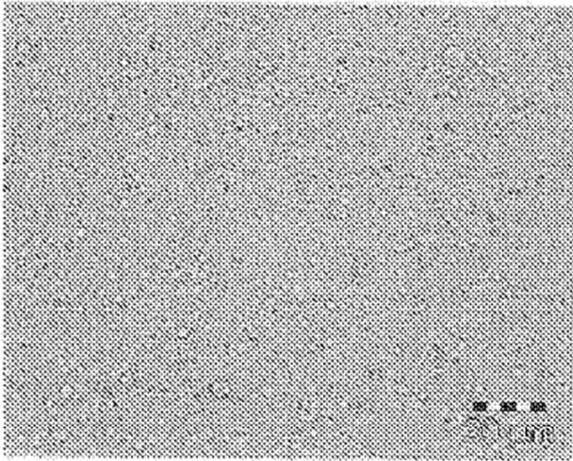
1 pasada H3OZ 2000 psi



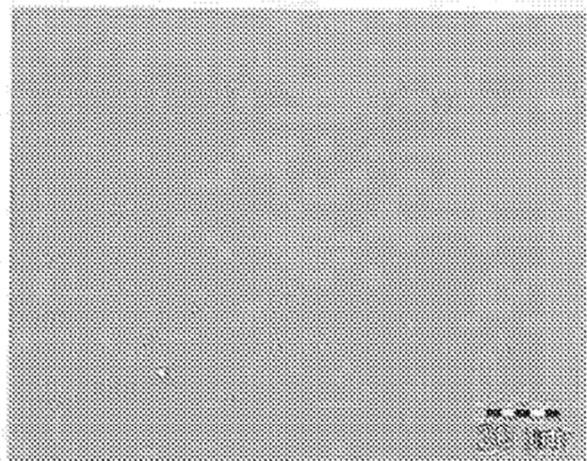
3 pasadas H3OZ 2000 psi

Figura 9

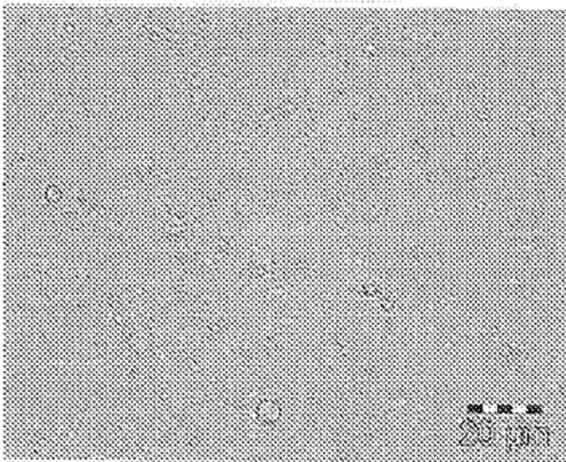
INFSO



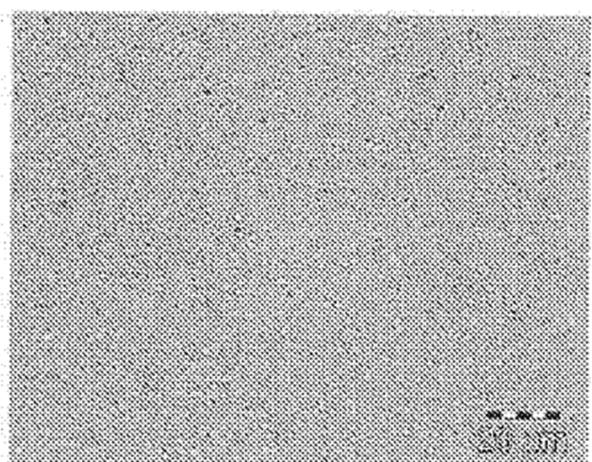
1 pasada H30Z 5000 psi



3 pasadas H30Z 5000 psi



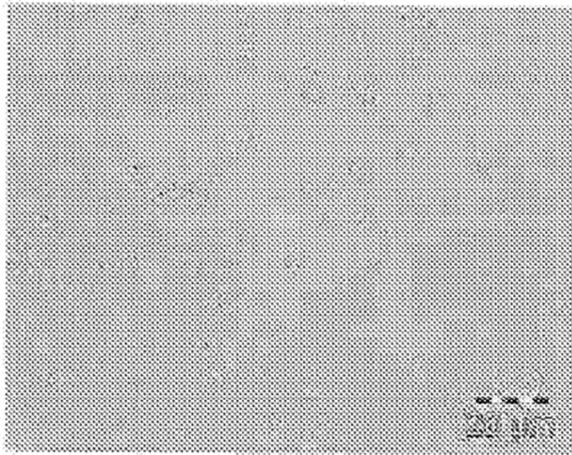
1 pasada H30Z 2000 psi



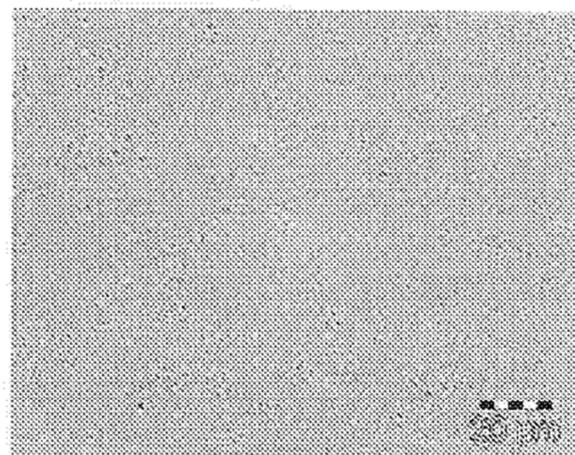
3 pasadas H30Z 2000 psi

Figura 10

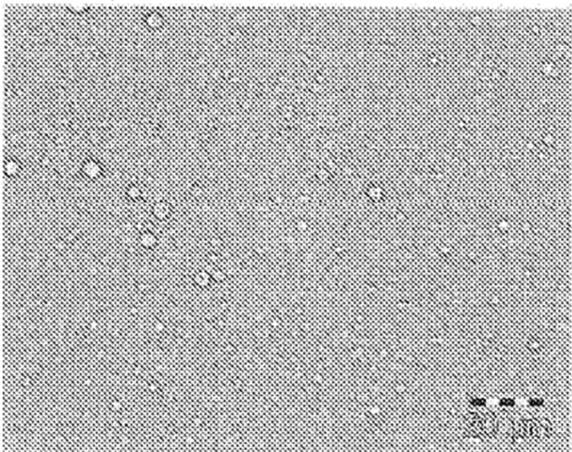
BOL10SO



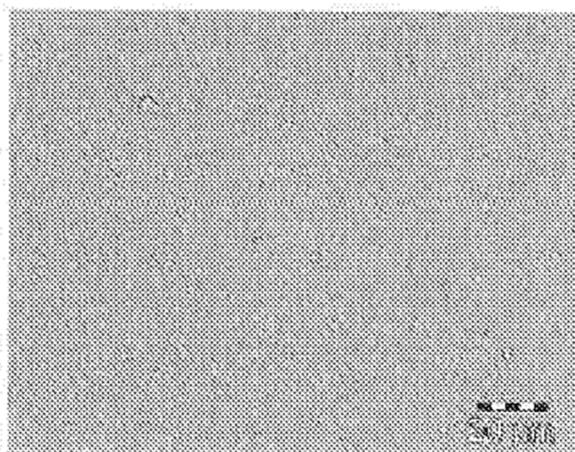
1 pasada H3OZ 5000 psi



3 pasadas H3OZ 5000 psi



1 pasada H3OZ 2000 psi



3 pasadas H3OZ 2000 psi

Figura 11

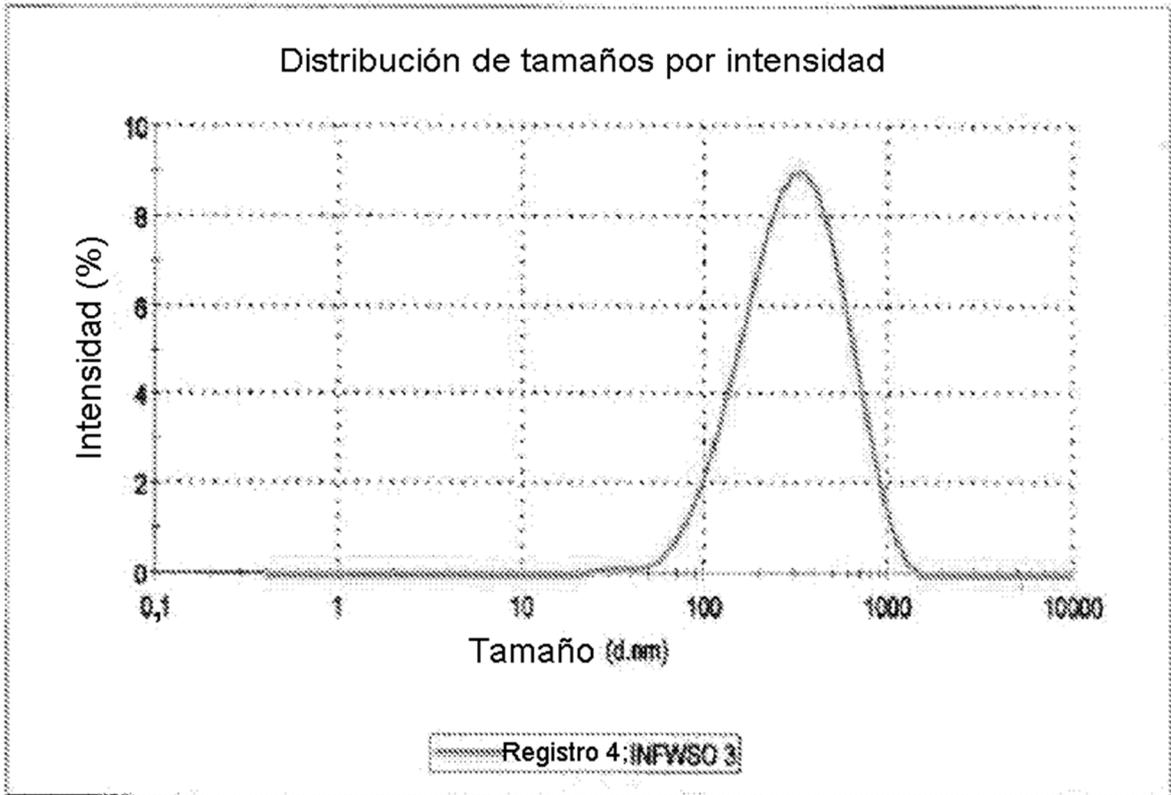


Figura 12

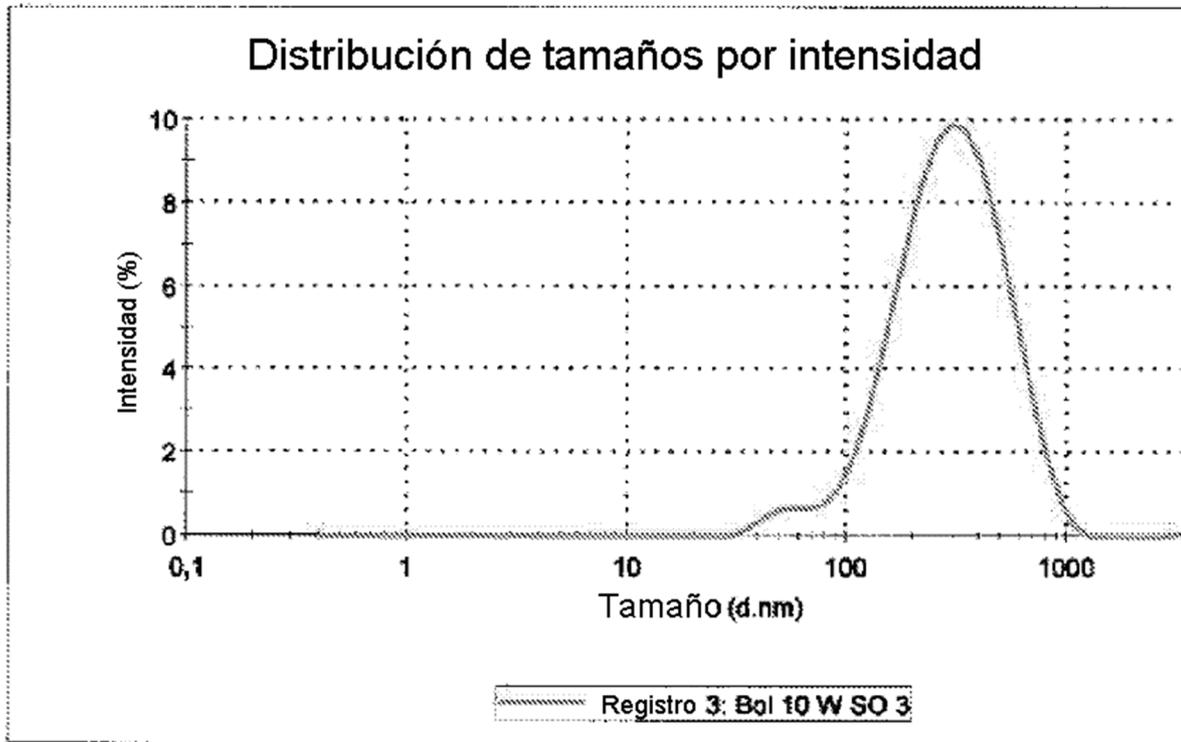


Figura 13

