

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 640 648**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/16** (2006.01)

**A61K 31/517** (2006.01)

**A61K 47/12** (2006.01)

**A61K 9/51** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.09.2014 PCT/GB2014/052787**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.03.2015 WO15036792**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2014 E 14772420 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2017 EP 3046584**

54 Título: **Nanopartículas poliméricas terapéuticas y métodos para su fabricación y uso**

30 Prioridad:

**16.09.2013 US 201361878227 P**  
**13.02.2014 US 201461939332 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.11.2017**

73 Titular/es:

**AstraZeneca AB (100.0%)**  
**151 85 Södertälje, SE**

72 Inventor/es:

**ASHFORD, MARIANNE BERNICE;**  
**NOLAN, JAMES MARTIN III;**  
**SHIN, EYOUNG;**  
**SONG, YOUNG-HO;**  
**TROIANO, GREG y**  
**WANG, HONG**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 640 648 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

Nanopartículas poliméricas terapéuticas y métodos para su fabricación y uso

Antecedentes

5 Sistemas que administran ciertos fármacos a un paciente (por ejemplo, se distribuyen preferentemente a un tipo particular de tejido o célula o a un tejido enfermo específico más que al tejido normal) o que controlan la liberación de fármacos se han reconocido durante mucho tiempo como beneficiosos.

10 Por ejemplo, los agentes terapéuticos que incluyen un agente activo distribuido preferentemente a un tejido enfermo específico más que al tejido normal, pueden aumentar la exposición del fármaco en esos tejidos sobre otros en el cuerpo. Esto es particularmente importante cuando se trata una afección tal como el cáncer cuando es deseable que se administre una dosis citotóxica del fármaco a las células cancerosas sin destruir el tejido no canceroso circundante. La distribución efectiva de fármacos puede reducir los efectos secundarios indeseables y a veces potencialmente mortales comunes en la terapia contra el cáncer.

15 Las nanopartículas, en virtud de su tamaño y propiedades de superficie, deben permitir la circulación prolongada en la vasculatura y la acumulación preferencial en el tejido a través de la arquitectura defectuosa de los tejidos/tumores enfermos mediante el efecto de Permeación y Retención Mejoradas.

20 Los tratamientos terapéuticos que ofrecen terapia de liberación controlada también deben ser capaces de suministrar una cantidad efectiva de fármaco, lo que es una limitación conocida en algunos sistemas de suministro de nanopartículas. Por ejemplo, puede ser un reto preparar sistemas de nanopartículas que tengan una cantidad apropiada de fármaco asociada con cada nanopartícula, manteniendo al mismo tiempo el tamaño de las nanopartículas lo suficientemente pequeño para tener propiedades de suministro ventajosas.

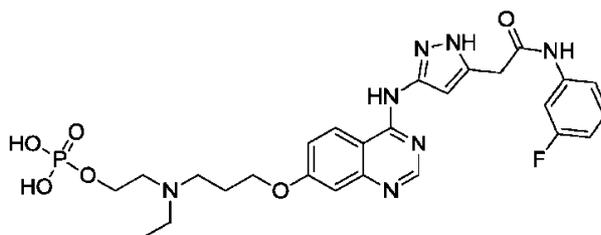
Por consiguiente, existe una necesidad de agentes terapéuticos en nanopartículas y métodos para fabricar tales nanopartículas que sean capaces de proporcionar niveles terapéuticos del agente terapéutico para tratar enfermedades tales como cáncer, al tiempo que reducen los efectos secundarios en el paciente.

25 El cáncer (y otras enfermedades hiperproliferativas) se caracteriza por la proliferación celular no controlada. Esta pérdida de la regulación normal de la proliferación celular a menudo parece ocurrir como el resultado del daño genético a las vías celulares que controlan el avance a través del ciclo celular.

30 En los eucariotas, se considera que una cascada ordenada de fosforilación proteica controla el ciclo celular. Se han identificado varias familias de proteínas quinasas que juegan papeles críticos en esta cascada. La actividad de muchas de estas quinasas se incrementa en los tumores humanos cuando se compara con el tejido normal. Esto puede ocurrir ya sea por niveles incrementados de expresión de la proteína (como resultado de la amplificación génica, por ejemplo), o por cambios en la expresión de proteínas coactivadoras o inhibidoras.

35 Las aurora quinasas (Aurora-A, Aurora-B y Aurora-C) codifican quinasas de serina-treonina reguladas por el ciclo celular (resumidas en Adams et al., 2001, Trends in Cell Biology, 11(2): 49-54). Estas muestran un pico de expresión y la actividad de quinasa a través de G2 y la mitosis y durante mucho tiempo ha sido implicado un papel de las aurora quinasas humanas en el cáncer.

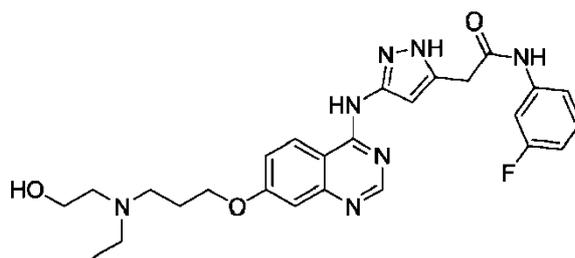
40 El inhibidor de Aurora quinasa conocido como AZD1152 (2-(etil(3-((4-((5-(2-((3-fluorofenil)amino)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-7-il)oxi)propil)amino)etil dihidrógeno fosfato), que se describe a continuación, también conocido como barasertib, se describió por primera vez en la Solicitud de Patente Internacional WO2004/058781 (Ejemplo 39) y ha sido estudiado por AstraZeneca como un tratamiento potencial para diversos tipos de cáncer. Sin embargo, existen retos prácticos en la administración clínica de AZD1152 como una solución intravenosa administrada continuamente durante varios días.



AZD1152

45 Se sabe que AZD1152 se metaboliza *in vivo* en un compuesto conocido como AZD1152 hqpa (2-(3-((7-(3-(etil(2-hidroxietil)amino)propoxi)quinazolin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)-N-(3-fluorofenil)acetamida), también descrito en el documento WO2004/058781. El AZD1152 hqpa es de hecho, en gran medida, la unidad estructural que ejerce el efecto biológico cuando se administra el AZD1152 mismo. Sin embargo, las composiciones farmacéuticas de

AZD1152 hqpa, particularmente aquellas adecuadas para administración comercial, no han sido previamente descritas o probadas específicamente.



AZD1152 hqpa

- 5 En el documento WO2014/043625 se describen formulaciones en nanopartículas que incluyen agentes terapéuticos básicos con un nitrógeno protonable. El documento US 2008/0045481 describe un cocristal de maleato de AZD1152.

#### Resumen

Se describen aquí nanopartículas poliméricas que incluyen AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como agente terapéutico, y métodos para fabricar y usar tales nanopartículas terapéuticas. La solicitud se refiere específicamente a una nanopartícula terapéutica que comprende 55 a 85 por ciento en peso de copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno) glicol, donde la nanopartícula terapéutica comprende 10 a 30 por ciento en peso de poli(etileno)glicol, 5 a 20 por ciento en peso de ácido pamoico y 10 a 25 por ciento en peso de 2-(3-((7-(3-(etil(2-hidroxietil)amino)propoxi)quinazolin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)-N-(3-fluorofenil)acetamida ("AZD1152 hqpa"). Las referencias en el presente documento a "el" o a "un" "agente terapéutico" deben entenderse con el significado de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a menos que el contexto dicte otra cosa.

En particular, el agente terapéutico es AZD1152 hqpa.

En un aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa, un polímero adecuado y ácido pamoico.

20 En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa, un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno)glicol y ácido pamoico.

En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno)glicol y una mezcla de AZD1152 hqpa y ácido pamoico.

En otro aspecto se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno)glicol y el producto obtenido mediante la interacción de AZD1152 hqpa y ácido pamoico.

25 En un aspecto adicional se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno)glicol y un par de iones hidrófobos formado entre AZD1152 hqpa y ácido pamoico.

En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 80 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etileno)glicol, aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 35 a aproximadamente 94.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etileno)glicol, aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa.

35 En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 35 a aproximadamente 94 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etileno)glicol, aproximadamente 1 a aproximadamente 35 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa.

40 En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 85 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etileno)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etileno)glicol, aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por

ciento en peso de AZD1152 hqpa.

5 En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 85 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, y una mezcla de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa y aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico.

10 En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 85 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el producto obtenido por interacción de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD1152 hqpa y aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico.

15 En un aspecto adicional se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 85 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y un par de iones hidrófobos formado entre aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD1152 hqpa y aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico.

20 En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa.

25 En otro aspecto se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el producto obtenido por interacción de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico.

30 En un aspecto adicional se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, y un par hidrófobo de iones formado entre aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico.

35 En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el ácido poli(láctico) etileno glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol), aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 15 a aproximadamente 22 en peso de AZD 1152 hqpa.

40 En otro aspecto se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y el producto obtenido por interacción de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico.

45 En un aspecto adicional se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el poli(ácido láctico) poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y un par de iones hidrófobos formado entre aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico.

50 En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 76 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 9 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

55 En algunas realizaciones, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular promedio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.7 a aproximadamente 0.9. En otras realizaciones, el copolímero

poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular promedio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.75 a aproximadamente 0.85.

5 En ciertas realizaciones, las nanopartículas contempladas comprenden de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En otras realizaciones, las nanopartículas contempladas comprenden aproximadamente 20 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

10 En algunas realizaciones, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilen)glicol. En otras realizaciones, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol.

En ciertas realizaciones, las nanopartículas contempladas comprenden aproximadamente 65 por ciento en peso a aproximadamente 85 por ciento en peso del copolímero.

En algunas realizaciones, las nanopartículas contempladas tienen un diámetro hidrodinámico <200 nm, tal como 70-140 nm.

15 En otras realizaciones, la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo al agente terapéutico es de aproximadamente 0.75:1 a aproximadamente 1.0:1, en donde el ácido es ácido pamoico.

En ciertas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo y el agente terapéutico forman un par de iones hidrófobos en una nanopartícula terapéutica contemplada. En otras realizaciones, el ácido hidrófobo es ácido pamoico.

20 En algunas realizaciones, las nanopartículas contempladas comprenden de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso del agente terapéutico. En otras realizaciones, las nanopartículas contempladas comprenden de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso del agente terapéutico. En otras realizaciones, las nanopartículas contempladas comprenden de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso del agente terapéutico. Se entenderá que la composición de cualquier formulación preferida puede ser un equilibrio de varios factores, incluyendo pero sin limitarse a:

25 una formulación con carga de fármaco incrementada donde sea posible para minimizar el volumen de composición farmacéutica que debe administrarse al paciente;

la formulación que se puede conseguir reproducible y fiablemente en la fabricación a gran escala;

la formulación que optimiza el perfil de liberación del agente terapéutico a lo largo del tiempo;

la formulación que preferentemente se distribuye a sitios enfermos.

30 Un factor adicional puede ser una formulación que tenga un efecto perjudicial reducido o mínimo sobre la médula ósea de un paciente después de la dosificación, como se ejemplifica en modelos animales en los Ejemplos más adelante.

En cualquier formulación preferida en particular, puede tomarse en consideración uno o más de los factores anteriores.

35 En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula que se puede obtener mediante cualquier procedimiento descrito o ejemplificado en el presente documento. En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula obtenida mediante cualquier procedimiento descrito o ejemplificado en el presente documento. En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica sustancialmente como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéuticamente aceptable comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas contempladas y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

40 En otro aspecto más, un método para tratar el cáncer (por ejemplo, incluyendo, pero no limitándose a, cánceres hematológicos tales como leucemia mieloide aguda (AML) y linfoma difuso de células B grandes y cánceres de tumores sólidos tales como cáncer colorrectal y cáncer de pulmón) en un paciente que lo necesita. El método comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que comprende nanopartículas terapéuticas contempladas en el presente documento.

45 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama de flujo para un proceso de emulsión para formar una nanopartícula divulgada.

Las figuras 2A y 2B muestran diagramas de flujo para un proceso de emulsión divulgado.

La figura 3 representa un perfil de liberación *in vitro* para formulaciones de nanopartículas terapéuticas de control.

La figura 4 representa perfiles de liberación *in vitro* para formulaciones de nanopartículas de ácido desoxicólico frente

a una formulación terapéutica de nanopartículas de control.

La figura 5 representa perfiles de liberación *in vitro* para una formulación de nanopartículas de ácido docusato frente a una formulación terapéutica de nanopartículas de control.

La figura 6 representa los resultados del modelo de xenoinjerto colorrectal humano SW620 en ratas desnudas hembra.

5 La figura 7 representa los resultados de un estudio de programación de dosificación con una formulación en nanopartículas de AZD1152 hqpa.

La figura 8 representa una comparación de la concentración en plasma de nanopartículas de AZD1152 hqpa frente a AZD1152 IV en un estudio de exposición *in vivo*.

10 La figura 9 representa perfiles de liberación *in vitro* para una formulación de nanopartículas de ácido pamoico frente a una formulación de nanopartículas terapéuticas de control.

La figura 10 representa perfiles farmacocinéticos comparativos para tres formulaciones de nanopartículas.

La figura 11 representa una comparación de los resultados de un estudio SW620.

La figura 12 muestra una comparación adicional de los resultados de un estudio SW620.

La Figura 13 representa los efectos en la médula ósea de ciertas formulaciones de nanopartículas.

15 La figura 14 representa los efectos de la médula ósea de ciertas formulaciones en nanopartículas.

La figura 15 representa la actividad *in vivo* de las formulaciones G1 y G2 de nanopartículas de AZD1152 y AZD1152 hqpa.

La figura 16 representa los efectos de las formulaciones G1 y G2 sobre la integridad de la médula ósea.

20 La figura 17 representa una comparación entre el control del tumor de la formulación G1 y el de AZD1152 en ratones portadores de tumores U2932.

La figura 18 representa una comparación entre el control del tumor de la formulación G1 y el de AZD1152 en ratones que llevan tumores primarios SC-61.

Las figuras 19 y 19a a 19e representan perfiles farmacocinéticos comparativos para las formulaciones E a G.

La figura 20 representa la liberación *in vitro* a 37°C de los lotes de formulación G1 mostrados en el Ejemplo 11.

25 Descripción detallada

30 Se describen aquí nanopartículas poliméricas que incluyen AZD1152 hqpa como un agente terapéutico, y métodos para fabricar y usar tales nanopartículas terapéuticas. En algunas realizaciones, la inclusión (dopaje) de un ácido sustancialmente hidrófobo (tal como un ácido biliar u otros ácidos adecuados como se describe aquí) en una nanopartícula divulgada y/o incluida en un proceso de preparación de nanopartículas puede dar como resultado nanopartículas que incluyen una carga mejorada del fármaco. Además, en ciertas realizaciones, las nanopartículas que incluyen y/o se preparan en presencia del ácido hidrófobo pueden presentar propiedades mejoradas de liberación controlada. Por ejemplo, las nanopartículas descritas pueden liberar más lentamente el agente terapéutico en comparación con las nanopartículas preparadas en ausencia del ácido hidrófobo.

35 Sin desear limitarse a ninguna teoría, se cree que las formulaciones de nanopartículas descritas que incluyen un ácido hidrófobo (tal como ácido pamoico) tienen propiedades de formulación significativamente mejoradas (por ejemplo, carga de fármaco y/o perfil de liberación) que pueden ocurrir mediante la formación de un par de iones hidrófobos (HIP), entre el ácido sustancialmente hidrófobo y, por ejemplo, un grupo amina del agente terapéutico. Como se usa aquí, un HIP es un par de iones cargados de forma opuesta mantenidos juntos por atracción Coulómbica. También sin querer limitarse por ninguna teoría, en algunas realizaciones, se puede usar un HIP para aumentar la hidrofobicidad del agente terapéutico. En algunas realizaciones, un agente terapéutico con hidrofobicidad incrementada puede ser beneficioso para formulaciones de nanopartículas y resultar en formación de HIP lo que puede proporcionar una mayor solubilidad del agente terapéutico en disolventes orgánicos. La formación de HIP, como se contempla aquí, puede dar como resultado nanopartículas que tienen, por ejemplo, una carga aumentada de fármaco. También puede producirse una liberación más lenta del agente terapéutico a partir de las nanopartículas, por ejemplo en algunas realizaciones, debido a una disminución de la solubilidad del agente terapéutico en solución acuosa. Además, la complejación del agente terapéutico con contraiones hidrófobos grandes puede retardar la difusión del agente terapéutico dentro de la matriz polimérica. Ventajosamente, la formación de HIP se produce sin la necesidad de conjugación covalente del grupo hidrófobo con el agente terapéutico.

50 Sin desear limitarse por ninguna teoría, se cree que la resistencia del HIP puede afectar la carga del fármaco y la velocidad de liberación de las nanopartículas contempladas. Por ejemplo, la intensidad del HIP puede aumentarse

5 aumentando la magnitud de la diferencia entre el  $pK_a$  del agente terapéutico y el  $pK_a$  del ácido hidrófobo, como se describe con más detalle a continuación. También sin desear limitarse por ninguna teoría, se cree que las condiciones para la formación de pares de iones pueden afectar la carga del fármaco y la velocidad de liberación de las nanopartículas contempladas.

- 5 Cualquiera que sea la naturaleza exacta de la interacción (como se ha descrito anteriormente) entre AZD1152 hqpa y los ácidos hidrófobos en las formulaciones descritas, las formulaciones preferidas son aquellas que comprenden un ácido hidrófobo y que tienen una alta carga de fármaco (por ejemplo de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 por ciento en peso (% en peso) de AZD1152 hqpa, tal como aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso, o aproximadamente 15 a aproximadamente 20% en peso de AZD1152 hqpa) y un perfil de liberación adecuado, como se discutirá con más detalle a continuación. Adecuadamente, dichas formulaciones también tienen un impacto reducido en la médula ósea en comparación con otras formulaciones que comprenden AZD1152.

- 15 Las nanopartículas descritas aquí incluyen uno, dos, tres o más polímeros biocompatibles y/o biodegradables. Por ejemplo, una nanopartícula contemplada puede incluir aproximadamente 35 a aproximadamente 99.75 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 99.75 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 99.5 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 99 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 98 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 97 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 96 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 95 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 94 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 93 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 92 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 91 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 90 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 85 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 80 por ciento en peso y en algunas realizaciones de aproximadamente 65 a aproximadamente 85 por ciento en peso de uno o más copolímeros de bloque que incluyen un polímero biodegradable y poli(etilenglicol) (PEG) y aproximadamente 0 a aproximadamente 50 por ciento en peso de un homopolímero biodegradable.

AZD1152 hqpa

- 30 Las nanopartículas descritas incluyen AZD1152 hqpa ( $pK_{a1} = 5.7$ ;  $pK_{a2} = 8.46$ ) como un agente terapéutico. La referencia en el presente documento a un agente terapéutico debe entenderse como referencia a AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, pero particularmente AZD1152 hqpa, a menos que el contexto indique lo contrario.

- 35 En un primer aspecto de la invención se proporciona una nanopartícula que comprende AZD1152 hqpa. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa y ácido pamoico. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende el producto obtenido mediante la interacción de AZD1152 hqpa y ácido pamoico. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende el producto obtenido mezclando AZD1152 hqpa y ácido pamoico. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende un par de iones hidrófobos entre AZD1152 hqpa y ácido pamoico.

- 40 En otro aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende AZD1152 hqpa en una nanopartícula. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa y ácido pamoico. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una nanopartícula terapéutica que comprende el producto obtenido por la interacción de AZD1152 hqpa y ácido pamoico. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una nanopartícula terapéutica que comprende el producto obtenido mezclando AZD1152 hqpa y ácido pamoico. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una nanopartícula terapéutica que comprende un par de iones hidrófobos entre AZD1152 hqpa y ácido pamoico.

- 50 En otro aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas que contienen AZD1152 hqpa como ingrediente activo. Dichas nanopartículas contienen también adecuadamente un ácido hidrófobo, tal como ácido pamoico, mezclado con el AZD1152 hqpa en las nanopartículas y contienen además un polímero adecuado tal como un copolímero 16/5 PLA-PEG.

- 55 En algunas realizaciones, las nanopartículas descritas pueden incluir aproximadamente 0.2 a aproximadamente 35 por ciento en peso, aproximadamente 0.2 a aproximadamente 20 por ciento en peso, aproximadamente 0.2 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 0.2 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 0.5 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 0.75 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 1 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 2 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 3 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 1 a aproximadamente 20 por ciento en peso, aproximadamente 2 a aproximadamente 20 por ciento en peso, aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso, aproximadamente 1 a aproximadamente 15 por ciento

en peso, aproximadamente 2 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 3 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 4 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 1 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 2 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 3 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 4 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 5 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso, aproximadamente 15 a aproximadamente 25, o aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso del agente terapéutico.

En aspectos particulares, las nanopartículas descritas pueden incluir de aproximadamente 5 a aproximadamente 20, preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 20, incluso más preferiblemente de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, o de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa.

#### Ácido hidrófobo

En ciertas realizaciones, las nanopartículas descritas comprenden un ácido hidrófobo que es ácido pamoico y/o se preparan mediante un proceso que incluye un ácido hidrófobo. Tales nanopartículas pueden tener una carga de fármaco más alta que las nanopartículas preparadas mediante un proceso sin un ácido hidrófobo. Por ejemplo, la carga de fármaco (por ejemplo, en peso) de las nanopartículas descritas preparadas mediante un procedimiento que comprende el ácido hidrófobo puede estar entre aproximadamente 2 veces hasta aproximadamente 10 veces superior, o incluso más, que las nanopartículas descritas preparadas mediante un procedimiento sin el ácido hidrófobo. En algunas realizaciones, la carga de fármaco (en peso) de las nanopartículas descritas preparadas mediante un primer procedimiento que comprende el ácido hidrófobo puede ser al menos aproximadamente 2 veces mayor, al menos aproximadamente 3 veces mayor, al menos aproximadamente 4 veces mayor, al menos aproximadamente 5 veces superior, o al menos aproximadamente 10 veces mayor que las nanopartículas descritas preparadas mediante un segundo procedimiento, en el que el segundo proceso es idéntico al primer proceso, excepto que el segundo proceso no incluye el ácido hidrófobo.

En otro aspecto, el ácido hidrófobo es ácido pamoico.

En una realización, la diferencia entre el pKa del ácido hidrófobo y el primer pKa de AZD1152 hqpa está entre 2 y 5 unidades pKa, determinados a 25°C.

Para evitar dudas, el ácido pamoico (ácido 4,4'-metilénbis[3-hidroxi-2-naftoico]) tiene un peso molecular de 388.37 y se informa (SciFinder) que tiene  $pka^1=2.67$  y  $\log P=6.199$ .

En algunos casos, la concentración de ácido en una solución de fármaco (la solución de agente terapéutico) puede estar entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 8 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 10 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 12 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 14 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 16 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 por ciento en peso y aproximadamente 9 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 por ciento en peso y aproximadamente 12 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 9 por ciento en peso y aproximadamente 15 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 12 por ciento en peso y aproximadamente 18 por ciento en peso, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 15 por ciento en peso y aproximadamente 21 por ciento en peso. En ciertas realizaciones, la concentración de ácido hidrófobo en una solución de fármaco puede ser al menos aproximadamente 1 por ciento en peso, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 2 por ciento en peso, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 3 por ciento en peso, en algunas realizaciones por lo menos aproximadamente 5 peso, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 15 por ciento en peso, y en algunas realizaciones al menos aproximadamente 20 por ciento en peso.

En ciertas realizaciones, la relación molar de ácido hidrófobo a agente terapéutico (por ejemplo, inicialmente durante la formulación de las nanopartículas y/o en las nanopartículas) puede estar entre aproximadamente 0.25:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.25:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.25:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.25:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.25:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.25:1 y aproximadamente 1.5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.25:1 y aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones entre

aproximadamente 0.25:1 y aproximadamente 0.5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5:1 y aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5:1 y aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5:1 a aproximadamente 1.5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5:1 a aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5:1 a aproximadamente 0.75:1, algunas realizaciones entre aproximadamente 0.75:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.75:1 a aproximadamente 1.5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.75:1 a aproximadamente 1.25:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.75:1 y aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 y aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1.5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1.5:1 y aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1.5:1 y aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1.5:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1.5:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3:1 a aproximadamente 5:1, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 4:1 y aproximadamente 6:1. En algunas realizaciones, la relación es de aproximadamente 2:1.

En otras realizaciones, la relación molar de ácido hidrófobo a AZD1152 hqpa durante la formación de las nanopartículas (cuando se mezclan primero juntas) es de aproximadamente 0.75:1 a aproximadamente 1:1, por ejemplo de aproximadamente 0.8:1 a aproximadamente 1:1. En una realización, el ácido hidrófobo es ácido pamoico y la relación molar de ácido pamoico a AZD1152 hqpa durante la formación de las nanopartículas (cuando se mezclan primero entre sí) es de aproximadamente 0.75:1 a aproximadamente 1:1, por ejemplo aproximadamente 0.8:1 a aproximadamente 1:1. Esta realización se ilustra en los ejemplos 7, 7a y 7b del presente documento descriptiva. En una realización, la relación molar de ácido pamoico a AZD1152 hqpa cuando se mezclan primero es de aproximadamente 0.8:1. Esta realización se ilustra en el Ejemplo 7 y 7b. En una realización, la relación molar de ácido pamoico a AZD1152 hqpa cuando se mezclan primero es de aproximadamente 1:1, esto se ilustra en el Ejemplo 7a.

En algunos casos, la relación molar inicial del ácido hidrófobo al agente terapéutico (durante la formulación de las nanopartículas) puede ser diferente de la relación molar del ácido hidrófobo al agente terapéutico en las nanopartículas (después de la eliminación del ácido hidrófobo no encapsulado y del agente terapéutico). En otros casos, la relación molar inicial del ácido hidrófobo al agente terapéutico (durante la formulación de las nanopartículas) puede ser esencialmente la misma que la relación molar del ácido hidrófobo al agente terapéutico en las nanopartículas (después de la eliminación del ácido hidrófobo no encapsulado y del agente terapéutico). Por ejemplo, en las formulaciones a las que se hace referencia en este documento como G1, ilustradas por los Ejemplos 7 y 7b, la relación molar de entrada de ácido pamoico a AZD1152 hqpa es de aproximadamente 0.8:1 pero la relación molar final en el G1 ejemplificado es aproximadamente 0.76:1 y los lotes típicos de formulaciones G1 están entre aproximadamente 0.65-0.75:1. De forma similar, la relación de entrada para G2 en el Ejemplo 7a es aproximadamente 1:1 y la relación molar final como se ejemplifica es aproximadamente 0.87:1, estando los lotes típicos comprendidos entre aproximadamente 0.85-0.95:1.

En algunos casos, una solución que contiene el agente terapéutico se puede preparar separadamente a partir de una solución que contiene el polímero, y las dos soluciones pueden combinarse entonces antes de la formulación de nanopartículas. Por ejemplo, en una realización, una primera solución contiene el agente terapéutico y el ácido hidrófobo, y una segunda solución contiene el polímero y opcionalmente el ácido hidrófobo. Las formulaciones en las que la segunda solución no contiene el ácido hidrófobo pueden ser ventajosas, por ejemplo, para minimizar la cantidad de ácido hidrófobo utilizada en un proceso o, en algunos casos, para minimizar el tiempo de contacto entre el ácido hidrófobo y, por ejemplo, un polímero que puede degradarse en presencia del ácido hidrófobo. En otros casos, se puede preparar una única solución que contiene el agente terapéutico, el polímero y el ácido hidrófobo.

En algunas realizaciones, puede formarse un par de iones hidrófobos antes de la formulación de las nanopartículas. Por ejemplo, una solución que contiene un par de iones hidrófobos puede prepararse antes de formular las nanopartículas contempladas (por ejemplo, preparando una solución que contiene cantidades adecuadas del agente terapéutico y del ácido hidrófobo). En otras realizaciones, puede formarse un par de iones hidrófobos durante la formulación de las nanopartículas. Por ejemplo, una primera solución que contiene el agente terapéutico y una segunda solución que contiene el ácido hidrófobo pueden combinarse durante una etapa del procedimiento para preparar las nanopartículas (por ejemplo, antes de la formación de la emulsión y/o durante la formación de la emulsión). En ciertas realizaciones, puede formarse un par de iones hidrófobos antes de la encapsulación del agente terapéutico y del ácido hidrófobo en una nanopartícula contemplada. En otras realizaciones, puede formarse un par de iones hidrófobos en la nanopartícula, por ejemplo, después de la encapsulación del agente terapéutico y del ácido hidrófobo.

En algunas realizaciones, el contenido de ácido en las nanopartículas descritas puede estar entre aproximadamente 0.05 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.5 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 10 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 15 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 20 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.05 por ciento en peso a aproximadamente 0.5 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.05 por ciento en peso a aproximadamente 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 por ciento en peso a aproximadamente 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 por ciento en peso a aproximadamente 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 por ciento en peso a aproximadamente 15 por ciento en peso, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 10 por ciento en peso a aproximadamente 20 por ciento en peso.

#### Perfil de liberación

En algunas realizaciones, las nanopartículas reveladas liberan sustancialmente inmediatamente (por ejemplo, durante aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 25 minutos, aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 1 hora, aproximadamente 1 hora, o aproximadamente 24 horas) menos de aproximadamente 2%, menos de aproximadamente 5%, menos de aproximadamente 10%, menos de aproximadamente 15%, menos de aproximadamente 20%, menos de aproximadamente 25%, menos de aproximadamente 30%, o menos del 40% del agente terapéutico, por ejemplo cuando se coloca en una solución reguladora de fosfato a temperatura ambiente (por ejemplo, 25°C) y/o a 37°C. En ciertas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución reguladora de fosfato), por ejemplo, a 25°C y/o a 37°C, a una velocidad que corresponde sustancialmente a aproximadamente 0.01 a aproximadamente 50%, en algunas realizaciones de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 25%, en algunas realizaciones de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 15%, en algunas realizaciones de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 10%, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 40%, en algunas realizaciones alrededor de 5 a aproximadamente 40%, y en algunas realizaciones aproximadamente 10 a aproximadamente 40% del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 1 hora. En algunas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución reguladora de fosfato), por ejemplo, a 25°C y/o a 37°C, a una velocidad que corresponde sustancialmente a aproximadamente 10 a aproximadamente 70%, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 45%, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 35%, o en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 25%, del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 4 horas.

En algunas realizaciones, las nanopartículas descritas pueden conservar sustancialmente el agente terapéutico, por ejemplo, durante al menos aproximadamente 1 minuto, al menos aproximadamente 1 hora o más, cuando se colocan en una solución reguladora de fosfato a 37°C.

En algunas realizaciones, una nanopartícula terapéutica contemplada retiene sustancialmente la AZD1152 hqpa durante al menos 1 minuto cuando se coloca en una solución reguladora de fosfato a 37°C.

En algunas realizaciones, una nanopartícula terapéutica contemplada libera sustancialmente inmediatamente menos de aproximadamente 30% de la AZD1152 hqpa cuando se coloca en una solución reguladora de fosfato a 37°C.

En algunas realizaciones, una nanopartícula terapéutica contemplada libera aproximadamente 10 a aproximadamente 45% de la AZD1152 hqpa durante aproximadamente 1 hora cuando se coloca en una solución reguladora de fosfato a 37°C.

Los perfiles de liberación *in vitro* para las nanopartículas contempladas se pueden medir de la siguiente manera:

La liberación se calculó dividiendo la cantidad de AZD1152 hqpa liberada de la nanopartícula en el medio de liberación por la cantidad total de AZD1152 hqpa. Con el fin de obtener estos dos valores, se introdujo una cantidad específica de nanopartícula en un contenedor cerrado que contenía medio de liberación (solución de regulador fosfato (PBS) que contenía polisorbato 20 para asegurar las condiciones del sumidero) y se incubó en un baño de agua a 37°C. A cada punto de tiempo establecido, se tomaron dos muestras. La primera, utilizada para dar el valor de hqpa AZD1152 total, se tomó del recipiente y se preparó para HPLC. La segunda muestra, usada para dar la AZD1152 hqpa liberada en el momento del tiempo, se tomó y se sedimentó en una ultracentrífuga dejando solo AZD 1152 hqpa liberado en la suspensión (o sobrenadante) que luego se muestreó y se preparó para HPLC. En el Ejemplo 10 se da un método de HPLC adecuado.

Se ensayaron nueve lotes de cada formulaciones G1 y G2, con composiciones cuantitativas similares a las mostradas en el Ejemplo 7-7b, y en particular con formulaciones G1 que tienen una relación molar de ácido pamoico: AZD1152 hqpa en el intervalo de aproximadamente 0.65-0.75:1 y G2 que tienen una relación molar de aproximadamente 0.85-0.95:1. Los datos a continuación muestran los valores medios de liberación durante 72 horas.

5 Perfiles de liberación *in vitro* a 37°C

Formulación G1	0	4	24	48	72	Tiempo (hr)
G1 Liberación media	0.808	3.182	7.708	13.808	23.075	%
Un estándar						
Desviación	0.327	0.696	1.259	2.436	3.390	%
Formulación G2	0	4	24	48	72	Tiempo (hr)
G2 Liberación media	1.558	13.713	32.107	50.637	67.257	%
Un estándar						
Desviación	0.816	9.481	12.896	9.916	7.720	%

10 En un aspecto, una nanopartícula terapéutica contemplada que comprende 16-5 copolímero de PLA-PEG, ácido pamoico y AZD1152 hqpa libera menos del 20% de AZD1152 hqpa después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otro aspecto, una nanopartícula terapéutica contemplada que comprende 16-5 copolímero de PLA-PEG, ácido pamoico y AZD1152 hqpa libera menos del 20% de AZD1152 hqpa después de 40 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otro aspecto, una nanopartícula terapéutica contemplada que comprende 16-5 copolímero de PLA-PEG, ácido pamoico y AZD1152 hqpa libera menos del 20% de AZD1152 hqpa después de 50 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otro aspecto, una nanopartícula terapéutica contemplada que comprende 16-5 copolímero de PLA-PEG, ácido pamoico y AZD1152 hqpa libera aproximadamente 10% de AZD1152 hqpa después de 24 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En estos aspectos, convenientemente, la liberación se mide por el método anterior.

15 En un aspecto, las nanopartículas terapéuticas liberan el AZD1152 hqpa *in vivo* a una velocidad tal que menos del 40% se ha liberado 24 horas después de la dosificación. En otro aspecto, las nanopartículas terapéuticas liberan el AZD1152 hqpa *in vivo* a una velocidad tal que menos del 30% se ha liberado 24 horas después de la dosificación. En otro aspecto, las nanopartículas terapéuticas liberan la AZD1152 hqpa *in vivo* a una velocidad tal que el 25-35% se ha liberado 24 horas después de la dosificación. En otro aspecto, las nanopartículas terapéuticas liberan el AZD1152 hqpa *in vivo* a una velocidad tal que se ha liberado menos del 15% 24 horas después de la dosificación.

20 En general, una "nanopartícula" se refiere a cualquier partícula que tenga un diámetro de menos de 1000 nm, por ejemplo, de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 200 nm. Las nanopartículas terapéuticas divulgadas pueden incluir nanopartículas que tienen un diámetro de aproximadamente 60 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 110 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 110 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 110 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 120 a aproximadamente 150 nm.

25 En algunas realizaciones, el diámetro hidrodinámico de una nanopartícula terapéutica contemplada es de aproximadamente 60 a aproximadamente 150 nm, o de aproximadamente 90 a aproximadamente 140 nm, o de aproximadamente 90 a aproximadamente 120 nm. En un aspecto adicional, el diámetro hidrodinámico de una nanopartícula terapéutica contemplada es de aproximadamente 90 a aproximadamente 110 nm, por ejemplo cuando las nanopartículas terapéuticas comprenden un ácido sustancialmente hidrófobo seleccionado entre ácido

desoxicólico, ácido cólico, ácido dioctilsulfosuccínico, ácido pamoico o mezclas de los mismos.

En una realización, las nanopartículas descritas se forman con AZD1152 hqpa y ácido pamoico, y tienen un diámetro hidrodinámico <500 nm, tal como <200 nm, por ejemplo 70-140 nm.

#### Polímeros

5 En algunas realizaciones, las nanopartículas pueden comprender una matriz polimérica y el agente terapéutico. En algunas realizaciones, el agente terapéutico puede estar asociado con al menos parte de la matriz polimérica. El agente terapéutico puede estar asociado con la superficie de, encapsulado dentro, rodeado por, y/o dispersado a través de la matriz polimérica.

10 Se puede usar cualquier polímero adecuado en las nanopartículas descritas. Los polímeros pueden ser polímeros naturales o no naturales (sintéticos). Los polímeros pueden ser homopolímeros o copolímeros que comprenden dos o más monómeros. En términos de secuencia, los copolímeros pueden ser aleatorios, bloquear o comprender una combinación de secuencias aleatorias y de bloques. Típicamente, los polímeros son polímeros orgánicos.

15 El término "polímero", tal como se utiliza aquí, recibe su significado ordinario tal como se utiliza en la técnica, es decir, una estructura molecular que comprende una o más unidades repetidas (monómeros), conectadas por enlaces covalentes. Las unidades de repetición pueden ser todas idénticas, o en algunos casos, puede haber más de un tipo de unidad de repetición presente dentro del polímero. En algunos casos, el polímero puede derivarse biológicamente (un biopolímero). Ejemplos no limitativos incluyen péptidos o proteínas. En algunos casos, pueden estar presentes también restos adicionales en el polímero, por ejemplo restos biológicos tales como los descritos más adelante. Si más de un tipo de unidad de repetición está presente dentro del polímero, entonces se dice que el polímero es un  
20 "copolímero". Debe entenderse que en cualquier realización que emplea un polímero, el polímero que se emplea puede ser un copolímero en algunos casos. Las unidades de repetición que forman el copolímero pueden estar dispuestas de cualquier manera. Por ejemplo, las unidades de repetición pueden estar dispuestas en un orden aleatorio, en un orden alternativo, o como un copolímero de bloques, es decir, que comprende una o más regiones que comprenden cada una primera unidad de repetición (por ejemplo, un primer bloque) y una o más regiones que comprenden cada una segunda unidad de repetición (por ejemplo, un segundo bloque), etc. Los copolímeros de bloques pueden tener dos (un copolímero dibloque), tres (un copolímero tribloque) o más números de bloques distintos.

25 Las partículas divulgadas pueden incluir copolímeros que, en algunas realizaciones, describen dos o más polímeros (tales como los descritos aquí) que se han asociado entre sí, usualmente por unión covalente de los dos o más polímeros juntos. De este modo, un copolímero puede comprender un primer polímero y un segundo polímero que se han conjugado entre sí para formar un copolímero de bloques en el que el primer polímero puede ser un primer bloque del copolímero de bloques y el segundo polímero puede ser un segundo bloque del copolímero de bloques. Naturalmente, los expertos en la técnica comprenderán que un copolímero de bloques puede, en algunos casos, contener múltiples bloques de polímero, y que un "copolímero de bloques", tal como se utiliza en el presente  
35 documento, no está limitado a sólo copolímeros de bloques que tienen solamente un primer bloque individual y un solo segundo bloque. Por ejemplo, un copolímero de bloques puede comprender un primer bloque que comprende un primer polímero, un segundo bloque que comprende un segundo polímero y un tercer bloque que comprende un tercer polímero o el primer polímero, etc. En algunos casos, los copolímeros de bloque pueden contener cualquier número de primeros bloques de un primer polímero y segundos bloques de un segundo polímero (y en ciertos casos, terceros bloques, cuartos bloques, etc.). Además, debe observarse que los copolímeros de bloques también pueden formarse, en algunos casos, a partir de otros copolímeros de bloques. Por ejemplo, se puede conjugar un primer copolímero de bloques con otro polímero (que puede ser un homopolímero, un biopolímero, otro copolímero de bloques, etc.) para formar un nuevo copolímero de bloques que contiene múltiples tipos de bloques y/o a otros restos (por ejemplo, a restos no poliméricos).

45 En algunas realizaciones, el polímero (por ejemplo un copolímero o un copolímero de bloques) puede ser anfifílico, es decir, tener una porción hidrófila y una porción hidrófoba, o una porción relativamente hidrófila y una porción relativamente hidrófoba. Un polímero hidrófilo puede ser uno que atrae generalmente el agua y un polímero hidrófobo puede ser uno que generalmente rechaza el agua. Se puede identificar un polímero hidrófilo o hidrófobo, por ejemplo, preparando una muestra del polímero y midiendo su ángulo de contacto con agua (típicamente, un polímero hidrófilo tendrá un ángulo de contacto de menos de 60°, mientras que un polímero hidrófobo tendrá un ángulo de contacto mayor de aproximadamente 60°). En algunos casos, la hidrofiliidad de dos o más polímeros puede medirse entre sí, es decir, un primer polímero puede ser más hidrófilo que un segundo polímero. Por ejemplo, el primer polímero puede tener un ángulo de contacto menor que el segundo polímero.

55 En un conjunto de realizaciones, un polímero (tal como un copolímero o un copolímero de bloques) contemplado aquí incluye un polímero biocompatible, que es un polímero que típicamente no induce una respuesta adversa cuando se inserta o inyecta en un sujeto vivo, por ejemplo, sin inflamación significativa y/o rechazo agudo del polímero por el sistema inmune, por ejemplo a través de una respuesta de células T. Por consiguiente, las partículas terapéuticas contempladas en el presente documento pueden ser no inmunógenas. El término no inmunogénico, como se usa en el presente documento, se refiere al factor de crecimiento endógeno en su estado natural que normalmente no provoca

niveles únicos, o sólo mínimos, de anticuerpos circulantes, células T o células inmunes reactivas, y que normalmente no induce en el individuo una respuesta inmune contra sí misma.

5 La biocompatibilidad se refiere típicamente al rechazo agudo de material por al menos una parte del sistema inmune - un material no biocompatible implantado en un sujeto provoca una respuesta inmune en el sujeto que puede ser lo  
 10 suficientemente grave como para que el rechazo del material por el sistema inmune no puede ser controlado adecuadamente, y a menudo es de un grado tal que el material debe ser eliminado del sujeto. Una prueba simple para determinar la biocompatibilidad puede ser exponer un polímero a las células *in vitro*; los polímeros biocompatibles son polímeros que típicamente no darán lugar a muerte celular significativa a concentraciones moderadas, por ejemplo, a  
 15 concentraciones de 50 microgramos/10<sup>6</sup> células. Por ejemplo, un polímero biocompatible puede causar menos de aproximadamente 20% de muerte celular cuando se expone a células tales como fibroblastos o células epiteliales, incluso si se fagocitó o de otro modo se tomó de tales células. Ejemplos no limitativos de polímeros biocompatibles que pueden ser útiles en diversas realizaciones incluyen polidioxanona (PDO), polihidroxicanoato, polihidroxitirato, poli(sebacato de glicerol), poliglicolida (ácido poli(glicólico) (PGA), polilactida (ácido poli(láctico) (PLA), poli(ácido láctico) ácido copoli(glicólico) (PLGA), policaprolactona, o copolímeros o derivados que incluyen estos y/o otros polímeros.

20 En ciertas realizaciones, los polímeros biocompatibles contemplados pueden ser biodegradables, de manera que el polímero es capaz de degradarse, químicamente y/o biológicamente, dentro de un entorno fisiológico, tal como dentro del cuerpo. Como se usan en el presente documento, los polímeros "biodegradables" son aquellos que, cuando se introducen en las células, se descomponen por la maquinaria celular (biológicamente degradables) y/o mediante un  
 25 proceso químico, tal como hidrólisis (químicamente degradable) en componentes que las células pueden reutilizar o eliminar sin efecto tóxico significativo sobre las células. En una realización, el polímero biodegradable y sus subproductos de degradación pueden ser biocompatibles.

Además, ciertas realizaciones pueden dirigirse a copolímeros que contienen poli(éster-éter)s, por ejemplo, polímeros que tienen unidades repetidas unidas por enlaces éster (por ejemplo, enlaces R-C(O)-O-R') y enlaces éter (por  
 30 ejemplo, enlaces R-O-R'). En algunas realizaciones, un polímero biodegradable, tal como un polímero hidrolizable, que contiene grupos ácido carboxílico, puede conjugarse con unidades repetidas de poli(etilenglicol) para formar un poli(éster-éter). Un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) que contiene unidades de repetición de poli(etilenglicol) también puede denominarse polímero "PEGilado".

35 Por ejemplo, un polímero contemplado puede ser uno que se hidroliza espontáneamente tras la exposición al agua (por ejemplo, dentro de un sujeto), o el polímero puede degradarse tras la exposición al calor (por ejemplo, a temperaturas de aproximadamente 37°C). La degradación de un polímero puede ocurrir a velocidades variables, dependiendo del polímero o copolímero utilizado. Por ejemplo, la vida media del polímero (el tiempo al que el 50% del polímero puede degradarse en monómeros y/u otros restos no poliméricos) puede ser del orden de días, semanas, meses o años, dependiendo de la polímero. Los polímeros pueden degradarse biológicamente, por ejemplo, mediante  
 40 actividad enzimática o maquinaria celular, en algunos casos, por ejemplo, a través de la exposición a una lisozima (por ejemplo, con un pH relativamente bajo). En algunos casos, los polímeros pueden descomponerse en monómeros y/u otros restos no poliméricos que las células pueden reutilizar o eliminar sin efecto tóxico significativo sobre las células (por ejemplo, el polilactida puede hidrolizarse para formar ácido láctico, el poliglicólido puede ser hidrolizado para formar ácido glicólico, etc.).

45 En algunas realizaciones, los polímeros pueden ser poliésteres, incluyendo copolímeros que comprenden unidades de ácido láctico y ácido glicólico, tales como poli(ácido láctico-ácido coglicólico) y poli(lactida-coglicólido), denominados colectivamente en el presente documento como "PLGA"; y homopolímeros que comprenden unidades de ácido glicólico, denominadas en el presente documento como "PGA", y unidades de ácido láctico, tales como ácido poli-L-láctico, ácido poli-D-láctico, ácido poli-D,L-láctico, poli-L-lactida, poli-D-lactida y poli-D,L-lactida, denominados  
 50 colectivamente en el presente documento "PLA". En algunas realizaciones, los poliésteres de ejemplo incluyen, por ejemplo, polihidroxiácidos; polímeros y copolímeros PEGilados de lactida y glicólido (por ejemplo, PLA PEGilado, PGA PEGilado, PLGA PEGilado, y derivados de los mismos). En algunas realizaciones, los poliésteres incluyen, por ejemplo, polianhídridos, poli(orto éster) poli(ortoéster) PEGilado, poli(caprolactona), poli(caprolactona) PEGilada, polilisina, polilisina PEGilada, poli(etilenimina), poli(etilenimina) PEGilada, poli(L-lactida-co-L-lisina), poli(éster de serina), poli(éster de 4-hidroxi-L-prolina), ácido poli [α-(4-aminobutil)-L-glicólico], y sus derivados.

55 En algunas realizaciones, un polímero puede ser PLGA. PLGA es un copolímero biocompatible y biodegradable de ácido láctico y ácido glicólico, y varias formas de PLGA se pueden caracterizar por la relación de ácido láctico:ácido glicólico. El ácido láctico puede ser ácido L-láctico, ácido D-láctico o ácido D,L-láctico. La velocidad de degradación de PLGA se puede ajustar alterando la relación ácido láctico-ácido glicólico. En algunas realizaciones, el PLGA puede caracterizarse por una relación de ácido láctico:ácido glicólico de aproximadamente 85:15, aproximadamente 75:25, aproximadamente 60:40, aproximadamente 50:50, aproximadamente 40:60, aproximadamente 25:75, o aproximadamente 15:85. En algunas realizaciones, la proporción de ácido láctico a monómeros de ácido glicólico en el polímero de la partícula (por ejemplo, el copolímero de bloques PLGA o copolímero de bloques PLGA-PEG) puede seleccionarse para optimizar diversos parámetros tales como absorción de agua, liberación de agente terapéutico y/o  
 60 la cinética de degradación del polímero puede ser optimizada.

Se contempla que PEG puede ser terminado e incluir un grupo final. Por ejemplo, PEG puede terminar en un grupo hidroxilo, metoxi u otro alcoxilo, un grupo metilo u otro grupo alquilo, un grupo arilo, un ácido carboxílico, una amina, una amida, un grupo acetilo, un grupo guanidino o un imidazol. Otros grupos terminales contemplados incluyen grupos azida, alquino, maleimida, aldehído, hidrazida, hidroxilamina, alcoxiamina o tiol.

- 5 Los expertos en la técnica conocerán métodos y técnicas para PEGilar un polímero, por ejemplo, usando EDC (clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) y NHS (N-hidroxisuccinimida) para hacer reaccionar un polímero a un grupo PEG que termina en una amina, por técnicas de polimerización de apertura de anillo (ROMP), o similares.

- 10 En una realización, el peso molecular (o, por ejemplo, la relación de pesos moleculares de, por ejemplo, bloques diferentes de un copolímero) de los polímeros puede optimizarse para un tratamiento efectiva como se describe aquí. Por ejemplo, el peso molecular de un polímero puede influir en la velocidad de degradación de partículas (tal como cuando se puede ajustar el peso molecular de un polímero biodegradable), solubilidad, absorción de agua y cinética de liberación del fármaco. Por ejemplo, se puede ajustar el peso molecular del polímero (o, por ejemplo, la relación de pesos moleculares de, por ejemplo, bloques diferentes de un copolímero) de tal manera que la partícula se biodegrade en el sujeto que se trata dentro de un período razonable de tiempo (desde unas pocas horas a 1-2 semanas, 3-4 semanas, 5-6 semanas, 7-8 semanas, etc.).

- 15 Una partícula descrita puede comprender, por ejemplo, un copolímero dibloque de PEG y PL(G)A, en el que por ejemplo, la porción PEG puede tener un peso molecular medio numérico de aproximadamente 1.000-20.000, por ejemplo, aproximadamente 2.000-20.000, por ejemplo, aproximadamente 2 a aproximadamente 10.000, y la porción PL(G)A puede tener un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 20.000, o aproximadamente 5.000-100.000, por ejemplo, aproximadamente 20.000-70.000, por ejemplo, aproximadamente 15.000-50.000.

- 20 Por ejemplo, se describe aquí una nanopartícula terapéutica de ejemplo que incluye aproximadamente 10 a aproximadamente 99 por ciento en peso de copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) o copolímero de ácido poli(láctico)-copoli(glicólico)-poli(etilenglicol), o aproximadamente 20 a aproximadamente 80 por ciento en peso, aproximadamente 40 a aproximadamente 80 por ciento en peso, o aproximadamente 30 a aproximadamente 50 por ciento en peso, o aproximadamente 70 a aproximadamente 90 por ciento en peso de copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) o copolímero de ácido poli(láctico)-copoli(glicólico)-poli(etilenglicol). Los copolímeros de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) á pueden incluir un número de peso molecular medio de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 kDa, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 kDa de ácido poli(láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa, o de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 10 kDa de poli(etilenglicol).

- 25 En algunas realizaciones, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) puede tener una fracción de peso molecular medio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.6 a aproximadamente 0.95, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.7 a aproximadamente 0.9, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.6 y aproximadamente 0.8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.7 y aproximadamente 0.8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.75 y aproximadamente 0.85, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.8 y aproximadamente 0.9, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.85 a aproximadamente 0.95. Debe entenderse que la fracción de peso molecular medio de ácido poli(láctico) se puede calcular dividiendo el número de peso molecular promedio del componente ácido poli(láctico) del copolímero por la suma del número de peso molecular promedio del ácido poli(láctico) y el peso molecular medio numérico del componente poli(etilenglicol).

- 30 En algunas realizaciones, una nanopartícula terapéutica puede contener de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 20 a aproximadamente 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 por ciento en peso, o en algunas realizaciones de aproximadamente 25 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), donde el poli(etilenglicol) puede estar presente como un copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol), copolímero de ácido poli(láctico)-copoli(glicólico)-poli(etilenglicol), u homopolímero de poli(etilenglicol).

- 35 En un aspecto, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilenglicol); por ejemplo, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilenglicol).

40 En un aspecto, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) tiene una fracción de peso molecular medio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.7 a aproximadamente 0.9, tal como aproximadamente 0.75 a aproximadamente 0.85.

En un aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de poli(etilén)glicol. En un aspecto adicional, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilén)glicol.

5 En un aspecto adicional, la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 65 por ciento en peso a aproximadamente 85 por ciento en peso del copolímero, por ejemplo aproximadamente 65 por ciento en peso a aproximadamente 80 por ciento en peso de copolímero.

10 En un aspecto adicional, cuando el ácido hidrófobo es ácido pamoico, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 60 a aproximadamente 80 por ciento de copolímero (particularmente copolímero PLA-PEG, particularmente copolímero 16/5 PLA-PEG), tal como aproximadamente 65 a aproximadamente 75 por ciento de copolímero, donde el contenido de poli(etilén)glicol es de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso de la nanopartícula. Sin embargo, el experto en la materia comprenderá que el porcentaje en peso de los polímeros presentes en la nanopartícula variará en cierta medida entre los lotes, ya que varía la cantidad de ácido hidrófobo (tal como ácido pamoico) y AZD1152 hqpa.

#### Preparación de nanopartículas

15 Otro aspecto de esta descripción está dirigido a sistemas y métodos para fabricar nanopartículas descritas. En algunas realizaciones, se controlan las propiedades de las partículas, utilizando dos o más polímeros diferentes (por ejemplo, copolímeros, por ejemplo, copolímeros de bloques) en diferentes proporciones y produciendo partículas a partir de los polímeros (por ejemplo, copolímeros, por ejemplo copolímeros de bloques). Por ejemplo, un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) puede elegirse por su biocompatibilidad y/o su capacidad para controlar la inmunogenicidad de la partícula resultante.

20 En algunas realizaciones, un disolvente usado en un proceso de preparación de nanopartículas (por ejemplo, un proceso de nanoprecipitación o un proceso de nanoemulsión como se discute más adelante) puede incluir un ácido hidrófobo, que puede conferir propiedades ventajosas a las nanopartículas preparadas usando el proceso. Como se discutió anteriormente, en algunos casos, el ácido hidrófobo puede mejorar la carga de fármaco de las nanopartículas descritas. Además, en algunos casos, las propiedades de liberación controlada de las nanopartículas descritas pueden mejorarse mediante el uso del ácido hidrófobo. En algunos casos, el ácido hidrófobo puede incluirse, por ejemplo, en una solución orgánica o en una solución acuosa utilizada en el procedimiento. En una realización, el ácido hidrófobo se incorpora en una solución acuosa en forma de una sal soluble en agua (tal como una sal sódica), por ejemplo como colato de sodio. En una realización, el fármaco se combina con una solución orgánica y el ácido hidrófobo y opcionalmente uno o más polímeros. La concentración de ácido hidrófobo en una solución usada para disolver el fármaco se discute anteriormente y puede ser, por ejemplo, entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, etc.

35 En un conjunto de realizaciones, las partículas se forman proporcionando una solución que comprende uno o más polímeros, y poniendo en contacto la solución con un polímero no disolvente para producir la partícula. La solución puede ser miscible o inmisible con el polímero no disolvente. Por ejemplo, un líquido miscible en agua tal como acetonitrilo puede contener los polímeros, y se forman partículas cuando el acetonitrilo se pone en contacto con agua, un polímero no disolvente, por ejemplo, vertiendo el acetonitrilo en el agua a una velocidad controlada. El polímero contenido dentro de la solución, al entrar en contacto con el polímero no disolvente, puede entonces precipitarse para formar partículas tales como nanopartículas. Se dice que dos líquidos son "inmiscibles" o no miscibles, entre sí cuando uno no es soluble en el otro a un nivel de al menos 10% en peso a temperatura y presión ambiente. Típicamente, una solución orgánica (por ejemplo, diclorometano, acetonitrilo, cloroformo, tetrahidrofurano, acetona, formamida, dimetilformamida, piridinas, dioxano, dimetilsulfóxido, etc.) y un líquido acuoso (por ejemplo, agua o agua que contiene sales disueltas u otras especies, células o medios biológicos, etanol, etc.) son inmiscibles entre sí. Por ejemplo, la primera solución se puede verter en la segunda solución (a una velocidad o velocidad adecuadas). En algunos casos, pueden formarse partículas tales como nanopartículas cuando la primera solución contacta con el segundo líquido inmisible, por ejemplo, la precipitación del polímero al contacto hace que el polímero forme nanopartículas mientras que la primera solución verter en el segundo líquido y, en algunos casos, por ejemplo, cuando la velocidad de introducción se controla cuidadosamente y se mantiene a una velocidad relativamente lenta, pueden formarse nanopartículas. El control de tal formación de partículas puede ser fácilmente optimizado por un experto en la técnica usando solamente experimentación de rutina.

45 Las propiedades tales como la funcionalidad superficial, la carga superficial, el tamaño, el potencial zeta ( $\zeta$ ), la hidrofobicidad, la capacidad para controlar la inmunogenicidad, y similares, pueden ser altamente controladas usando un procedimiento descrito. Por ejemplo, se puede sintetizar una biblioteca de partículas y se puede cribar para identificar las partículas que tienen una relación particular de polímeros que permite que las partículas tengan una densidad específica de restos presentes en la superficie de la partícula. Esto permite que se preparen partículas que tengan una o más propiedades específicas, por ejemplo, un tamaño específico y una densidad superficial específica de los restos, sin un esfuerzo indebido. Por consiguiente, ciertas realizaciones están dirigidas a técnicas de cribado usando tales bibliotecas, así como cualquier partícula identificada usando tales bibliotecas. Además, la identificación puede ocurrir por cualquier método adecuado. Por ejemplo, la identificación puede ser directa o indirecta, o proceder cuantitativa o cualitativamente.

60

En otra realización, se proporciona un proceso de nanoemulsión, tal como el proceso representado en las figuras 1, 2A y 2B. Por ejemplo, el agente terapéutico, un ácido hidrófobo, un primer polímero (por ejemplo, un copolímero dibloque tal como PLA-PEG o PLGA-PEG) y un segundo polímero opcional (por ejemplo, (PL(G)A-PEG o PLA) se puede combinar con una solución orgánica para formar una primera fase orgánica. Esta primera fase puede incluir de aproximadamente 1 a aproximadamente 50% en peso de sólidos, aproximadamente 5 a aproximadamente 50% en peso de sólidos, aproximadamente 5 a aproximadamente 40% en peso de sólidos, aproximadamente 1 a aproximadamente 15% en peso de sólidos o aproximadamente 10 a aproximadamente 30% en peso de sólidos. La primera fase orgánica puede combinarse con una primera solución acuosa para formar una segunda fase. La solución orgánica puede incluir, por ejemplo, tolueno, metilacetona, acetato de etilo, alcohol isopropílico, acetato de isopropilo, dimetilformamida, cloruro de metileno, diclorometano, cloroformo, acetona, alcohol bencílico, Tween<sup>®</sup>80, Span<sup>®</sup>80, Brij<sup>®</sup>100 o similares y combinaciones de los mismos. La solución orgánica también puede incluir dimetilsulfóxido (DMSO). En una realización, la fase orgánica puede incluir alcohol bencílico, acetato de etilo y combinaciones de los mismos. En otra realización, la fase orgánica puede incluir alcohol bencílico, acetato de etilo y DMSO. La segunda fase puede estar entre aproximadamente 0.1 y 50% en peso, entre aproximadamente 1 y 50% en peso, entre aproximadamente 5 y 40% en peso, o entre aproximadamente 1 y 15% en peso de sólidos. La solución acuosa puede ser agua, opcionalmente en combinación con uno o más de colato de sodio, docusato de sodio, acetato de etilo, acetato de polivinilo y alcohol bencílico. La solución acuosa puede contener también DMSO y/o Brij<sup>®</sup>100 o similar. En algunas realizaciones, la solución acuosa comprende Brij<sup>®</sup>100, alcohol bencílico y DMSO en agua. En algunas realizaciones, el pH de la fase acuosa se puede seleccionar con base en el pK<sub>a</sub> del agente terapéutico protonado y/o en el pK<sub>a</sub> del ácido hidrófobo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el agente terapéutico, cuando está protonado, puede tener un primer pK<sub>a</sub>, el ácido hidrófobo puede tener un segundo pK<sub>a</sub> y la fase acuosa puede tener un pH igual a una unidad pK<sub>a</sub> entre el primer pK<sub>a</sub> y el segundo pK<sub>a</sub>. En una realización particular, el pH de la fase acuosa puede ser igual a una unidad de pK<sub>a</sub> que es aproximadamente equidistante entre el primer pK<sub>a</sub> y el segundo pK<sub>a</sub>.

Por ejemplo, el aceite o la fase orgánica pueden utilizar un disolvente que es sólo parcialmente miscible con el no disolvente (agua). Por lo tanto, cuando se mezcla a una relación suficientemente baja y/o cuando se utiliza agua presaturada con los disolventes orgánicos, la fase orgánica (aceite) permanece líquida. La fase orgánica (aceite) puede emulsionarse en una solución acuosa y, como gotitas líquidas, cortarse en nanopartículas usando, por ejemplo, sistemas de dispersión de alta energía, tales como homogeneizadores o sonicadores. La parte acuosa de la emulsión, también conocida como "fase acuosa", puede ser una solución tensioactiva que consiste en colato de sodio (o posiblemente docusato de sodio) y presaturada con acetato de etilo y alcohol bencílico. En algunos casos, la fase orgánica (por ejemplo, la primera fase orgánica) puede incluir el agente terapéutico. Adicionalmente, en ciertas realizaciones, la solución acuosa (por ejemplo, la primera solución acuosa) puede incluir el ácido sustancialmente hidrófobo. En otras realizaciones, tanto el agente terapéutico como el ácido sustancialmente hidrófobo pueden disolverse en la fase orgánica.

La emulsificación de la segunda fase para formar una fase de emulsión se puede realizar, por ejemplo, en una o dos etapas de emulsión. Por ejemplo, se puede preparar una emulsión primaria, y luego emulsionar para formar una emulsión fina. La emulsión primaria puede formarse, por ejemplo, utilizando una mezcla simple, un homogeneizador de alta presión, un sonicador de sonda, una barra de agitación o un homogeneizador de rotor de estator. La emulsión primaria puede formarse en una emulsión fina mediante el uso de, por ejemplo, un sonicador de sonda o un homogeneizador de alta presión, por ejemplo usando 1, 2, 3 o más pases a través de un homogeneizador. Por ejemplo, cuando se usa un homogeneizador de alta presión, la presión utilizada puede ser de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 psi, aproximadamente 40 a aproximadamente 50 psi, aproximadamente 1000 a aproximadamente 8000 psi, aproximadamente 2000 a aproximadamente 4000 psi, aproximadamente 4000 a aproximadamente 8000 psi, o aproximadamente 4000 a aproximadamente 5000 psi, por ejemplo, aproximadamente 2000, 2500, 4000 o 5000 psi. La presión utilizada puede ser de aproximadamente 5.000 a 20.000 psi, tal como 5.000 a 15.000 psi, tal como aproximadamente 8.000 a 15.000 psi, por ejemplo 8.000 a aproximadamente 12.000 psi. Los procedimientos ejemplificados en el presente documento utilizan aproximadamente 9.000 psi (véanse Ejemplos 7, 7a y 7b) y aproximadamente 11.000 psi (tal como el Ejemplo 1).

En algunos casos, pueden elegirse condiciones de emulsión fina, que pueden caracterizarse por una relación de superficie a volumen muy alta de las gotitas en la emulsión, para maximizar la solubilidad del agente terapéutico y el ácido hidrófobo y formar el HIP deseado. En ciertas realizaciones, bajo condiciones de emulsión fina, el equilibrio de los componentes disueltos puede ocurrir muy rápidamente y más rápido que la solidificación de las nanopartículas. Por lo tanto, la selección de un HIP con base en, por ejemplo, la diferencia de pK<sub>a</sub> entre el agente terapéutico y el ácido hidrófobo, o el ajuste de otros parámetros tales como el pH de la emulsión fina y/o el pH de la solución de enfriamiento, pueden tener un impacto significativo en la carga del fármaco y las propiedades de liberación de las nanopartículas, dictando, por ejemplo, la formación de un HIP en la nanopartícula en oposición a la difusión del agente terapéutico y/o ácido hidrófobo a partir de la nanopartícula.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico y el ácido pamoico pueden combinarse en la segunda fase antes de emulsionar la segunda fase. En algunos casos, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden formar un par de iones hidrófobos antes de emulsionar la segunda fase. En otras realizaciones, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden formar un par de iones hidrófobos durante la emulsificación de la segunda fase. Por ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden combinarse en la segunda fase

sustancialmente simultáneamente con la emulsificación de la segunda fase, por ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden disolverse en soluciones separadas (por ejemplo, dos soluciones sustancialmente inmiscibles), que luego se combinan durante la emulsión. En otro ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden disolverse en disoluciones miscibles separadas que luego se alimentan a la segunda fase durante la emulsificación.

Puede ser necesaria la evaporación o dilución del disolvente para completar la extracción del disolvente y solidificar las partículas. Para un mejor control sobre la cinética de extracción y un proceso más escalable, se puede usar una dilución de disolvente mediante enfriamiento acuoso. Por ejemplo, la emulsión se puede diluir en agua fría hasta una concentración suficiente para disolver todo el disolvente orgánico para formar una fase detenida. En algunas realizaciones, la detención se puede realizar al menos parcialmente a una temperatura de aproximadamente 5°C o menos. Por ejemplo, el agua (u otra solución de detención) usada en la extinción puede estar a una temperatura que sea menor que la temperatura ambiente (por ejemplo, aproximadamente 0 a aproximadamente 10°C, o aproximadamente 0 a aproximadamente 5°C). Las soluciones también se pueden enfriar durante la detención. En ciertas realizaciones, se puede escoger la detención con un pH que sea ventajoso para enfriar la fase de emulsión, por ejemplo, mejorando las propiedades de las nanopartículas, tal como el perfil de liberación, o mejorando un parámetro de nanopartícula, tal como la carga de fármaco. El pH de la detención se puede ajustar por titulación ácida o básica, por ejemplo, o mediante la selección apropiada de un regulador.

En algunas realizaciones, el pH de la detención se puede seleccionar con base en el pK<sub>a</sub> del agente terapéutico protonado y/o en el pK<sub>a</sub> del ácido hidrófobo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el agente terapéutico, cuando está protonado, puede tener un primer pK<sub>a</sub>, el ácido hidrófobo puede tener un segundo pK<sub>a</sub>, y la fase de emulsión puede ser templada con una solución acuosa que tiene un pH igual a una unidad pK<sub>a</sub> entre el primero pK<sub>a</sub> y el segundo pK<sub>a</sub>. En algunas realizaciones, la fase detenida resultante puede tener también un pH igual a una unidad pK<sub>a</sub> entre el primer pK<sub>a</sub> y el segundo pK<sub>a</sub>. En una realización particular, el pH puede ser igual a una unidad de pK<sub>a</sub> que es aproximadamente equidistante entre el primer pK<sub>a</sub> y el segundo pK<sub>a</sub>.

En algunas realizaciones, la detención puede tener un pH entre aproximadamente 2 y aproximadamente 12, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 10, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 9, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 7, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 6, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 5, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4,2 y aproximadamente 4,8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 10, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 9, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7. En ciertas realizaciones, la detención puede tener un pH de aproximadamente 4.5. En otras realizaciones, la detención puede tener un pH de aproximadamente 6.5. Debe entenderse que el pH de una solución reguladora puede variar en función de la temperatura. A menos que se especifique lo contrario, el pH de una solución reguladora a la que se hace referencia en el presente documento es el pH a 23°C.

En algunas realizaciones, la detención puede ser una solución acuosa que comprende un agente regulador (una solución reguladora). Se puede usar cualquier agente regulador adecuado. Ejemplos no limitativos de agentes reguladoras incluyen fosfato, citrato, acetato, borato, imidazol, MES (ácido 4-morfolinoetanosulfónico), bis-tris(bis(2-hidroxietil)amino-tris(hidroxiometil)metano), ADA (ácido N-(2-acetamida)iminodiacético), ACES (ácido N-(2-acetamido)-2-aminoetanosulfónico), PIPES (ácido 1,4-piperazinodietanosulfónico), MOPSO (ácido 3-morfolino-2-hidroxiopropanosulfónico), bis-tris propano (1,3-bis[tris(hidroxiometil)metilamino]propano), BES (ácido N,N-bis(2-hidroxietil)-2-aminoetanosulfónico), MOPS (ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico), TES (ácido 2-[(2-hidroxi-1,1-bis(hidroxiometil)etil)amino]etanosulfónico), HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)piperazina-1-etanosulfónico), DIPSO (ácido 3-(N,N-bis[2-hidroxietil]amino)-2-hidroxiopropanosulfónico), MOBS (ácido 4-(N-morfolino)butanosulfónico), TAPSO (ácido 2-hidroxi-3-[tris(hidroxiometil)metilamino]-1-propanosulfónico), Trizma (2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol), HEPPSO (4-(2-hidroxietil)piperazina-1-(2-hidroxiopropanosulfónico ácido fosfórico), POPSO (ácido piperazina-N,N'-bis(2-hidroxiopropanosulfónico)), TEA (trietilamina), EPPS (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinopropanosulfónico), tricina (N-[tris(hidroxiometil)metil]glicina), Gly-Gly (Diglicina), bicina (N,N-bis(2-hidroxietil)glicina), HEPBS (ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-(4-butanosulfónico)), TAPS (ácido N-[tris(hidroxiometil)metil]-3-aminopropanosulfónico), AMPD (2-amino-2-metil-1,3-propanodiol), TABS (ácido N-tris(hidroxiometil)metil-4-aminobutanosulfónico), AMPSO (ácido N-(1,1-dimetil-2-hidroxietil)-3-amino-2-hidroxiopropanosulfónico), CHES (ácido 2-(ciclohexilamino)etanosulfónico), CAPSO (ácido 3-(ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propanosulfónico), AMP (alcohol β-aminobutóxido), CAPS (ácido 3-(ciclohexilamino)-1-propanosulfónico), CABS (ácido 4-(ciclohexilamino)-1-butanosulfónico) y combinaciones de los mismos. Debe entenderse que un regulador comprende un ácido y una base en equilibrio (por ejemplo, un ácido y una base conjugada y/o una base y un ácido conjugado). Por lo tanto, debe entenderse además que, por brevedad, una solución reguladora o agente regulador se puede denominar en el presente documento con el nombre de un ácido libre (por ejemplo, ácido fosfórico) o su base conjugada (por ejemplo fosfato) o el nombre de una base libre (por ejemplo, imidazol) o su ácido conjugado (por ejemplo, imidazolio), pero que un experto en la técnica entendería que existe un equilibrio entre dos o más especies de protonación diferentes del agente regulador (por ejemplo H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> y PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>). En algunas

realizaciones, la detención puede comprender dos o más agentes amortiguadores. Por ejemplo, la detención puede comprender dos, tres, cuatro o cinco agentes regulador. En algunas realizaciones, la detención puede comprender una mezcla de fosfato y citrato. En otras realizaciones, la detención puede comprender una mezcla de borato, fosfato y acetato (por ejemplo, regulador de Britton-Robbinson, que comprende 0.04 M de  $H_3BO_3$ , 0.04 M de  $H_3PO_4$  y 0.04 M de  $CH_3COOH$  titulado a un pH deseado).

5

En algunas realizaciones, una solución reguladora (una extinción) puede tener una capacidad reguladora adecuada dentro de un intervalo de pH particular. Los intervalos de pH no limitantes para soluciones regulador de ejemplo se proporcionan en la Tabla A siguiente. En ciertas realizaciones, una solución reguladora puede tener una concentración de agente regulador entre aproximadamente 0.001M y aproximadamente 1M, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.001M y aproximadamente 0.5M, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.01M y aproximadamente 0.5M, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.05M y aproximadamente 0.5M, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.1M y aproximadamente 0.5M, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.01M y aproximadamente 0.2M, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.05M y aproximadamente 0.15M, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 0.075M y aproximadamente 0.125M.

10

15 Tabla A. Intervalos de pH no limitantes para reguladores de ejemplo.

Agente regulador	Rango de pH
Fosfato	5.7-8.0
Citrato	3.0-6.2
Fosfato-Citrato	2.6-7.6
Acetato	3.7-5.6
Imidazol	6.2-7.8
Britton-Robbinson	2-12
ADA	6.0-7.2
ACES	6.1-7.5
PIPES	6.1-7.5
MOPSO	6.2-7.6
Bis-tris Propano	6.3-9.5
BES	6.4-7.8
MOPS	6.5-7.9
TES	6.8-8.2
HEPES	6.8-8.2
DIPSO	7.0-8.2
MOBS	6.9-8.3

En algunas realizaciones, una detención puede tener una concentración de agente regulador suficiente para resistir

un cambio sustancial de pH. Por ejemplo, una fase templada puede tener un pH que difiera del pH de la fase de emulsión en menos de 1 unidad de pH, en algunas realizaciones menos de 0.5 unidades de pH, en algunas realizaciones, menos de 0.2 unidades de pH, en algunas realizaciones menos de 0.1 unidades de pH, y en algunas realizaciones menos de 0.05 unidades de pH. En algunas realizaciones, el pH de la fase templada puede ser sustancialmente el mismo que el pH de la fase de emulsión (antes de la extinción).

En algunas realizaciones, la fase detenida puede tener un pH entre aproximadamente 2 y aproximadamente 12, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 10, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 9, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 7, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 6, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 5, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4.2 y aproximadamente 4.8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 10, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 9, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7. En ciertas realizaciones, la fase templada puede tener un pH de aproximadamente 4.6.

Una solución reguladora (por ejemplo, una extinción) a un pH deseado puede prepararse fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, se puede preparar una solución reguladora a un pH deseado titulando una solución que contiene un agente regulador con un ácido fuerte (por ejemplo, HCl) o una base fuerte (por ejemplo, NaOH). Alternativamente, una solución reguladora a un pH deseado puede prepararse combinando un ácido débil (por ejemplo ácido cítrico) con su base conjugada (por ejemplo, citrato de sodio) o combinando una base débil (por ejemplo, imidazol) con su ácido conjugado (por ejemplo, cloruro de imidazolio). Un experto en la materia puede determinar las cantidades de ácido débil o base débil y el conjugado correspondiente para usar en la preparación de una solución reguladora usando la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

En un aspecto, la solución de detención es una solución reguladora a pH 6.5 (tal como regulador fosfato de sodio 0.17 M). Convenientemente, la solución de detención se enfría a  $<5^{\circ}\text{C}$  antes de añadir la emulsión. Convenientemente, la mezcla de soluciones de enfriamiento y emulsión se enfría mientras se mezclan entre sí. En una realización, la relación de la solución de enfriamiento a la emulsión es de 10:1 (en peso). En otra realización, la relación de la solución de enfriamiento a la emulsión es de 3:1. En este aspecto y realizaciones, convenientemente el ácido hidrófobo es ácido pamoico.

En ciertas realizaciones, la formación de HIP puede ocurrir durante o después de la emulsificación, por ejemplo, como resultado de las condiciones de equilibrio en la emulsión fina. Sin desear limitarse por ninguna teoría, se cree que los contraiones solubles orgánicamente (el ácido hidrófobo) pueden facilitar la difusión del agente terapéutico en una nanopartícula de una emulsión como resultado de la formación de HIP. Sin desear limitarse por ninguna teoría, el HIP puede permanecer en la nanopartícula antes de la solidificación de la nanopartícula ya que la solubilidad del HIP en la nanopartícula es superior a la solubilidad del HIP en la fase acuosa de la emulsión y/o en la aplacar. Por ejemplo, seleccionando un pH para la detención que está entre el  $\text{pK}_a$  del agente terapéutico y el  $\text{pK}_a$  del ácido hidrófobo, se puede optimizar la formación de agente terapéutico ionizado y ácido hidrófobo. Sin embargo, la selección de un pH que es demasiado alto puede tender a hacer que el ácido hidrófobo se difunda fuera de la nanopartícula, mientras que la selección de un pH que es demasiado bajo puede tender a hacer que el agente terapéutico se difunda fuera de la nanopartícula.

En algunas realizaciones, el pH de una solución acuosa usada en un proceso de formulación de nanopartículas (por ejemplo, incluyendo, pero sin limitación, la fase acuosa, la fase de emulsión, la detención y la fase detenida) puede seleccionarse independientemente y puede estar entre aproximadamente 1 y aproximadamente 3, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 y aproximadamente 4, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 5, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 6, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 y aproximadamente 7, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 y aproximadamente 9 y en algunas realizaciones entre aproximadamente 8 y aproximadamente 10. En ciertas realizaciones, el pH de una solución acuosa usada en un proceso de formulación de nanopartículas puede estar entre aproximadamente 3 y aproximadamente 4, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 5, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 y aproximadamente 6, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7, en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 y aproximadamente 8, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 8 y aproximadamente 9.

La eficacia de encapsulación conseguida (el porcentaje de ingrediente activo en la nanopartícula en comparación con el ingrediente activo total en el proceso) variará con los componentes exactos de la formulación utilizada y los parámetros de proceso detallados. Una alta eficiencia de encapsulación es más económica. En algunas realizaciones, no todo el agente terapéutico está encapsulado en las partículas en esta etapa, y se añade un solubilizante de fármaco a la fase detenida para formar una fase solubilizada. El solubilizante del fármaco puede ser, por ejemplo, Tween<sup>®</sup>80, Tween<sup>®</sup>20, polivinilpirrolidona, ciclodextrano, dodecilsulfato de sodio, colato de sodio, dietilnitrosamina, acetato de sodio, urea, glicerina, propilenglicol, glicofuroil, poli(etilenglicol), bris(polioxi(etilenglicol)dodecil éter, benzoato de sodio,

salicilato de sodio, o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, se puede añadir Tween®80 a la suspensión de nanopartículas detenidas para solubilizar el fármaco libre y prevenir la formación de cristales de fármaco. En algunas realizaciones, una proporción de solubilizante de fármaco para el agente terapéutico es de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 10:1, o en algunas realizaciones de aproximadamente 100:1 a aproximadamente 10:1 (en peso).

5 La fase solubilizada puede filtrarse para recuperar las nanopartículas.

Por ejemplo, se pueden usar membranas de ultrafiltración para concentrar la suspensión de nanopartículas y eliminar sustancialmente material extraño tal como disolvente orgánico, fármaco libre (es decir, agente terapéutico no encapsulado), solubilizante de fármaco y otros coadyuvantes de procesamiento (tensioactivos).

10 La filtración de ejemplo se puede realizar usando un sistema de filtración de flujo cruzado o flujo tangencial, en el que la alimentación se hace pasar a través de la membrana de filtro (tangencialmente) a presión positiva con respecto al lado del permeado. Una proporción del material extraño pasa a través de la membrana como permeado o filtrado; todo lo demás se retiene en el lado de alimentación de la membrana como retenido. Por ejemplo, mediante el uso de una membrana con un tamaño de poro adecuado para retener nanopartículas permitiendo el paso de solutos, micelas y disolvente orgánico, las nanopartículas pueden separarse selectivamente. Se pueden usar membranas de ejemplo  
15 con límites de peso molecular de aproximadamente 300-500 kDa (~5-25 nm).

En algunas realizaciones, la concentración del material extraño en el retenido se puede reducir "lavando" con agua, un proceso llamado diafiltración. La cantidad de material extraño eliminado está relacionada con el volumen de filtrado generado, con respecto al volumen de retenido. El volumen de filtrado generado se refiere usualmente en términos de  
20 "volúmenes de diafiltración" o diavolúmenes. Un diavolumen único es el volumen de retenido cuando se inicia la diafiltración.

La diafiltración puede realizarse usando un enfoque de volumen constante, lo que significa que el diafiltrato (agua desionizada en frío, por ejemplo, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5°C, o de 0 a aproximadamente 10°C) puede añadirse a la suspensión de alimentación a la misma velocidad que el filtrado se elimina de la suspensión. Cuando el volumen de filtrado recogido es igual al volumen de retenido inicial, se ha procesado 1 diavolumen.

25 En algunas realizaciones, la filtración puede incluir una primera filtración usando una primera temperatura de aproximadamente 0 a aproximadamente 5°C, o de 0 a aproximadamente 10°C, y una segunda temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 30°C, o de 15 a aproximadamente 35°C. En algunas realizaciones, la filtración puede incluir el procesamiento de aproximadamente 1 a aproximadamente 30, en algunos casos de aproximadamente 1 a aproximadamente 15, o en algunos casos de 1 a aproximadamente 6 diavolúmenes. Por  
30 ejemplo, la filtración puede incluir procesar de aproximadamente 1 a aproximadamente 30, o en algunos casos de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 diavolúmenes, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5°C, y procesar al menos un diavolumen (por ejemplo, aproximadamente 1 a aproximadamente 15, aproximadamente 1 a aproximadamente 3, o aproximadamente 1 a aproximadamente 2 diavolúmenes) a aproximadamente 20 a aproximadamente 30°C. En algunas realizaciones, el filtrado comprende procesar diavolúmenes diferentes a  
35 diferentes temperaturas distintas.

En una realización, se utilizan aproximadamente 20 diavolúmenes de agua desionizada fría. En otra realización, se utilizan aproximadamente 20 diavolúmenes de agua desionizada a temperatura ambiente.

40 Después de purificar y concentrar la suspensión de nanopartículas, las partículas pueden pasar a través de uno, dos o más filtros de esterilización y/o profundidad, por ejemplo, utilizando un filtro previo de -0.2 µm de profundidad. Por ejemplo, una etapa de filtración estéril puede implicar el filtrado de las nanopartículas terapéuticas utilizando un tren de filtración a una velocidad controlada. En algunas realizaciones, el tren de filtración puede incluir un filtro de profundidad y un filtro estéril.

45 En otra realización de preparar nanopartículas, se forma una fase orgánica compuesta por una mezcla del agente terapéutico (AZD1152 hqpa) y polímero (homopolímero y copolímero). La fase orgánica se mezcla con una fase acuosa a una relación aproximadamente 1:5 (fase orgánica:fase acuosa) donde la fase acuosa está compuesta por un tensioactivo y algún disolvente disuelto. La emulsión primaria se forma por la combinación de las dos fases bajo simple mezcla o mediante el uso de un homogeneizador de rotor de estator. La emulsión primaria se forma a continuación en una emulsión fina mediante el uso de un homogeneizador de alta presión. La emulsión fina se enfría después por adición a agua desionizada bajo mezcla. En algunas realizaciones, la relación de detención:emulsión  
50 puede ser de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 40:1, o en algunas realizaciones de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 15:1. En algunas realizaciones, la relación de enfriamiento: emulsión es de aproximadamente 8.5:1. A continuación, se añade una solución de Tween® (por ejemplo, Tween®80) al temple para conseguir aproximadamente un 2% de Tween® total. Esto sirve para disolver agente terapéutico libre, no encapsulado (es decir, AZD1152 hqpa). A continuación, las nanopartículas se aíslan mediante centrifugación o ultrafiltración/diafiltración.

55 Se apreciará que las cantidades de polímero, agente terapéutico (es decir, AZD1152 hqpa) y ácido hidrófobo que se usan en la preparación de la formulación pueden diferir de una formulación final. Por ejemplo, algunas de las AZD1152 hqpa pueden no incorporarse completamente en una nanopartícula y dicha AZD1152 hqpa libre puede ser, por ejemplo, separada por filtración. Por ejemplo, en una realización, una primera solución orgánica que contiene

aproximadamente 11 por ciento en peso de carga teórica de AZD 1152 hqpa en una primera solución orgánica que contiene aproximadamente 9% de un primer ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido graso), una segunda solución orgánica que contiene aproximadamente 89 por ciento en peso de polímero (por ejemplo, el polímero puede incluir PLA-PEG), y una solución acuosa que contiene aproximadamente 0.12% de un segundo ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido biliar) puede usarse en la preparación de una formulación que da como resultado, por ejemplo, una nanopartícula final que comprende aproximadamente 2 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 97.5 por ciento en peso de polímero y aproximadamente 0.5% de ácido hidrófobo total. Tales procedimientos pueden proporcionar nanopartículas finales adecuadas para la administración a un paciente que incluye de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, por ejemplo, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 8, aproximadamente 10, o aproximadamente 15 por ciento de AZD1152 hqpa en peso.

En algunas realizaciones, la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 2 y aproximadamente 8, tal como entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7.

En otro aspecto, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica. El procedimiento comprende combinar una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en la que la fase de emulsión comprende un primer polímero, un agente terapéutico básico que es AZD1152 hqpa y un ácido sustancialmente hidrófobo que es ácido pamoico; detención de la fase de emulsión formando de esta manera una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7.

En algunas realizaciones, el proceso comprende además filtrar la fase templada para recuperar las nanopartículas terapéuticas.

En algunas realizaciones, el procedimiento comprende además combinar AZD1152 hqpa y el ácido pamoico en la segunda fase antes de emulsionar la segunda fase. Por ejemplo, en algunas realizaciones, AZD1152 hqpa y el ácido forman un par de iones hidrófobos antes de emulsionar la segunda fase. En otras realizaciones, AZD1152 hqpa y el ácido forman un par de iones hidrófobos durante la emulsificación de la segunda fase.

En algunas realizaciones, el procedimiento comprende además combinar AZD1152 hqpa y el ácido en la segunda fase sustancialmente simultáneamente con la emulsificación de la segunda fase. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la primera fase orgánica comprende AZD1152 hqpa y la primera solución acuosa comprende el ácido.

En otras realizaciones, la primera fase orgánica comprende el polímero, AZD1152 hqpa y el ácido sustancialmente hidrófobo.

En un aspecto, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende combinar una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en la que la fase de emulsión comprende un primer polímero, un agente terapéutico básico que es AZD 1152 hqpa y ácido pamoico; detención de la fase de emulsión formando de este modo una fase detenida. En este aspecto, preferentemente, la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7.

En otro aspecto, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende combinar una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en la que la fase de emulsión comprende un primer polímero, un agente terapéutico básico que es AZD1152 hqpa y un ácido sustancialmente hidrófobo seleccionado entre ácido desoxicólico y ácido dioctilsulfosuccínico; enfriamiento de la fase de emulsión formando de este modo una fase de detención rápido, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7.

Convenientemente, la fase de emulsión se mantiene, por ejemplo por almacenamiento en hielo, durante un período (tal como de 5 a 15 minutos) antes de detención. En algunos aspectos, como se ha mencionado anteriormente, la emulsión se lleva a cabo en un proceso de dos etapas, con formación de una emulsión gruesa previo a la formación de una emulsión fina. En algunas realizaciones, se forma una emulsión gruesa y ésta se puede mantener convenientemente, por ejemplo por almacenamiento en hielo, durante un período (tal como de 5 a 15 minutos) antes de que se forme la emulsión fina. La emulsión fina en sí misma, también puede almacenarse, por ejemplo a una temperatura de 0-5°C, en algunas realizaciones a aproximadamente 2°C, durante un período de 1-15 minutos (en algunas realizaciones aproximadamente 1 minuto, en otras realizaciones aproximadamente 2 minutos, en otras realizaciones, no más de 1 minuto, en aún otras realizaciones durante al menos 5 minutos) antes de la extinción.

Convenientemente, la detención se lleva a cabo a temperatura reducida tal como a <5°C.

Adecuadamente, en los aspectos anteriores y en la realización, la primera fase acuosa comprende un tensioactivo, tal

como colato de sodio o éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®) en agua y alcohol bencílico.

- 5 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende combinar una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en la que la fase de emulsión comprende un primer polímero, un agente terapéutico básico que es AZD1152 hqpa y ácido pamoico; mantener opcionalmente la fase de emulsión durante un tiempo de retención (tal como de 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C); enfriamiento de la fase de emulsión formando de este modo una fase de detención, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y 10 aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5), preferiblemente a <5°C. Adecuadamente, la primera fase acuosa comprende un tensioactivo, tal como colato de sodio o éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua y alcohol bencílico.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

- 15 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en uno o más disolventes) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo en agua) para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión;
- 20 3) mantener opcionalmente la fase de emulsión durante un tiempo de retención (tal como de 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C);
- 4) detener la fase de emulsión <5°C, formando de este modo una fase detenida, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);
- 5) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- 25 Adecuadamente, la primera fase acuosa comprende un tensioactivo, tal como colato de sodio o éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua y alcohol bencílico.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

- 30 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en uno o más disolventes) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo en agua) para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 35 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión <5°C formando de este modo una fase de detención, en la que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);
- 40 7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Adecuadamente, la primera fase acuosa comprende un tensioactivo, tal como colato de sodio o éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua y alcohol bencílico.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

- 45 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal como colato de sodio o polioxietileno (100) estearil éter (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión;

3) mantener opcionalmente la fase de emulsión durante un tiempo de retención (tal como de 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C);

5 4) detener la fase de emulsión a <5°C formando de este modo una fase de detención, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);

5) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Otro tensioactivo tal como Tween®80 en agua se puede añadir a la solución enfriada antes de la concentración y filtración.

10 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal como colato de sodio o polioxietileno (100) estearil éter (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

15 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

20 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);

7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

25 Otro tensioactivo tal como Tween®80 en agua se puede añadir a la solución enfriada antes de la concentración y filtración.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

30 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal como colato de sodio o polioxietileno (100) estearil éter (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

35 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);

40 7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Otro tensioactivo tal como Tween®80 en agua se puede añadir a la solución enfriada antes de la concentración y filtración.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

45 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar de 1:3 y 1:4) con una primera solución acuosa (que

comprende un tensioactivo tal éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim<sup>®</sup>S100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

5 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

10 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);

7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Otro tensioactivo tal como Tween<sup>®</sup>80 en agua se puede añadir a la solución detenida antes de la concentración y filtración.

15 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal como polioxietileno (100) estearil éter (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij<sup>®</sup>), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

20 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

25 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador que tiene un pH de 6.5;

30 7) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween<sup>®</sup>80, por ejemplo una solución de Tween<sup>®</sup>80 al 35 por ciento en peso en agua) al enfriamiento a una proporción de aproximadamente 20:1 a 100:1 de Tween<sup>®</sup>80 a fármaco en peso;

8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

35 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar entre 1:3 y 1:4) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim<sup>®</sup>S100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

40 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

45 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5;

- 7) añadir una solución acuosa de tensioactivo como solubilizante a la solución enfriada;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

- 5 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero 16/5 de PLA-PEG, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3.6) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;
- 10 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;
- 15 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende regulador a pH 6.5;
- 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo como solubilizante;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- 20 Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

- 25 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero 16/5 PLA-PEG, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar de aproximadamente 1:3.6) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 30 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;
- 35 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende regulador a pH 6.5;
- 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo como solubilizante;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- 40 Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

- 45 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar de aproximadamente 1:3.6) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase en la que la relación

de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;

- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 5 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 en la que la relación de segunda solución acuosa a emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;
- 10 7) añadir una solución acuosa de tensioactivo al enfriamiento;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.

- 15 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

- 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar de aproximadamente 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo en la forma comercializada bajo el nombre comercial Brim<sup>®</sup>5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 25 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17 M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;
- 30 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween<sup>®</sup>80, por ejemplo una solución de Tween<sup>®</sup>80 al 35% en peso en agua) a la solución de detención (por ejemplo en una proporción de aproximadamente 20:1 de Tween<sup>®</sup>80 al fármaco en peso);
- 35 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

- 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar de aproximadamente 1:3) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim<sup>®</sup>5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 45 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) después de aproximadamente 1 minuto, enfriamiento brusco de la fase de emulsión a aproximadamente 2°C, formando de este modo una fase de detención, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5;

5 6) añadir a la solución de enfriamiento una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35% en peso en agua); a la solución de detención

7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de aproximadamente 1 mol de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.

10 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una proporción molar de aproximadamente 1:3) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5:1;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

20 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) después de aproximadamente 1 minuto, enfriamiento brusco de la fase de emulsión a aproximadamente 2°C, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17 M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión es de aproximadamente 10:1;

25 6) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35% en peso en agua) a la detención a una relación de aproximadamente 100:1 de Tween®80 al fármaco en peso;

7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de aproximadamente 1 mol de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.

30 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende:

1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo estén presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa a una relación inicial de 1 mol de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo comercializado con el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5:1;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

40 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

45 5) después de aproximadamente 1 minuto, detención de la fase de emulsión a aproximadamente 2°C, formando de esta manera una fase detenida, en donde la extinción de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 y en la que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión es de aproximadamente 10:1;

6) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35% en peso en agua) a la extinción a una relación de aproximadamente 100:1 de Tween®80 al fármaco en peso;

7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

En otros aspectos, se proporciona un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica que comprende cualquiera de los métodos específicos expuestos en los Ejemplos en el presente documento.

5 En algunas realizaciones, AZD1152 hqpa, cuando se protona, tiene un primer  $pK_a$ , el ácido tiene un segundo  $pK_a$  y la fase de emulsión se enfría con una solución acuosa que tiene un pH igual a una unidad  $pK_a$  entre el primer  $pK_a$  y el segundo  $pK_a$ . Por ejemplo, en algunos casos, la fase detenida tiene un pH igual a una unidad  $pK_a$  entre el primer  $pK_a$  y el segundo  $pK_a$ . En algunas realizaciones, AZD1152 hqpa, cuando se protona, tiene un primer  $pK_a$ , el ácido tiene un segundo  $pK_a$  y la primera solución acuosa tiene un pH igual a una unidad  $pK_a$  entre el primer  $pK_a$  y el segundo  $pK_a$ . En algunas realizaciones, el pH (por ejemplo, de la fase detenida o primera solución acuosa) es igual a una unidad  $pK_a$  que es aproximadamente equidistante entre el primer  $pK_a$  y el segundo  $pK_a$ .

10 En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara por emulsificación de una mezcla que comprende un primer polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico, formando de este modo una fase de emulsión; y extinción de la fase de emulsión formando de esta manera una fase de detención rápido que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas.

15 En algunas realizaciones, la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 2 y aproximadamente 8, tal como entre aproximadamente pH 4 y 7. Se prefiere la detención a una temperatura reducida, tal como  $<5^{\circ}\text{C}$ .

20 En aún otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara por emulsificación de una mezcla que comprende un primer polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico, formando de este modo una fase de emulsión; y extinción de la fase de emulsión formando de este modo una fase de detención que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7.

25 En algunas realizaciones, el pH de una solución acuosa contemplada (por ejemplo, la primera o segunda solución acuosa está entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7, por ejemplo, entre aproximadamente 4 y aproximadamente 5 o entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7.

En algunas realizaciones, una solución acuosa contemplada comprende fosfato, citrato o una mezcla de fosfato y citrato. En algunas realizaciones, la segunda solución acuosa comprende una mezcla de borato, fosfato y acetato.

En algunas realizaciones, un proceso contemplado para preparar una nanopartícula terapéutica comprende además la filtración de la fase detenida para recuperar las nanopartículas terapéuticas.

30 En algunas realizaciones, la fase detenida tiene un pH sustancialmente igual que la fase de emulsión. En algunas realizaciones, la fase templada tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7, por ejemplo, entre aproximadamente 4 y aproximadamente 5 o entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7.

En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un procedimiento de preparación que comprende:

35 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en uno o más disolventes) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo en agua) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión;

40 3) mantener opcionalmente la fase de emulsión durante un tiempo de retención (tal como de 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente  $0^{\circ}\text{C}$ );

4) detener la fase de emulsión a  $<5^{\circ}\text{C}$  formando de este modo una fase de detención, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);

5) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

45 Adecuadamente, la primera fase acuosa comprende un tensioactivo, tal como colato de sodio o éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij<sup>®</sup>), en agua y alcohol bencílico.

En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:

50 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en uno o más disolventes) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo en agua) para formar una segunda fase;

- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);
- 7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- 10) Adecuadamente, la primera fase acuosa comprende un tensioactivo, tal como colato de sodio o éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua y alcohol bencílico.
- En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:
- 15) 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal como colato de sodio o polioxietileno 100) estearil éter (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión;
- 20) 3) mantener opcionalmente la fase de emulsión durante un tiempo de retención (tal como de 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C);
- 4) detener la fase de emulsión a <5°C formando de este modo una fase de detención, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);
- 5) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- 25) Otro tensioactivo tal como Tween®80 en agua se puede añadir a la solución enfriada antes de la concentración y filtración.
- En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:
- 30) 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal como colato de sodio o polioxietileno (100) estearil éter (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 35) 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (tal como aproximadamente pH 6.5);
- 40) 7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- Otro tensioactivo tal como Tween®80 en agua se puede añadir a la solución enfriada antes de la concentración y filtración.
- En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:
- 45) 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema

disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal como colato de sodio o polioxietileno (100) estearil éter (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

5 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

10 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (como por ejemplo aproximadamente pH 6.5);

7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Otro tensioactivo tal como Tween®80 en agua se puede añadir a la solución enfriada antes de la concentración y filtración.

15 En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:

20 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar de 1:3 y 1:4) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

25 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en donde la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador que tiene un pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 (como por ejemplo aproximadamente pH 6.5);

30 7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Otro tensioactivo tal como Tween®80 en agua se puede añadir a la solución enfriada antes de la concentración y filtración.

En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:

35 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal como estearil polioxietileno (100) éter (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brij®), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

40 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

45 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador que tiene un pH de 6.5;

7) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35% p/p en agua) al temple a una proporción de aproximadamente 20:1 a 100:1 de Tween®80 al fármaco por peso;

8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

5 En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un procedimiento de preparación que comprende:

1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un polímero, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar entre 1:3 y 1:4) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 5 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

15 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5;

7) añadir una solución acuosa de tensioactivo como solubilizante a la solución enfriada;

20 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica que se describe en el presente documento como formulación G1, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:

25 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero 16/5 de PLA-PEG, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3.6) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

30 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;

35 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende regulador a pH 6.5;

7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo como solubilizante;

8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

40 Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.

En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica que se describe en este documento como formulación G1, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:

45 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero 16/5 PLA-PEG, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar de aproximadamente 1:3.6) con una primera solución acuosa (que comprende un tensioactivo tal éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;

- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
  - 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
  - 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende regulador a pH 6.5;
  - 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo como solubilizante;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.
- En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica que se describe en este documento como formulación G1, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:
- 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3.6) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en el que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;
  - 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
  - 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
  - 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
  - 5) esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;
  - 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 en la que la relación de segunda solución acuosa a emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;
  - 7) añadir una solución acuosa de tensioactivo al enfriamiento;
  - 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.
- En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica que se describe en este documento como formulación G1, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:
- 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido con el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;
  - 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
  - 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
  - 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

- 5) esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;
- 7) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35% p/p en agua) a la solución de detención (por ejemplo a una proporción de aproximadamente 20:1 de Tween®80 al fármaco por peso);
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- 10 En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica que se describe en este documento como formulación G2, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:
- 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) después de aproximadamente 1 minuto, enfriamiento brusco de la fase de emulsión a aproximadamente 2°C, formando de este modo una fase de detención, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5;
- 6) añadir a la solución de enfriamiento una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35% p/p en agua);
- 7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- Convenientemente, el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de aproximadamente 1 mol de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.
- 30 En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica que se describe en este documento como formulación G2, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:
- 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo está presente en una proporción molar de aproximadamente 1:3) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo, vendido bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5:1;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) después de aproximadamente 1 minuto, enfriamiento brusco de la fase de emulsión a aproximadamente 2°C, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión es de aproximadamente 10:1;
- 6) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35% p/p en agua) al enfriamiento a una relación de aproximadamente 100:1 de Tween®80 al fármaco en peso;
- 7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Convenientemente, el ácido pamoico y AZD11152 hqpa se añaden a una relación inicial de aproximadamente 1 mol de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.

En un aspecto adicional, se proporciona una nanopartícula terapéutica que se describe en el presente documento como formulación G2, en la que la nanopartícula terapéutica se prepara mediante un proceso de preparación que comprende:

- 5 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3 y el ácido pamoico y AZD11152 hqpa a una relación inicial de 1 mol de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) Ejemplo comercializado con el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5:1;
- 10 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 15 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) después de aproximadamente 1 minuto, detención de la fase de emulsión a aproximadamente 2°C, formando de esta manera una fase detenida, en donde la extinción de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 y en la que la relación de segunda solución acuosa a emulsión es de aproximadamente 10:1;
- 20 6) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35% p/p en agua) al enfriamiento a una relación de aproximadamente 100:1 de Tween®80 al fármaco en peso;
- 7) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

En un aspecto, las nanopartículas finales incluyen aproximadamente 5 a aproximadamente 20% en peso de AZD1152 hqpa, tal como aproximadamente 8 a aproximadamente 20% en peso tal como aproximadamente 10 a aproximadamente 20% en peso, tal como aproximadamente 10 a aproximadamente 15% en peso, tal como aproximadamente 10 a aproximadamente 16% en peso, tal como aproximadamente 12 a aproximadamente 16% en peso, tal como aproximadamente 15 a aproximadamente 20% en peso, tal como aproximadamente 15 a aproximadamente 18% en peso. En un aspecto, las nanopartículas finales incluyen aproximadamente 10 a aproximadamente 20% en peso de AZD1152 hqpa. En un aspecto adicional, las nanopartículas finales incluyen de aproximadamente 15 a aproximadamente 20% en peso de AZD1152 hqpa. En un aspecto adicional, las nanopartículas finales incluyen de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD1152 hqpa.

Una característica adicional de la invención proporciona nanopartículas que comprenden aproximadamente 10-20% en peso de AZD11152 hqpa, aproximadamente 50 a aproximadamente 90 por ciento en peso de un copolímero de ácido poli(láctico) poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y ácido pamoico.

En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 90 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol que tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de un ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 35 a aproximadamente 94 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol que tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de poli(etilen)glicol de aproximadamente 5 kDa, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 1 a aproximadamente 35 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD11152 Hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 80 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol que tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de poli(etilen)glicol de

aproximadamente 5 kDa, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 76 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol que tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 9 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD11152 Hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 15 Una característica adicional de la invención proporciona nanopartículas que comprenden aproximadamente 10-20 por ciento en peso de AZD11152 hqpa, aproximadamente 50 a aproximadamente 90 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente el 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y ácido pamoico.

- 20 Otras características de la invención comprenden cada una de las formulaciones de los Ejemplos denominadas formulaciones E, F1, F2, G1 y G2 en el presente documento. Otras características de la invención comprenden cada una de las formulaciones de los Ejemplos denominados formulaciones E, F1, F2, G1 y G2 en el presente documento, en las que el % en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 1% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia). Otras características de la invención comprenden cada una de las formulaciones de los Ejemplos denominados formulaciones E, F1, F2, G1 y G2 en el presente documento, en las que el % en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 1.5% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia). Otras características de la invención comprenden cada una de las formulaciones de los Ejemplos denominados formulaciones E, F1, F2, G1 y G2 en el presente documento, en las que el % en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 2% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia).

En un aspecto, las nanopartículas contempladas tienen un diámetro hidrodinámico <200 nm, tal como 70-140 nm.

- 30 En un aspecto adicional de la invención se proporcionan nanopartículas que comprenden aproximadamente 15-25 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a 15 por ciento en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol).

- 35 En un aspecto adicional de la invención se proporcionan nanopartículas que comprenden aproximadamente 15-22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a 15 por ciento en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol).

- 40 En un aspecto adicional de la invención se proporcionan nanopartículas que comprenden aproximadamente 15-22 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa, aproximadamente 7 a 10 por ciento en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de poli(etilen)glicol de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en el que menos de 20% de la hqpa AZD11152 se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otra realización de este aspecto, menos del 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 40 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otra realización de este aspecto, menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 50 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. Convenientemente, la liberación de AZD1152 hqpa a partir de la nanopartícula se puede medir usando el método descrito anteriormente en este documento.

- 45 En un aspecto adicional de la invención se proporcionan nanopartículas que comprenden aproximadamente 15-22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a 10 por ciento en peso de ácido pamoico, en el que el AZD1152 hqpa y el ácido pamoico forman un par de iones hidrófobos y (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una media en peso molecular numérico de poli(ácido láctico) de aproximadamente 16 kDa y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en el que menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otra

realización de este aspecto, menos del 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 40 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otra realización de este aspecto, menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 50 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. Convenientemente, la liberación de AZD1152 hqpa a partir de la nanopartícula se puede medir usando el método descrito anteriormente en este documento.

5 En un aspecto adicional de la invención se proporcionan nanopartículas que comprenden aproximadamente 15-22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a 10 por ciento en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) un peso molecular numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en la que menos de 20% de la AZD1152 hqpa se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C, y en el que las nanopartículas se hacen mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

15 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16: 5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo esté presente en una relación molar de aproximadamente 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico: 1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo en la forma comercializada bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;

20 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;

25 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17 M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;

30 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35 por ciento en peso en agua) a la solución de detención (por ejemplo a una relación de aproximadamente 20:1 de Tween®80 al fármaco en peso);

8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

35 En un aspecto adicional de la invención se proporcionan nanopartículas que comprenden aproximadamente 15-22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a 10 por ciento en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en el que las nanopartículas se fabrican mediante un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

40 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo está presente en una relación molar de aproximadamente 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico: 1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo en la forma comercializada bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;

45 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

50 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;

6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador

a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17 M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;

5 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35 por ciento en peso en agua) a la solución de detención (por ejemplo a una relación de aproximadamente 20:1 de Tween®80 al fármaco en peso);

8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

10 En un aspecto, se proporcionan nanopartículas terapéuticas descritas como la formulación G1 de la presente invención, que comprende aproximadamente 15-22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a 10 por ciento en peso de ácido pamoico, y un ácido poli(láctico) (etilen) glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol).

15 En otro aspecto se proporcionan nanopartículas terapéuticas descritas como la formulación G2 de la presente invención, que comprende aproximadamente 15-22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 9 a 13 por ciento en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol).

## 20 Formulaciones Farmacéuticas

Las nanopartículas descritas en la presente invención se pueden combinar con vehículos farmacéuticamente aceptables para formar una composición farmacéutica, de acuerdo con otro aspecto. Como se apreciará por un experto en la técnica, los portadores pueden elegirse basándose en la vía de administración como se describe a continuación, en la localización del tejido diana, en el fármaco que se administra, en el tiempo de administración del fármaco, etc.

25 En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéuticamente aceptable comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas contempladas y un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéuticamente aceptable puede comprender también uno o más excipientes y/o diluyentes. En una realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas, en donde las nanopartículas comprenden aproximadamente 10-20% en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 50 a aproximadamente 90 por ciento en peso de un ácido dibloque de poli(láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y ácido pamoico.

35 En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende AZD1152 hqpa y ácido pamoico.

40 En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende AZD1152 hqpa, un polímero adecuado y ácido pamoico.

45 En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o portadores farmacéuticamente aceptables, en el que las nanopartículas comprenden AZD1152 hqpa, un poli(ácido láctico) dibloque de ácido poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y ácido pamoico.

50 En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 90 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 20 en peso de AZD1152 hqpa.

55 En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en

donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 35 a aproximadamente 94.75 por ciento en peso de un poli(ácido láctico) poli(etilenglicol), en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa.

5 En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 80 por ciento en peso de un copolímero de bloque de ácido poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD1152 hqpa.

15 En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 76 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de poli(etilenglicol), aproximadamente 9 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 15 a aproximadamente 20 en peso de AZD1152 hqpa.

20 En las composiciones farmacéuticas descritas en las características anteriores, convenientemente el copolímero tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilenglicol).

25 Otras características de la invención comprenden una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica corresponde a una de las formulaciones de los Ejemplos denominadas formulaciones G1 y G2 en el presente documento. Otras características adicionales de la invención comprenden una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica corresponde a una de las formulaciones de los Ejemplos denominadas formulaciones G1 y G2 en el presente documento, pero en la que el % en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 1% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia). Otras características adicionales de la invención comprenden una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a uno de los Ejemplos denominados formulaciones G1 y G2 pero en la que el % en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 1.5% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia) de la descrita en los Ejemplos. Otras características adicionales de la invención comprenden una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a uno de los Ejemplos denominados formulaciones G1 y G2 pero en la que el % en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 2% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia) de la descrita en los Ejemplos. Otras características adicionales de la invención comprenden una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a uno de los Ejemplos denominados formulaciones G1 y G2 pero en la que el % en peso de AZD1152 hqpa varía hasta aproximadamente +/- 3% en peso, la cantidad de ácido hidrófobo varía en proporción a la cantidad de AZD1152 hqpa correspondiente a las proporciones en las formulaciones ejemplificadas del presente documento y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia.

50 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 25% en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol) y el ácido poli(láctico) (polietileno) glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilenglicol).

55 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol) y el poli ) copolímero de ácido-poli(etilenglicol) tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente

5 kDa de poli(etilen)glicol).

En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD11152 hqpa , aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico y aproximadamente 63 a aproximadamente 78 por ciento en peso de un copolímero dibloque de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol).

En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y una mezcla de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD11152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico.

En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un poli(ácido láctico) dibloque ácido-poli(etileno) (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y el producto obtenido por interacción de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD 1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico.

En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y un par de iones hidrófobos formado entre aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso (de la nanopartícula) de AZD1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso (de la nanopartícula) de pamoico ácido.

En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD11152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el poli láctico) tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en la que menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otra realización de este aspecto, menos del 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 40 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otra realización de este aspecto, menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 50 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. Convenientemente, la liberación de AZD1152 hqpa de la nanopartícula se mide utilizando el método descrito anteriormente en este documento.

En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD11152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el ácido poli(láctico) (polietileno) glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en la que menos de 20% de la AZD1152 hqpa se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C, y en el que las nanopartículas se hacen mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el

- alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD11152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico: 1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) que se vende con el nombre comercial Brim<sup>®</sup>5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;
- 5 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como de 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 10 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase de detención rápido, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17M) en la que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;
- 15 7) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween<sup>®</sup>80, por ejemplo una solución de Tween<sup>®</sup>80 al 35 por ciento en peso en agua) a la solución de detención (por ejemplo a una proporción de aproximadamente 20:1 de Tween<sup>®</sup>80 a fármaco en peso) ;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- Convenientemente, las nanopartículas en las composiciones farmacéuticas anteriores tienen un diámetro hidrodinámico <200 nm, tal como 70-140 nm.
- 20 Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un paciente por cualquier medio conocido en la técnica incluyendo rutas orales y parenterales. El término "paciente", tal como se usa en el presente documento, se refiere tanto a seres humanos como a seres no humanos, incluyendo, por ejemplo, mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces. Por ejemplo, los no humanos pueden ser mamíferos (por ejemplo, un roedor, un ratón, una rata, un conejo, un mono, un perro, un gato, un primate o un cerdo). En ciertas realizaciones son deseables rutas parenterales ya que evitan el contacto con las enzimas digestivas que se encuentran en el canal alimenticio. De acuerdo con tales realizaciones, las composiciones de la invención se pueden administrar por inyección (por ejemplo, intravenosa, subcutánea o intramuscular, inyección intraperitoneal), rectal, vaginal, tópica (como por medio de polvos, cremas, ungüentos o gotas), o por inhalación).
- 25 En una realización particular, las nanopartículas se administran a un sujeto que lo necesita sistémicamente, por ejemplo, mediante infusión o inyección IV (intravenoso).
- Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer, U.S.P., y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito se puede emplear cualquier aceite fijo blando incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, se utilizan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables.
- 30 En una realización, el conjugado de la invención se suspende en un fluido portador que comprende 1% (p/v) de carboximetil celulosa sódica y TWEEN<sup>™</sup> 80 al 0.1% (v/v). Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, filtro de retención de bacterias o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.
- 35 Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el conjugado encapsulado o no encapsulado se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o (a) cargas o extendedores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, (b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidina, sacarosa y acacia, (c) humectantes tales como glicerol, (d) agentes desintegrantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, (e) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, (g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, (h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita, e (i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, tabletas y pastillas, la forma de dosificación también puede comprender agentes regulador.
- 40 45 50 55

Se apreciará que la dosificación exacta de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico es elegida por el médico individual en vista del paciente que se va a tratar, en general, la dosificación y la administración se ajustan para proporcionar una cantidad efectiva de la nanopartícula terapéutica al paciente que está siendo tratado. Tal como se utiliza en el presente documento, la "cantidad efectiva" de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico se refiere a la cantidad necesaria para obtener la respuesta biológica deseada. Como apreciarán los expertos en la técnica, la cantidad efectiva de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, el fármaco que se va a administrar, el tejido diana, la vía de administración, etc. Por ejemplo, la cantidad efectiva de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico podría ser la cantidad que da como resultado una reducción en el tamaño del tumor en una cantidad deseada durante un periodo de tiempo deseado. Otros factores que pueden tenerse en cuenta incluyen la gravedad del estado de enfermedad; edad, peso y sexo del paciente tratado; dieta, tiempo y frecuencia de administración; combinaciones de fármacos; sensibilidad a la reacción; y tolerancia/respuesta a la terapia.

Las nanopartículas pueden formularse en forma unitaria de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de dosificación. La expresión "forma unitaria de dosificación" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a una unidad físicamente discreta de nanopartícula apropiada para el paciente que se va a tratar. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de las composiciones será decidido por el médico asistente dentro del alcance de un juicio médico sólido. Para cualquier nanopartícula, la dosis terapéuticamente efectiva se puede estimar inicialmente en ensayos de cultivo celular o en modelos animales, usualmente ratones, conejos, perros o cerdos. El modelo animal también se utiliza para conseguir un intervalo de concentración deseable y la vía de administración. Dicha información puede usarse entonces para determinar dosis y vías útiles para la administración en seres humanos. La eficacia terapéutica y la toxicidad de las nanopartículas pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo ED<sub>50</sub> (la dosis es terapéuticamente efectiva en el 50% de la población) y LD<sub>50</sub> (la dosis es letal para el 50% de la población). La relación de dosis de efectos tóxicos a efectos terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como la relación, DL<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>. Las composiciones farmacéuticas que exhiben grandes índices terapéuticos pueden ser útiles en algunas realizaciones. Los datos obtenidos a partir de ensayos de cultivos celulares y estudios en animales pueden usarse en la formulación de una gama de dosis para uso humano.

En un aspecto, la formulación farmacéutica que comprende las nanopartículas de AZD1152 hqpa está diseñada de tal manera que libera la hqpa AZD1152 lentamente durante varios días. Por ejemplo, la formulación farmacéutica puede ser tal que se administre una dosis al paciente en (por ejemplo) días 1 y 3, días 1 y 5 o días 1 y 7 de un ciclo de tratamiento de siete días. El ciclo puede repetirse cada semana, dos semanas o tres semanas en un ciclo de tratamiento mensual o bimestral. La cantidad de fármaco que se va a administrar en cada visita se calcula así para lograr una exposición total de fármaco particular durante el programa de tratamiento. Ventajosamente, las formulaciones que contienen nanopartículas pueden reducir el tiempo requerido para la administración del fármaco al paciente en cada dosis y pueden reducir el número de visitas al hospital para los tratamientos que un paciente necesita hacer, en comparación con métodos previamente conocidos de administración de AZD 1152.

Adecuadamente, cuando se administra al hombre, la dosis de AZD1152 hqpa suministrada por la formulación en nanopartículas de la invención puede estar en el intervalo de 100 mg a 2000 mg. La dosis total exacta que se va a administrar se determinará por PK y perfil de seguridad óptimos para el paciente y el tipo de tumor que se trata, que se suministrará, por ejemplo, en los esquemas descritos anteriormente.

En una realización, las composiciones descritas en el presente documento pueden incluir menos de aproximadamente 10 ppm de paladio, o menos de aproximadamente 8 ppm, o menos de aproximadamente 6 ppm de paladio. Por ejemplo, se proporciona aquí una composición que incluye nanopartículas en las que la composición tiene menos de aproximadamente 10 ppm de paladio.

En algunas realizaciones se contempla una composición adecuada para la congelación, incluyendo nanopartículas descritas en el presente documento y una solución adecuada para la congelación, por ejemplo, un azúcar tal como mono, di o poli sacárido, por ejemplo sacarosa y/o trehalosa, y/o se añade una solución de sal y/o ciclodextrina a la suspensión de nanopartículas. El azúcar (por ejemplo, sacarosa o trehalosa) puede actuar, por ejemplo, como crioprotector para evitar que las partículas se agregaron al congelarse. Por ejemplo, se proporciona aquí una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas descritas, sacarosa, un haluro iónico y agua; en el que las nanopartículas/sacarosa/agua/haluro iónico son aproximadamente 3-40%/10-40%/20-95%/0.1-10% (p/p/p/p) o aproximadamente 5-10%/10-15%/80-90%/1-10% (p/p/p/p). Por ejemplo, tal solución puede incluir nanopartículas como se describe en el presente documento, aproximadamente 5% a aproximadamente 20% en peso de sacarosa y un haluro iónico tal como cloruro de sodio, en una concentración de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mM. En otro ejemplo, se proporciona aquí una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas descritas, trehalosa, ciclodextrina y agua; en el que las nanopartículas/trehalosa/agua/ciclodextrina es aproximadamente 3-40%/1-25%/20-95%/1-25% (p/p/p/p) o aproximadamente 5-10%/1-25%/80-90%/10-15% (p/p/p/p).

Por ejemplo, una solución contemplada puede incluir nanopartículas como se describe en el presente documento, aproximadamente 1% a aproximadamente 25% en peso de un disacárido tal como trehalosa o sacarosa (por ejemplo, aproximadamente 5% a aproximadamente 25% de trehalosa o sacarosa, por ejemplo aproximadamente 10% de

5 trehalosa o sacarosa, o aproximadamente 15% de trehalosa o sacarosa, por ejemplo aproximadamente 5% en peso) y una ciclodextrina tal como  $\beta$ -ciclodextrina, en una concentración de aproximadamente 1% a aproximadamente 25% en peso (por ejemplo, aproximadamente 5% a aproximadamente 20% , por ejemplo 10% o aproximadamente 20% en peso, o aproximadamente 15% a aproximadamente 20% en peso de ciclodextrina). Las formulaciones contempladas pueden incluir una pluralidad de nanopartículas descritas (por ejemplo, nanopartículas que tienen PLA-PEG y un agente activo) y aproximadamente de 2% a aproximadamente 15% en peso (o aproximadamente 4% en peso a aproximadamente 6% en peso, por ejemplo aproximadamente 5% en peso) de sacarosa y aproximadamente 5% en peso a aproximadamente 20% en peso (por ejemplo, aproximadamente 7% en peso a aproximadamente 12% en peso, por ejemplo, aproximadamente 10% en peso) de una ciclodextrina, por ejemplo, HP $\beta$ CD).

15 La presente descripción se refiere en parte a composiciones farmacéuticas liofilizadas que, cuando se reconstituyen, tienen una cantidad mínima de grandes agregados. Tales agregados grandes pueden tener un tamaño mayor que aproximadamente 0.5  $\mu\text{m}$ , mayor que aproximadamente 1  $\mu\text{m}$ , o mayor que aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ , y pueden ser indeseables en una solución reconstituida. Los tamaños de agregados se pueden medir utilizando una variedad de técnicas, incluyendo las indicadas en la Farmacopea de los EE.UU. a 32 <788>, incorporada a la presente como referencia. Las pruebas descritas en USP 32 <788> incluyen una prueba de recuento de partículas de oscurecimiento de luz, ensayo de recuento de partículas microscópicas, difracción de láser y detección óptica de partícula única. En una realización, el tamaño de partícula en una muestra dada se mide usando difracción láser y/o detección óptica de partícula única.

20 La prueba de recuento de partículas por oscurecimiento de luz USP 32 <788> establece directrices para el muestreo de tamaños de partícula en una suspensión. Para soluciones con un valor inferior o igual a 100 mL, la preparación cumple el ensayo si el número medio de partículas presentes no supera los 6000 por contenedor que son  $\geq 10 \mu\text{m}$  y 600 por contenedor que son  $\geq 25 \mu\text{m}$ .

25 Como se describe en la USP 32 <788>, la prueba de recuento de partículas microscópicas establece pautas para determinar las cantidades de partículas usando un microscopio binocular ajustado a un aumento de  $100 \pm 10\times$  que tiene un micrómetro ocular. Un micrómetro ocular es una retícula de diámetro circular que consiste en un círculo dividido en cuadrantes con círculos de referencia negros que denotan 10  $\mu\text{m}$  y 25  $\mu\text{m}$  cuando se ven con un aumento de  $100\times$ . Se proporciona una escala lineal debajo de la retícula. El número de partículas con referencia a 10  $\mu\text{m}$  y 25  $\mu\text{m}$  se registra visualmente. Para soluciones con un valor inferior o igual a 100 mL, la preparación cumple el ensayo si el número medio de partículas presentes no supera los 3000 por envase que son  $\geq 10 \mu\text{m}$  y 300 por contenedor que son  $\geq 25 \mu\text{m}$ .

30 En algunas realizaciones, una muestra acuosa de 10 mL de una composición revelada tras la reconstitución comprende menos de 600 partículas por mL que tienen un tamaño mayor o igual a 10 micrómetros; y/o menos de 60 partículas por mL que tienen un tamaño mayor o igual a 25 micras.

35 Se puede utilizar la dispersión dinámica de la luz (DLS) para medir el tamaño de partícula, pero se basa en el movimiento browniano para que la técnica no detecte algunas partículas más grandes. La difracción láser se basa en diferencias en el índice de refracción entre la partícula y el medio de suspensión. La técnica es capaz de detectar partículas en el rango de submicrón a milímetro. Pueden determinarse cantidades relativamente pequeñas (por ejemplo, aproximadamente 1-5% en peso) de partículas más grandes en suspensiones de nanopartículas. La detección óptica de partícula única (SPOS) utiliza un oscurecimiento ligero de suspensiones diluidas para contar partículas individuales de aproximadamente 0.5  $\mu\text{m}$ . Conociendo la concentración de partículas de la muestra medida, se puede calcular el porcentaje en peso de agregados o la concentración de agregado (partículas/mL).

45 La formación de agregados puede ocurrir durante la liofilización debido a la deshidratación de la superficie de las partículas. Esta deshidratación se puede evitar usando lioprotectores, tales como disacáridos, en la suspensión antes de la liofilización. Los disacáridos adecuados incluyen sacarosa, lactulosa, lactosa, maltosa, trehalosa o celobiosa, y/o mezclas de los mismos. Otros disacáridos contemplados incluyen kojibiosa, nigerosa, isomaltosa,  $\beta, \beta$ -trehalosa,  $\alpha, \beta$ -trehalosa, sophorosa, laminaribiosa, gentiobiosa, turanosa, maltulosa, palatinosa, gentiobiulosa, manobiosa, melibiosa, melibiulosa, rutinosa, rutinulosa y xilobiosa. La reconstitución muestra distribuciones de tamaño DLS equivalentes cuando se compara con la suspensión de partida. Sin embargo, la difracción láser puede detectar partículas de  $>10 \mu\text{m}$  de tamaño en algunas soluciones reconstituidas. Además, SPOS también puede detectar partículas de tamaño  $>10 \mu\text{m}$  a una concentración superior a las directrices de la FDA ( $10^4$ - $10^5$  partículas/mL para partículas de  $>10 \mu\text{m}$ ).

55 En algunas realizaciones, se puede usar una o más sales de haluro iónicas como un lioprotector adicional a un azúcar, tal como sacarosa, trehalosa o mezclas de los mismos. Los azúcares pueden incluir disacáridos, monosacáridos, trisacáridos y/o polisacáridos, y pueden incluir otros excipientes, por ejemplo glicerol y/o tensioactivos. Opcionalmente, se puede incluir una ciclodextrina como un lioprotector adicional. La ciclodextrina se puede añadir en lugar de la sales de haluro iónica. Alternativamente, la ciclodextrina puede añadirse además de la sales de haluro iónica.

Salas de haluro iónicas adecuadas pueden incluir cloruro de sodio, cloruro de calcio, cloruro de zinc, o mezclas de los mismos. Las sales de haluro iónicas adecuadas adicionales incluyen cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro

- de amonio, bromuro de sodio, bromuro de calcio, bromuro de zinc, bromuro de potasio, bromuro de magnesio, bromuro de amonio, yoduro de sodio, yoduro de calcio, yoduro de zinc, yoduro de potasio, yoduro de magnesio, yoduro de amonio, y/o mezclas de los mismos. En una realización, se puede usar de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 por ciento en peso de sacarosa con una sales de haluro iónica. En una realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mM de cloruro de sodio. En otra realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de aproximadamente 100 a aproximadamente 500 mM de sal de cloruro iónico divalente, tal como cloruro de calcio o cloruro de zinc. En otra realización más, la suspensión a ser liofilizada puede comprender además una ciclodextrina, por ejemplo, se puede usar aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de ciclodextrina.
- Una ciclodextrina adecuada puede incluir  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina,  $\gamma$ -ciclodextrina, o mezclas de las mismas. Las ciclodextrinas de ejemplo contempladas para uso en las composiciones descritas aquí incluyen hidroxipropil-(3-ciclodextrina (HPbCD), hidroxietil- $\beta$ -ciclodextrina, sulfobutiléter- $\beta$ -ciclodextrina, metil- $\beta$ -ciclodextrina, dimetil- $\beta$ -ciclodextrina, carboximetil- $\beta$ -ciclodextrina, carboximetil-etil- $\beta$ -ciclodextrina, dietil- $\beta$ -ciclodextrina, tri-O-alkil- $\beta$ -ciclodextrina, glocosil- $\beta$ -ciclodextrina y maltosil- $\beta$ -ciclodextrina. En una realización, se puede usar aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, aproximadamente 10% a aproximadamente 15%, por ejemplo 5 a aproximadamente 20% en peso) con una ciclodextrina. En una realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de  $\beta$ -ciclodextrina. Una composición de ejemplo puede comprender nanopartículas que comprenden PLA-PEG, un agente activo/terapéutico, aproximadamente 4% en peso a aproximadamente 6% en peso (por ejemplo, aproximadamente 5% en peso) de sacarosa y aproximadamente 8 a aproximadamente 12% en peso (por ejemplo aproximadamente 10% en peso) de HPbCD.
- En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende nanopartículas descritas, en donde tras la reconstitución de la composición farmacéutica liofilizada a una concentración de nanopartículas de aproximadamente 50 mg/mL, en menos de o aproximadamente 100 mL de un medio acuoso, la composición adecuada para administración parenteral comprende menos de 6000, tal como menos de 3000, micropartículas de más de o igual a 10 micrómetros; y/o menos de 600, tales como menos de 300, micropartículas mayores o iguales a 25 micras.
- El número de micropartículas puede determinarse por medios tales como la USP 32 <788> por ensayo de conteo de partículas de oscurecimiento de luz, la USP 32 <788> mediante ensayo de conteo de partículas microscópicas, difracción de láser y detección óptica de partícula única.
- En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica adecuada para uso parenteral después de la reconstitución que comprende una pluralidad de partículas terapéuticas que comprenden cada una un copolímero que tiene un segmento de polímero hidrófobo y un segmento de polímero hidrófilo; un agente activo; un azúcar; y una ciclodextrina.
- Por ejemplo, el copolímero puede ser un copolímero de bloque de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol). Tras la reconstitución, una muestra acuosa de 100 mL puede comprender menos de 6000 partículas que tienen un tamaño mayor o igual a 10 micrómetros; y menos de 600 partículas que tienen un tamaño mayor o igual a 25 micras.
- La etapa de adición de un disacárido y una sal de haluro iónica puede comprender la adición de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de sacarosa o aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de trehalosa) y aproximadamente 10 a aproximadamente 500 mM de sal iónica. La sales de haluro iónica puede seleccionarse entre cloruro de sodio, cloruro de calcio y cloruro de zinc, o mezclas de los mismos. En una realización, también se añade aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de ciclodextrina.
- En otra realización, la etapa de añadir un disacárido y una ciclodextrina puede comprender la adición de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de sacarosa o aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de trehalosa) y aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de ciclodextrina. En una realización, se añade aproximadamente 10 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ciclodextrina. La ciclodextrina puede seleccionarse entre  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina,  $\gamma$ -ciclodextrina o mezclas de las mismas.
- En otro aspecto, se proporciona un método para evitar la agregación sustancial de partículas en una composición farmacéutica de nanopartículas que comprende añadir un azúcar y una sal a la formulación liofilizada para evitar la agregación de las nanopartículas después de la reconstitución. En una realización, se añade también una ciclodextrina a la formulación liofilizada. En otro aspecto más, se proporciona un método para evitar la agregación sustancial de partículas en una composición farmacéutica de nanopartículas que comprende añadir un azúcar y una ciclodextrina a la formulación liofilizada para evitar la agregación de las nanopartículas después de la reconstitución.
- Una composición liofilizada contemplada puede tener una concentración de partícula terapéutica mayor que aproximadamente 40 mg/mL. La formulación adecuada para la administración parenteral puede tener menos de aproximadamente 600 partículas que tienen un tamaño superior a 10 micrómetros en una dosis de 10 mL. La liofilización puede comprender congelar la composición a una temperatura superior a aproximadamente -40°C, o por

ejemplo menos de aproximadamente -30°C, formando una composición congelada; y secar la composición congelada para formar la composición liofilizada. La etapa de secado puede ocurrir a aproximadamente 50 mTorr a una temperatura de aproximadamente -25 a aproximadamente -34°C, o de aproximadamente -30 a aproximadamente -34°C.

5 Otras características de la invención comprenden una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a una de las formulaciones de los Ejemplos denominados formulaciones G1 y G2 en el presente documento. Otras características adicionales de la invención comprenden una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a una de las formulaciones de los Ejemplos denominadas formulaciones G1 y G2 en el presente documento, en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 1% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia). Todavía otras características de la invención comprenden una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a una de las formulaciones de los Ejemplos denominadas formulaciones G1 y G2 en el presente documento, el % en peso de AZD 1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 1.5% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia) de la descrita en los Ejemplos. Otras características adicionales de la invención comprenden una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a uno de los ejemplos mencionados como formulaciones G1 y G2 en el presente documento, en peso de AZD11152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 2% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia) de la descrita en los Ejemplos. Otras características adicionales de la invención comprenden una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a uno de los ejemplos mencionados como formulaciones G1 y G2 en el presente documento, en peso de AZD1152 hqpa varía hasta aproximadamente +/- 3% en peso, la cantidad de ácido hidrófobo varía en proporción a la cantidad de AZD1152 hqpa correspondiente a las proporciones en las formulaciones ejemplificadas del presente documento y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia .

30 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 25% en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% por (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el poli(ácido láctico) ácido poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol).

40 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el ácido poli(láctico) etileno) glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol).

45 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico y aproximadamente 63 a aproximadamente 78 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol).

55 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa poli(etilen)glicol) y una mezcla de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD11152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico.

60 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de

5 nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol) y el producto obtenido por interacción de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD 1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico.

10 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa poli(etilen)glicol) y un par de iones hidrófobos formado entre aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso (de la nanopartícula) de AZD1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso (de la nanopartícula) de ácido pamoico.

15 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en la que menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otra realización de este aspecto, menos del 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 40 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. En otra realización de este aspecto, menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 50 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. Convenientemente, la liberación de AZD1152 hqpa de la nanopartícula se mide utilizando el método descrito anteriormente en este documento.

20 En un aspecto adicional se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22% en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en la que menos de 20% de la AZD1152 hqpa se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C, y en el que las nanopartículas se hacen mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

30 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de aproximadamente 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico: 1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (que se vende con el nombre comercial Brim<sup>®</sup>5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;

40 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

50 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;

6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;

55 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween<sup>®</sup>80, por ejemplo una solución de Tween<sup>®</sup>80 al 35 por ciento en peso en agua) a la solución de detención (por ejemplo a una relación de aproximadamente 20:1

8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Convenientemente, las nanopartículas en las composiciones farmacéuticas anteriores tienen un diámetro hidrodinámico <200 nm, tal como 70-140 nm.

En un aspecto adicional, se proporciona un kit de partes, que comprende:

- 1) una composición farmacéutica liofilizada que comprende nanopartículas descritas anteriormente; y
- 5 2) instrucciones de uso.

En un aspecto adicional, se proporciona un kit de piezas, cuyo kit comprende:

- 1) una composición farmacéutica liofilizada que comprende nanopartículas descritas anteriormente; y
- 2) instrucciones de uso.

Métodos de tratamiento

- 10 En algunas realizaciones, las nanopartículas contempladas pueden usarse para tratar, aliviar, mejorar, atenuar, retrasar el inicio de, inhibir la progresión de, reducir la gravedad de, y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno, y/o condición. En algunas realizaciones, las nanopartículas contempladas pueden usarse para tratar tumores sólidos, por ejemplo, cáncer y/o células cancerosas.

- 15 El término "cáncer" incluye cánceres premalignos así como cánceres malignos. Los cánceres incluyen, pero no se limitan a, cánceres hematológicos (sangre) (por ejemplo, leucemia mielógena crónica, leucemia mielomonocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda positiva del cromosoma de Filadelfia, linfoma de células del manto, leucemia mieloide aguda, linfoma difuso de células B grandes, mieloma, linfoma de células T periférico, síndrome mielodisplásico), cáncer de próstata, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, cáncer de piel, por ejemplo melanomas o carcinomas basocelulares, cáncer de pulmón (por ejemplo cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC)), cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de bronquios, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de cerebro o sistema nervioso central, cáncer de sistema nervioso periférico, cáncer de esófago, cáncer de la cavidad bucal o faringe, cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), cáncer de riñón (por ejemplo, carcinoma de células renales), cáncer testicular, cáncer de vías biliares, intestino delgado o cáncer de apéndice, tumor estromal gastrointestinal, cáncer de glándula salival,
- 20 cáncer de glándula tiroides, cáncer de glándula suprarrenal, osteosarcoma, condrosarcoma, cáncer de tejidos hematológicos y similares. Las "células cancerosas" pueden estar en forma de un tumor (un tumor sólido), existir solo dentro de un sujeto (por ejemplo, células de leucemia), o ser líneas celulares derivadas de un cáncer.

- 25 En un aspecto, el cáncer que se va a tratar es una leucemia. En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es un cáncer hematológico. En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es un cáncer hematológico tal como AML. En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es un cáncer hematológico tal como DLBCL. En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es un cáncer hematológico tal como el síndrome mielodisplásico.

En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es un tumor sólido. En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es NSCLC. En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es SCLC. En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es ovárico. En otro aspecto, el cáncer que se va a tratar es colorrectal.

- 35 En un aspecto, las nanopartículas de la invención se usan para tratar tipos de cáncer altamente proliferativos.

Los pacientes pueden seleccionarse utilizando biomarcadores que pueden indicar una mayor probabilidad de beneficiarse de este tratamiento. Por ejemplo, debido a que su tumor tiene células con una alta tasa de proliferación (por ejemplo, debido a una alta expresión o amplificación de c-myc) o una función apoptótica desregulada (por ejemplo debido a la translocación del gen Bcl-2).

- 40 El cáncer puede estar asociado con una variedad de síntomas físicos. Los síntomas del cáncer generalmente dependen del tipo y localización del tumor. Por ejemplo, el cáncer de pulmón puede causar tos, dificultad para respirar y dolor en el pecho, mientras que el cáncer de colon a menudo causa diarrea, estreñimiento y sangre en las heces. Sin embargo, para dar solamente algunos ejemplos, los síntomas siguientes se asocian generalmente con muchos cánceres: fiebre, escalofríos, sudores nocturnos, tos, disnea, pérdida de peso, pérdida del apetito, anorexia, náusea,
- 45 vómito, diarrea, hepatomegalia, hemoptisis, fatiga, malestar general, disfunción cognitiva, depresión, alteraciones hormonales, neutropenia, dolor, llagas no cicatrizantes, ganglios linfáticos agrandados, neuropatía periférica y disfunción sexual.

- 50 En un aspecto, se proporciona un método para el tratamiento del cáncer. En algunas realizaciones, el tratamiento de cáncer comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de partículas inventivas a un sujeto que lo necesite, en tales cantidades y durante el tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado. En ciertas realizaciones, una "cantidad terapéuticamente efectiva" de una partícula de la invención es esa cantidad efectiva para tratar, aliviar, mejorar, atenuar, retrasar el inicio, inhibir la progresión de, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características del cáncer.

- 5 En un aspecto, se proporciona un método para administrar composiciones inventivas a un sujeto que sufre de cáncer. En algunas realizaciones, las nanopartículas se pueden administrar a un sujeto en tales cantidades y durante el tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado (tratamiento del cáncer). En ciertas realizaciones, una "cantidad terapéuticamente efectiva" de una nanopartícula contemplada es aquella cantidad efectiva para tratar, aliviar, mejorar, atenuar, retrasar el inicio, inhibir la progresión de, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características del cáncer.
- 10 En otra característica de la invención, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa para uso como un medicamento en un animal de sangre caliente tal como el hombre.
- De acuerdo con una característica adicional de este aspecto de la invención, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa para su uso en un animal de sangre caliente tal como el hombre como agente antiinvasivo en la contención y/o tratamiento de tumores sólidos enfermedad.
- 15 En otra característica de la invención, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa en la prevención o tratamiento de cáncer en un animal de sangre caliente tal como el hombre.
- En una característica adicional de la invención, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa para uso en la prevención o tratamiento de cáncer en un animal de sangre caliente tal como el hombre.
- 20 En un aspecto de las características anteriores, el cáncer es un tumor sólido. En otro aspecto de estas características, el cáncer es una leucemia.
- De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa para la producción de un efecto antiproliferativo en un animal de sangre caliente tal como el hombre.
- 25 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa para uso en la prevención o tratamiento de enfermedad de tumor sólido en un animal de sangre caliente tal como el hombre.
- En los usos y métodos anteriores, se administran convenientemente 100 mg a 2000 mg de AZD1152 hqpa en (por ejemplo) días 1 y 3, días 1 y 5 o días 1 y 7 de un ciclo de tratamiento de siete días. El ciclo puede repetirse cada semana, dos semanas o tres semanas en un ciclo de tratamiento mensual o bimestral.
- 30 En los usos y métodos anteriores, adecuadamente la nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa se administra en forma de una composición farmacéutica, tal como las enumeradas en 1) a 15):
- 1) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende AZD1152 hqpa y ácido pamoico;
- 35 2) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende AZD1152 hqpa, un polímero adecuado y ácido pamoico;
- 40 3) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende AZD1152 hqpa, un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol y además comprende un ácido pamoico;
- 45 4) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 35 a aproximadamente 94.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 50 5) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 90 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de un ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

- 6) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 35 a aproximadamente 94 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 1 a aproximadamente 35 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD11152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 7) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 80 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 8) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 76 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, aproximadamente 9 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD11152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 9) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol);
- 10) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol);
- 11) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa poli(etilen)glicol) y una mezcla de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico;
- 12) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa poli(etilen)glicol) y el producto obtenido por interacción de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD11152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico;
- 13) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa poli(etilen)glicol) y un par de iones hidrófobos formado entre aproximadamente 15 y aproximadamente 22 por ciento en peso (de la nanopartícula) de AZD1152 hqpa

y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso (de la nanopartícula) de ácido pamoico;

14) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol) y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilenglicol); en el que menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. Convenientemente, la liberación de AZD1152 hqpa de la nanopartícula se mide utilizando el método descrito anteriormente en este documento.

15) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol) y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilenglicol); en la que menos de 20% de la AZD1152 hqpa se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C, y en el que las nanopartículas se hacen mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo este presente en una relación molar de aproximadamente 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico: 1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo en la forma comercializada bajo el nombre comercial Brim®5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;

2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;

3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);

4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;

5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;

6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;

7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween®80, por ejemplo una solución de Tween®80 al 35 por ciento en peso en agua) a la solución de detención (por ejemplo a una relación de aproximadamente 20:1 de Tween®80 al fármaco en peso);

8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

En las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente para uso en los usos y métodos anteriores, convenientemente el copolímero tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilenglicol).

En los usos y métodos anteriores adecuadamente, la nanopartícula terapéutica que comprende AZD1152 hqpa se administra en forma de una composición farmacéutica que comprende una de las formulaciones de los Ejemplos denominadas formulaciones G1 y G2 en el presente documento y uno o más excipientes, diluyentes y/o portadores. También son adecuados para uso en los métodos y usos anteriores son nanopartículas terapéuticas que comprenden AZD1152 hqpa administradas en forma de una composición farmacéutica que comprende una formulación descrita en los Ejemplos como formulaciones G1 y G2 en el presente documento, pero en la que el % en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 1% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia) de la descrita en los Ejemplos, y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables. También son adecuados para uso en los métodos y usos anteriores son nanopartículas terapéuticas que comprenden AZD1152 hqpa administradas en forma de una composición farmacéutica que comprende una formulación descrita en los Ejemplos como formulaciones G1 y G2 en el presente documento, pero en la que el % en peso de AZD1152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/-

aproximadamente 1.5% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia) de la descrita en los Ejemplos y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables. También son adecuados para uso en los métodos y usos anteriores son nanopartículas terapéuticas que comprenden AZD11152 hqpa administradas en forma de una composición farmacéutica que comprende una formulación descrita en los Ejemplos como formulaciones G1 y G2 en el presente documento, pero en la que el % en peso de AZD11152 hqpa y/o el % en peso de ácido hidrófobo varía en +/- aproximadamente 2% en peso (y por lo tanto la cantidad de polímero varía en consecuencia) de la descrita en los Ejemplos y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables. Otras características adicionales de la invención comprenden una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica corresponde a uno de los Ejemplos denominados formulaciones G1 y G2 pero en la que el % en peso de AZD11152 hqpa varía hasta aproximadamente +/- 3% en peso, la cantidad de ácido hidrófobo varía en proporción a la cantidad de AZD11152 hqpa correspondiente a las proporciones en las formulaciones ejemplificadas del presente documento, la cantidad de polímero varía en consecuencia.

Los protocolos terapéuticos de la invención implican administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una nanopartícula contemplada a un individuo sano (es decir, un sujeto que no presenta ningún síntoma de cáncer y/o que no ha sido diagnosticado con cáncer). Por ejemplo, los individuos sanos pueden ser "inmunizados" con una nanopartícula contemplada antes del desarrollo del cáncer y/o el inicio de los síntomas del cáncer; (por ejemplo, pacientes que tienen antecedentes familiares de cáncer, pacientes portadores de una o más mutaciones genéticas asociadas con el desarrollo de cáncer, pacientes que tienen un polimorfismo genético asociado con el desarrollo de cáncer, pacientes infectados por un virus asociado con el desarrollo de cáncer, pacientes con hábitos y/o estilos de vida asociados con el desarrollo de cáncer, etc.) pueden ser tratados sustancialmente contemporáneamente con (por ejemplo, dentro de las 48 horas, dentro de las 24 horas o dentro de las 12 horas) del inicio de los síntomas del cáncer. Por supuesto, las personas que se sabe que tienen cáncer pueden recibir tratamiento inventivo en cualquier momento.

En otras realizaciones, las nanopartículas descritas pueden usarse para inhibir el crecimiento de células cancerosas, por ejemplo, células de cáncer de pulmón. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "inhibe el crecimiento de células cancerosas" o "inhibir el crecimiento de células cancerosas" se refiere a cualquier ralentización de la tasa de proliferación y/o migración de células cancerosas, detención de la proliferación y/o migración de células cancerosas o muerte de modo que la tasa de crecimiento de células cancerosas se reduce en comparación con la tasa de crecimiento observada o prevista de una célula de cáncer de control no tratada. El término "inhibe el crecimiento" también puede referirse a una reducción en el tamaño o desaparición de una célula o tumor de cáncer, así como a una reducción en su potencial metastásico. Preferiblemente, tal inhibición a nivel celular puede reducir el tamaño, disuadir el crecimiento, reducir la agresividad, o prevenir o inhibir la metástasis de un cáncer en un paciente. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente, mediante cualquiera de una variedad de indicaciones adecuadas, si se inhibe el crecimiento de células cancerosas.

La inhibición del crecimiento de células cancerosas se puede evidenciar, por ejemplo, mediante la detención de células cancerosas en una fase particular del ciclo celular, por ejemplo, la detención en la fase G2/M del ciclo celular. La inhibición del crecimiento de células cancerosas también puede evidenciarse mediante medición directa o indirecta de células cancerosas o tamaño tumoral. En pacientes con cáncer humano, tales mediciones generalmente se hacen usando métodos de generación de imágenes bien conocidos tales como imágenes de resonancia magnética, tomografía axial computarizada y rayos X. El crecimiento de células cancerosas también puede determinarse indirectamente, por ejemplo determinando los niveles de antígeno carcinoembrionario circulante, antígeno prostático específico u otros antígenos específicos del cáncer que están correlacionados con el crecimiento de células cancerosas. La inhibición del crecimiento del cáncer también se correlaciona generalmente con una supervivencia prolongada y/o un aumento de la salud y bienestar del sujeto.

También se proporcionan en el presente documento métodos para administrar a un paciente una nanopartícula descrita en el presente documento que incluye un agente activo, en los que, tras la administración a un paciente, dichas nanopartículas reducen sustancialmente el volumen de distribución y/o reducen sustancialmente la  $C_{max}$  libre, en comparación con la administración del agente solo (es decir, no como una nanopartícula revelada).

Las nanopartículas de la presente invención pueden administrarse a un paciente como terapia única o pueden administrarse en combinación (simultánea o secuencial) con cirugía convencional o radioterapia o quimioterapia. Dicha quimioterapia puede incluir una o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:

(i) otros fármacos antiproliferativos/antineoplásicos y sus combinaciones, tal como se usan en oncología médica, tales como agentes alquilantes (por ejemplo cisplatina, oxaliplatino, carboplatino, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, melfalán, clorambucilo, busulfano, temozolamida y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo gemcitabina y antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinósido e hidroxiurea); antibióticos antitumorales (por ejemplo antraciclinas como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina-C, dactinomicina y mitramicina); agentes antimetabólicos (por ejemplo, alcaloides de vinca como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina y taxoides como taxol e inhibidores de taxotera y poloquinasa); inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo epipodofilotoxinas como etopósido y tenipósido, amsacrina, topotecán y camptotecina); y otros tales como anticuerpos terapéuticos (por ejemplo rituximab);

(ii) agentes antihormonales tales como antioestrogénicos (por ejemplo tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno e iodoxifeno), progestágenos (por ejemplo acetato de megestrol), inhibidores de aromatasa (por ejemplo, anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano);

5 (iii) inhibidores de la función del factor de crecimiento y sus vías de señalización aguas abajo: se incluyen moduladores de Ab de cualquier factor de crecimiento o dianas del receptor del factor de crecimiento, revisado por Stern et al. (Critical Reviews in Oncology/Hematology, 2005, 54, pp11-29); también se incluyen inhibidores de moléculas pequeñas de tales dianas, por ejemplo inhibidores de quinasas, los ejemplos incluyen el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab [Herceptin™], el anticuerpo anti-EGFR panitumumab, el anticuerpo anti-EGFR cetuximab [Erbix, C225] y los inhibidores de la tirosina quinasa incluyendo inhibidores de la familia de receptores erbB, tales como inhibidores de la tirosina quinasa del receptor de la familia del factor de crecimiento epidérmico (EGFR/erbB1) tales como gefitinib o erlotinib, inhibidores de la tirosina quinasa erbB2 tales como lapatinib e inhibidores mixtos erb1/2 tales como afatinib; están disponibles estrategias similares para otras clases de factores de crecimiento y sus receptores, por ejemplo, inhibidores de la familia del factor de crecimiento de hepatocitos o sus receptores incluyendo c-met y ron; inhibidores de la insulina y la familia del factor de crecimiento de la insulina o sus receptores (IGFR, IR) inhibidores de la familia del factor de crecimiento derivado de plaquetas o sus receptores (PDGFR) e inhibidores de la señalización mediada por otros tirosina quinasas receptoras tales como c-kit, AnLK y CSF-1R; también se incluyen moduladores que dirigen proteínas de señalización en la ruta de señalización PI3-quinasa, por ejemplo, inhibidores de isoformas de PI3-quinasa tales como PI3K- $\alpha/\beta/\gamma$  y ser/thr quinasas tales como AKT, mTOR, PDK, SGK, PI4K o PIP5K; también se incluyen inhibidores de quinasas de serina/treonina no enumeradas anteriormente, por ejemplo inhibidores de raf tales como vemurafenib, inhibidores de MEK tales como selumetinib (AZD6244), inhibidores de Abl tales como imatinib o nilotinib, inhibidores de Btk tales como ibrutinib, inhibidores de Syk tales como fostamatinib, inhibidores de la enzima de inmunofluorescencia, inhibidores de otras quinasas ser/thr tales como JAKs, STAT e IRAK4, e inhibidores de quinasa dependientes de ciclina;

15 20 (iv) moduladores de vías de señalización de daño al ADN, por ejemplo inhibidores de PARP (por ejemplo, Olaparib), inhibidores de ATR o inhibidores ATM y moduladores del ciclo celular, por ejemplo inhibidores de CDK4 y CDK6 (por ejemplo palbociclib);

(v) moduladores de vías de apoptosis y muerte celular tales como moduladores de la familia Bcl (por ejemplo, ABT-263/Navitoclax, ABT-199);

30 (vi) agentes antiangiogénicos tales como los que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular [por ejemplo, el anticuerpo antivascular del factor de crecimiento de células endoteliales bevacizumab (Avastin™) y por ejemplo, un inhibidor de la tirosina quinasa del receptor VEGF tal como sorafenib, axitinib, pazopanib, sunitinib y vandetanib (y compuestos que funcionan por otros mecanismos (por ejemplo linomida, inhibidores de la función de la integrina  $\alpha\beta3$  y angiostatina)];

(vii) agentes dañinos vasculares, tales como Combretastatina A4;

35 (viii) agentes antiinvasión, por ejemplo inhibidores de la familia de quinasas c-Src como (dasatinib, J. Med. Chem., 2004, 47, 6658-6661) y bosutinib (SKI-606), e inhibidores de metaloproteinasas como marimastat, inhibidores de la función del receptor del activador del plasminógeno uroquinasa o anticuerpos contra la heparanasa;

40 (ix) metodologías de inmunoterapia, incluyendo por ejemplo metodologías *ex vivo* e *in vivo* para aumentar la inmunogenicidad de células tumorales de pacientes, tales como transfección con citoquinas tales como interleucina 2, interleucina 4 o factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, metodologías para disminuir T anergia de células, se aproxima usando células inmunitarias transfectadas tales como células dendríticas transfectadas con citoquinas, metodologías que usan líneas de células tumorales transfectadas con citocinas y metodologías que usan anticuerpos antiidiotípicos. Ejemplos específicos incluyen anticuerpos monoclonales dirigidos a PD-1 (por ejemplo, BMS-936558), PDL-1 (por ejemplo MEDI4736 véase US 8,779,108) o CTLA4 (por ejemplo ipilimumab y tremelimumab);

(x) terapias basadas en antisentido o ARNi, por ejemplo las que están dirigidas a las dianas listadas.

50 (xi) metodologías de terapia génica, incluyendo por ejemplo metodologías para reemplazar genes aberrantes tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrante, GDEPT (enzima dirigida por enzimas profármacos) metodologías tales como las que utilizan citosina desaminasa, timidina quinasa o enzima nitrorreductasa bacteriana y metodologías para aumentar la tolerancia del paciente a la quimioterapia o la radioterapia, como la terapia génica de resistencia a múltiples fármacos.

55 En una realización se proporciona una combinación adecuada para su uso en el tratamiento de cáncer que comprende nanopartículas de la presente invención como se define en el presente documento y otro agente antitumoral seleccionado entre i-a), iv-a) y ix-a) como se define a continuación, en la que i-a) es un subconjunto de i) anterior, iv-a) es un subconjunto de iv) anterior y ix-a) es un subconjunto de ix) anterior, y en el que:

i-a) comprende regímenes quimioterapéuticos estándar, que incluyen pero no se limitan a reemplazar o aumentar quimioterapias antimetabólicas en tumores sólidos y cánceres hematológicos, tales como taxanos y alcaloides vinca;

iv-a) comprende terapias que se dirigen a la respuesta de daño al ADN, incluyendo, pero sin limitarse a, agentes que inhiben la reparación del daño del ADN y el ciclo celular; y

ix-a) comprende terapias mediadas por inmunidad, incluyendo, pero sin limitarse a ellas, inhibidores del bloqueo de control inmunitario tales como terapias dirigidas a CTLA4, PD-1 y PDL-1.

- 5 De acuerdo con este aspecto de la invención se proporciona una combinación adecuada para su uso en el tratamiento de cáncer que comprende nanopartículas de la presente invención como se define en el presente documento y otro agente antitumoral, en particular cualquiera de los agentes antitumorales enumerados en (i)-(xi) anterior. En particular, el agente antitumoral indicado en (i)-(xi) anterior es el estándar de atención para el cáncer específico por tratar; el experto en la técnica comprenderá el significado de "estándar de atención".
- 10 Por lo tanto, en un aspecto adicional de la invención, se proporcionan nanopartículas de la presente invención como se describe en el presente documento en combinación con otro agente antitumoral, en particular un agente antitumoral seleccionado entre uno de los listados en (i)-(xi), tal como i-a), iv-a) o ix-a), en lo que antecede. Por ejemplo, las nanopartículas de la invención para uso en la combinación con un agente antitumoral seleccionado entre uno de los listados en (i)-(xi) anterior, tal como i-a), iv-a) o ix-a), se pueden proporcionar como una composición farmacéutica seleccionada de 1) a 15) siguiente:
- 15 1) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende AZD1152 hqpa y ácido pamoico;
- 20 2) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende AZD1152 hqpa, un polímero adecuado y ácido pamoico;
- 25 3) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende AZD1152 hqpa, un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilenglicol) y además comprende ácido pamoico;
- 30 4) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 35 a aproximadamente 94.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 35 5) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 90 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 40 6) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 35 a aproximadamente 94 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), aproximadamente 1 a aproximadamente 35 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 45 7) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 55 a aproximadamente 80 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de ácido pamoico y aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD1152 hqpa;
- 50 8) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en el que cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 65 a aproximadamente 76 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(láctico) ácido-poli(etilenglicol), en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de poli(etilenglicol), aproximadamente 9 a aproximadamente 15 por ciento en
- 55

peso de ácido pamoico y aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD11152 hqpa;

- 9) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular numérico medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol);
- 10) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol);
- 11) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa poli(etilen)glicol) y una mezcla de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico;
- 12) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa poli(etilen)glicol) y el producto obtenido por interacción de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD11152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico;
- 13) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, en donde cada nanopartícula terapéutica comprende un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa poli(etilen)glicol) y un par de iones hidrófobos formado entre aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso (de la nanopartícula) de AZD1152 hqpa y aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso (de la nanopartícula) de ácido pamoico;
- 14) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15% en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en el que menos 20% de la hqpa AZD11152 se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C. Convenientemente, la liberación de AZD1152 hqpa de la nanopartícula se mide utilizando el método descrito anteriormente en este documento.
- 15) una composición farmacéutica que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, donde cada nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, aproximadamente 7 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ácido pamoico y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol (en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol); en la que menos de 20% de la AZD1152 hqpa se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C, y en el que las nanopartículas se hacen mediante

un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 1) combinar una primera fase orgánica (que comprende un copolímero PLA-PEG 16:5, AZD 1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo está presente en una relación molar de aproximadamente 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa) con una primera solución acuosa (que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) (por ejemplo en la forma comercializada bajo el nombre comercial Brim<sup>®</sup>5100), en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de aproximadamente 5.5:1;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención (tal como 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo);
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5 (tal como un regulador fosfato 0.17M) en el que la relación de la segunda solución acuosa a la emulsión está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 10:1, tal como aproximadamente 3:1;
- 7) añadir una solución acuosa de tensioactivo (tal como Tween<sup>®</sup>80, por ejemplo una solución de Tween<sup>®</sup>80 al 35% p/p en agua) a la solución de detención (por ejemplo a una proporción de aproximadamente 20:1 de Tween<sup>®</sup>80 al fármaco por peso);
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

Otras composiciones farmacéuticas adecuadas que comprenden AZD1152 hqpa en una nanopartícula descrita en el presente documento también pueden usarse en las combinaciones anteriores.

Otros aspectos de la invención se exponen en las siguientes características:

1. Una nanopartícula terapéutica que comprende:
  - de aproximadamente 50 a aproximadamente 99.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o un copolímero dibloque de poli(ácido láctico-ácido coglicólico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol; y
  - aproximadamente 0.2 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. La nanopartícula terapéutica de la característica 1, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular medio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.7 a aproximadamente 0.9.
3. La nanopartícula terapéutica de la característica 1, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular promedio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.75 a aproximadamente 0.85.
4. La nanopartícula terapéutica de la característica 1, 2 o 3, en la que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
5. La nanopartícula terapéutica de la característica 1, 2 o 3, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
6. La nanopartícula terapéutica de cualquier característica precedente, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilen)glicol.
7. La nanopartícula terapéutica de la característica 6, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un número de peso molecular medio de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol.
8. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1-6, que comprende aproximadamente 65 por ciento en peso a aproximadamente 85 por ciento en peso del copolímero.

9. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1-8, que comprende además un ácido sustancialmente hidrófobo.
10. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1-8, que comprende además de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo.
- 5 11. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1-8, que comprende además de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo.
12. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1-8, que comprende además de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo.
- 10 13. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9 a 12, en la que el ácido hidrófobo es un ácido biliar.
14. La nanopartícula terapéutica de la característica 13, en la que el ácido biliar es ácido desoxicólico, ácido cólico o una mezcla de los mismos.
15. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9 a 12, en la que el ácido hidrófobo es ácido dioctilsulfosuccínico.
- 15 16. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9 a 12, en la que el ácido hidrófobo es ácido pamoico.
17. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9-12, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo al agente terapéutico es de aproximadamente 0.5:1 a aproximadamente 1.6:1, en donde el ácido es ácido desoxicólico, ácido cólico o una mezcla de ácido cólico y ácido desoxicólico.
- 20 18. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9-12, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo a AZD1152 hqpa es de aproximadamente 1.3:1 a aproximadamente 1.6:1, donde el ácido es una mezcla de ácido cólico y ácido desoxicólico.
19. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9-12, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo a AZD1152 hqpa es de aproximadamente 0.9:1 a aproximadamente 1.1:1, en donde el ácido es ácido dioctilsulfosuccínico.
- 25 20. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9-15, en la que un  $pK_a$  de AZD1152 hqpa es al menos aproximadamente 1.0 unidades  $pK_a$  mayores que un  $pK_a$  del ácido hidrófobo.
21. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9-19, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo y AZD1152 hqpa forman un par de iones hidrófobos en la nanopartícula terapéutica.
- 30 22. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1-21, que comprende de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD1152 hqpa.
23. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1-21, que comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD1152 hqpa.
- 35 24. Una nanopartícula terapéutica que comprende: aproximadamente 50 a aproximadamente 99.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol; de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de un agente terapéutico que es AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo seleccionado del grupo que consiste en ácido desoxicólico, ácido cólico y ácido dioctilsulfosuccínico; o de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de una mezcla de ácidos sustancialmente hidrófobos que son ácido desoxicólico y ácido cólico.
- 40 25. Una nanopartícula terapéutica que comprende: aproximadamente 50 a aproximadamente 99.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol; de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de un agente terapéutico que es AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo seleccionado del grupo que consiste en ácido desoxicólico, ácido cólico y ácido dioctilsulfosuccínico; o de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de una mezcla de ácidos sustancialmente hidrófobos que son ácido desoxicólico y ácido cólico.
- 45 26. Una nanopartícula terapéutica que comprende: aproximadamente 35 a aproximadamente 94.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol; aproximadamente 0.05 a

aproximadamente 35 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo seleccionado del grupo que consiste en ácido desoxicólico, ácido cólico (o una mezcla de ácido cólico y desoxicólico), ácido dioctilsulfosuccínico y ácido pamoico; y de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 27. Una nanopartícula terapéutica que comprende: aproximadamente 65 a aproximadamente 90 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol; aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo seleccionado del grupo que consiste en ácido desoxicólico, ácido cólico (o una mezcla de ácido cólico y desoxicólico), ácido dioctilsulfosuccínico y ácido pamoico; y de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 28. La nanopartícula terapéutica de la característica 24, característica 25, característica 26 o característica 27 en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular medio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.7 a aproximadamente 0.9.

15 29. La nanopartícula terapéutica de la característica 24, característica 25, característica 26 o característica 27 en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular promedio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.75 a aproximadamente 0.85.

20 30. La nanopartícula terapéutica de la característica 24, característica 25, característica 26 o característica 27, en la que la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

31. La nanopartícula terapéutica de la característica 24, característica 25, característica 26 o característica 27 en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

25 32. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 24 a 31, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilen)glicol.

30 33. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 24 a 31, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa polietilenglicol.

34. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 24-33, que comprende aproximadamente 65 por ciento en peso a aproximadamente 85 por ciento en peso del copolímero.

35. Una composición farmacéuticamente aceptable que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas de cualquiera de las características 1-34 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

36. Un método para tratar cáncer en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que comprende la nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1-34.

37. El método de la característica 36, en el que el cáncer es cáncer de pulmón.

38. El método de la característica 36, en el que el cáncer es una leucemia.

40 39. El método de la característica 36, en el que el cáncer es cáncer colorrectal.

Otros aspectos de la invención se exponen en las siguientes características:

45 1a. Una nanopartícula terapéutica que comprende: aproximadamente 50 a aproximadamente 99.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o un copolímero dibloque de poli(ácido láctico-ácido coglicólico)-poli(etilen)glicol, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol; y aproximadamente 0.2 a aproximadamente 30 por ciento en peso de AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2a. La nanopartícula terapéutica de la característica 1a, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular medio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.7 a aproximadamente 0.9.

50 3a. La nanopartícula terapéutica de la característica 1a, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular promedio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.75 a aproximadamente 0.85.

- 4a. La nanopartícula terapéutica de la característica 1a, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
- 5a. La nanopartícula terapéutica de la característica 1a, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
- 5 6a. La nanopartícula terapéutica de la característica 1a, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa polietilenglicol.
- 7a. La nanopartícula terapéutica de la característica 6a, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol.
- 10 8a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1a-6a, que comprende aproximadamente 65 por ciento en peso a aproximadamente 85 por ciento en peso del copolímero.
- 9a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1a-8a, que comprende además un ácido sustancialmente hidrófobo.
- 15 10a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1a-8a, que comprende además de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo.
- 11a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1a-8a, que comprende además de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo.
- 20 12a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1a-8a, que comprende además de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo.
- 13a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9a-12a, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo al agente terapéutico es de aproximadamente 0.5:1 a aproximadamente 1.6:1, donde el ácido es ácido desoxicólico, ácido cólico o una mezcla de ácido cólico ácido y ácido desoxicólico.
- 25 14a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9a-12a, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo al agente terapéutico es de aproximadamente 1.3:1 a aproximadamente 1.6:1, en la que el ácido es una mezcla de ácido cólico y ácido desoxicólico.
- 15a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9a-12a, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo al agente terapéutico es de aproximadamente 0.9:1 a aproximadamente 1.1:1, en donde el ácido es ácido dioctilsulfosuccínico.
- 30 16a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9a-15a, en la que un  $pK_a$  del agente terapéutico es al menos aproximadamente 1.0 unidades  $pK_a$  mayores que un  $pK_a$  del ácido hidrófobo.
- 17a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9a-16a, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo y el agente terapéutico forman un par de iones hidrófobos en la nanopartícula terapéutica.
- 35 18a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9a-17a, en la que el ácido hidrófobo es un ácido biliar.
- 19a. La nanopartícula terapéutica de la característica 18a, en la que el ácido biliar es ácido desoxicólico, ácido cólico o una mezcla de los mismos.
- 20a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 9a-18a, en la que el ácido hidrófobo es ácido dioctilsulfosuccínico.
- 40 21a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1a-20a, que comprende de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso del agente terapéutico.
- 22a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1a-20a, que comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso del agente terapéutico.
- 45 23a. Una nanopartícula terapéutica que comprende: aproximadamente 50 a aproximadamente 99.75 por ciento en peso de un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol; de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 por ciento en peso de un agente terapéutico que es AZD1152 hqpa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo seleccionado del grupo que consiste en ácido desoxicólico, ácido cólico y ácido

diocilsulfosuccínico; o de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 35 por ciento en peso de una mezcla de ácidos sustancialmente hidrófobos que son ácido desoxicólico y ácido cólico.

5 24a. La nanopartícula terapéutica de la característica 23a, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular medio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.7 a aproximadamente 0.9.

25a. La nanopartícula terapéutica de la característica 23a, en la que el copolímero poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular promedio de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0.75 a aproximadamente 0.85.

10 26a. La nanopartícula terapéutica de la característica 23a, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

27a. La nanopartícula terapéutica de la característica 23a, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

15 28a. La nanopartícula terapéutica de la característica 23a, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa polietilenglicol.

29a. La nanopartícula terapéutica de la característica 28a, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol.

20 30a. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 23a-29a, que comprende aproximadamente 65 por ciento en peso a aproximadamente 85 por ciento en peso del copolímero.

31a. Una composición farmacéuticamente aceptable que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas de cualquiera de las características 1a-30a y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

25 32a. Un método para tratar el cáncer en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que comprende la nanopartícula terapéutica de cualquiera de las características 1a-30a.

33a. El método de la característica 32a, en el que el cáncer es cáncer de pulmón.

34a. El método de la característica 32a, en el que el cáncer es una leucemia.

35a. El método de la característica 32a, en el que el cáncer es cáncer colorrectal.

### 30 Ejemplos

La invención que ahora se describe en términos generales, se entenderá más fácilmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos que se incluyen meramente con fines de ilustración de ciertos aspectos y realizaciones, y no se pretende que limiten la invención de ninguna manera.

35 Cada uno de los siguientes ejemplos proporciona un aspecto separado, independiente, de la invención. En particular, las formulaciones descritas en los siguientes ejemplos y los métodos descritos para prepararlos comprenden aspectos independientes de la invención.

El AZD1152 hqpa puede realizarse como se describe en los documentos WO2004/058781 o WO2007/132210.

Abreviaturas:

Se pueden usar las siguientes abreviaturas.

40 EA Acetato de etilo

BA Alcohol bencílico

DI desionizada

TFF Filtración de flujo tangencial

TFA Ácido trifluoroacético

45 Lyo/horno Horno de Liofilización

DMSO Dimetilsulfóxido

scid Inmunodeficiente severo comprometido

El tensioactivo Brij<sup>®</sup>100 Brij<sup>®</sup>S 100 es un éter estearílico de polioxi-etileno (100) comercialmente disponible con un peso molecular medio de aproximadamente 4670, resúmenes químicos (CAS) número 9005-00-9

- 5 Tween<sup>®</sup>80 Un monooleato de polioxi-etileno sorbitán comercialmente disponible, también conocido como polisorbato 80, CAS número 9005-65-6

Span<sup>®</sup>80 Un monooleato de sorbitán comercialmente disponible, CAS número 1338-43-8

- 10 Para evitar dudas, cuando se hace referencia a "polímero-PEG" en los siguientes ejemplos, significa copolímero de PLA-PEG en el que el copolímero tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5 kDa de poli(etileno)glicol. Dichos polímeros están comercialmente disponibles o pueden fabricarse por métodos conocidos en la técnica. Tales polímeros se usan, por ejemplo, en WO2010/005721.

Ejemplo 1: Preparación de nanopartículas terapéuticas que contienen 2-(3-((7-(3-(etil(2-hidroxietil)amino)propoxi)quinazolin-4-il) amino)-1H-pirazol-5-il)-N-(3-fluorofenil)acetamida usando un proceso de nanoemulsión

- 15 Este ejemplo demuestra procedimientos para preparar nanopartículas que contienen AZD1152 hqpa.

Procedimiento de preparación de nanopartículas de ácido desoxicólico

1. Preparación de la solución de polímero

1.1 A un vial de vidrio de 20 mL añadir polímero-PEG, 350 mg.

- 20 1.2 Añadir 3.15 g de acetato de etilo a un vial de vidrio y agitar con vórtex durante una noche para obtener una solución de polímero-EA.

2. Preparación de la solución de fármaco

2.1 Para hacer ácido desoxicólico al 9%/BA, añadir 1.8 g de ácido desoxicólico en 18.2 g de BA en un vial de centelleo de 20 ml con base en la tabla de recetas.

2.2 Calentar la solución a 80°C durante 30 minutos.

- 25 2.3 Pesar 150 mg de agente terapéutico en vial de centelleo de 20 mL.

2.4 Añadir más de un 9% de ácido desoxicólico al fármaco y dejar a 80°C durante 15-30 minutos para obtener una solución de fármaco clara.

2.5 Justo antes de la formulación, combine el fármaco y la solución de polímero.

3. Preparación de solución acuosa:

- 30 ○ colato de sodio al 0.475%, alcohol bencílico al 4% en agua.

3.1 En una botella de 1L, añadir 4.75 g de colato de sodio y 955.25 g de agua DI y mezclar en placa de agitación hasta que se disuelva.

3.2 Añadir 40 g de alcohol bencílico a colato de sodio/agua y mezclar en placa de agitación hasta que se disuelva.

4. Formación de la emulsión. La relación entre la fase acuosa y la fase orgánica es de 5:1

- 35 4.1 Verter la fase orgánica en una solución acuosa y homogeneizar utilizando un homogeneizador manual rotor/estator durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión gruesa.

4.2 Alimentar solución a través de homogeneizador de alta presión (110S) con presión ajustada a ~11.000 psi en el manómetro para 1 pase discreto para formar nanoemulsión.

5. Formación de nanopartículas

- 40 Verter la emulsión en Quench (D.I. agua) a <5°C mientras se agita sobre la placa de agitación. La relación de Quench a emulsión es de 10:1.

6. Añadir Tween<sup>®</sup>80 al 35% (p/p) en agua para inactivar a razón de 100:1 de Tween<sup>®</sup>80 en peso de fármaco.

7. Concentrar las nanopartículas a través de TFF

## ES 2 640 648 T3

7.1 Concentrar el detenido en TFF con un casete de 300 kDa Pall (2 x 0.1 m<sup>2</sup> de membranas) hasta ~200 mL.

7.2 Diafiltrar ~20 diavolumenes (4 litros) usando agua DI fría.

7.3 Reducir el volumen a un volumen mínimo.

7.4 Añadir 100 mL de agua fría al recipiente y bombear a través de la membrana para enjuagar.

5 7.5 Recoger el material en un vial de vidrio, ~100 mL.

8. Determinación de la concentración de sólidos de la suspensión final no filtrada:

8.1 A un vial de centelleo tarado de 20 mL, añadir un volumen de suspensión final y secar al vacío sobre el horno de liofilización.

8.2 Determinar el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión seca.

10 9. Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final filtrada de 0.45 µm:

9.1 Filtrar aproximadamente una porción de la muestra de suspensión final antes de la adición de sacarosa a través de un filtro de jeringa de 0.45 µm.

9.2 En un vial de centelleo tarado de 20 mL, añadir un volumen de muestra filtrada y secar al vacío sobre el horno de liofilización.

15 10. Añadir 1 parte de sacarosa a las 9 partes finales de la muestra de suspensión para alcanzar el 10% de sacarosa.

11. Congelar la muestra restante de la suspensión final sin filtrar con sacarosa.

Procedimiento de preparación de nanopartículas de Docusato

1. Preparación de la solución de polímero

1.1 A un vial de vidrio de 20 mL añadir polímero-PEG, 750 mg.

20 1. 2 Se añaden 2.75 g de acetato de etilo al vial de vidrio y se agita durante la noche para dar una solución de polímero-EA.

2. Preparación de la solución de fármaco

2.1 Para obtener 30% de docusato/alcohol bencílico ("30% docusato/BA"), utilizar la Tabla 1.

2.2 Pesar 250 mg de agente terapéutico en vial de centelleo de 20 mL.

25 2.3 Agregar más de 690 mg de docusato al 30% al fármaco y agitar durante más de 1 hora para obtener una solución de fármaco clara.

2.4 Justo antes de la formulación, agregar el medicamento y la solución de polímero.

Tabla 1. Preparación de la solución de docusato/BA.

	Concentración deseada (p/p)	Total Docusato + solución BA gram	Docusato-sodio Ácido requerido (g)	BA por añadir (g)	HCl (g) adición (5N)	salmuera requerida (g)
Docusato 30% / en BA	30.00%	40.00	12.00	28.00	16.20	18.67

30

3. Preparación de solución acuosa:

• de colato de sodio al 0.475%, alcohol bencílico 4% en agua.

3.1 En una botella de 1L, añadir 4.75 g de colato de sodio y 955.25 g de agua DI y mezclar en placa de agitación hasta que se disuelva.

35 3.2 Añadir 40 g de alcohol bencílico a colato de sodio/agua y mezclar en placa de agitación hasta que se disuelva.

4. Formación de la emulsión. La relación entre la fase acuosa y la fase orgánica es de 5:1
- 4.1 Verter la fase orgánica en una solución acuosa y homogeneizar utilizando un homogeneizador manual rotor/estator durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión gruesa.
- 4.2 Alimentar la solución a través de homogeneizador de alta presión (110S) con presión ajustada a ~11.000 psi en el manómetro para 1 pase discreto para formar nanoemulsión.
5. Formación de nanopartículas
- Verter la emulsión en Quench (D.I. agua) a <5°C mientras se agita sobre la placa de agitación. La relación de Quench a emulsión es de 10:1.
6. Añadir Tween®80 al 35% (p/p) en agua para inactivar a razón de 100:1 de Tween®80 en peso de fármaco.
10. 7. Concentrar las nanopartículas a través de TFF
- 7.1 Concentrar el detenido en TFF con un casete de 300 kDa Pall (2 x 0.1 m<sup>2</sup> de membranas) hasta ~200 mL.
- 7.2 Diafiltrar -20 diavolumenes (4 litros) usando agua DI fría.
- 7.3 Reducir el volumen a un volumen mínimo.
- 7.4 Añadir 100 mL de agua fría al recipiente y bombear a través de la membrana para enjuagar.
15. 7.5 Recoger el material en un vial de vidrio, ~100 mL.
8. Determinación de la concentración de sólidos de la suspensión final no filtrada:
- 8.1 A un vial de centelleo tarado de 20 mL, añadir un volumen de suspensión final y secar al vacío sobre el horno de liofilización.
- 8.2 Determinar el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión seca.
20. 9. Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final filtrada de 0.45 µm:
- 9.1 Filtrar aproximadamente una porción de la muestra de suspensión final antes de la adición de sacarosa a través de un filtro de jeringa de 0.45 µm.
- 9.2 En un vial de centelleo tarado de 20 mL, añadir un volumen de muestra filtrada y secar al vacío sobre el horno de liofilización.
25. 10. Añadir 1 parte de sacarosa a las 9 partes finales de la muestra de suspensión para alcanzar el 10% de sacarosa.
11. Congelar la muestra restante de la suspensión final sin filtrar con sacarosa.
- En una variación del procedimiento anterior, se puede usar docusato de sodio en lugar del colato de sodio en la etapa 3.1 anterior.
- Ejemplo 2: Caracterización de nanopartículas terapéuticas que contienen AZD1152 hqpa
30. Este ejemplo demuestra que la coencapsulación con contraiones hidrófobos tales como ácido desoxicólico y docusato mejoró mucho la carga del fármaco (de ~3% a hasta ~15% de carga de fármaco). La liberación de agente terapéutico a partir de nanopartículas fue sustancialmente más lenta cuando se formuló como un par de iones hidrófobos en comparación con la formulación de control.
- Formulaciones de Control
35. Las formulaciones de control se fabricaron como nanopartículas planas ("NPs") sin contraiones. Se prepararon NPs utilizando matriz polimérica PLA-PEG (16 kDa PLA/5 kDa PEG) ("16/5 PLA-PEG") sin excipientes adicionales.
40. El agente terapéutico se disolvió en alcohol bencílico ("BA") o BA/agua para formar la solución del fármaco, y la solución polimérica en acetato de etilo ("EA") se vertió en la solución del fármaco justo antes de añadirla a una solución acuosa para homogeneización. Esta formulación de control da como resultado nanopartículas con carga de fármaco relativamente baja (~3%), alto estallido (~20%) y liberación rápida (>50% a las 4 horas). (Véase Tabla 1 y Figura 3). Estos resultados no son inusuales para APIs con PM relativamente bajo (<600 kDa) y/o menor hidrofobicidad (log P <3).

Tabla 2. Formulación de nanopartículas de control.

Lote #	Carga teórica de fármaco	Concentración de sólidos en fase orgánica	Carga %	tamaño (nm)
16/5 PLA-PEG, 7.5% agua en BA solamente	20	7%	3.17	128.9 (0.172)

Formulaciones de ácido desoxicólico

5 Las formulaciones de ácido desoxicólico se prepararon de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1 usando diversas cantidades de ácido desoxicólico en la fase orgánica como se muestra en la Tabla 3. Se prepararon nanopartículas utilizando 16/5 PLA-PEG.

Tabla 3. Formulaciones de nanopartículas de ácido desoxicólico.

	Ácido % en peso	Masa total (g)	BA	Ácido Desoxicólico
8% de ácido Desoxicólico en BA	8	20	18.4g	1.6g
9% de ácido Desoxicólico en BA	9	20	18.2g	1.8g
10% de ácido Desoxicólico en BA	10	20	18.0g	2.0g

10 La Tabla 4 a continuación proporciona datos de caracterización para formulaciones de ácido desoxicólico. Como está evidenciado por los datos, la presencia del ácido desoxicólico aumenta en gran medida la carga de API en las formulaciones de nanopartículas finales en comparación con las nanopartículas de control.

Tabla 4. Datos de caracterización para formulaciones que contienen ácido desoxicólico.

Lote #	Carga teórica del fármaco en peso)	Fase orgánica [sólidos] <sup>1</sup> (%) en peso)	Alcohol bencílico [ácido desoxicólico] (%) en peso)	Ácido: Proporción de adición de fármaco (mol: mol)	Porción de acetato de etilo de disolventes orgánicos (%) en peso)	Carga real de fármaco (% en peso)	Tamaño medio por DLS (nm)
254-14-1	20	15%	9.0	0.99	70	10%	99.6
254-20-1	20	15%	9.0	0.99	70	9.90%	105.6
254-14-2	20	15%	8.0	1.02	65	7.30%	84.5
254-20-2	20	15%	8.0	1.02	65	8.20%	127.7
254-20-3	30	15%	13.5	0.99	70	10.00%	104.7
254-20-4	20	15%	8.0	0.99	70	9.40%	102.3

ES 2 640 648 T3

Lote #	Carga teórica del fármaco en peso (%)	Fase orgánica [sólidos] <sup>1</sup> en peso (%)	Alcohol bencílico [ácido desoxicólico] (% en peso)	Ácido: Proporción de adición de fármaco (mol: mol)	Porción de acetato de etilo de disolventes orgánicos (% en peso)	Carga real de fármaco (% en peso)	Tamaño medio por DLS (nm)
254-20-5	25	10%	7.0	0.98	70	10.50%	135.4
254-20-6	25	10%	7.0	0.98	70	10.00%	105.4
254-20-7	30	10%	9.0	1.05	70	11.70%	110.3
254-20-8	30	10%	9.0	1.05	70	11.20%	112.6
254-20-9	30	10%	10.0	0.97	75	11.40%	107.6
254-20-10	30	10%	10.0	0.97	75	11.20%	107.4
254-32-1	30	10%	9.0	1.05	70	9.60%	111.4
254-34-1	35	10%	8.0	1.06	60	6.40%	136.8
254-34-2	35	10%	8.0	1.06	60	7.90%	119.4
254-34-3	35	12.5%	8.0	1.03	50	7.40%	111.1
254-38-1	35	10%	8.0	1.06	60	7.40%	117.6
254-38-2	35	10%	8.0	1.06	60	7.80%	117.3
254-38-3	35	10%	8.0	1.06	60	7.70%	124.0
254-38-4	35	10%	8.0	1.06	60	8.70%	120.9
254-38-5	30	15%	10.0	0.98	60	7.60%	141.1
254-38-6	30	15%	10.0	0.98	60	9.10%	121.1
254-38-7	30	15%	10.0	0.98	60	8.30%	150.3

## ES 2 640 648 T3

Lote #	Carga teórica del fármaco en peso (%)	Fase orgánica [sólidos] <sup>1</sup> (%)	Alcohol bencílico [ácido desoxicólico] (%)	Ácido: Proporción de adición de fármaco (mol: mol)	Porción de acetato de etilo de disolventes orgánicos (%)	Carga real de fármaco (% en peso)	Tamaño medio por DLS (nm)
254-38-8	30	15%	10.0	0.98	60	10.40%	127.0

<sup>1</sup> Este valor =% en peso de concentración de fármaco + polímero dividido por sólidos orgánicos y no incluye el ácido desoxicólico para estos lotes.

DLS es dispersión dinámica de luz.

5 La figura 4 muestra la liberación del agente terapéutico *in vitro* que muestra una liberación controlada y lenta/sostenida de fármacos de NP de ácido desoxicólico en comparación con el de los NPs de control sin contraiones de ácido desoxicólico.

La tabla siguiente describe la composición (en Porcentaje en peso) de cada componente en la partícula de una formulación particular de nanopartículas, a la que se hace referencia en el presente documento como "Formulación F1".

Componente	Porcentaje en peso de la nanopartícula
16/5 PLA-PEG	75%
Ácido desoxicólico	9%
Ácido cólico	6%
AZD1152 hqpa	10%

10

### Formulaciones con docusato

15 Se convirtió el docusato de sodio (por ejemplo, disponible como "Aerosol OT" o "AOT") en forma ácida (es decir, ácido dioctilsulfosuccínico) usando un método de conversión *in situ* antes de ser mezclado con el fármaco. Se disolvió el docusato de sodio en BA y se añadió solución concentrada de HCl a proporciones controladas de HCl/docusato. La mezcla se agitó en vórtex para facilitar el intercambio de protones y la conversión de la sal sódica en forma de ácido libre. A continuación, se añadió solución saturada de cloruro de sodio y se mezcló mediante agitación con vórtex para extraer agua y sal de cloruro de sodio formada en la mezcla BA. Después de mezclar, la muestra se incubó a temperatura ambiente para separación de fases. Con el tiempo, dos capas se desarrollaron gradualmente con BA en la parte superior y la capa acuosa en la parte inferior. La capa superior se aspiró como disolvente de fármaco que contenía contraión docusato. Las concentraciones de docusato ácido en BA se informaron como concentración de docusato de sodio en BA. Las formulaciones de nanopartículas de Docusato se prepararon usando el procedimiento del Ejemplo 1 con polímero 16/5 PLA/PEG como para la formulación de ácido desoxicólico. Las preparaciones típicas de docusato ácido se enumeran en la Tabla 5.

20

Tabla 5. Preparaciones típicas de solución de docusato de sodio protonado (DSS) en BA (como disolvente de fármaco).

DSS % en BA	Material	Porcentaje	Cantidad calculada		Relación molar de HCl/docusato
			Masa (g)	mMol	
10%	BA	90%	60	-	-

ES 2 640 648 T3

DSS % en BA	Material	Porcentaje	Cantidad calculada		Relación molar de HCl/docusato
			Masa (g)	mMol	
	Docusato	10%	6.7	15	3.33
	5N HCl	-	10	50	
	NaCl saturado	-	20	-	-
15%	BA	85%	60	-	-
	docusato	15%	10.6	23.8	4.20
	5N HCl	-	20	100	
	NaCl saturado	-	40	-	-
20%	BA	80%	60	-	-
	docusato	20%	15	33.7	5.93
	5N HCl	-	40	200	
	NaCl saturado	-	80	-	-

5 La Tabla 6 a continuación proporciona datos de caracterización para las formulaciones de docusato representativas. Sin desear limitarse por ninguna teoría, se cree que la presencia del contraión docusato sirve para potenciar la encapsulación y carga del fármaco por el proceso de apareamiento de iones hidrófobos (HIP).

Tabla 6. Datos de caracterización para formulaciones que contienen ácido docusato.

Lote #	Carga teórica de fármaco (% en peso)	Fase orgánica [sólidos] (% en peso)	[Docusato] %	Ácido: Proporción de adición de fármaco (mol:mol)	%EA	Carga del fármaco % en peso	Tamaño medio (nm)
250-80-5	20	18	20	1.09	80	8.89%	100.2
250-80-6:	20	18	20	1.09	80	10.95%	96.6
250-80-7:	30	18	20	1.09	70	13.75%	113.2
250-80-8:	30	18	20	1.09	70	16.25%	132.1
250-110-1:	25	22.5	30	0.99	80	13.80%	116.8

ES 2 640 648 T3

Lote #	Carga teórica de fármaco (% en peso)	Fase orgánica [sólidos] (% en peso)	[Docusato] %	Ácido: Proporción de adición de fármaco (mol:mol)	%EA	Carga del fármaco % en peso	Tamaño medio (nm)
250-110-2:	25	22.5	30	0.99	80	15.22%	135.6
250-110-3:	20	18	20	1.09	80	9.92%	117.4
250-110-4:	20	18	20	1.09	80	11.45%	139.2
250-110-5:	20	18	20	1.09	80	10.52%	114.8
250-110-6:	25	25	25	0.90	75	7.17%	104.8
250-110-7:	25	25	25	0.90	75	6.01%	92.7
250-110-1:	25	22.5	30	0.99	80	13.80%	116.8
250-130-1:	25	22.5	30	0.99	80	8.49%	104
250-130-2:	25	22.5	30	1.06	80	10.10%	125
250-130-3:	35	22.5	30	1.06	70	13.39%	120.8
250-130-4:	35	22.5	30	1.06	70	14.41%	124.7
250-130-6:	35	22.5	30	1.06	70	4.61%	85

La figura 5 muestra la liberación de fármacos terapéuticos *in vitro* que muestra una liberación controlada y lenta/sostenida de fármacos a partir de NPs de docusato ácido comparados con los NPs de control sin contraiones docusato.

5 La tabla siguiente describe la composición (en porcentaje en peso) de cada componente en la partícula de una

formulación particular de nanopartículas, a la que se hace referencia en el presente documento como "Formulación F2".

Componente	Porcentaje en peso de la nanopartícula
16/5 PLA-PEG	80%
Docusato	10%
AZD1152 hqpa	10%

Ejemplo de referencia 3

- 5 A continuación se describe una formulación que contiene ácido cólico. Esta formulación se denomina en el presente documento como "Formulación E".

Componente	Porcentaje en peso de la nanopartícula
AZD1152 hqpa	5
PLA-PEG 16/5	90
Ácido cólico	5

Procedimiento de preparación de nanopartículas de ácido cólico

1. Preparación de la solución de polímero
  - 10 1.1 A un vial de vidrio de 20 mL añadir polímero-PEG, 350 mg.
  - 1.2 Añadir 8.11 g de acetato de etilo al vial de vidrio y agitar durante una noche para dar una solución de polímero-EA.
2. Preparación de la solución de fármaco
  - 15 2.1 Para obtener TFA/BA al 3%, agregar 63 mg de TFA a 2.03 g de BA en un vial de centelleo de 20 ml con base en la tabla de recetas
  - 2.2 Pesar 150 mg de agente terapéutico en vial de centelleo de 20 mL.
  - 2.3 Añadir más de 3% de TFA en BA al fármaco y mezclar durante 15-30 minutos para obtener una solución de fármaco clara.
  - 2.4 Antes de la formulación, combinar el fármaco y la solución de polímero.
- 20 3. Preparación de solución acuosa:
  - o colato de sodio al 0.52%, alcohol bencílico al 4% en agua.
  - 3.1 En una botella de 1 litro, añadir 5.2 g de colato de sodio y 954.8 g de agua desionizada y mezclar en una placa de agitación hasta que se disuelva.
  - 3.2 Añadir 40 g de alcohol bencílico a colato de sodio/agua y mezclar en placa de agitación hasta que se disuelva.
- 25 4. Formación de la emulsión. La relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de 5:1
  - 4.1 Verter la fase orgánica en una solución acuosa y homogeneizar utilizando un homogeneizador manual rotor/estator durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión gruesa.
  - 4.2 Alimentar solución a través de homogeneizador de alta presión (110S) con presión ajustada a ~11.000 psi en el manómetro para 1 pases discretos para formar nanoemulsión.

5. Formación de nanopartículas

Verter la emulsión en Quench (D.I. agua) a <math>5^{\circ}\text{C}</math> mientras se agita sobre la placa de agitación. La relación de Quench a emulsión es de 10:1.

6. Añadir Tween<sup>®</sup>80 al 35% (p/p) en agua para inactivar a razón de 100:1 de Tween<sup>®</sup>80 en peso de fármaco.

5 7. Concentrar las nanopartículas a través de TFF

7.1 Concentrar el detenido en TFF con un casete de 300 kDa Pall (2 x 0.1 m<sup>2</sup> de membranas) hasta ~200 mL.

7.2 Diafiltrar ~20 diavolumenes (4 litros) usando agua DI fría.

7.3 Reducir el volumen a un volumen mínimo.

7.4 Añadir 100 mL de agua fría al recipiente y bombear a través de la membrana para enjuagar.

10 7.5 Recoger el material en un vial de vidrio, ~100 mL.

8. Determinación de la concentración de sólidos de la suspensión final no filtrada:

8.1 A un vial de centelleo tarado de 20 mL, añadir un volumen de suspensión final y secar al vacío sobre el horno de liofilización.

8.2 Determinar el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión seca.

15 9. Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final filtrada de 0.45 µm:

9.1 Filtrar aproximadamente una porción de la muestra de suspensión final antes de la adición de sacarosa a través de un filtro de jeringa de 0.45 µm.

9.2 En un vial de centelleo tarado de 20 mL, añadir un volumen de muestra filtrada y secar al vacío sobre el horno de liofilización.

20 10. Añadir 1 parte de sacarosa a las 9 partes finales de la muestra de suspensión para obtener 10% de sacarosa en peso.

11. Congelar la muestra restante de suspensión final sin filtrar con sacarosa.

Ejemplo de referencia 4

25 Se preparó una formulación adicional mediante un proceso similar a los procedimientos de formulación de ácido dioctilsulfosuccínico en el Ejemplo 1. Esta formulación adicional se detalla en la siguiente tabla y se hace referencia a la misma en el presente documento como "Formulación B".

Componente	Porcentaje en masa de partículas (nominal)
AZD1152 hqpa	10
PLA-PEG 16/5	85
Ácido oleico	5

Ejemplo 5 - Índice terapéutico

Datos generados en el modelo de xenoinjerto de tumor humano SW620 en rata y ratón.

30 Se sabe que el modelo de rata desnuda femenina con SW620 es susceptible a regresiones espontáneas del tumor que son más frecuentes en estudios de xenoinjertos de mayor duración y no se muestran.

Estudios de índice terapéutico de rata (SW620 en rata desnuda femenina)

35 Se criaron ratas desnudas hembra en AstraZeneca y se sometieron a estudio con un peso mínimo de 150 g. Los animales se inocularon en el flanco con células tumorales humanas SW620 y se inició la dosificación cuando los tumores habían alcanzado 0.4-0.9 cm<sup>3</sup>. Los compuestos se dosificaron por vía intravenosa (IV) a 5 ml/kg con la formulación B o E. de nanopartículas de AZD1152 o AZD1152 hqpa. Se administró AZD1152 en vehículo TRIS (días 1-4 IV, cada dosis a 25 mg/kg) y AZD1152 hqpa nanopartícula se dosificó la formulación en solución salina fisiológica

(dosis de 25 mg/kg cada uno de los días 1 y 3 IV). En los momentos indicados se sacrificaron los animales y se tomaron muestras de tumor, sangre y fémur/médula ósea. Los efectos de los tratamientos sobre el tumor y la médula ósea fueron anotados por patólogo evaluador de las secciones teñidas con hematoxilina y eosina derivadas del fémur.

5 Los efectos de las formulaciones de las nanopartículas AZD1152 y AZD1152 B y E en el tumor se caracterizan por la presencia de núcleos de poliploidia agrandados. La figura 6 muestra imágenes representativas del tumor después del tratamiento con cada terapia a partir de muestras obtenidas en el día 5. Los efectos de las formulaciones B y E de la nanopartícula de AZD1152 y AZD1152 hqpa en la médula ósea se caracterizan por la pérdida de células de la médula ósea. La figura 6 muestra imágenes representativas del tumor después del tratamiento con cada terapia a partir de muestras obtenidas el día 5.

10 La figura 6 muestra que la Formulación E, suministrada a la mitad de la intensidad de la dosis de AZD1152, tiene una mayor eficacia (A), induce un espectro similar de cambios en la patología tumoral (B) y al mismo tiempo evita la médula ósea (C).

Estudio antitumoral en ratón (SW620 en ratón desnudo masculino)

15 Los ratones desnudos machos fueron criados en AstraZeneca. Los animales se inocularon en el flanco con células tumorales humanas SW620, y luego se asignaron al azar al estudio cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 0.25 cm<sup>3</sup>. Se dosificó AZD1152 en vehículo regulador TRIS a la concentración indicada. AZD1152 hqpa formulación de nanopartículas E se dosificó en solución salina fisiológica. Se publican un trabajo clínico anterior y metodologías con AZD1152 en Wilkinson et al, Clinical Cancer Research 2007 (13) 3682.

20 Los datos generados en el modelo de xenoinjerto de tumor humano SW620 en rata y ratón sugirieron que el suministro de AZD1152 IV a 25 mg/kg durante 4 días da una eficacia máxima (100 mg/kg de dosis total).

25 En el modelo SW620 en ratón, las nanopartículas del Ejemplo 3 demostraron eficacia equivalente a AZD1152 IV a 100 mg/kg y esta eficacia se alcanzó a dosis más bajas de sólo 25 mg/kg en una sola dosis, o incluso 5 mg/kg al día 1 y 3 (10 mg/kg equivalentes) mostrando que la eficacia puede administrarse usando una variedad de diferentes esquemas y dosis mucho más bajas usando la formulación en nanopartículas de AZD1152 hqpa que una formulación IV de AZD1152.

Por lo tanto, la formulación en nanopartículas AZD1152 hqpa reivindicada mostró eficacia tumoral equivalente o mejorada cuando se administró a una intensidad de dosis más baja. Esto puede resultar en menos efectos secundarios, por ejemplo menos toxicidad de la médula ósea.

30 Se alcanzó la máxima actividad con un equivalente de dosis de 50 mg/kg de formulación en nanopartículas de AZD1152 hqpa frente a 100 mg/kg IV de AZD1152. Mediante el uso de las formulaciones de la presente invención, puede ser posible proporcionar más ingrediente activo al paciente por los mismos efectos adversos que la dosis máxima tolerada anterior de AZD1152 dosificada IV. Así, el perfil de riesgo/beneficio de las formulaciones de la presente invención puede ser mejorado.

35 La figura 7 muestra los datos de estudios de eficacia/dosificación de la programación con la Formulación E en el xenoinjerto SW620 en ratón desnudo. En este estudio Se dosificó AZD1152 el día 0-3 a 25 mg/kg (100 mg/kg total). La formulación E se dosificó a una variedad de diferentes esquemas como se describió anteriormente.

Ejemplo de referencia 6

40 La exposición *in vivo* se examinó comparando AZD1152 IV (dosificado 4x25 mg/kg) días 1-4 IV) con las Formulaciones B (dosificado 2x25 mg/kg los días 1 y 3 IV) y E (dosificado 2x25 mg/kg días 1 y 3 IV) del estudio en ratas desnudas descritas en el Ejemplo 5. Los resultados se muestran (valor promediado de varios puntos de datos) en la figura 8. Las concentraciones medidas después de la dosis de AZD1152 IV son para el fármaco AZD1152 hqpa.

45 Los datos muestran el total de AZD1152 hqpa extraído de la muestra (dentro de las nanopartículas y liberadas de ellas) en el punto de muestreo y, por tanto, demuestran durante cuánto tiempo el fármaco o el fármaco encapsulado está todavía presente en el cuerpo durante este tiempo, es decir, la longevidad de la exposición al AZD1152 hqpa después de la dosificación. Los datos muestran que una intensidad de dosis más baja dio una concentración de fármaco total más alta en la sangre, sostenida durante un período más largo si se suministró como una formulación de nanopartículas en lugar de como fármaco activo intravenoso.

Resumen del método bioanalítico para medir el fármaco total en muestras *in vivo* dosificadas con nanopartículas.

50 Este es un proceso de múltiples etapas que debe llevarse a cabo en hielo siempre que sea posible para detener la liberación adicional de fármaco de las nanopartículas.

Método de Extracción Total de Fármacos:

- Disolver el fármaco original sólido en DMSO a una concentración de 2 mM.

## ES 2 640 648 T3

- Tomar una alícuota de 50 µl de cada muestra de plasma, utilizando un factor de dilución adecuado, en una placa de 96 pozos.
  - Preparar en la curva de calibración estándar utilizando el Robot Hamilton Star de la población de 2 mM en DMSO (consulte el apéndice 1 para obtener detalles sobre la preparación)
- 5
- Añadir 150 µl de acetonitrilo con un patrón interno.
  - Agitar la placa para mezclar las muestras.
  - Rotar en centrifugadora a 4500 rpm durante 10 minutos.
  - Transferir 50 µl de sobrenadante para limpiar la placa de 96 pozos.
  - Añadir 300 µl de agua.
- 10
- Analizar a través de LC-MS/MS (cromatografía líquida-espectrometría de masas/espectrometría de masas en tándem).

### Apéndice 1 - Detalles de la preparación de la curva estándar

El robot agregará primero diluyente adecuado a la microplaca para las diluciones antes de diluir en serie las soluciones madre de derecha a izquierda en la microplaca, una fila por compuesto (véase la tabla A a continuación):

- 15
- Tabla A: Muestra las 11 diluciones de derecha a izquierda (columnas 12-1) de la placa de dilución para un material de partida de 2 mM en la columna 12 de la microplaca de dilución. Después, se introducen 2.5 µl de las columnas 1-11 de izquierda a derecha en los pozos 2-12 de una placa de matriz para dar lugar a una curva de once puntos (Tabla B).

Columna de la placa de predilución	Conc. Final µM	Volumen de conc para ser diluido µL	Volumen de diluyente de DMSO µL	Factor de dilución
12	2000	-	-	-
11	200	25 µL de la columna 12	225	10
10	100	125 µL de la columna 11	125	2
9	40	100 µL de la columna 10	150	2.5
8	20	125 µL de la columna 9	125	2
7	10	125 µL de la columna 8	125	2
6	2	50 µL de la columna 7	200	5
5	1	125 µL de la columna 6	125	2
4	0.4	100 µL de la columna 5	150	2.5
3	0.2	125 µL de la columna 4	125	2
2	0.1	125 µL de la columna 3	125	2
1	0.02	50 µL de la columna 2	200	5

- 20
- Tabla B: Tabla que demuestra la curva de calibración generada después de la punta de la serie de dilución generada por el robot. Las columnas 1-11 de la Tabla A se introducen en las columnas 2-12 de la placa de matriz para producir la curva de calibración de once puntos como se ha indicado anteriormente

## ES 2 640 648 T3

Concentración final (nM)	Volumen matriz (µL)	de Volumen introducido (µL)	Solución de trabajo de DMSO (µM)	Columna de la placa de preparación de plasma
0	47.5	2.5 µL DMSO		1
1	47.5	2.5	0.02	2
5	47.5	2.5	0.1	3
10	47.5	2.5	0.2	4
20	47.5	2.5	0.4	5
50	47.5	2.5	1	6
100	47.5	2.5	2	7
500	47.5	2.5	10	8
1000	47.5	2.5	20	9
2000	47.5	2.5	40	10
5000	47.5	2.5	100	11
10000	47.5	2.5	200	12

### Parámetros LC-MS/MS

Espectrometría de masas	Aguas Xevo TQS (serial No.-186005453)		
Columna	Phenomenex Kinetex C18 50 x 2.1, 2.6µ		
Solvente A	95% agua + 0.1 % de ácido fórmico		
Solvente B	95% MeOH + 0.1 % de ácido fórmico		
Gradiente	Tiempo (min)	% A	%B
	0	95	5
	0.3	95	5
	1.9	5	95
	2.3	5	95
	2.31	95	5
	2.5	95	5
<b>Flujo</b>	0.75 ml/min		
Tiempo de ejecución	2,5 min, usar una válvula de desvío durante 0.3 minutos iniciales		

### Parámetros de optimización

## ES 2 640 648 T3

Compuesto	Modo de ionización	Polaridad	Ion progenitor	Ion de la hija	Tensión del cono (v)	Energía de colisión	Tiempo de retención (min)
AZD1152	ESI	Positiva	588.941	491.13	20	16	1.07
AZD1152 hqpa	ESI	Positiva	509.042	129.74	40	16	0.98
Compuesto A	ESI	Positiva	405.588	173.81	80	22	1.35

Compuesto A: 2-etil-4-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metoxi]quinolina (estándar interno). Véase, por ejemplo, WO92/02508 y WO92/13853.

Ejemplo 7 (Utilizando un lote nominal de 1 g)

### 5 Procedimiento para nanopartículas de ácido pamoico

Se prepararon nanopartículas de AZD1152 hqpa con ácido pamoico de acuerdo con el procedimiento expuesto a continuación.

Composición (de la formulación descrita en el presente documento en adelante como formulación G1):

Componente	Porcentaje en peso de la nanopartícula	Porcentaje molar de la nanopartícula
16/5 PLA-PEG	73.1%	5.8%
PLA	54.8%	4.4%
PEG	18.3%	1.5%
AZD1152 hqpa	17.0%	53.5%
Ácido pamoico	9.9%	40.7%

10 7.1 Preparación de la solución de ácido pamoico. Se preparó una solución al 29% (p/p) de ácido pamoico en DMSO mezclando 2.9 g de ácido pamoico con 7.1 g de DMSO en un recipiente. El recipiente se calentó en un horno de calentamiento a 70-80°C hasta que se disolvió todo el ácido pamoico.

7.2 Preparación de 8% de TFA/7.5% de agua/84.5% de solución de alcohol bencílico (% en peso). Se combinaron ácido trifluoroacético (TFA) (3.2 g), agua desionizada (DI) (3.0 g) y alcohol bencílico (BA) (33.8 g) para preparar el TFA al 8%/agua al 7.5%/solución de alcohol bencílico al 84.5% (% en peso).

### 15 7.3 Preparación del regulador:

Para hacer 1000 ml de fosfato 0.17 M (pKa2=7.2) Regulador: pH=6.5, Formular dos reguladores de partida: A. disolver 13.26 g de fosfato de sodio monobásico, anhidro NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O (Mr=119.98) en 650 ml de agua pura y B disolver 10.82 g de fosfato de sodio dibásico, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> anhidro (Mr=141.96) en 650 ml de agua pura. Añadir regulador B al regulador A mientras se mezcla hasta pH=6.50 a la temperatura del laboratorio de 25°C.

### 20 Alternativa:

Para hacer 1000 ml de regulador de fosfato de sodio 0.17 M a pH 6.5: En ~800 ml de agua DI, disolver 16.26 g de fosfato de sodio monobásico, dihidratado (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, FW=156.01) y 11.70 g de fosfato de sodio dibásico dihidratado (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, FW=177.99) y añadir suficiente agua extra para obtener 1000 ml, a la temperatura del laboratorio de 25°C.

### 25 7.4 Preparación de la solución de polímero

- A un vial de vidrio de 20 mL añadir polímero-PEG, 700 mg
- Se añaden 7078 mg de acetato de etilo al vial de vidrio y se agita durante la noche para dar una solución de polímero-

EA.

7.5 Preparación de solución acuosa:

- Brij®100 al 0.12%, alcohol bencílico al 4% en agua
- 5 • En una botella de 1 L, añadir 1.2 g de Brij®100 y 958.8 g de agua DI y mezclar en una placa de agitación hasta que se disuelva.
- Añadir 40 g de alcohol bencílico a Brij®/agua y mezclar en placa de agitación hasta que se disuelva.

7.6 Preparación de la solución de fármaco

- Pesar 300 mg de AZD1152 hqpa en vial de centelleo de 20 mL
- Añadir 2399 mg de solución anterior de TFA al 8% /7.5% de agua/BA a AZD1152
- 10 • Añadir 634 mg de solución de pamoico/DMSO por encima del 29% a la solución de fármaco y agitar con vórtex para obtener una solución de fármaco transparente
- Justo antes de la formulación, combinar el fármaco y la solución de polímero.

7.7 Formación de la emulsión. La relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de 5:1

- 15 • Verter la fase orgánica en una solución acuosa y se homogeneiza usando un homogeneizador de rotor/estator manual durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión gruesa. Almacenar en hielo durante 10-15 minutos.
- Alimentar solución a través de un homogeneizador de alta presión (110S) con presión ajustada a -9000 psi en el medidor de entrada de aire comprimido para 1 pase discreto para formar nanoemulsión

Formación de nanopartículas

- 20 • Verter la emulsión en Quench (fosfato de sodio 0.17 M, pH 6.5) a <5°C mientras se agita sobre la placa de agitación. Asegurarse de que transcurran al menos 5 minutos desde el comienzo de la recolección, antes de apagar. La relación de emulsión a emulsión es 10:1
- Se añade 35% (p/p) de Tween®80 en agua para templar a razón de 100:1 Tween®80 a fármaco en peso.
- Concentrar las nanopartículas mediante filtración tangencial (TFF)
- 25 • Concentrar el detenido en TFF con 300kDa Pall casete (3x0.1 m<sup>2</sup> membranas) a ~200 mL.
- Diafiltrar ~20 diavolumenes (4 litros) usando agua DI fría.
- Reducir el volumen a un volumen mínimo
- Añadir 100 mL de agua fría al recipiente y bombear a través de la membrana para enjuagar.
- Recoger el material en vial de vidrio, ~100 mL

30 7.8 Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final no filtrada:

- A un vial de centelleo tarado de 20 mL añadir un volumen de suspensión final y secar al vacío en el horno de liofilización.
- Determinar el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión seca

7.9 Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final filtrada de 0.45 µm:

- 35 • Filtrar una porción de la muestra de suspensión final antes de la adición de sacarosa a través de un filtro de jeringa de 0.45 µm
- A un vial de centelleo tarado de 20 mL, añadir un volumen de muestra filtrada y secar al vacío sobre el horno de liofilización.

7.10 Añadir 1 parte de sacarosa a las 9 partes finales de la muestra de suspensión para obtener sacarosa al 10%.

40 7.11 Congelar la muestra restante de suspensión final sin filtrar con sacarosa

La figura 9 muestra la liberación *in vitro* de AZD1152 hqpa representativa que demuestra la liberación controlada y

## ES 2 640 648 T3

lenta/sostenida de fármacos a partir de nanopartículas de ácido pamoico comparadas con las nanopartículas basales sin contraiones de ácido pamoico (hechas como se describe para las formulaciones de control en el Ejemplo 2).

Otra formulación de ácido pamoico, denominada en lo sucesivo formulación G2, se preparó como sigue: (Usando un lote nominal de 1 g)

### 5 Composición:

Componente	Porcentaje en peso de nanopartícula	Porcentaje molar de nanopartícula
16/5 PLA-PEG	67.7%	4.5%
PLA	50.7%	3.4%
PEG	16.9%	1.1%
AZD1152 hqpa	19.4%	51.1%
Ácido pamoico	12.9%	44.4%

### Ejemplo 7a

10 7a.1 Preparación de la solución de ácido pamoico. Se preparó una solución al 29% (p/p) de ácido pamoico en DMSO mezclando 2.9 g de ácido pamoico con 7.1 g de DMSO en un recipiente. El recipiente se calentó en un horno de calentamiento a 70-80°C hasta que se disolvió todo el ácido pamoico.

7a.2 Preparación de 8% de TFA/7.5% de agua/84.5% de solución de alcohol bencílico (% en peso). Se combinaron ácido trifluoroacético (TFA) (3.2 g), agua desionizada (DI) (3.0 g) y alcohol bencílico (BA) (33.8 g) para preparar el TFA al 8%/agua al 7.5%/solución alcohol bencílico al 84.5%.

7a.3 Preparación del regulador:

15 Para hacer 1000 ml de fosfato 0.17 M (pKa2=7.2) Regulador: pH=6.5, Formular dos reguladores de almacenamiento: A. disolver 13.26 g de fosfato de sodio monobásico, anhidro NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O (Mr=119.98) en 650 ml de agua pura y B disolver 10.82 g de fosfato de sodio dibásico, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> anhidro (Mr=141.96) en 650 ml de agua pura. Añadir regulador B al regulador A mientras se mezcla hasta pH=6.50 a la temperatura del laboratorio de 25°C.

Alternativa:

20 Para obtener 1000 ml de regulador de fosfato de sodio 0.17 M a pH 6.5: En ~800 ml de agua DI, disolver 16.26 g de fosfato de sodio monobásico, dihidrato (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O; FW=156.01) y 11.70 g de fosfato de sodio dibásico dihidratado (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, FW=177.99) y añadir suficiente agua adicional para producir 1000 ml, a la temperatura del laboratorio de 25°C.

7a.4 Preparación de la solución de polímero

25 • A un vial de vidrio de 20 mL añadir polímero-PEG, 700 mg  
 • Se añaden 6572 mg de acetato de etilo a un vial de vidrio y se agita durante la noche para dar una solución de polímero-EA.

7a.5 Preparación de solución acuosa:

30 • Brij<sup>®</sup>100 al 0.15%, alcohol bencílico al 4% en agua  
 • En una botella de 1 litro, añadir 1.5 g de Brij<sup>®</sup>100 y 958.5 g de agua DI y mezclar en una placa de agitación hasta que se disuelva.  
 • Añadir 40 g de alcohol bencílico a Brij<sup>®</sup>/agua y mezclar en placa de agitación hasta que se disuelva.

7a.6 Preparación de la solución del fármaco

35 • Pesar 300 mg de AZD1152 hqpa en vial de centelleo de 20 mL  
 • Añadir 2746 mg de solución de TFA al 8% al 8%/7.5% de agua/BA a AZD1152

## ES 2 640 648 T3

- Añadir 792 mg de solución de pamoico/DMSO por encima del 29% a la solución de fármaco y agitar con vórtex para obtener una solución de fármaco transparente

- Justo antes de la formulación, combinar el fármaco y la solución de polímero.

7a.7 Formación de la emulsión. La relación entre la fase acuosa y la fase orgánica es de 5:1

5

- Verter la fase orgánica en una solución acuosa y se homogeneiza usando un homogeneizador de rotor/estator manual durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión gruesa. Almacenar en hielo durante 10 minutos.

- Alimentar la solución a través de homogeneizador de alta presión (110S) con presión ajustada a -9000 psi en el medidor de entrada de aire comprimido para 1 pase discreto para formar nanoemulsión

10 Formación de nanopartículas

- Verter inmediatamente la emulsión en Quench (fosfato de sodio 0.17 M, pH 6.5) a <5°C mientras se agita sobre una placa de agitación. La relación de emulsión a emulsión es 10:1

- Se añade 35% (p/p) de Tween®80 en agua para templar a razón de 100:1 Tween®80 a fármaco en peso.

- Concentrar las nanopartículas mediante filtración de flujo tangencial (TFF)

15

- Concentrar el detenido en TFF con 300kDa Pall casete (3x0.1 m<sup>2</sup> membranas) a ~200 mL.

- Diafiltrar ~20 diavolumenes (4 litros) usando agua DI fría.

- Reducir el volumen a un volumen mínimo

- Añadir 100 mL de agua fría al recipiente y bombear a través de la membrana para enjuagar.

- Recoger el material en vial de vidrio, ~100 mL

20 7a.8 Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final no filtrada:

- A un vial de centelleo tarado de 20 mL añadir un volumen de suspensión final y secar al vacío en el horno de liofilización.

- Determinar el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión seca

7a.9 Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final filtrada de 0.45 µm:

25

- Filtrar una porción de la muestra de suspensión final antes de la adición de sacarosa a través de un filtro de jeringa de 0.45 µm

- A un vial de centelleo tarado de 20 ml, añadir un volumen de muestra filtrada y secar al vacío sobre el horno de liofilización.

30 7a.10 Añadir 1 parte de sacarosa a las 9 partes finales de la muestra de suspensión para obtener 10% de sacarosa en peso.

7a.11 Congelar la muestra restante de la suspensión final sin filtrar con sacarosa

Ejemplo 7b

A continuación se describe un procedimiento adicional para preparar una formulación G1 (lote nominal de 1 g)

35 7b.1 Preparación de la solución de ácido pamoico. Se preparó una solución al 29% (p/p) de ácido pamoico en DMSO mezclando 2.9 g de ácido pamoico con 7.1 g de DMSO en un recipiente. El recipiente se calentó en un horno de calentamiento a 70-80°C hasta que se disolvió todo el ácido pamoico.

7b.2 Preparación de 8% de TFA/7.5% de agua/84.5% de solución de alcohol bencílico (% en peso). Se combinaron ácido trifluoroacético (TFA) (3.2 g), agua desionizada (DI) (3.0 g) y alcohol bencílico (BA) (33.8 g) para preparar la solución de TFA al 8%/agua al 7.5% / alcohol bencílico al 84.5%).

40 7b.3 Preparación del regulador:

Para hacer 1000 ml de fosfato 0.17 M (pKa2=7.2) Regulador: pH=6,5, formular dos reguladores de almacenamiento: A. disolver 13.26 g de fosfato de sodio monobásico, anhidro NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O (Mr=119.98) en 650 ml de agua pura y B disolver 10.82 g de fosfato de sodio dibásico, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> anhidro (Mr=141.96) en 650 ml de agua pura. Añadir regulador B al regulador A mientras se mezcla hasta pH=6.50 a la temperatura del laboratorio de 25°C.

## ES 2 640 648 T3

### Alternativa:

- 5 Para preparar 1000 ml de regulador de fosfato de sodio 0.17 M a pH 6.5: En ~800 ml de agua DI, disolver 16.26 g de fosfato de sodio monobásico, dihidratado ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , FW=156.01) y 11.70 g de fosfato de sodio dibásico dihidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , FW=177.99) y añadir suficiente agua adicional para producir 1000 ml, a la temperatura del laboratorio de 25°C.
- 7b.4 Preparación de la solución de polímero
- A un vial de vidrio de 20 mL se añade polímero-PEG, 591.3 mg
  - Se añaden 5978.6 mg de acetato de etilo al vial de vidrio y se agita durante la noche para dar una solución de polímero-EA.
- 10 7b.5 Preparación de solución acuosa:
- Brij®100 al 0.12%, alcohol bencílico al 4%, DMSO al 5.7% en agua
  - A una botella de 1 L, añadir 1.4 g de Brij® 100 y 901.6 g de agua DI y mezclar en una placa de agitación hasta que se disuelva.
  - Se añaden 40 g de alcohol bencílico y 57 g de DMSO a Brij®/agua y se mezclan en una placa de agitación hasta que se disuelvan.
- 15 7b.6 Preparación de la solución del fármaco
- Pesar 253.4 mg de AZD 1152 hqpa en un vial de centelleo de 20 ml
  - Añadir 2026.8 mg de solución anterior de TFA al 8% /7.5% de agua/BA a AZD1152
  - Añadir 535.5 mg de solución de pamoico/DMSO por encima del 29% a la solución de fármaco y agitar con vórtex para obtener una solución de fármaco transparente
  - Justo antes de la formulación, combinar el fármaco y la solución de polímero.
- 20 7b.7 Formación de la emulsión. La relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de 5.5:1
- Verter la fase orgánica en una solución acuosa y se homogeneiza usando un homogeneizador de rotor/estator manual durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión gruesa. Almacenar en hielo durante 10-15 minutos.
  - Alimentar solución a través de homogeneizador de alta presión (110S) con presión ajustada a ~9.000 psi en el medidor de entrada de aire comprimido para 1 pase discreto para formar nanoemulsión
- 25 Formación de nanopartículas
- Vierta la emulsión en Quench (fosfato de sodio 0.17 M, pH 6.5) a <5°C mientras se agita sobre la placa de agitación. Asegurarse de que transcurran al menos 5 minutos desde el comienzo de la recolección, antes de detener. La proporción de emulsión a emulsión es de 3:1 en peso.
  - Se añade 35% (p/p) de Tween®80 en agua para detenerla proporción de Tween®80 20:1 a fármaco en peso.
  - Concentrar las nanopartículas mediante filtración de flujo tangencial (TFF)
  - Concentrar el detenido en TFF con 300kDa Pall casete (3x0.1 m<sup>2</sup> membranas) a ~200 mL.
- 30 7b.8 Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final no filtrada:
- Diafiltrar ~20 diavolumenes (4 litros) utilizando agua DI de temperatura ambiente.
  - Reducir el volumen a un volumen mínimo
  - Añadir 100 ml de agua DI al recipiente y bombear a través de la membrana para enjuagar.
  - Recoger el material en vial de vidrio, ~100 mL
- 35 7b.8 Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final no filtrada:
- A un vial de centelleo tarado de 20 mL añadir un volumen de suspensión final y secar al vacío en el horno de liofilización.
  - Determinar el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión seca.
- 40

7b.9 Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final filtrada de 0.45 µm:

- Filtrar una porción de la muestra de suspensión final antes de la adición de sacarosa a través de un filtro de jeringa de 0,45 µm

5 • A un vial de centelleo tarado de 20 mL, añadir un volumen de muestra filtrada y secar al vacío sobre el horno de liofilización.

7b.10 Añadir 1 parte de sacarosa a las 9 partes finales de la muestra de suspensión no filtrada para alcanzar 10% de sacarosa en peso.

7b.11 Congelar la muestra restante de la suspensión final sin filtrar con sacarosa

Ejemplo de referencia 8: Comparación de las formulaciones E, F1 y F2

10 La formulación E se describió en el Ejemplo 3. Las formulaciones F1 y F2 se describieron en el Ejemplo 2.

Exposición *in vivo*

La figura 10 muestra una comparación de la exposición *in vivo* en rata para las formulaciones E, F1 y F2. Los experimentos se realizaron como dosis únicas de 25 mg/kg en ratas y se analizaron por un método análogo al descrito en el Ejemplo 6.

15 Datos de eficacia *in vivo*

Los datos mostrados en la figura 11 muestran que las formulaciones E, F1 y F2 dan una eficacia equivalente después de la dosificación a corto plazo de ratas desnudas con xenoinjertos tumorales SW620 establecidos. Los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con los métodos descritos en el Ejemplo 5. Las ratas que portaban tumores SW620 se dosificaron con AZD1152 a 25 mg/kg diarios durante 4 días, o formulación E, F1 y F2 a 25 mg/kg los días 0 y 2. Formulación E, F1 y F2 dieron una eficacia equivalente. La eficacia fue equivalente a AZD1152 y comparable a la observada en estudios previos con AZD1152 y formulación E en este momento. El estudio se terminó al día 9 para permitir el análisis de marcadores farmacodinámicos tumorales y médula ósea. Estos datos demuestran que las formulaciones E, F1 y F2 dan una eficacia equivalente.

20

Comparación de las formulaciones de nanopartículas E, F1 y F2 sobre los biomarcadores tumorales fosfohistona H3

25 Este experimento compara el efecto de la formulación E, F1 y F2 sobre una fosforilación fosfohistona H3 (pHH3) en tumores SW620. AZD1152 se incluyó como control positivo. La actividad se midió como una inhibición de la fosforilación de histona H3 en Ser<sup>10</sup> (pHH3 como un marcador sustitutivo altamente dinámico sensible de la actividad de la quinasa Aurora B). Se calculó el nivel medio de la positividad del pHH3 [%] para las células en fase G2/M del ciclo celular para cada grupo de tratamiento a las 24 horas y 96 horas después de la primera dosis y se comparó con el nivel de pHH3 observado para las células en fase de ciclo celular G2/M que se extrajeron de los tumores tratados con BIND Placebo (referido aquí como 100%). La significancia estadística se calculó mediante la prueba t de Student, asumiendo varianzas desiguales (\* p<0,05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<001, n.s. P>0.05).

30

Las formulaciones (formulación E, F1 y F2) se dosificaron como se ha descrito anteriormente a xenoinjertos de colon SW620 establecidos en ratas hembras desnudas. Las ratas se inyectaron IV con BIND Placebo (0 mg/kg) o AZD1152 o AZD1152 hqpa formulación E/F1/F2 a 25 mg/kg el día 1 y terminaron el día 2 (24 horas después de la primera dosis) o el día 5 (96 horas después de la primera dosis). Los tumores congelados se desagregaron utilizando Medimachine (BD Biosystems), se fijaron con etanol al 80% durante un mínimo de 12 horas y se prepararon para análisis de contenido de ADN (tinción PI) y pHH3 mediante citometría de flujo utilizando analizador BD FACSCanto (anticuerpo primario pHH3:Millipore 06-570 , anticuerpo secundario: FITC Anticuerpo secundario conjugado con fluoresceína IgG anticonejo IgG Millipore AP307F) como se describió previamente por Wilkinson, RW et al., Clin Cancer Res, 2007; 13(12).

35

La figura 12 muestra que la proporción de células positivas para pHH3 dentro de la fase G2/M del ciclo celular fue suprimida al máximo por AZD1152 a las 24 horas. Los tumores expuestos a las formulaciones E o F1, F2 mostraron menos reducción en pHH3 a las 24 horas después de la dosis única en comparación con los animales que recibieron AZD1152. A las 96 horas, los niveles de reducción de pHH3 fueron comparables en todos los grupos.

45

Estos datos muestran que las formulaciones E, F1 y F2 dan una supresión equivalente de pHH3 y, por tanto, actividad de Aurora quinasa B durante un transcurso de tiempo de dosis única.

Efectos de las formulaciones E, F1 y F2 en la médula ósea.

Este ejemplo muestra los efectos de las formulaciones en la médula ósea evaluadas por dos medidas independientes.

50 Las ratas se inyectaron IV con BIND placebo (0 mg/kg), o AZD1152/AZD1152 hqpa formulación E/F1/F2 a 25 mg/kg en los momentos indicados y sacrificados en los momentos indicados.

Se extrajeron muestras de médula ósea de cada animal. En primer lugar, las muestras de médula ósea se procesaron para la evaluación patológica. Las articulaciones femuro-tibiales se tomaron a 10% de formalina regulada, se descalcificaron usando procedimientos estándar, se embebieron en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina. La evaluación patológica de la hipovolemia de la médula ósea fue realizada por un patólogo (Figura 13). La integridad de la médula ósea fue anotada por el patólogo. Se generó una puntuación de hipocelularidad de médula ósea basada en un sistema de puntuación de 0-4, representando 0 ningún efecto en la médula ósea y representando 4 un efecto máximo en la médula ósea. Las cifras muestran la mediana, los intervalos de confianza del 95% y el intervalo para cada grupo de animales en el día 5 y 9. Los datos muestran que mientras que AZD1152 tiene un gran impacto en la médula ósea, cada una de las formulaciones en nanopartículas de AZD1152 hqpa muestra efectos mínimos equivalentes en la médula ósea.

En segundo lugar, se realizan enjuagues de médula ósea para examinar la celularidad de la médula ósea mediante FACS. Al final se tomó médula ósea de cada fémur en 50% FBS y 50% PBS en hielo. Las células se sedimentaron por centrifugación a 4°C y se resuspendieron en PBS. Las células se sedimentaron de nuevo a 4°C y se volvieron a suspender en PBS. Se añadieron 50 µl de LDS-751 (0.5 mg/ml en metanol) y las células se sometieron a vórtex. Finalmente las células filtraron a través de un filtro de 50 micras en un tubo FACS. Las muestras se analizaron en un FACS Canto (Beckton Dickinson). Los resultados se muestran en la Figura 14. Una hipocelularidad de médula ósea se representa como un total de células nucleadas en relación con controles no tratados. Se muestra el porcentaje de celularidad de cada muestra de médula ósea en cada animal individual. La línea punteada representa el porcentaje más bajo de valor de células nucleadas totales visto en animales que reciben únicamente vehículo (nanopartícula vacía). Los resultados muestran que mientras que AZD1152 tiene un gran impacto en la médula ósea, cada una de las formulaciones en nanopartículas de AZD1152 hqpa mostró efectos mínimos equivalentes en la médula ósea.

#### Ejemplo 9: Datos para las Formulaciones G

##### Comparación de las formulaciones de nanopartículas G1 y G2 en los biomarcadores tumorales fosfohistona H3

Este experimento compara el efecto de la formulación G1 y G2 sobre una fosforilación fosfohistona H3 (pHH3) en tumores SW620. AZD1152 se incluyó como control positivo.

La actividad se midió como una inhibición de la fosforilación de histona H3 sobre Ser<sub>10</sub> (pHH3 como un marcador sustitutivo, altamente dinámico, sensible de la actividad de la quinasa Aurora B). Se calculó el nivel medio de positividad del pHH3 [%] para las células en la fase G2/M del ciclo celular para cada grupo de tratamiento a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de 1 dosis y se comparó con el nivel de pHH3 observado para las células en la fase del ciclo celular G2/M que se extrajeron de los tumores tratados con BIND Placebo (referido aquí como 100%).

Las formulaciones (formulación G1 y G2) se dosificaron como se ha descrito anteriormente a los xenoinjertos de colon SW620 establecidos en ratas hembras desnudas. Las ratas se inyectaron IV con BIND Placebo (0 mg/kg) o AZD1152 o AZD1152 hqpa formulación G1 o G2 a 25 mg/kg el día 1 y terminaron el día 2 (24 horas después de la primera dosis), día 3 (48 horas después de la primera dosis), día 4 (72 horas después de la primera dosis), día 5 (96 horas después de la primera dosis) y día 6 (120 horas después de la primera dosis). Los tumores congelados se desagregaron utilizando Medimachine (BD Biosystems), se fijaron con etanol al 80% durante un mínimo de 12 horas y se prepararon para análisis de contenido de ADN (tinción PI) y pHH3 mediante citometría de flujo utilizando analizador BD FACSCanto (anticuerpo primario pHH3: Millipore 06-570, anticuerpo secundario: FITC Anticuerpo secundario conjugado con fluoresceína IgG anticonejo IgG Millipore AP307F) como se describió previamente por Wilkinson, RW et al., Clin Cancer Res, 2007; 13(12).

La figura 15 muestra que la proporción de células positivas para pHH3 dentro de la fase G2/M del ciclo celular fue suprimida al máximo por AZD1152 a las 24 horas. Los tumores expuestos a las formulaciones G1 o G2 mostraron menos reducción en pHH3 a las 24 horas después de la dosis única en comparación con los animales que recibieron AZD1152. La reducción máxima de la actividad de pHH3 ocurre entre 72 y 120 horas después de la primera dosis de formulaciones G1 o G2. Estos datos muestran que las formulaciones G1 y G2 suprimen pHH3 y, por tanto, la actividad de Aurora quinasa B durante un transcurso de tiempo de dosis única.

##### Efectos de las formulaciones G1 y G2 en la médula ósea.

Este ejemplo muestra los efectos de las Formulaciones sobre la médula ósea.

A las ratas se les inyectó IV con BIND Placebo (0 mg/kg), o AZD1152 hqpa formulación G1 o G2 a 25 mg/kg en los días 1 y 3 y se sacrificaron en los momentos indicados.

Se extrajeron muestras de médula ósea de cada animal y se procesaron para la evaluación patológica. Las articulaciones femuro-tibiales se llevaron a 10% de formalina regulada, se descalcificaron usando procedimientos estándar, se embebieron en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina. La evaluación patológica de la hipocelularidad de la médula ósea fue realizada por un patólogo (Figura 16). La integridad de la médula ósea fue anotada por el patólogo. Se generó una puntuación de hipocelularidad de médula ósea basada en un sistema de puntuación de 0-4, representando 0 ningún efecto en la médula ósea y representando 4 un efecto máximo en la médula ósea. Las cifras muestran las puntuaciones de animales individuales en cada grupo de animales en el día 5 y

9. Los datos muestran que cada una de las formulaciones en nanopartículas comprobadas de AZD1152 hqpa muestran hipocelularidad mínima a leve de la médula ósea al día 5 que ha vuelto a niveles similares como el placebo BIND al día 9.

Estudio de eficacia de xenoinjerto de células B difusas grandes U2932

5 Se cultivaron ratones scid hembra en Charles River. Los animales se inocularon en el flanco con células tumorales humanas U2932, y luego se asignaron al azar al estudio cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 0.25 cm<sup>3</sup>. Se dosificó AZD1152 en vehículo regulador tris a la concentración indicada. Se dosificó formulación de AZD1152 hqpa en nanopartículas G1 en solución salina fisiológica. En el modelo U2932 en ratón, la formulación de nanopartículas G1 demostró una eficacia equivalente a AZD 1152 IV a una dosis total de 100 mg/kg y esta eficacia se alcanzó a la  
10 dosis total más baja de sólo 50 mg/kg mostrando que dosis más bajas de la formulación en nanopartículas de AZD1152 hqpa son equivalentes a una formulación IV de AZD1152.

La figura 17 muestra los datos de un estudio de eficacia con la formulación G1 en el xenoinjerto U2932 en el ratón scid. Los ratones que llevaban tumores U2932 se dosificaron por vía intravenosa con AZD1152 a 25 mg/kg diarios en los días 26-30 después del implante del tumor (dosis total 100 mg/kg) o formulación G1 25 mg/kg en los días 26 y 28  
15 después del implante tumoral (dosis total 50 mg/kg). Estos datos demuestran que la formulación G1 da una eficacia equivalente a AZD 1152 sólo a la mitad de la dosis.

Estudio de eficacia del explante derivado del paciente SC-61 SCLC

Se criaron ratones desnudos hembra en Harlan. Los animales se inocularon en el flanco con fragmentos de tumor humano SC-61 y luego se asignaron al azar al estudio cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 0.2 cm<sup>3</sup>. Se  
20 dosificó AZD1152 en vehículo regulador tris a la concentración indicada. Se dosificó formulación de nanopartículas G1 de AZD1152 hqpa en solución salina fisiológica. En el modelo SC-61 en ratón, la formulación de nanopartículas G1, a una dosis total de 50 mg/kg demostró una eficacia equivalente a AZD1152 IV a una dosis total de 100 mg/kg.

La figura 18 muestra los datos de un estudio de eficacia con la formulación G1 en el explante derivado del paciente SC-61 en el ratón desnudo. Los ratones que llevaban tumores SC-61 se dosificaron por vía intravenosa con AZD1152  
25 a 25 mg/kg al día en los días 0-3 después de la asignación al azar (dosis total 100 mg/kg) o formulación G1 25 mg/kg en los días 0 y 2 después de la asignación tumoral al azar (dosis total 50 mg / kg).

Estos datos demuestran que la formulación G1, a sólo la mitad de la dosis, da un control tumoral más largo que AZD1152 en este modelo.

Exposición *in vivo* de las formulaciones G1 y G2

30 La figura 19 muestra datos de exposición *in vivo* para las formulaciones G1 y G2, superpuestas a las de las formulaciones E y F de la figura 10. Todos los datos se generaron a partir de una dosis única de la formulación relevante a 25 mg/kg en ratas y se analizaron mediante un método análogo al descrito en el Ejemplo 6. Las figuras 19a-19e muestran cada una de las líneas de datos individuales por separado.

Ejemplo 10: Condiciones de HPLC adecuadas para medir la liberación *in vitro*

35 Parámetros del instrumento

Rata de flujo	0.300 mL/min
Bucle de muestra	20 µL
Volumen de inyección	5 µL
Temperatura del inyector automático	5°C
Temperatura de la columna	30°C
Longitud de onda del detector	240 nm
Rata de muestreo	20 puntos/segundos
Tiempo de ejecución	8 min

Programa de gradiente de la bomba

## ES 2 640 648 T3

Tiempo	Fase Móvil A (%)	Fase Móvil B (%)	Pendiente de gradiente
0.0	85	15	6
4.0	80	20	6
5.0	50	50	6
6.0	15	85	6
6.1	85	15	6
8	85	15	6

Fase móvil-A: 0.10% de TFA en agua: Llenar una botella de vidrio de 2 litros con 2 litros de agua purificada. Añadir  $2.0 \pm 0.1$  mL de TFA y mezclar.

Fase móvil B: TFA al 0.08% en acetonitrilo: Llenar una botella de medio de vidrio de 2 litros con acetonitrilo 2 litros. Añadir  $1.6 \pm 0.1$  mL de TFA y mezclar.

Columna HPLC: Waters Acquity CSH C18, 2.1 x 150 mm, 3  $\mu$ m (P/N 186005298)

### Ejemplo 11

A continuación se muestran los datos de lote para 3 lotes de formulaciones G1 que contienen ácido pamoico. El tamaño de partícula se midió por dispersión dinámica de la luz.

Lote	Carga de AZD1152 hqpa (%)	Tamaño medio de partícula (nm)	proporción pamoico:AZD1152 hqpa
A	17.0	87.9	0.76
B	19.9	98.4	0.60
C	19.0	85.1	0.73
Media	18.6	90.5	0.70
<b>Estándar</b>	1.5	7.0	0.09
+3 STD	23.1	111.5	0.95
-3 STD	14.2	69.4	0.44

5

Los perfiles de liberación *in vitro* a 37°C para estos lotes se muestran en la figura 20.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una nanopartícula terapéutica que comprende 55 a 85 por ciento en peso de copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende 10 a 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, 5 a 20 por ciento en peso de ácido pamoico y 10 a 25 por ciento en peso de 2-(3-((7-(3-(etil(2-hidroxi)etil)amino)propoxi)quinazolin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)-N-(3-fluorofenil)acetamida ("AZD1152 hqpa").
2. La nanopartícula terapéutica como se reivindica en la reivindicación 1, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de 15 kDa a 20 kDa y un peso molecular medio numérico de 4 kDa a 6 kDa de polietilenglicol.
- 10 3. La nanopartícula terapéutica de la reivindicación 2, en la que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de 16 kDa y un peso molecular medio numérico de 5 kDa de poli(etilen)glicol.
4. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende de 15 a 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa.
- 15 5. Una nanopartícula terapéutica como se reivindica en la reivindicación 1, que comprende 15 a 25 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa, 7 a 15 por ciento en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende un 10 a un 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico) poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de 16 kDa y un peso molecular medio numérico de 5 kDa de poli(etilen)glicol.
- 20 6. Una nanopartícula terapéutica como se reivindica en la reivindicación 1, que comprende 15 a 22 por ciento en peso de AZD 1152 hqpa, 7 a 10 por ciento en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende un 10 a un 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de 16 kDa y un peso molecular medio numérico de 5 kDa de poli(etilen)glicol; en el que menos de 20% de la hqpa AZD1152 se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C.
- 25 7. Una nanopartícula terapéutica como se reivindica en la reivindicación 1, que comprende 15 a 22 por ciento en peso de AZD1152 hqpa, 7 a 10 por ciento en peso de ácido pamoico, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que la nanopartícula terapéutica comprende 10 a 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol y el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de 16 kDa y un peso molecular medio numérico de 5 kDa de poli(etilen)glicol; en la que menos de 20% de la AZD1152 hqpa se libera de la nanopartícula después de 30 horas en PBS y polisorbato 20 a 37°C, y en el que las nanopartículas se hacen mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:
- 30 1) combinar una primera fase orgánica que comprende un copolímero PLA-PEG de 16:5, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo están presentes en una relación molar de 1:3.6 y el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico: 1 mol de AZD1152 hqpa; con una primera solución acuosa que comprende un éter estearílico de polioxietileno (100) en agua, DMSO y alcohol bencílico) para formar una segunda fase, en la que la relación de la fase acuosa a la fase orgánica es de 5.5:1;
- 35 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 40 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención, tal como de 10 a 15 minutos, convenientemente a aproximadamente 0°C, por ejemplo, sumergiéndose en un baño de hielo;
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos, por ejemplo 10 minutos;
- 45 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador a pH 6.5, en donde la relación de la segunda solución acuosa a emulsión está entre 2:1 y 10:1, tal como 3:1;
- 7) añadir una solución acuosa de tensioactivo a la solución de detención;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.
- 50 8. La nanopartícula terapéutica como se reivindica en la reivindicación 1, que consiste en 15-19% en peso de AZD1152 hqpa, ácido pamoico en una relación molar de 0.76 con respecto a AZD1152 hqpa, y un copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en el que el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular medio numérico de poli(ácido láctico) de 16 kDa y un peso molecular medio numérico de 5 kDa de poli(etilen)glicol.

9. Una nanopartícula terapéutica como se reivindica en la reivindicación 3, en la que la nanopartícula terapéutica libera menos del 20% de AZD1152 hqpa después de 30 horas en solución reguladora de fosfato y polisorbato 20 a 37°C.
10. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 que tiene un diámetro hidrodinámico de 70-140 nm.
- 5 11. Una composición farmacéuticamente aceptable que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables.
12. Una nanopartícula terapéutica como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso como medicamento.
- 10 13. Una composición como se reivindica en la reivindicación 11 para su uso como medicamento.
14. Nanopartícula terapéutica como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso como medicamento para el tratamiento del cáncer.
15. Una composición como se reivindica en la reivindicación 11 para su uso como medicamento para el tratamiento del cáncer.
- 15 16. Una nanopartícula terapéutica para uso como un medicamento para el tratamiento de cáncer como se reivindica en la reivindicación 14, en la que el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o un cáncer hematológico, tal como leucemia mieloide aguda (AML) o linfoma difuso de células B grandes (DLBCL).
17. Una composición para uso como medicamento para el tratamiento de cáncer como se reivindica en la reivindicación 15, en la que el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o un cáncer hematológico, tal como AML o DLBCL.
- 20 18. Una combinación adecuada para su uso en el tratamiento de cáncer que comprende una composición farmacéuticamente aceptable como se reivindica en la reivindicación 11 y otro agente antitumoral.
19. Una combinación como se reivindica en la reivindicación 18, en la que el otro agente antitumoral se selecciona de:
- a) regímenes quimioterapéuticos de cuidado estándar que incluyen la sustitución o el aumento de quimioterapias antimetabólicas en tumores sólidos y cánceres hematológicos, tales como taxanos y alcaloides vinca;
- 25 b) terapias dirigidas a la respuesta al daño del ADN, incluyendo agentes que inhiben la reparación del daño del ADN y el ciclo celular; y
- c) terapias mediadas por inmunidad, incluyendo inhibidores del bloqueo de control inmune tal como terapias dirigidas a CTLA4, PD-1 y PDL-1.
20. Un kit de partes que comprende:
- 30 a) una composición farmacéutica liofilizada que comprende nanopartículas como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10; y
- b) instrucciones de uso.
21. Un procedimiento para preparar una nanopartícula terapéutica como se reivindica en la reivindicación 1, comprendiendo dicho procedimiento:
- 35 1) combinar una primera fase orgánica que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema disolvente de TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO; con una primera solución acuosa que comprende un tensioactivo tal como colato de sodio o éter estearílico de polioxietileno (100), en agua y alcohol bencílico para formar una segunda fase;
- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión;
- 40 3) detener la fase de emulsión a <5°C, formando de este modo una fase de detención, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que tiene un pH entre 4 y 7;
- 4) añadir una solución acuosa de tensioactivo;
- 5) concentración y aislamiento de las nanopartículas resultantes por filtración.
- 45 22. Un procedimiento como se reivindica en la reivindicación 21, que comprende
- 1) combinar una primera fase orgánica que comprende un polímero en acetato de etilo, AZD1152 hqpa en un sistema

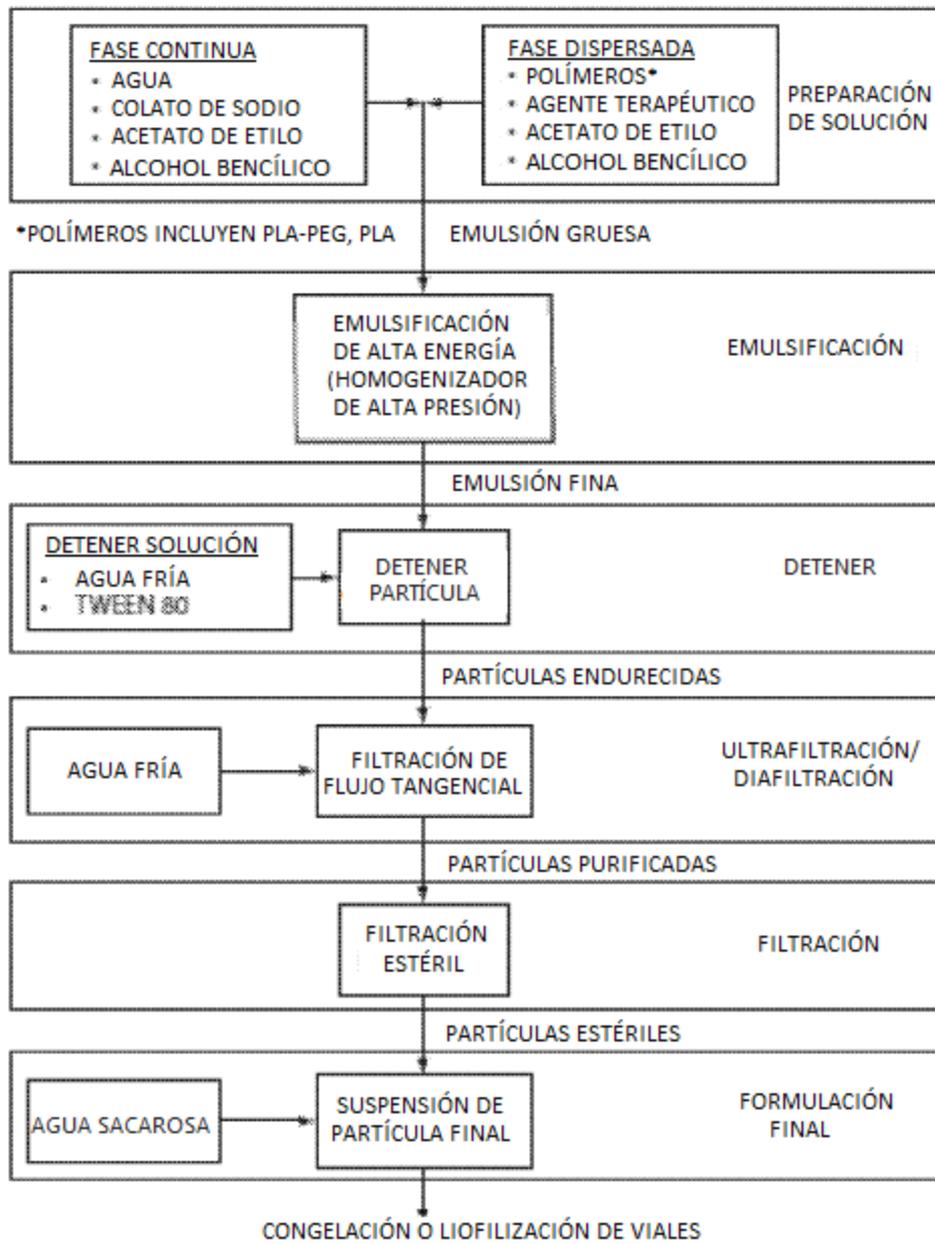
disolvente TFA/agua/alcohol bencílico y ácido pamoico en DMSO, con una primera solución acuosa que comprende un tensioactivo tal como colato de sodio o polioxietileno (100) estearil éter, en agua, DMSO y alcohol bencílico, para formar una segunda fase;

- 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 5 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención;
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende un regulador que tiene un pH entre 4 y 7 tal como pH 6.5;
- 10 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

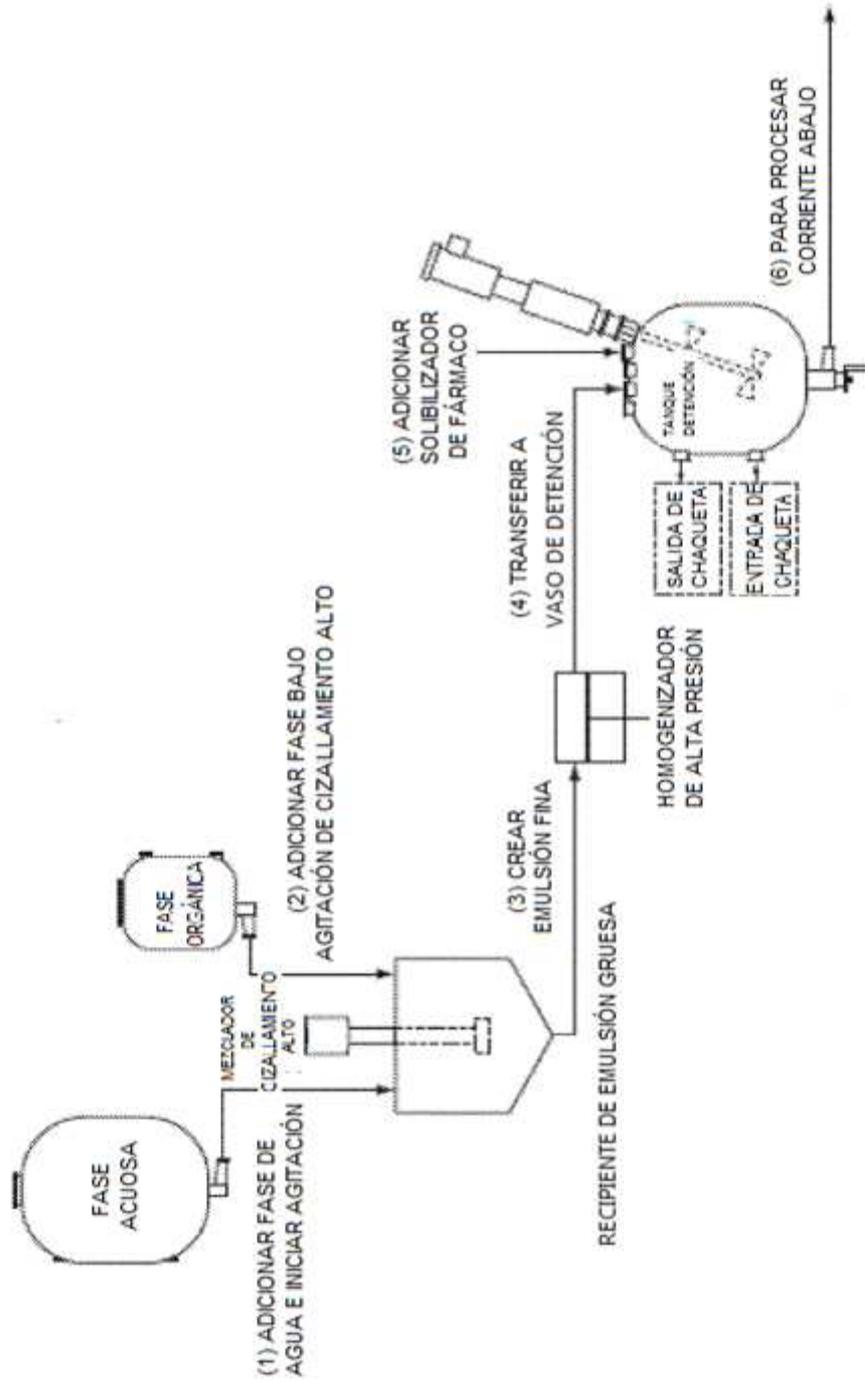
23. Un procedimiento como se reivindica en la reivindicación 22, que comprende:

- 1) combinar una primera fase orgánica que comprende un copolímero 16/5 PLA-PEG, AZD1152 hqpa y ácido pamoico en una mezcla de disolventes que comprende TFA, alcohol bencílico, DMSO y acetato de etilo de tal manera que el alcohol bencílico:acetato de etilo está presente en una proporción molar de 1:3.6, con una primera solución acuosa que comprende un tensioactivo tal como éter estearílico de polioxietileno (100), en agua, DMSO y alcohol bencílico, para formar una segunda fase;
- 15 2) emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa;
- 3) mantener la emulsión gruesa durante un tiempo de retención;
- 4) formar una nanoemulsión usando un homogeneizador de alta presión;
- 5) opcionalmente esperar un tiempo de retardo de al menos 5 minutos;
- 6) detener la fase de emulsión a 0-5°C, formando de este modo una fase detenida, en el que la detención de la fase de emulsión comprende mezclar la fase de emulsión con una segunda solución acuosa que comprende regulador a pH 6.5;
- 25 7) adicionar una solución acuosa de tensioactivo como solubilizante;
- 8) concentrar y aislar las nanopartículas resultantes por filtración.

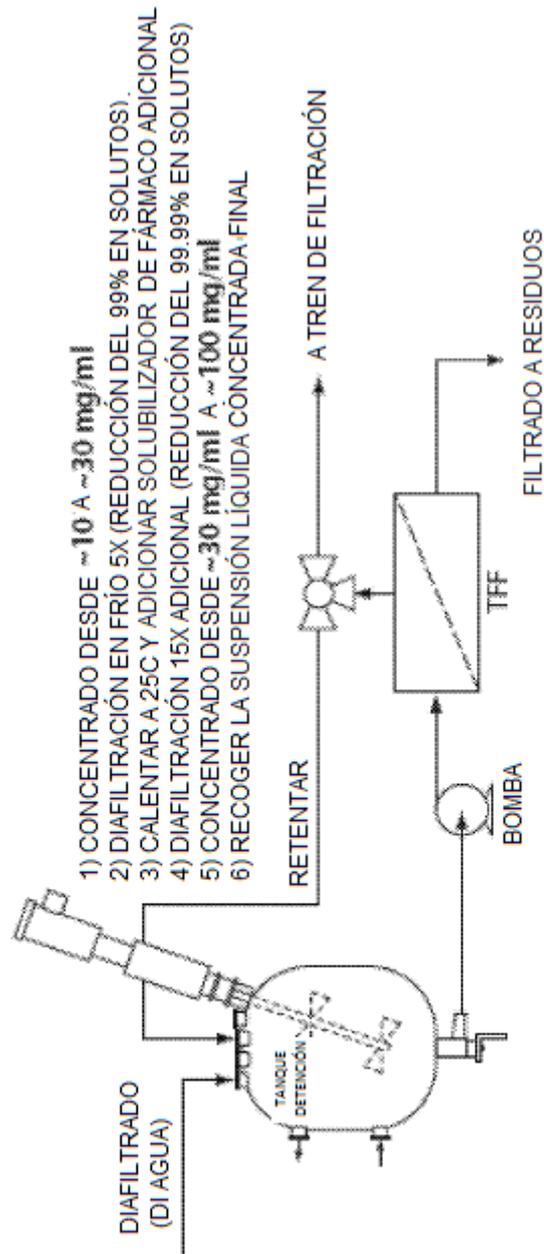
24. Un procedimiento como se reivindica en la reivindicación 23, en el que el ácido pamoico y AZD1152 hqpa se añaden a una relación inicial de 0.8 moles de ácido pamoico:1 mol de AZD1152 hqpa.



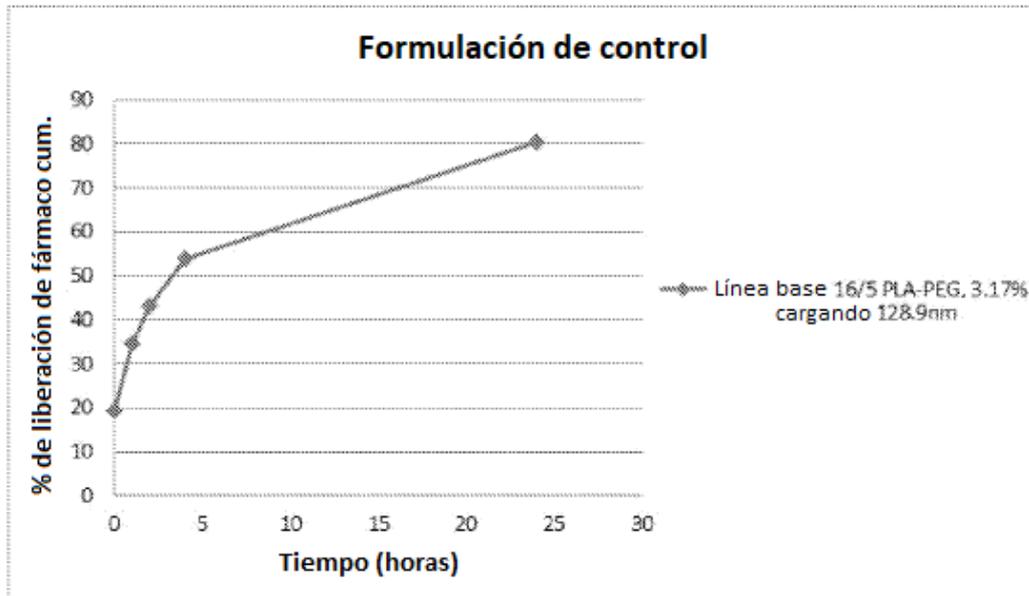
**Figura 1**



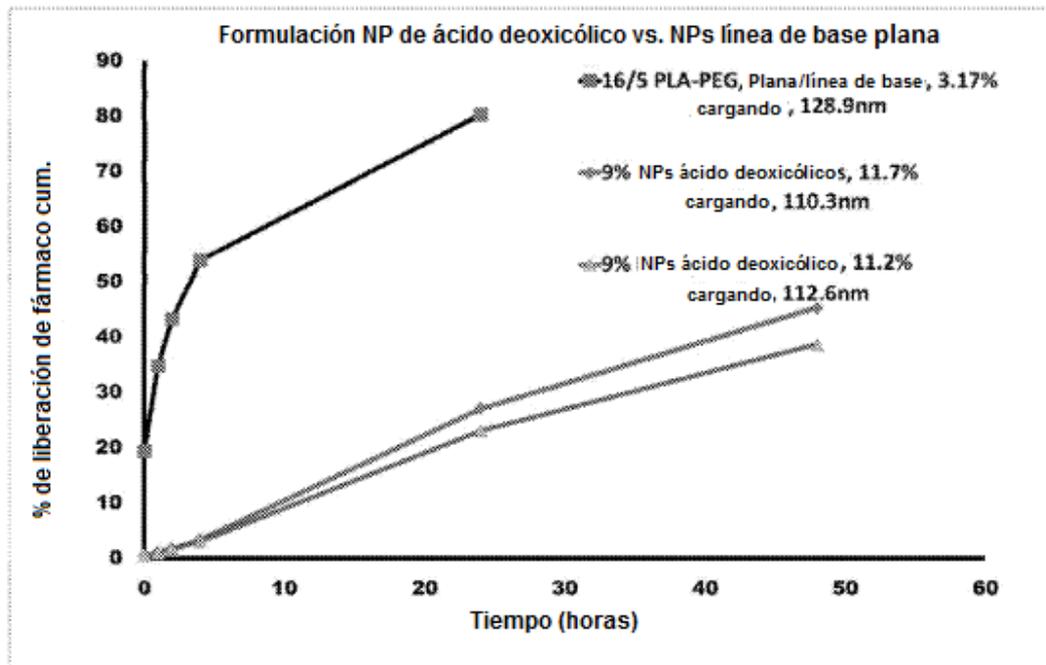
**Figura 2A**



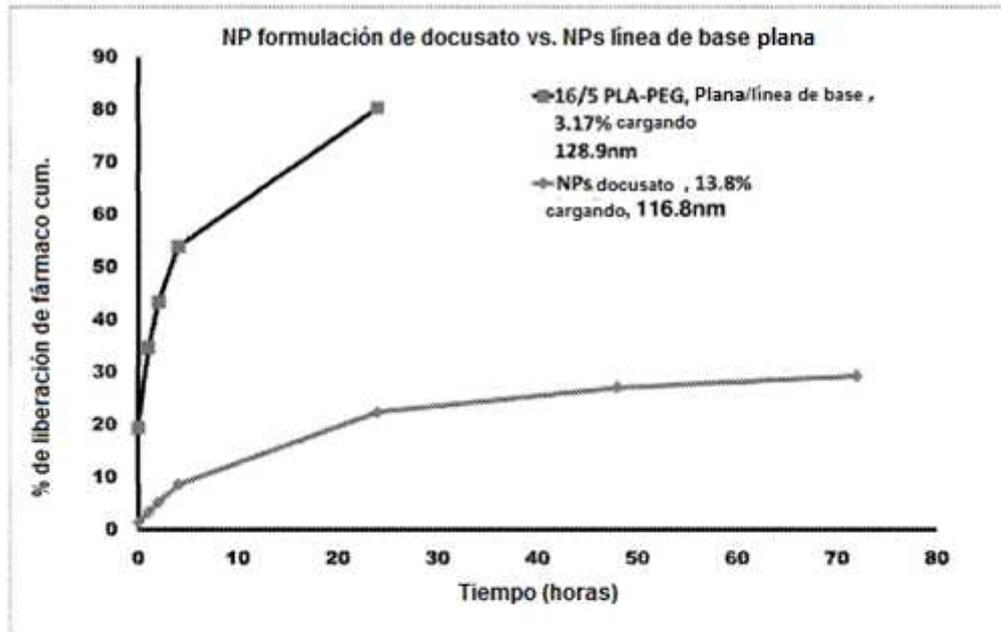
**Figura 2B**



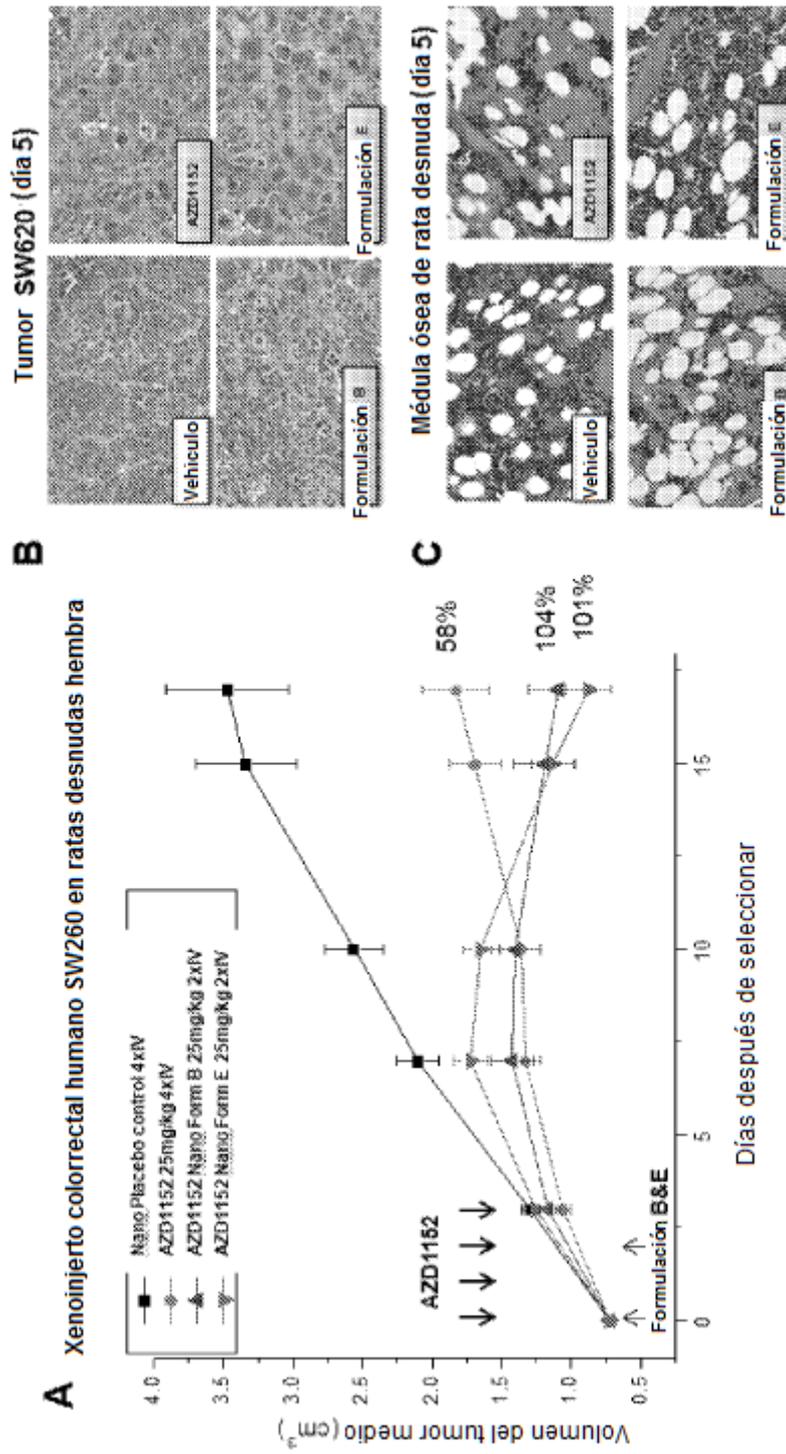
**Figura 3**



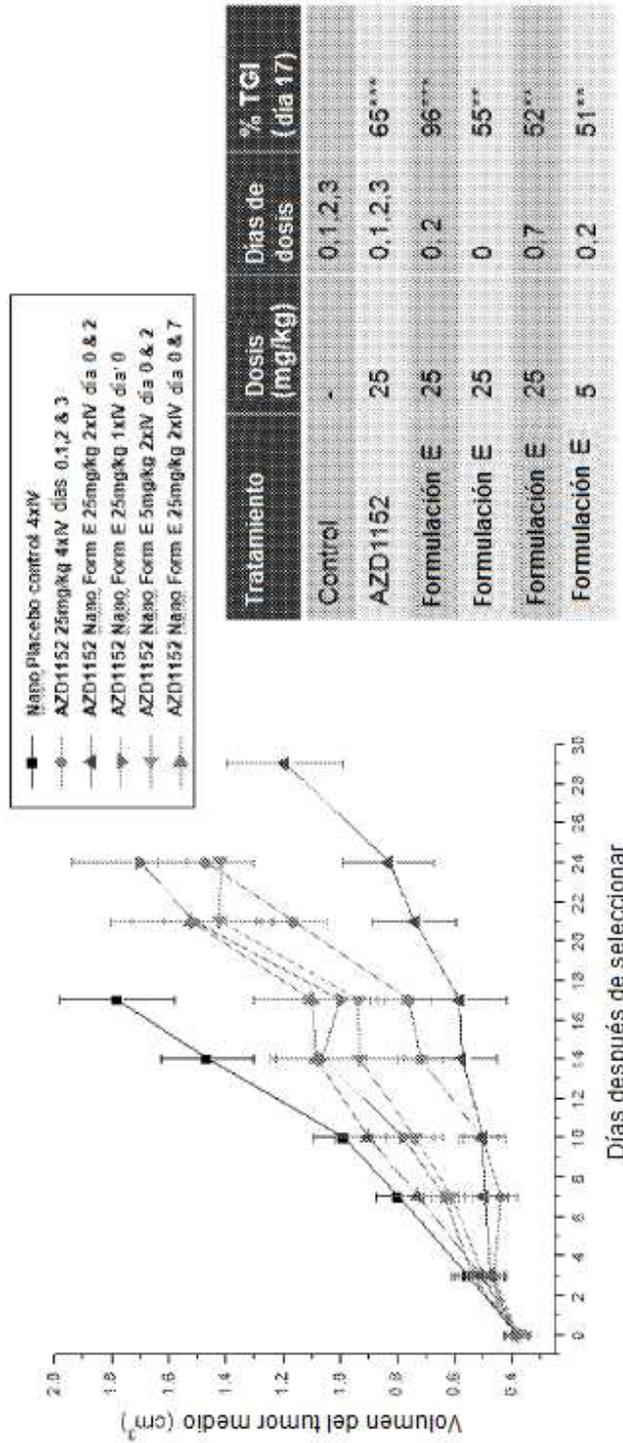
**Figura 4**



**Figura 5**



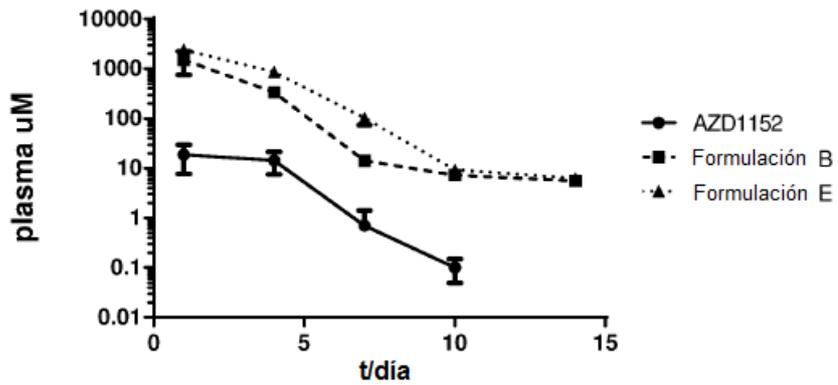
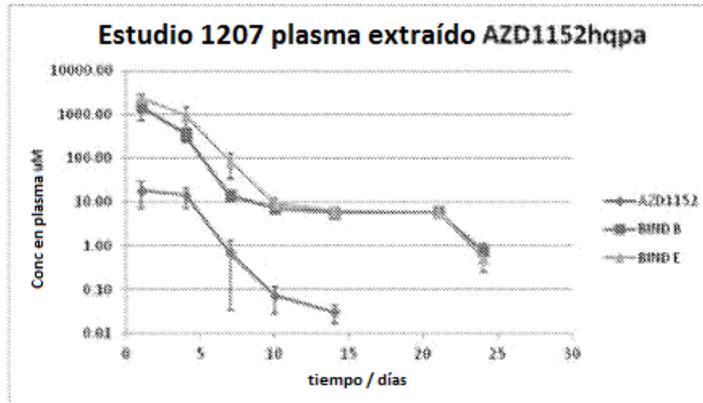
**Figura 6**



**Figura 7**

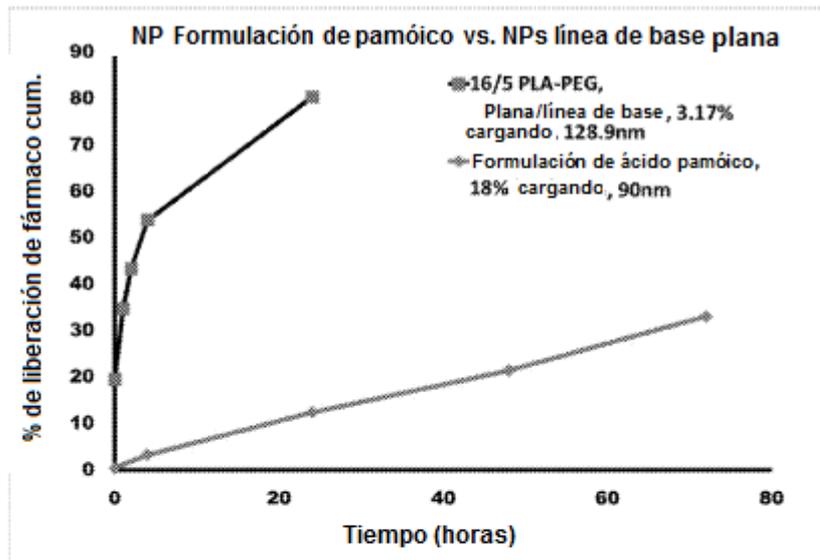
## Concentraciones en plasma (1207) Niveles extraídos totales de AZD1152hqa

AZD1152 25mg/kg bolo IV una vez al día por 4 días  
Formulación B 25mg/kg bolo IV día 1 y 8  
Formulación E 25mg/kg bolo IV día 1 y 3

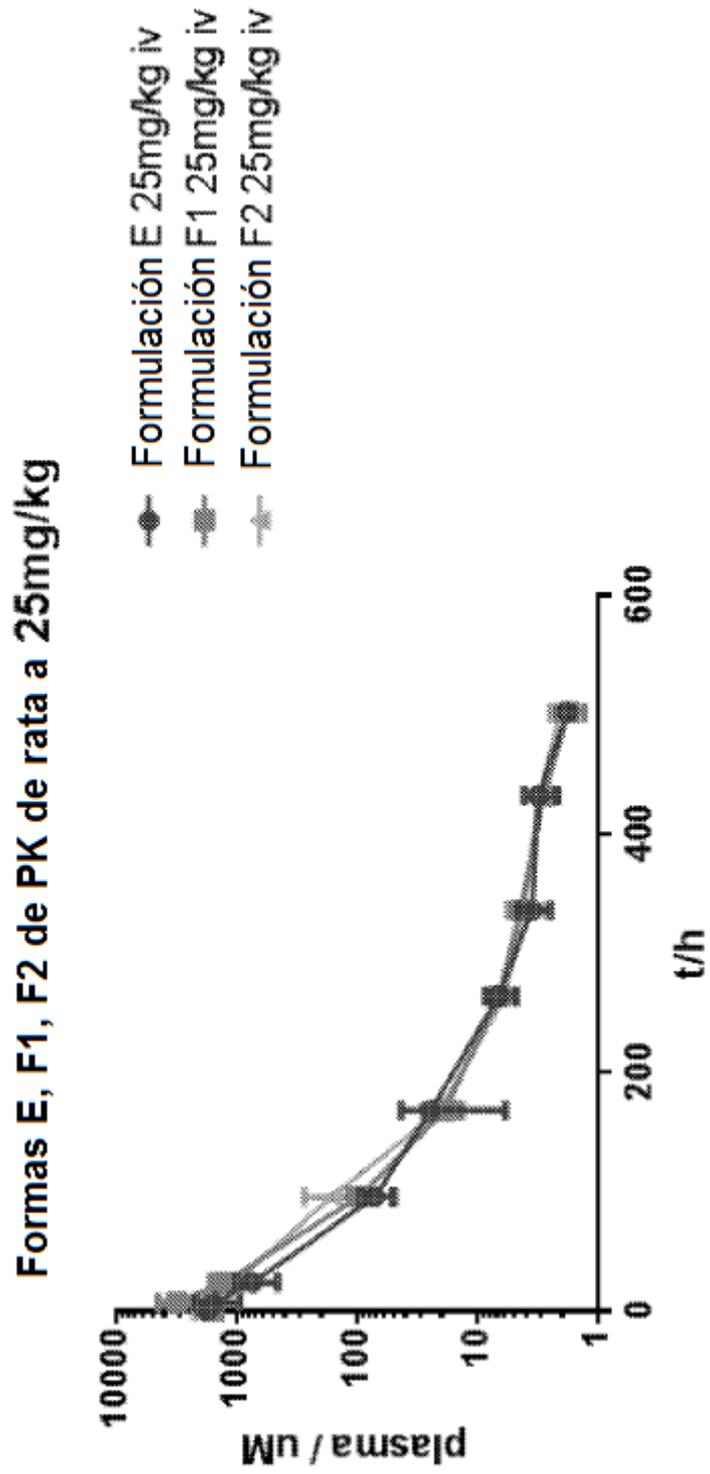


**Figura 8**

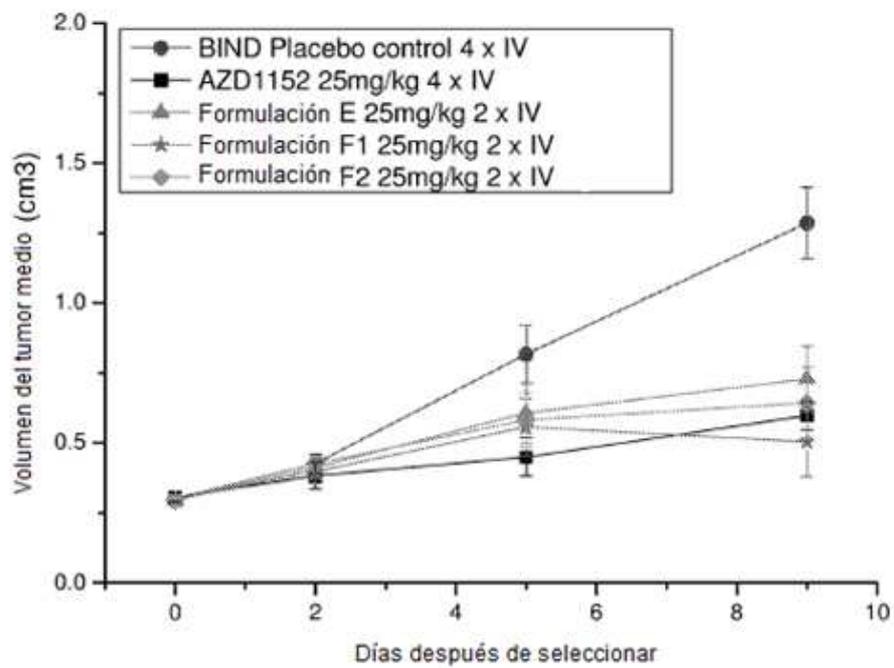
Dos representaciones que muestran los resultados de exposición in vivo del Ejemplo 6



**Figura 9**

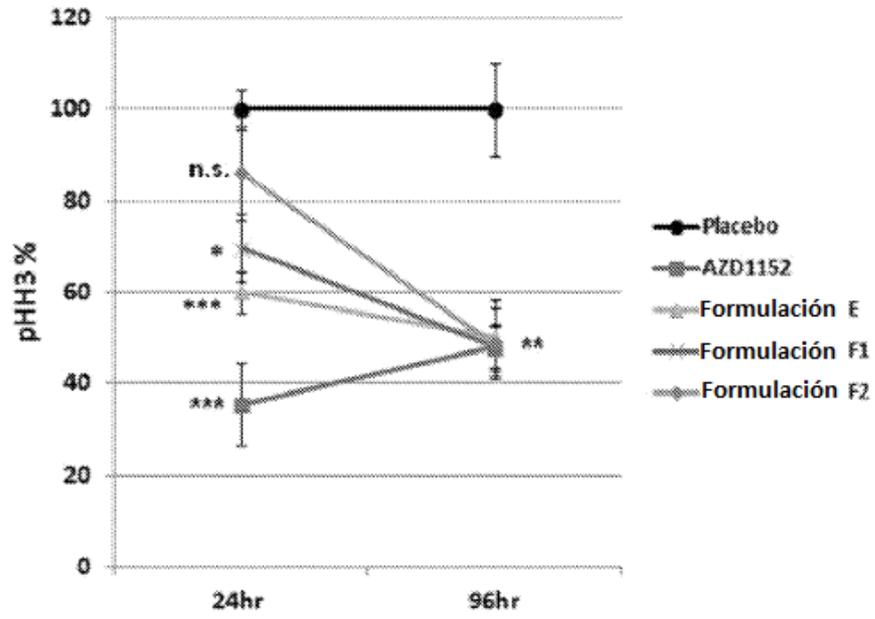


**Figura 10**



**Figura 11**

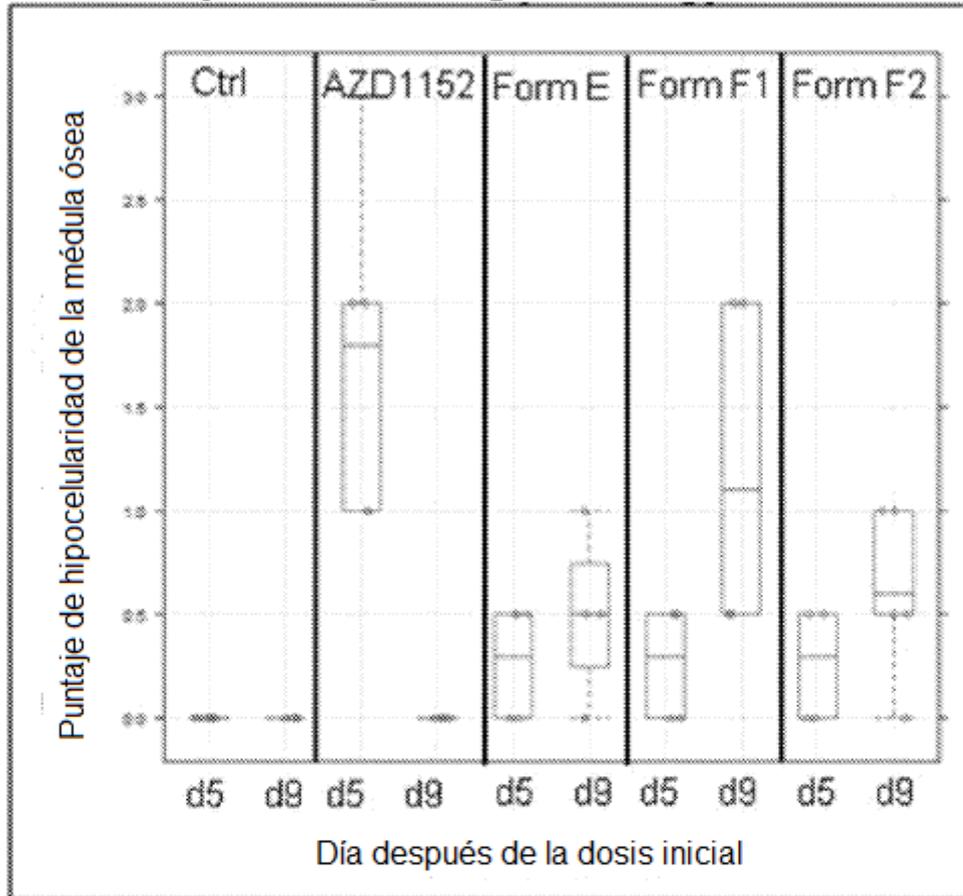
La formulación F1 y F2 dan un control tumoral equivalente a la Formulación E en las ratas que portan tumores SW629. El tamaño medio del tumor para cada grupo está representado. Las barras representan el error estándar de la media



**Figura 12**

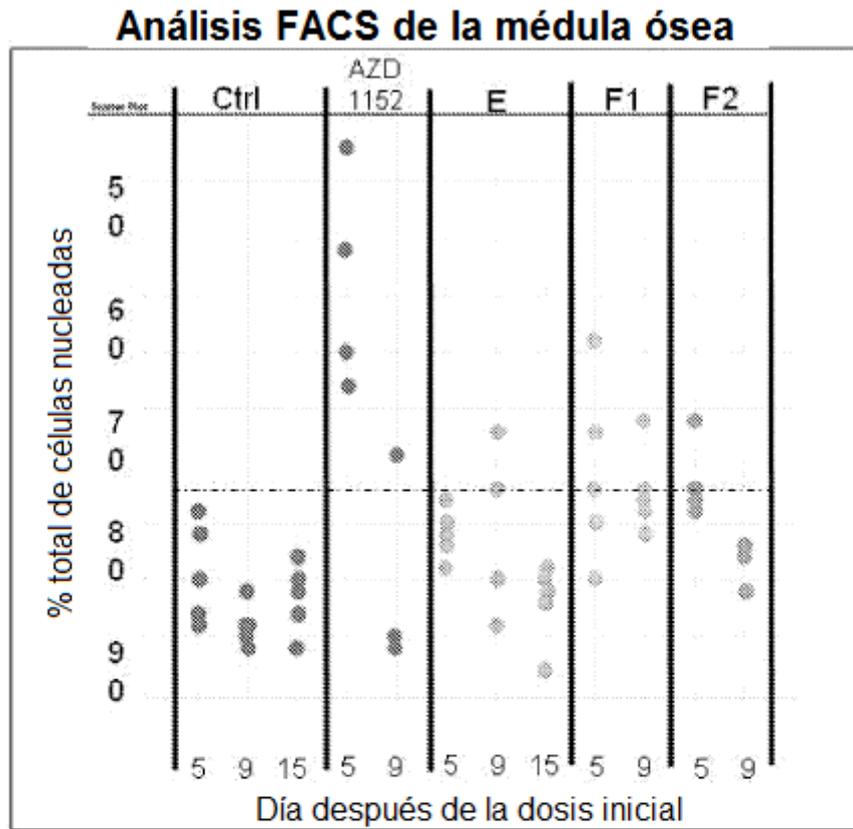
Actividad in vivo de la formulación E/F1/F2 de nanopartículas AZD1152 y AZD1152-HQPA

**Puntajes de la patología de la médula ósea**

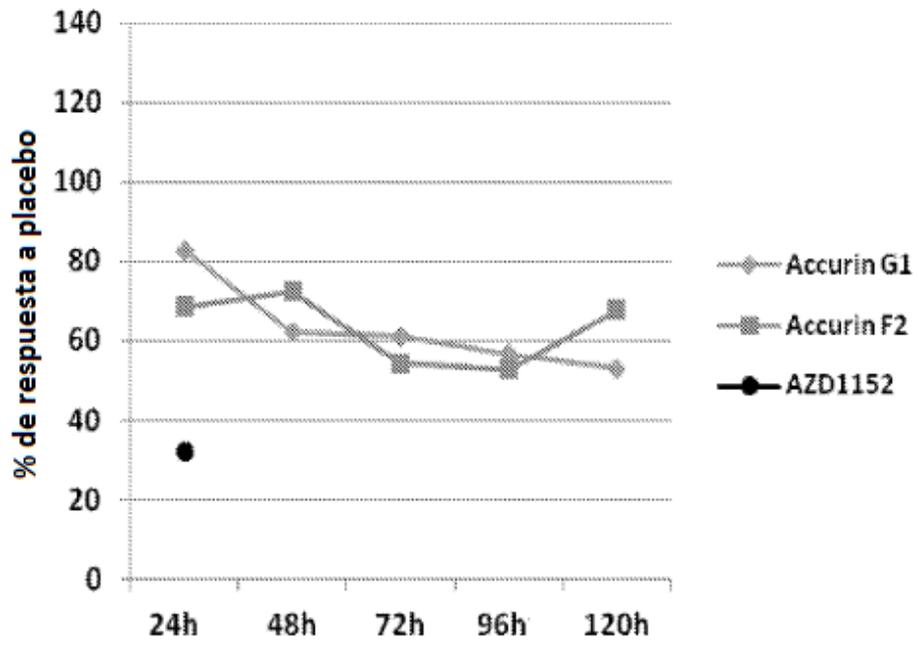


**Figura 13**

Efectos de las formulaciones E, F1, F2 en la integridad de la médula ósea.

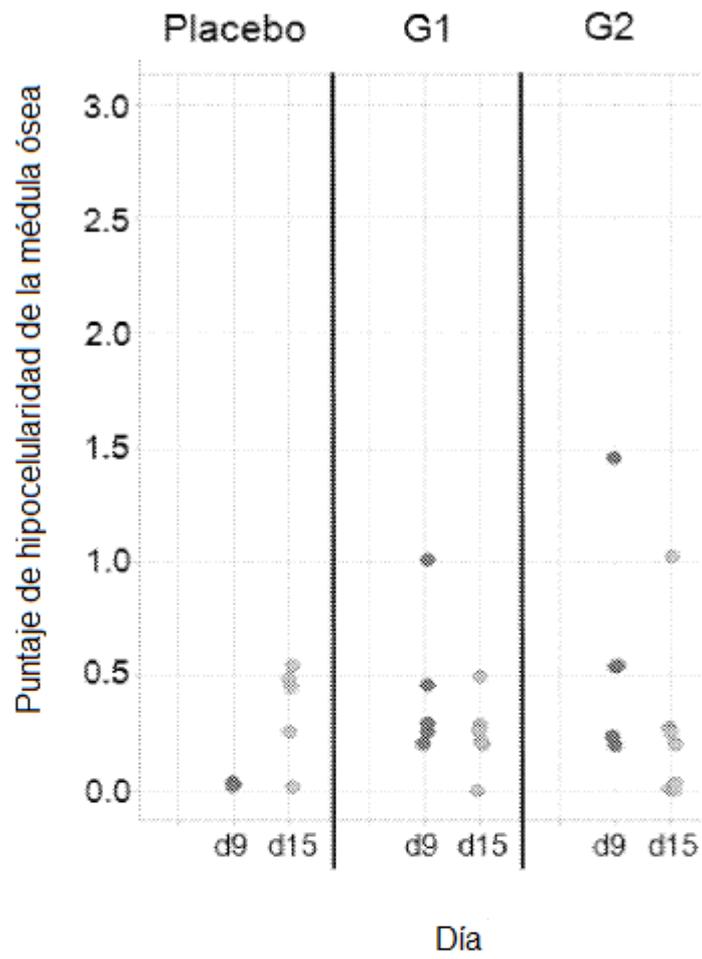


**Figura 14**  
Efectos de las formulaciones E, F1, F2 en la integridad de la médula ósea.



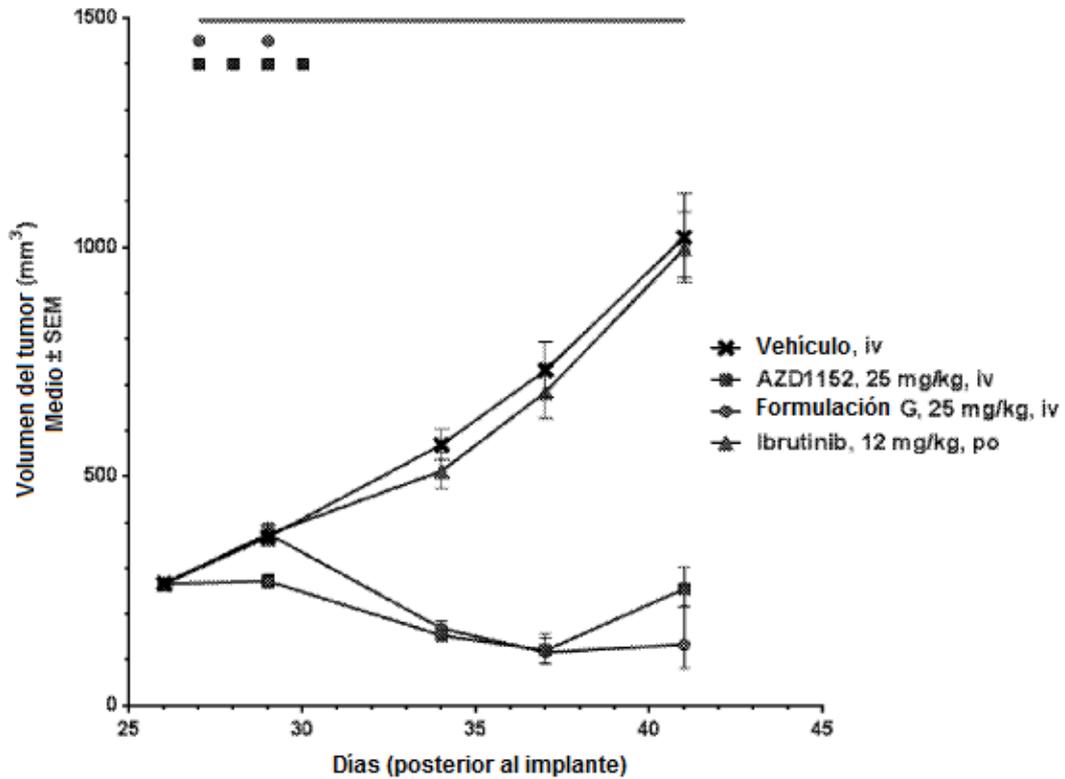
**Figura 15**

Actividad in vivo de las formulaciones G1 y G2 de nanopartículas AZD1152 y AZD1152-HQPA



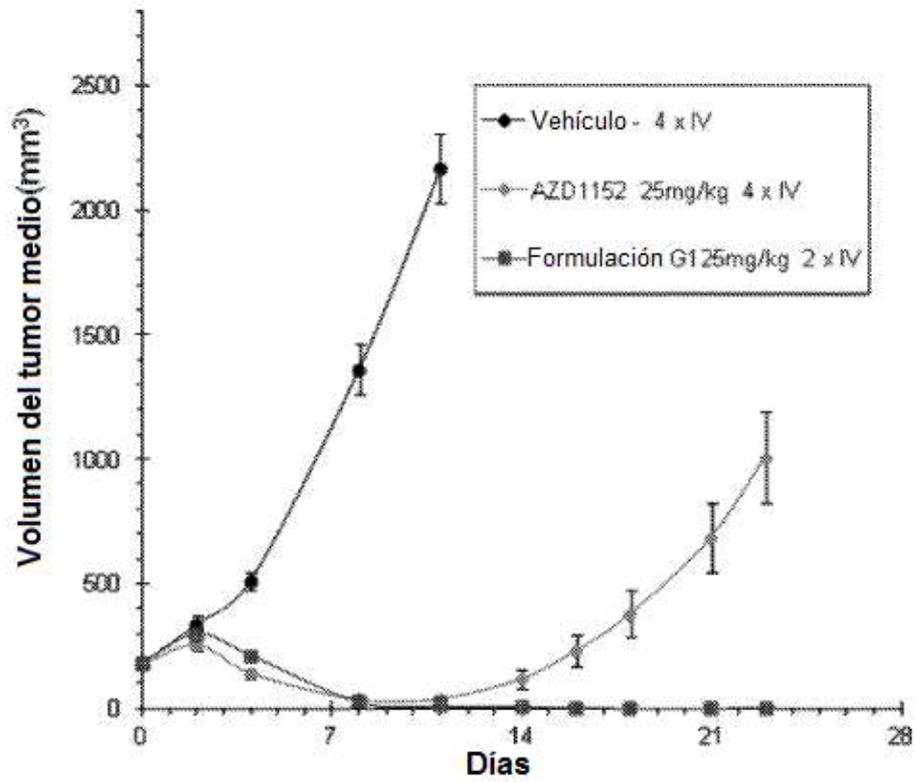
**Figura 16**  
Efectos de las formulaciones G1 y G2 en la integridad de la médula ósea.

**Eficacia: Xenoinjertos U2932Luc en SCID beige**



**Figura 17**

La formulación G1 da un control tumoral equivalente a AZD1152 en los ratones que portan tumores U2932. El tamaño medio del tumor para cada grupo está representado. Las barras representan el error estándar de la media



**Figura 18**

La formulación G1 da un control tumoral mayor que AZD1152 en los ratones que portan tumores primarios SC-61. El tamaño medio del tumor para cada grupo está representado en  $\text{mm}^3$ . Las barras representan el error estándar de la media (SEM)

**Formulaciones E, F y G 25mg/kg iv rata - Conc total**

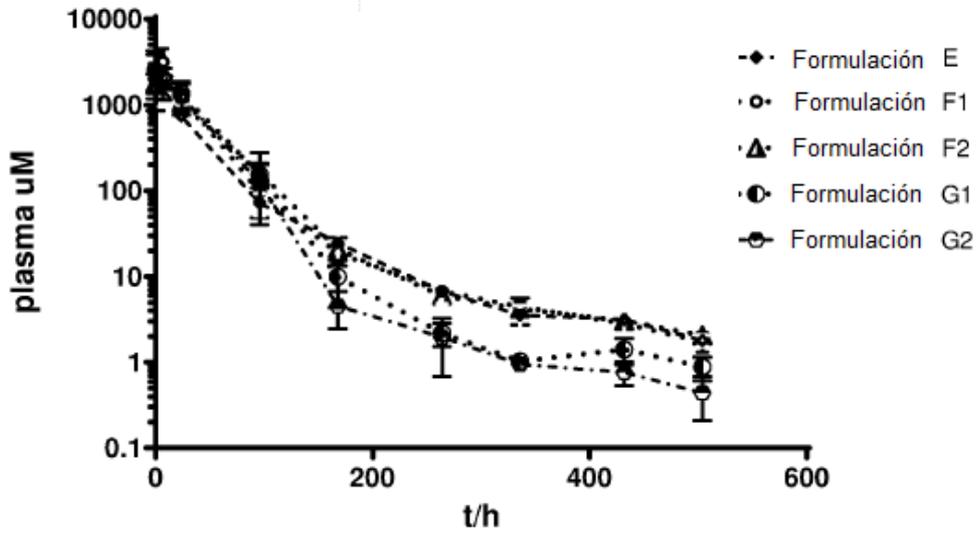


Figura 19

**Formulación E, 25mg/kg iv rata - Conc total**

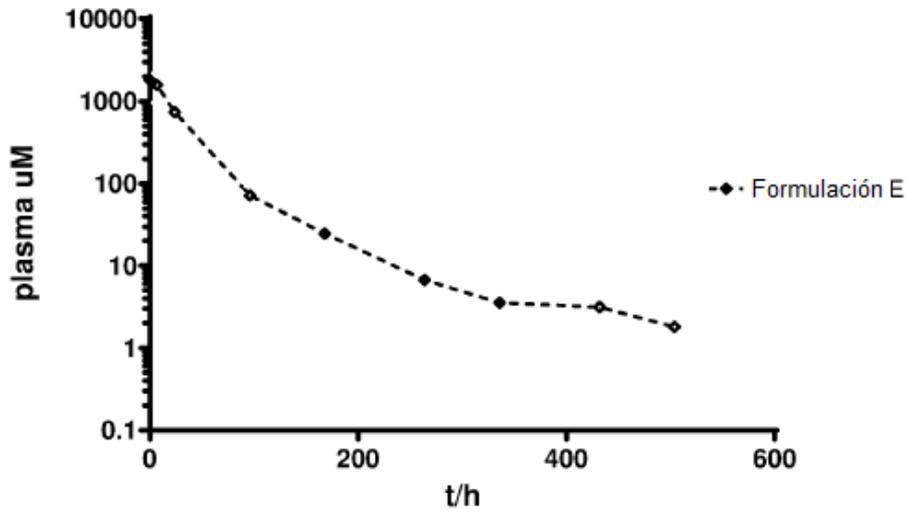


Figura 19a

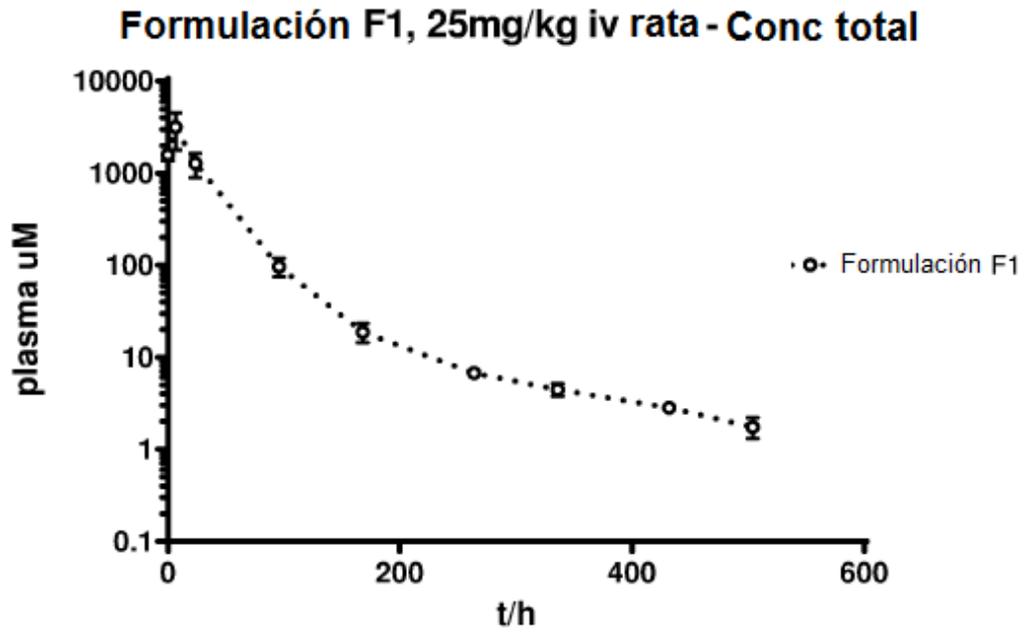


Figura 19b

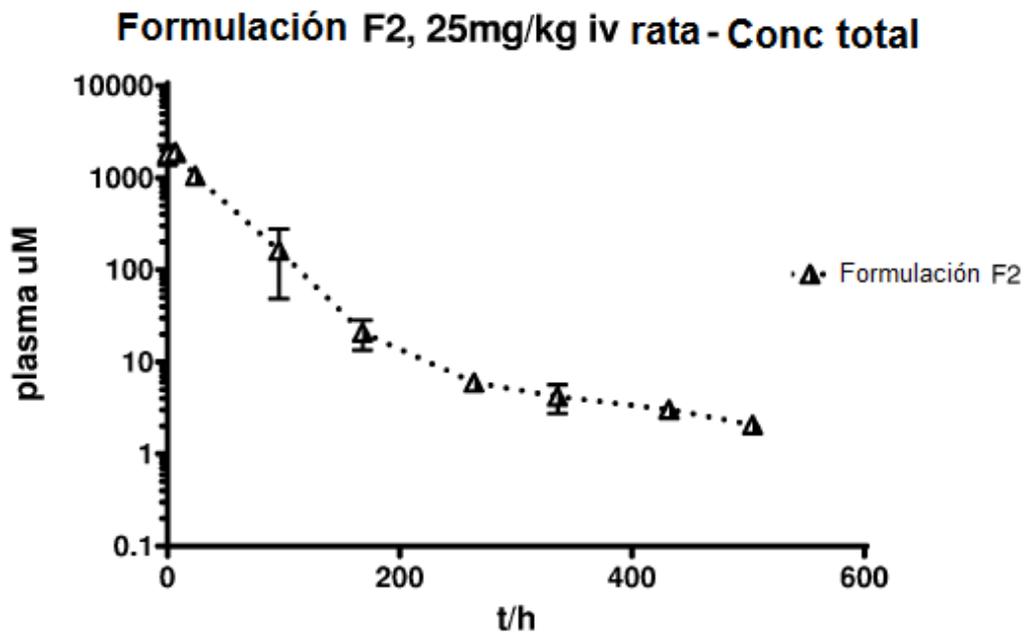


Figura 19c

**Formulación G1, 25mg/kg iv rata - Conc total**

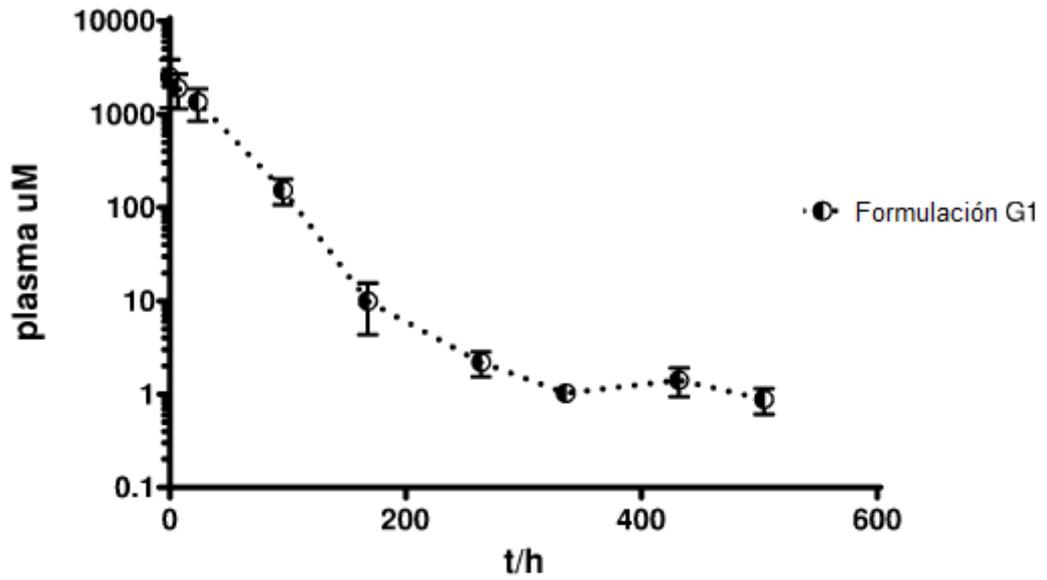


Figura 19d

**Formulación G2, 25mg/kg iv rata - Conc total**

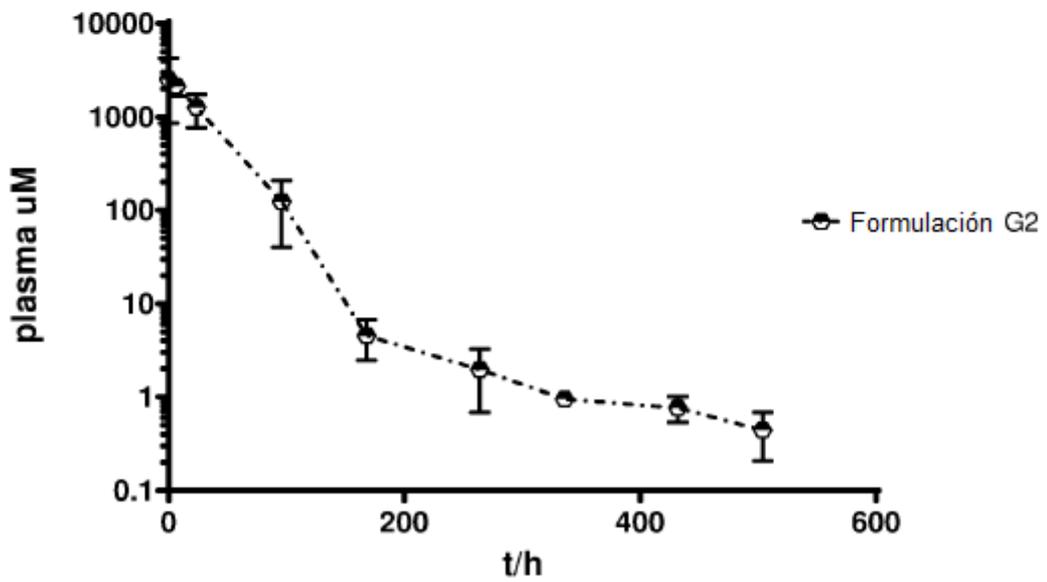
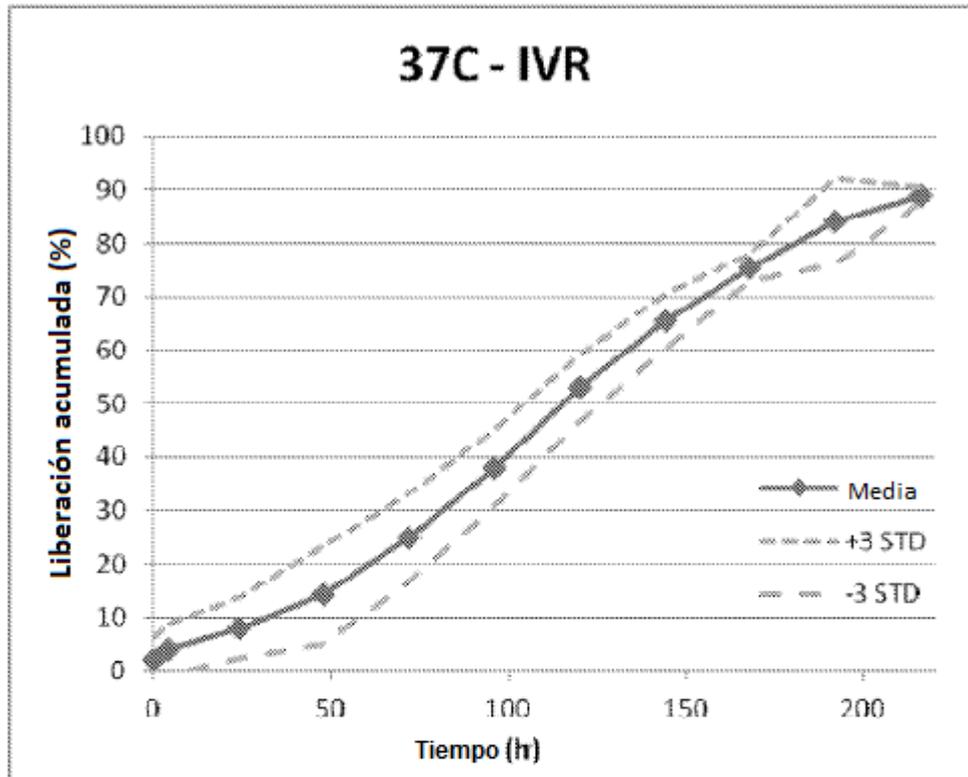


Figura 19e



**Figura 20**

Liberación in vitro a 37°C de los lotes mostrados en el Ejemplo 11.