

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 820**

51 Int. Cl.:

C07H 19/10	(2006.01) A61K 47/44	(2007.01)
A61K 31/7068	(2006.01)	
A61P 35/00	(2006.01)	
A61K 9/00	(2006.01)	
A61K 47/16	(2006.01)	
A61K 47/20	(2006.01)	
A61K 47/22	(2006.01)	
A61K 9/08	(2006.01)	
A61K 47/18	(2007.01)	
A61K 47/26	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.06.2015** **PCT/GB2015/051858**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.12.2015** **WO15198059**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2015** **E 15733498 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.10.2017** **EP 3119794**

54 Título: **Formulación que comprende un profármaco de gemcitabina**

30 Prioridad:

25.06.2014 GB 201411253
25.06.2014 IN 2050MU2014
06.10.2014 GB 201417646

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.02.2018

73 Titular/es:

NUCANA PLC (100.0%)
77-78 Cannon Street
London EC4N 6AF, GB

72 Inventor/es:

GRIFFITH, HUGH y
KENNOVIN, GORDON

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 655 820 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).

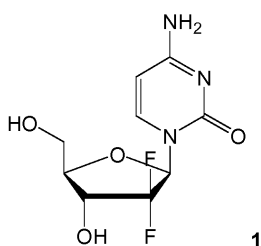
DESCRIPCIÓN

Formulación que comprende un profármaco de gemcitabina

Esta invención se refiere a formulaciones farmacéuticas de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] (nombre químico: fosfato de 2'-desoxi-2',2'-difluoro-D-citidina-5'-O-[fenil (benzoxi- L-alaninilo)]), un derivado de monofosfato del medicamento oncológico bien conocido gemcitabina. En particular, la invención se refiere a formulaciones que comprenden dimetil acetamida (DMA). Formulaciones que comprenden estos solventes proporcionan tratamientos terapéuticamente efectivos de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]. Las formulaciones de la invención pueden diluirse a la concentración requerida brevemente antes de administrarse.

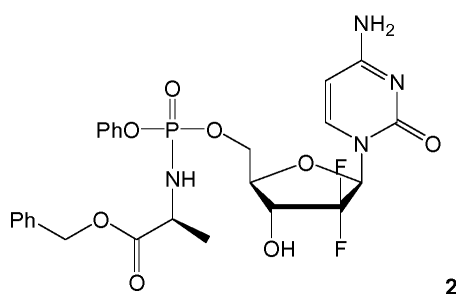
Antecedentes

Gemcitabina (1; puesta en el mercado como Gemzar®) es un análogo de nucleósido efectivo que actualmente está aprobada para tratar cánceres de mama, de pulmón de células no pequeñas, de ovarios y de páncreas y se usa ampliamente para tratar una variedad de otros cánceres que incluyen cáncer de vejiga, biliar, colorrectal y linfoma.



La utilidad clínica de gemcitabina se limita por una cantidad de mecanismos de resistencia inherente y adquirida. A nivel celular, la resistencia depende de tres parámetros: (i) la disminución de deoxicitidina quinasa, necesaria para la activación en el residuo fosforilado; (ii) la expresión reducida de transportadores de nucleósido, en particular, hENT1 requerida para captación por parte de células cancerosas; y (iii) el aumento de enzimas catalíticas, especialmente citidina desaminasa que degrada gemcitabina.

La publicación WO2005/012327 describe una serie de derivados de fosfatos de gemcitabina y moléculas medicamentosas de nucleósido relacionadas. Entre ellas, fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] (NUC-1031; 2) se identifica como un compuesto particularmente efectivo. Estos compuestos parecen impedir muchos de los mecanismos de resistencia inherente y adquirida que limitan la utilidad de gemcitabina ('Aplicación de la tecnología ProTide a Gemcitabina: una estrategia exitosa para superar los mecanismos clave de resistencia al cáncer conduce a un nuevo agente (NUC-1031) en desarrollo clínico'; Slusarczyk et al.; J. Med. Chem.; 2014, 57, 1531-1542).



Desafortunadamente, NUC-1031 es extremadamente lipofílico y, por lo tanto, muy poco hidrosoluble (mediante cálculo: <0.1 mg/mL), y los residuos ionizables, el nitrógeno de pirimidina y el hidroxilo fenólico, tienen valores pKa calculados que se encuentran por fuera de el intervalo de pH adecuado para administración parenteral. Es esencialmente hidrofóbico, sin considerar el contenido de sal o el pH y esto tiene implicaciones serias para el desarrollo de métodos clínicamente aceptables para administrar el compuesto a dosis suficientemente altas para un tratamiento efectivo. Algunas veces puede lograrse la administración de moléculas medicamentosas tan lipofílicas como NUC-1031, pero solamente con un nivel inaceptable de dolor para el paciente.

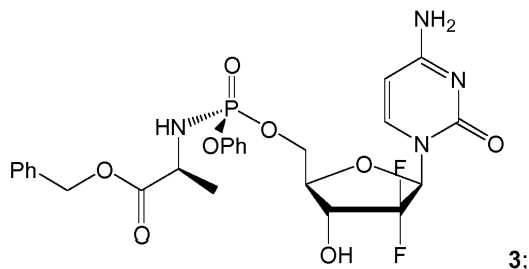
Otros documentos del estado de la técnica son:

Bilir A., et al., "Acetaminophen and DMSO modulate growth and gemcitabina cytotoxicity in FM3A breast cancer cells in vitro" [Acetaminofen y DMSO modulan crecimiento y citotoxicidad de gemcitabina en células de cáncer de mama FM3A in vitro], Neoplasma, 51 (6), 2004, p.460-464; WO 2008/087488 A2; Slusarczyk M., et al., "Application of Pro

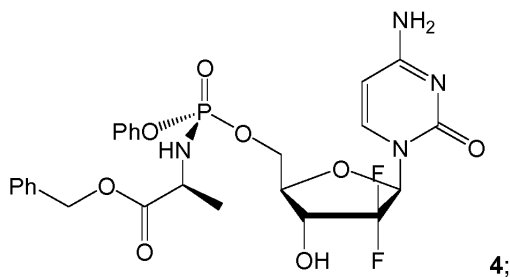
Tide technology to gemcitabina: A successful approach to overcome the key cancer resistance mechanisms leads to a new agent (NUC-1031) in clinical development", J. of Medicinal Chemistry, 57, 2014, p. 1531-1542.

La publicación WO 2016/181093 A1 se refiere en la página 8 a formulaciones acuosas para administración intravenosa que contienen NUC-1031 y dimetil acetamida. Sin embargo, WO 2016/181093 A1 no pertenece al estado de la técnica.

NUC-1031 existe como una mezcla de dos diaestereoisómeros, epiméricos en el centro de fosfato:



(S)-epímero



(R)-epímero

Un objetivo de algunas formas de realización de esta invención es proporcionar una formulación farmacéutica de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] que entregue una dosis efectiva.

Un objetivo de algunas formas de realización de esta invención es proporcionar una formulación farmacéutica estable de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]. Para administración intravenosa, las formulaciones de perfusión adecuadas deben ser normalmente estables por más de 30 minutos y hasta 48 horas. Normalmente, para administración intravenosa la formulación debe ser estable tanto frente a la precipitación de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] y a la degradación de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo].

Un objetivo de algunas formas de realización de esta invención es proporcionar una formulación farmacéutica de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] que entregue una dosis efectiva por vía intravenosa.

Un objetivo de algunas formas de realización de esta invención es proporcionar una formulación parenteral de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] que pueda administrarse tanto en una vena periférica o a través de una línea central. Por lo tanto, un objetivo de algunas formas de realización de esta invención es proporcionar una formulación que tenga una osmolaridad que sea aceptable para administración a través de una vena periférica.

Algunas formas de realización de esta invención comprenden algunos o todos los objetivos anteriores.

Resumen breve de la divulgación

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende:

fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo];

dimetilacetamida (DMA); y

opcionalmente uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables.

DMA ofrece el mejor perfil de solubilidad de los solventes ensayados.

La DMA puede ser de grado farmacéutico. La DMA puede ser el vehículo de administración o puede ser que la formulación se diluye antes de usar con un vehículo de administración que proporciona características deseables. Por lo tanto, la formulación puede estar lista para perfusión y tener la DMA como un componente principal; o puede ser una formulación que tiene la DMA como un componente principal y se destina a diluirse antes de administración para generar una formulación que está lista para perfusión y tiene la DMA como un componente secundario; o puede ser una formulación que está lista para perfusión, tiene la DMA solamente como un componente secundario y resulta de la dilución de una formulación en la cual DMA es un componente principal. Por lo tanto, la DMA puede representar desde 0.1% v/v a 100% v/v de la formulación.

Muy pocos solventes farmacéuticamente aceptables disuelven cantidades suficientes de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] para entregar una dosis terapéuticamente efectiva por vía intravenosa. De aquellos que disuelven, muchos no son estables; es decir, los fosfatos de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] tenderán a precipitarse de la solución. Los inventores han encontrado sorprendentemente que los solventes que sí generan una solución estable son generalmente solventes polares apróticos, por ejemplo, DMA, DMSO y NMP. De aquellos solventes que han resultado ser capaces de disolver fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]], los inventores han encontrado que ciertos solventes polares apróticos, y en particular DMA, son particularmente capaces de mantenerlo en solución a una concentración necesaria para administrar la dosis requerida cuando la solución se diluye con un vehículo acuoso. Por lo tanto, el uso de DMA proporciona una ventaja doble frente a otros solventes de formulación lo cual, de manera sorprendente, lo hace un medio excelente para entregar fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] a pacientes de una manera práctica y terapéuticamente efectiva.

El fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] puede estar presente como una mezcla de diaestereoisómeros de fosfato o puede estar presente como el (S)-epímero o como el (R)-epímero en forma que es sustancialmente pura como diaestereómero. 'Forma sustancialmente pura como diaestereoisómero' se define para los propósitos de esta invención como una pureza diastereomérica mayor a aproximadamente el 90%. Si se presenta como una forma sustancialmente pura como diaestereoisómero, el fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] puede tener una pureza diastereoisomérica mayor a 95%, 98%, 99%, o incluso 99.5%.

El fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] puede estar presente como una mezcla de diaestereoisómeros de fosfato. Administrar NUC-1031 como una mezcla de diaestereoisómeros ofrece, por lo tanto, un método práctico y económico de administrar un tratamiento efectivo. La evidencia no clínica sugiere que no hay diferencia en la efectividad biológica entre los dos isómeros.

Como alternativa, el fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] puede estar presente como el (S)-epímero 3 en una forma sustancialmente pura como diaestereoisómero. El (S)-epímero muestra un incremento sorprendente y notable en solubilidad en relación con el (R)-epímero, lo cual permite una formulación más conveniente, incrementa la estabilidad de la formulación y reduce el riesgo de precipitación en los dispositivos de administración o la línea central. También puede permitir que la droga se administre de tal manera que reduzca la incomodidad para el paciente al administrarse por vía de una vena periférica en una formulación diluida.

La formulación de la invención puede ser para dilución por medio de una cantidad predeterminada brevemente antes de la administración, es decir hasta 48 horas (por ejemplo, hasta 24, 12 o 2 horas) antes de administración.

La formulación también puede comprender uno o más solubilizantes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, solubilizantes no iónicos farmacéuticamente aceptables. Los solubilizantes también pueden llamarse tensioactivos. Los solubilizantes ilustrativos incluyen ácidos grasos polietoxilados y ésteres de ácidos grasos y mezclas de los mismos. Solubilizantes adecuados incluyen aceite de ricino polietoxilado (por ejemplo, el que se vende bajo el nombre comercial Kolliphor® ELP); o ácido esteárico o polietoxilado (por ejemplo, que se vende bajo los nombres comerciales Solutol® o Kolliphor® HS15); o monooleato de sorbitán polietoxilado (por ejemplo, polioxietileno (20)), (por ejemplo, que se vende bajo el nombre comercial Tween® 80).

En algunas formas de realización preferidas, la formulación comprende más de un solubilizante farmacéuticamente aceptable.

La formulación también puede comprender un vehículo acuoso. La formulación de la invención puede estar lista para administrarse, en cuyo caso normalmente comprenderá un vehículo acuoso.

La formulación puede ser para administración parenteral, por ejemplo, para administración intravenosa, subcutánea o intramuscular. Preferiblemente, la formulación es para administración intravenosa. La administración puede ser por medio de una vena central o puede ser por medio de una vena periférica.

La dosis total de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] en una formulación adecuada para administración será normalmente desde 250 mg a 3 g, por ejemplo, de 1 g a 2 g, por ejemplo, alrededor de 1.5 g.

- 5 Puede ser que DMA represente 30% o más en volumen de la formulación. Por lo tanto, puede ser que la represente 50% o más, por ejemplo 60% o más en volumen de la formulación. La DMA puede representar 95% o menos en volumen de la formulación, por ejemplo 90% o menos. La formulación también puede comprender un vehículo acuoso (por ejemplo, solución salina). El vehículo acuoso puede estar presente en 50% o menos en volumen de la formulación, por ejemplo 30% o menos en volumen de la formulación. Normalmente el vehículo acuoso (por ejemplo, solución salina) representará 5% o más, por ejemplo 10% o más en volumen de la formulación.
- 10 Puede ser que la concentración del fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] en el/los solvente(s) de formulación sea de 500 mg o menos por mL. Puede ser que la concentración sea de 100 mg o más por mL. Preferiblemente, la concentración es de 200 mg a 300 mg, por ejemplo, de 225 mg a 275 mg, por ejemplo, alrededor de 250 mg por mL.
- Algunas formulaciones preferidas comprenden:
- de 30 % a 95% en volumen de DMA;
- de 5% a 50% en volumen aqueous vehicle; y
- 15 de 100 mg a 400 mg (por ejemplo, de 100 mg a 300 mg) por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]].
- Formulaciones más preferidas comprenden:
- de 70 % a 90% en volumen de DMA;
- de 10% a 30% en volumen de vehículo acuoso (por ejemplo, solución salina); y
- de 200 mg a 300 mg por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]].
- 20 Las formulaciones descritas en los cuatro párrafos anteriores, en los cuales la DMA esta presente como un componente principal, puede usarse, por ejemplo, para administrar fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] en forma de una mezcla de diaestereoisómeros de fosfato. También pueden usarse para administrar fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] en forma del epímero (S)-fosfato en forma sustancialmente pura como diaestereoisómero. Las formulaciones descritas en estos párrafos pueden usarse para administrar (por ejemplo, mediante perfusión o inyección) la formulación sin diluirse antes de la administración. Éstas pueden administrarse a través de una vena central.
- 25 Como alternativa, estas formulaciones pueden diluirse para formar una formulación adecuada para administración a través de una vena periférica.
- 30 Puede ser que, por ejemplo, DMA represente 10% o más, por ejemplo 20% o más en volumen de la formulación. Por lo tanto, puede ser que la DMA represente 80% o menos, por ejemplo 60% o menos en volumen de la formulación. La DMA puede representar 40% o menos en volumen de la formulación. La formulación también puede comprender uno o más solubilizantes (por ejemplo, uno o más ácidos grasos polietoxilados). El uno o más solubilizantes pueden representar 90% o menos en volumen de la formulación, por ejemplo 80% o menos en volumen de la formulación. Normalmente el uno o más solubilizantes representará 30% o más, por ejemplo 50% o más o 60% o más, en volumen de la formulación. Una formulación preferida comprende el medicamento como una solución en una mezcla 30% : 70% de DMA : solubilizante.
- 35 Puede ser que la concentración del fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] en el/los solvente(s) de la formulación sea de 200 mg o menos por mL, por ejemplo 150 mg o menos o 120 mg o menos. Puede ser que la concentración sea de 40 mg o más por mL, por ejemplo 60 mg o más. Preferiblemente, la concentración es de 70 mg a 110 mg, por ejemplo, alrededor de 75 mg o alrededor de 100 mg, por mL.
- 40 Algunas formulaciones preferidas comprenden:
- de 20 % a 80% en volumen de DMA;
- de 30% a 80% en volumen de solubilizante o solubilizantes; y
- 45 de 50 mg a 150 mg por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]]. La formulación también puede comprender un vehículo acuoso, por ejemplo en una cantidad de 1 % a 15% en volumen.
- Algunas formulaciones particularmente preferidas comprenden:
- de 20 % a 80% en volumen de DMA;

de 20% a 60% en volumen de un primer solubilizante;

de 5% a 40% en volumen de un segundo solubilizante;

de 2% a 12 % de un vehículo acuoso; y

- 5 de 50 mg a 150 mg por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]]. El primer solubilizante puede ser un aceite de ricino polietoxilado (por ejemplo, el que se vende bajo el nombre comercial Kolliphor® ELP). El segundo solubilizante puede ser un monooleato de sorbitán polietoxilado (por ejemplo, el que se vende bajo el nombre comercial Tween® 80). La formulación también puede comprender un vehículo acuoso, por ejemplo, en una cantidad de 3% a 15% en volumen.

La formulación puede comprender:

- 10 de 50 % a 60% en volumen de DMA;

de 20% a 30% en volumen del primer solubilizante;

de 8% a 15% en volumen del segundo solubilizante;

de 4% a 10% de un vehículo acuoso; y

de 75 mg a 125 mg por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]].

- 15 Las formulaciones descritas en los cinco párrafos anteriores, donde la DMA esta presente como un componente principal, pueden usarse, por ejemplo, para administrar fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] en la forma del epímero (S)-fosfato en forma sustancialmente pura como diaestereoisómero. También pueden usarse para administrar una mezcla de epímeros R y S o el epímero R. Las formulaciones descritas en estos párrafos se diluyen normalmente con un vehículo acuoso antes de administración. Una vez diluidos, pueden administrarse a través de una vena periférica.
- 20

Estas formulaciones pueden formarse diluyendo una formulación que no contiene solubilizantes. El fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] puede degradar en presencia de algunos solubilizantes.

- 25 Puede ser que la DMA represente 0.1% o más, por ejemplo 0.5% o más o 1% o más en volumen de la formulación. Por lo tanto, puede ser que la DMA represente 10% o menos, por ejemplo 5% o menos o 3% o menos en volumen de la formulación. La DMA puede representar 8% o menos o 2% o menos en volumen de la formulación. La formulación también puede comprender un vehículo acuoso (por ejemplo, APP). El vehículo acuoso puede estar presente en 99.5% o menos en volumen de la formulación, por ejemplo 99% o 98% o menos en volumen de la formulación. Normalmente, el vehículo acuoso representa 85% o más, por ejemplo 90% o más o 95% o más, en volumen de la formulación. La formulación también puede comprender uno o más solubilizantes (por ejemplo, uno o más ácidos grasos polietoxilados). Uno o más solubilizantes pueden representar 10% menos en volumen de la formulación, por ejemplo 7.5% o menos o 5% o menos o 3% o menos en volumen de la formulación. Normalmente, uno o más solubilizantes representa 0.1% o más, por ejemplo 0.5% o más o 1% o más o 2% o más, en volumen de la formulación.
- 30

- 35 Puede ser que la concentración del fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] en el/los solvente(s) de la formulación sea de 12.0 mg o menos por mL o 10.0 mg o menos por mL, por ejemplo 7.0 mg o menos o 4.5 mg o menos por mL. Puede ser que la concentración sea de 1.0 mg o más por mL, por ejemplo 2.0 mg o más. Preferiblemente, la concentración es de 2.5 mg a 11 mg por mL, por ejemplo, de 3 mg a 7 mg por mL, por ejemplo, alrededor de 4.5 mg por mL.

Algunas formulaciones preferidas comprenden:

- 40 de 0.1 % a 15% (por ejemplo 0.5 a 5%) en volumen de DMA;

de 0.1% a 15% (por ejemplo 0.1% a 7.5%) en volumen de solubilizante o solubilizantes;

de 85% a 99% en volumen de vehículo acuoso; y

de 2.0 mg a 12.0 mg (por ejemplo, de 2.0 mg a 10.0 mg) por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]].

- 45 Algunas formulaciones particularmente preferidas comprenden:

de 0.5 % a 10% en volumen de DMA;

de 0.2 % a 4% en volumen de un primer solubilizante;

de 0.1 % a 2% en volumen de un segundo solubilizante;

de 85% a 99% en volumen de vehículo acuoso; y

- 5 de 2.0 mg a 12.0 mg (por ejemplo, de 2.0 mg a 10.0 mg) por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]]. El primer solubilizante puede ser un aceite de ricino polietoxilado (por ejemplo, que se vende bajo el nombre comercial Kolliphor® ELP). El segundo solubilizante puede ser un monooleato de sorbitán polietoxilado (por ejemplo, que se vende bajo el nombre comercial Tween® 80).

La formulación puede comprender:

de 0.5 % a 6% en volumen de DMA;

- 10 de 0.5 % a 6% en volumen de un primer solubilizante;

de 0.2 % a 4% en volumen de un segundo solubilizante;

de 85% a 99% en volumen de vehículo acuoso; y

de 2.0 mg a 12.0 mg (por ejemplo, de 2.0 mg a 10.0 mg) por mL gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]].

- 15 Las formulaciones descritas en los cuatro párrafos anteriores, donde la DMA se presenta como un componente secundario, pueden usarse, por ejemplo, para administrar fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] en la forma del epímero (S)-fosfato en forma sustancialmente pura como diaestereoisómero. También pueden usarse para administrar una mezcla de epímeros R y S o el epímero R. Las formulaciones descritas en estos párrafos habrán sido preparadas normalmente diluyendo una formulación de DMA concentrada o DMA concentrada y formulación de solubilizante con el vehículo acuoso hasta 48 horas antes de administración. Las formulaciones resultantes pueden administrarse a través de una vena periférica.
- 20

Mientras las formulaciones de la invención son preferiblemente para administración parenteral, ciertas formas de realización de la invención también pueden administrarse oralmente.

En un segundo aspecto de la invención se proporciona una formulación farmacéutica que comprende:

fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)];

- 25 DMA; y

opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables;

en cuyo caso las formulaciones para uso médico.

En un tercer aspecto de la invención se proporciona una formulación farmacéutica que comprende:

fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)];

- 30 DMA; y

opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables;

en cuyo caso la formulación es para uso en tratamiento de cáncer.

Las formulaciones de la invención pueden usarse en un método de tratamiento de cáncer y el método comprende administrar a un sujeto que la necesite una formulación farmacéutica que comprende:

- 35 fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)];

DMA; y

opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

El método puede comprender los pasos de:

- 40 diluir una solución que comprende fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]], DMA y opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables con un vehículo acuoso para proporcionar una formulación para

perfusión o inyección; y administrar la formulación para perfusión o inyección al sujeto mediante perfusión o inyección.

El método puede comprender los pasos de:

5 diluir una primera solución que comprende fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] y DMA y opcionalmente un vehículo acuoso con una segunda solución que comprende a DMA y uno o más solubilizantes para formar una tercera solución;

diluir la tercera solución con un vehículo acuoso para proporcionar una formulación para perfusión o inyección; y administrar la formulación para perfusión o inyección al sujeto mediante perfusión o inyección.

10 La segunda formulación puede comprender más de un solubilizante. Normalmente la segunda formulación no comprenderá un componente activo.

La dilución, o cada dilución, puede ser mediante una cantidad predeterminada.

15 La solución inicial puede ser una formulación del primer aspecto. Igualmente, la formulación para perfusión de inyección puede ser una formulación del primer aspecto. Puede ser que el paso de administración se realice hasta 48 horas (por ejemplo, hasta 12 o 2 horas) después del paso de dilución, por ejemplo, el primero o el segundo paso de dilución.

El cáncer puede ser un cáncer seleccionado de: cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de ovarios, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, colangiocarcinoma, cáncer renal, cáncer cervical, cáncer de timo, un cáncer de origen primario desconocido, linfoma o leucemia.

El método puede comprender:

20 descargar un dispositivo de administración intravenosa de línea central con una primera porción de una primera formulación y primera formulación comprende:

de 30 % a 95% en volumen de DMA;

de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y

25 administrar una segunda formulación al paciente por medio del dispositivo de administración y la segunda formulación comprende:

de 30 % a 95% en volumen de DMA;

de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y

de 100 mg a 400 mg (por ejemplo, de 100 mg a 300 mg) por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]];

30 y

opcionalmente descargar el dispositivo de administración con una segunda porción de la primera formulación.

Normalmente la primera formulación no comprenderá un componente activo.

En un cuarto aspecto de la invención se proporciona un método de preparar una formulación farmacéutica de fosfato de gemcitabina-[fenilbenzoxi-L-alaninilo]] para perfusión o inyección y el método comprende:

35 diluir una solución que comprende fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]], DMA y opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables con un vehículo acuoso para proporcionar la formulación para perfusión o inyección.

La dilución puede ser por una cantidad predeterminada.

40 La solución inicial puede ser una formulación del primer aspecto. Igualmente, la formulación para infusión o inyección puede ser una formulación del primer aspecto. Puede ser que el paso de administración se realice hasta 48 horas (por ejemplo, hasta 12 o 2 horas) después del paso de dilución.

El vehículo acuoso puede seleccionarse de solución salina (por ejemplo 0.9% de solución salina o 0.45% de solución salina), solución de glucosa y agua para perfusión (APP). Preferiblemente, el vehículo acuoso es APP. El uso de APP proporciona una formulación que es sustancialmente isotónica con la sangre.

El vehículo acuoso puede comprender uno o más solubilizantes farmacéuticamente aceptables (también conocidos como tensioactivos), por ejemplo, un solubilizante no iónico farmacéuticamente aceptable. Un solubilizante ejemplar es monooleato de sorbitán polioxietileno (20) (puesto en el mercado como Tween® 80).

5 En un aspecto de la divulgación se proporciona un método para preparar una formulación farmacéutica de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] y el método comprende:

disolver fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] en DMA para formar una solución;

adicionar uno o otros excipientes más a la solución para formar una formulación farmacéutica de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo].

10 Los inventores han descubierto que un procedimiento más eficiente resulta de disolver previamente el fosfato de gemcitabina-[fenilbenzoxi-L-alaninilo] en DMA y luego adicionar los excipientes requeridos, por ejemplo, solubilizantes.

Los excipientes farmacéuticos, uno o más, pueden incluir un solubilizante.

15 En un aspecto de la presente divulgación se proporciona una formulación farmacéutica que comprende (S)-fosfato de gemcitabina-[fenilbenzoxi-L-alaninilo], o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, el (S)-fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] se encuentra en forma sustancialmente pura como diaestereoisómero.

La formulación puede ser para administración parenteral, por ejemplo, para administración intravenosa, subcutánea o intramuscular. Preferiblemente la formulación es para administración intravenosa.

20 La formulación puede ser una formulación acuosa que opcionalmente también comprende un solvente orgánico polar. En el caso de administración parenteral (por ejemplo, intravenosa), la formulación también comprende preferiblemente un solvente orgánico polar. La formulación puede comprender DMSO o NMP.

La formulación también puede comprender una ciclodextrina.

25 En un aspecto de la presente divulgación se proporciona una formulación farmacéutica que comprende (R)-fosfato de gemcitabina-[fenilbenzoxi-L-alaninilo] o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, el (R)-fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] se encuentra en forma sustancialmente pura como diaestereoisómero.

En un quinto aspecto de la invención se proporciona un kit y el kit comprende:

una primera formulación que comprende:

de 30 % a 95% en volumen de DMA;

30 de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y

una segunda formulación que comprende:

de 30 % a 95% en volumen de DMA;

de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y

35 de 100 mg a 400 mg (por ejemplo, de 100 mg a 300 mg) por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo].

La primera formulación normalmente no comprende un componente activo. Por lo tanto, normalmente no comprende fosfato de gemcitabina-[fenilbenzoxi-L-alaninilo]. La primera formulación puede proporcionarse Endo recipientes separados o en un sólo recipiente.

40 El kit del octavo aspecto de la invención es útil para la administración intravenosa de fosfato de gemcitabina-[fenilbenzoxi-L-alaninilo] a través de una línea central. La línea central se descarga con la primera formulación antes de la administración de la segunda formulación. Esto mitiga el riesgo de precipitación de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] en el aparato de administración intravenosa o a la entrada del mismo, es decir la línea central, evitando el contacto directo de la formulación activa con medios acuosos (por ejemplo, una solución de descarga de solución salina). La línea central también puede descargarse con la primera formulación después de
45 administración de la segunda formulación. Esto impide además la precipitación.

En un sexto aspecto de la invención se proporciona un kit y el kit comprende:

una primera formulación que comprende:

de 30 % a 95% en volumen de DMA;

de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y

5 de 100 mg a 400 mg (por ejemplo, de 100 mg a 300 mg) por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]);

y

una segunda formulación que comprende:

de 20 % a 80% en volumen de DMA;

10 de 20% a 60% en volumen de un primer solubilizante;

de 10% a 40% en volumen de un segundo solubilizante.

Normalmente la segunda formulación no comprende compuesto activo. El kit es útil para la preparación de formulaciones adecuadas para administración periférica. La primera formulación se diluye con la segunda formulación hasta 48 horas, por ejemplo, hasta 24 horas antes de la administración para formar una tercera formulación. La tercera formulación se sigue diluyendo con un vehículo acuoso antes de administración a la concentración deseada para formar la formulación que se usa administrada mediante perfusión o inyección al paciente. Con el fin de lograr formulaciones para administración periférica que son estables con respecto a la precipitación de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo], normalmente es deseable incluir solubilizantes. Sin embargo, el fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] puede ser susceptible a la degradación en presencia de tales solubilizantes. Por lo tanto, en algunas formas de realización de la invención, un método de dilución de dos etapas es el medio preferible por el cual se logran formulaciones para administración periférica.

Descripción detallada

En toda esta especificación, el término S-epímero o S-diaestereoisómero se refiere a (S)-fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]-(S). Igualmente, en toda esta especificación, el término R-epímero o R-diaestereoisómero se refiere a (R)-fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo].

El término 'solución salina' es para referirse a una solución acuosa de cloruro de sodio. Las soluciones salinas de la presente invención normalmente serán estériles y se encontrarán normalmente a una concentración adecuada para usar en administración parenteral. Concentraciones adecuadas son hasta de 2% p/v o hasta de 1% p/v. Para optimizar la osmolaridad pueden usarse diferentes concentraciones de solución salina en las formulaciones de la invención, por ejemplo, de 0.9% o 0.45%.

Las formulaciones de la presente invención pueden usarse en el tratamiento del cuerpo humano. Pueden usarse en el tratamiento del cuerpo animal. En particular, los compuestos de la presente invención pueden usarse para tratar animales comerciales tales como ganado. Alternativamente, los compuestos de la presente invención pueden usarse para tratar animales de compañía tales como gatos, perros, etc.

Los compuestos en las formulaciones de la invención pueden obtenerse, almacenarse y/o administrarse en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácido clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, carbónico, bórico, sulfámico y bromhídrico, o sales de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácido acético, propiónico, butírico, tartárico, maleico, hidroximaleico, fumárico, málico, cítrico, láctico, mícico, glucónico, benzoico, succínico, oxálico, fenilacético, metanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, sulfanílico, aspártico, glutámico, edético, esteárico, palmítico, oleico, láurico, pantoténico, tánico, ascórbico y valérico. Sales de base adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Ejemplos incluyen sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc. También pueden formarse hemisales de ácidos y bases, por ejemplo hemisulfato, hemioxalato y hemicalcio. En ciertas formas de realización, particularmente aquellas que aplican al S-epímero, el compuesto se encuentra en la forma de una sal de HCl o una sal de hemioxalato. Preferiblemente, el compuesto de la invención no se encuentra en forma de una sal, es decir que no se encuentra en forma de un ácido libre/base libre.

Para las formulaciones antes mencionadas de la invención, la dosis administrada variará por supuesto con el compuesto empleado, el modo preciso de administración, el tratamiento deseado y el trastorno indicado. Se espera

que los niveles de dosificación, las frecuencias de dosis y las duraciones del tratamiento con los compuestos de la invención difieran dependiendo de la formulación y de la indicación clínica, la edad y las condiciones médicas comórbidas del paciente. El tamaño de la dosis para propósitos terapéuticos de los compuestos de la invención variará naturalmente según la naturaleza y la severidad de las condiciones, la edad y el sexo del animal o el paciente y la ruta de administración, de acuerdo con principios bien conocidos de la medicina.

Una formulación farmacéutica normalmente toma la forma de una composición en la cual los compuestos activos o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se encuentran en asociación con un adyuvante, diluyente o soporte farmacéuticamente aceptables. Un adyuvante, diluyente o soporte farmacéuticamente aceptables de este tipo en las formulaciones de la invención es la DMA. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas se describen por ejemplo en "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

Las formulaciones pueden ser adecuadas para aplicación tópica (por ejemplo a la piel o la vejiga), para administración oral o para parenteral (por ejemplo administración intravenosa).

Cualquier solvente usado en formulaciones farmacéuticas de la invención debe ser de grado farmacéutico por lo cual se entiende que tienen un perfil de impureza que lo hace adecuado para administración (por ejemplo administración intravenosa) a humanos.

Para administración oral, las formulaciones de la invención pueden comprender el compuesto activo mezclado con un adyuvante o soporte, por ejemplo lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol; un almidón, por ejemplo almidón de patata, almidón de maíz o amilopectina; un derivado de celulosa, un aglutinante, por ejemplo gelatina o polivinilpirrolidona; y/o un lubricante, por ejemplo estearato de magnesio, estearato de calcio, polietilenglicol, una cera, parafina y similares, y luego se prensan en comprimidos. Si se requieren comprimidos recubiertos, los núcleos que se han preparado como se describe antes pueden recubrirse con una solución concentrada de azúcar que puede contener, por ejemplo, goma arábiga, gelatina, talco y dióxido de titanio. Como alternativa el comprimido puede recubrirse con un polímero adecuados disuelto en un solvente orgánico fácilmente volátil.

Para la preparación de cápsulas de gelatina blanda, los compuestos activos pueden mezclarse por ejemplo con un aceite vegetal o un polietilenglicol. Las cápsulas de gelatina dura pueden contener gránulos del compuesto usando los excipientes antes mencionados para los comprimidos. Las formulaciones líquidas o semi sólidas de los compuestos activos también pueden envasarse en cápsulas de gelatina dura.

Las preparaciones líquidas para aplicación oral pueden encontrarse en forma de jarabes o suspensiones, por ejemplo soluciones que contienen el compuesto de la invención y el balance es azúcar y una mezcla de etanol, agua, glicerina y propilenglicol. Opcionalmente tales preparaciones líquidas pueden contener agentes colorantes, agentes saborizantes, agentes endulzantes (tales como sacarina), agentes preservantes y/o carboximetilcelulosa en calidad de agente espesante u otros excipientes conocidos por aquellos con habilidad en la técnica.

Sin embargo, las formulaciones de la invención son preferiblemente para administración parenteral (por ejemplo, intravenosa) o para dilución para formar una formulación para administración parenteral (por ejemplo, intravenosa). Para administración parenteral (por ejemplo, intravenosa), los compuestos activos pueden administrarse como una solución acuosa o aceitosa. Los compuestos activos se administran preferiblemente como una solución acuosa estéril.

La composición farmacéutica de la invención comprenderá preferiblemente de 0.05 a 99 % en peso (por ciento en peso) de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo], más preferiblemente de 0.05 a 80 % en peso de fosfato de gemcitabina-[fenilbenzoxi-L-alaninilo], todavía más preferiblemente de 0.10 a 70 % en peso de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo], y aun más preferiblemente de 0.10 a 50 % en peso de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo], y todos los porcentajes en peso se basan en la composición total.

Se ha mostrado que las ciclodextrinas encuentran una amplia aplicación en la administración de medicamentos (Rasheed et al, Sci. Farm., 2008, 76, 567-598). Las ciclodextrinas son una familia de oligosacáridos cíclicos. Actúan como una 'a la molecular' que encapsula las moléculas del medicamento y altera las propiedades de aquellas moléculas de medicamento tales como la solubilidad. Las ciclodextrinas comprenden unidades de α -D-glucopiranosas (α -1,4)-enlazadas. Las ciclodextrinas pueden contener 6, 7 o 8 unidades de glucopiranosas (designadas α -, β - y γ -ciclodextrinas respectivamente). Las ciclodextrinas usadas en formulaciones farmacéuticas son con frecuencia β -ciclodextrinas. Los grupos hidroxilo pendientes pueden alquilarse con un grupo alquilo de C_1 - C_6 , sustituido o no sustituido. Ejemplos de ciclo dextrina son α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina, 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD), sal sódica de sulfobutiléter de β -ciclodextrina, β -ciclodextrina parcialmente metilada. Las formulaciones de la invención también pueden comprender al menos una ciclodextrina.

La presente invención también incluye formulaciones de todas las formas etiquetadas isotópicamente, farmacéuticamente aceptables, del compuesto, en cuyo caso uno o más átomos se reemplazan por átomos que

tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o un número de masa diferente de la masa atómica o del número de masa del isótopo predominante encontrado habitualmente en la naturaleza.

Ejemplos de isótopos adecuados para inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ^2H y ^3H , carbono, tales como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , cloro tal como ^{36}Cl , flúor tal como ^{18}F , yodo tal como ^{123}I y ^{125}I , nitrógeno tal como ^{13}N y ^{15}N , oxígeno tal como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , fósforo tal como ^{32}P , y azufre tal como ^{35}S .

Algunos compuestos etiquetados isotópicamente, por ejemplo aquellos que incorporan un isótopo radioactivo, son útiles en estudios de distribución de medicamento y/o sustrato en tejido. Los isótopos radioactivos tritio, es decir ^3H , y carbono 14, es decir ^{14}C , son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y los medios listos de detección.

La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir ^2H , puede proporcionar algunas ventajas terapéuticas resultantes de una estabilidad metabólica mayor, por ejemplo vida media in vivo incrementada o requisitos reducidos de dosificación, y por lo tanto puede preferirse en algunas circunstancias.

Compuestos etiquetados isotópicamente pueden prepararse generalmente mediante técnicas convencionales conocidas por aquellos con habilidad en la técnica o mediante procedimientos análogos a aquellos descritos usando un reactivo etiquetado de modo isotópico, apropiado, en lugar del reactivo no etiquetado, empleado previamente.

El uso de la formulación en el tratamiento de cáncer, linfoma o leukemia puede incluir, además de las formulaciones de la invención, cirugía o radioterapia o quimioterapia convencionales. Tal quimioterapia puede incluir la administración de uno o más agentes activos.

Cuando se administra otro agente activo como parte de un uso de una formulación de la invención, tal tratamiento de combinación puede lograrse por medio de la dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento. Tales productos de combinación emplean los compuestos de esta invención dentro de un intervalo de dosificación terapéuticamente activo, descrito antes, y uno o más agentes farmacéuticamente activos dentro de su intervalo de dosificación aprobado.

Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas de la invención pueden comprender otro agente activo.

El agente activo, uno o más, puede ser de una o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:

(i) medicamentos antiproliferativos/antineoplásicos y combinaciones de los mismos, tales como agentes de alquilación (por ejemplo ciclofosfamida, mostaza de nitrógeno, bendamustina, melfalano, clorambucil, busulfan, temozolamida y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo gemcitabina y antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, pemetrexed, citosina arabinosida, e hidroxiaurea); antibióticos (por ejemplo, antraciclinas como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, aunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina y mitramicina); agentes antimetabólicos (por ejemplo alcaloides vinca como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina y taxoides como taxol y taxotere e inhibidores de poloquinasa); inhibidores de proteasoma, por ejemplo carfilzomiband bortezomib; terapia del interferón; e inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo epipodofilotoxinas como etoposido y teniposido, amsacrina, topotecán, mitoxantrone y camptotecina);

(ii) agentes citostáticos tales como antiestrógenos (por ejemplo tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y idoxifeno), antiandrógenos (por ejemplo bicalutamida, flutamida, nilutamida y acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH o agonistas de LHRH (por ejemplo goserelina, leuprorelina y buserelina), progestógenos (por ejemplo acetato de megestrol), inhibidores de aromatasa (por ejemplo como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano) e inhibidores de 5α -reductasa tales como finasterida;

(iii) agentes anti-invasión, por ejemplo dasatinib y bosutinib (SKI-606), e inhibidores de metaloproteinasas, inhibidores de la función receptora del activador de plasminógeno de urocinasa o anticuerpos a la heparanasa;

(iv) inhibidores de la función del factor de crecimiento: por ejemplo, tales inhibidores incluyen anticuerpos del factor de crecimiento y anticuerpos de receptor de factor de crecimiento, por ejemplo el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab [Herceptin™], el anticuerpo anti-EGFR panitumumab, el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab, inhibidores de tirosina quinasa, por ejemplo inhibidores de la familia de factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, inhibidores de tirosina quinasa de la familia EGFR tales como gefitinib, erlotinib y 6-acrilamido-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)-quinazolin-4-amina (CI 1033), inhibidores de tirosina quinasa erbB2 tal como lapatinib); inhibidores de la familia de factor de crecimiento de hepatocito; inhibidores de la familia de factor de crecimiento de insulina; moduladores de los reguladores de proteína de la apoptosis celular (por ejemplo, inhibidores de Bcl-2); inhibidores de la familia de factor de crecimiento derivados de plaquetas tales como imatinib y/o nilotinib (AMN107); inhibidores de las quinasas de serina/treonina (por ejemplo, inhibidores de señalización de Ras/Raf tales como inhibidores de farnesil transferasa, por ejemplo sorafenib, tipifarnib y lonafarnib), inhibidores de la señalización celular por medio de quinasas de MEK y/o AKT, inhibidores de c-kit, inhibidores de abl quinasa, inhibidores de PI3 quinasa, inhibidores

de Plt3 quinasa, inhibidores de CSF-1R quinasa, receptor de IGF, inhibidores de quinasa; inhibidores de aurora quinasa e inhibidores de quinasa dependiente de ciclina tales como inhibidores de CDK2 y/or CDK4;

5 (v) agentes antiangiogénicos tales como aquellos que inhiben los efectos del factor de crecimiento vascular endotelial [por ejemplo el anticuerpo de factor de crecimiento celular anti-vascular endotelial bevacizumab (Avastin™); talidomida; lenalidomida; y por ejemplo, un inhibidor de tirosina quinasa del receptor de VEGF tales como vandetanib, vatalanib, sunitinib, axitinib y pazopanib;

(vi) estrategias de terapia génica que incluyen, por ejemplo, estrategias para reemplazar genes aberrantes tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrantes;

10 (vii) estrategias de inmunoterapia que incluyen, por ejemplo, terapia de anticuerpo tal como alemtuzumab, rituximab, ibritumomab tiuxetan (Zevalin®) y ofatumumab; interferones tales como interferón α ; interleucinas tales como IL-2 (aldesleucina); inhibidores de interleucina, por ejemplo inhibidores de IRAK4; vacunas de cáncer que incluyen vacunas profilácticas y de tratamiento tales como vacunas de HPV, por ejemplo Gardasil, Cervarix, Oncophage y Sipuleucel-T (Provenge); y moduladores del receptor de tipo peaje (toll-like), por ejemplo agonistas de TLR-7 o TLR-9;

15 (viii) agentes citotóxicos, por ejemplo fludaribina (fludara), cladribina, pentostatina (Nipent™);

20 (ix) esteroides tales como corticoesteroides, que incluyen glucocorticoides y mineralocorticoides, por ejemplo aclometasona, dipropionato de aclometasona, aldosterona, amcinonida, beclometasona, dipropionato de beclometasona, betametasona, dipropionato de betametasona, fosfato sódico de betametasona, valerato de betametasona, budesonida, clobetasona, butirato de clobetasona, propionato de clobetasol, cloprednol, cortisona, acetato de cortisona, cortivazol, deoxicortona, desonida, desoximetasona, dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, isonicotinato de dexametasona, difluorocortolona, flucorolona, flumetasona, flunisolida, fluocinolona, acetonide de fluocinolona, fluocinonida, fluocortin butilo, fluorocortisona, fluorocortolona, caproato de fluocortolona, pivalato de fluocortolona, fluorometolona, fluprednido, acetato de fluprednido, flurandrenolona, fluticasona, propionato de fluticasona, halcinonida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, aceponato de hidrocortisona, buteprato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, icometasona, enbutato de icometasona, meprednisona, metilprednisolona, mometasona, parametasona, furoato de mometasona monohidrato, prednicarbo, prednisolona, prednisona, tixocortol, pivalato de tixocortol, triamcinolona, acetonide triamcinolona, alcohol de triamcinolona y sus derivados respectivos farmacéuticamente aceptables. Puede usarse una combinación de esteroides, por ejemplo una combinación de dos o más esteroides mencionados en este párrafo;

30 (x) terapias dirigidas, por ejemplo inhibidores de PI3Kd, por ejemplo idelalisib y perifosina; o compuestos que inhiben PD-1, PD-L1 y CAR T.

Los otros agentes activos, uno o más, también pueden ser antibióticos.

35 Como un ejemplo ilustrativo, puede prepararse una mezcla diaestereoisomérica de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alanilo]-fosfato de acuerdo con los métodos sintéticos descritos en la publicación WO2005/012327 o aquellos descritos en 'Application of ProTide Technology to Gemcitabina: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development'; Slusarczyk et al; J. Med. Chem.; 2014, 57, 1531-1542.

Los isómeros (R) y (S) de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alanilo] pueden separarse mediante HPLC en las siguientes condiciones:

40 Equipo: Agilent serie 1200™ con detector DAD

Velocidad de flujo: 1.0 mL/min

Columna: Chiralpak AD™; 250 x 4.6 mm ID (fase normal)

Temperatura: ambiente

Tamaño de partícula: 20 μ m

45 Alimentación: disuelta en MeOH; 10g/L

Solvente: n-heptano/IPA 10 ->50% IPA

El (S)-epímero eluyó a los 8.6 minutos y el (R)-epímero eluyó a los 10.3 minutos.

Los isómeros individuales puede caracterizarse usando los siguientes métodos de caracterización: fueron registrados espectros de RMN de protón (^1H), carbono (^{13}C), fósforo (^{31}P) y flúor (^{19}F) en un espectrómetro Bruker Avance 500 a 25°C. Los espectros fueron auto-calibrados al pico de solvente deuterado y todas las RMN de ^{13}C y RMN de ^{31}P fueron desacopladas de protón. Se verificó que la pureza de los compuestos finales era >95% mediante análisis de HPLC usando Varian Polaris C18-A (10 μM) como una columna analítica con una elución de gradiente de $\text{H}_2\text{O}/\text{Me}$ de 100/0 a 0/100 en 35 min. El análisis de HPLC fue llevado a cabo mediante Varian Prostar (LC Workstation-Varian prostar 335 detector de LC).

(S)-Fosfato de 2'-desoxi-2',2'-difluoro-D-citidina-5'-O-[fenil(benziloxi-L-alaninilo)] 3

(ES+) m/z, encontrado: (M + Na⁺) 603.14. $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{NaP}$ requerido: (M⁺) 580.47. RMN de ^{31}P (202 MHz, MeOD): δ_{P} 3.66

RMN de ^1H (500 MHz, MeOD): δ_{H} 7.58 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-6), 7.38 - 7.32 (m, 7H, ArH), 7.26 - 7.20 (m, 3H, ArH), 6.24 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-1'), 5.84 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 5.20 (sistema AB, J_{AB} = 12.0 Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.46 - 4.43 (m, 1H, H-5'), 4.36 - 4.31 (m, 1H, H-5'), 4.25 - 4.19 (m, 1H, H-3'), 4.07 - 4.00 (m, 2H, H-4', CHCH_3), 1.38 (d, J = 7.2 Hz, 3H, CHCH_3).

RMN de ^{19}F (470 MHz, MeOD): δ_{F} - 118.0 (d, J = 241 Hz, F), - 120.24 (d ancha, J = 241 Hz, F).

RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD): δ_{C} 174.61 (d, $^3J_{\text{C-P}}$ = 5.0 Hz, C=O, éster), 167.63 (C-NH₂), 157.74 (C=O base), 152.10 (d, $^2J_{\text{C-P}}$ = 7.0 Hz, C-Ar), 142.40 (CH-base), 137.22 (C-Ar), 130.90, 129.63, 129.39, 129.32, 126.32 (CH-Ar), 124.51 (d, $^1J_{\text{C-F}}$ = 257 Hz, CF_2), 121.47, 121.43 (CH-Ar), 96.67 (CH-base), 85.92 (señal ancha, C-1'), 80.31 (C-4'), 71.27 (t aparente, $^2J_{\text{C-F}}$ = 23.7 Hz, C-3'), 68.03 (OCH_2Ph), 65.73 (d, $^2J_{\text{C-P}}$ = 5.30 Hz, C-5'), 51.66 (CHCH_3), 20.42 (d, $^3J_{\text{C-P}}$ = 6.25 Hz, CHCH_3).

HPLC inversa, eluyendo con $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ de 100/0 a 0/100 en 35 min, mostró un pico de diaestereoisómero con t_{R} = 22.53 min.

(R)-Fosfato de 2'-deoxi-2',2'-difluoro-D-citidina-5'-O-[fenil(benziloxi-L-alaninilo)] 4.

(ES+) m/z, encontrado: (M + Na⁺) 603.14. $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{NaP}$ requerido: (M⁺) 580.47.

RMN de ^{31}P (202 MHz, MeOD): δ_{P} 3.83

RMN de ^1H (500 MHz, MeOD): δ_{H} 7.56 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-6), 7.38 - 7.31 (m, 7H, ArH), 7.23 - 7.19 (m, 3H, ArH), 6.26 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-1'), 5.88 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 5.20 (s, 2H, OCH_2Ph), 4.49 - 4.46 (m, 1H, H-5'), 4.38 - 4.34 (m, 1H, H-5'), 4.23 - 4.17 (m, 1H, H-3'), 4.07 - 4.01 (m, 2H, H-4', CHCH_3), 1.38 (d, J = 7.2 Hz, 3H, CHCH_3).

RMN de ^{19}F (470 MHz, MeOD): δ_{F} - 118.3 (d, J = 241 Hz, F), - 120.38 (d ancha, J = 241 Hz, F).

RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD): δ_{C} 174.65 (d, $^3J_{\text{C-P}}$ = 5.0 Hz, C=O, éster), 167.65 (C-NH₂), 157.75 (C=O base), 152.10 (d, $^2J_{\text{C-P}}$ = 7.0 Hz, C-Ar), 142.28 (CH-base), 137.50 (C-Ar), 130.86, 129.63, 129.40, 129.32, 126.31 (CH-Ar), 124.50 (d, $^1J_{\text{C-F}}$ = 257 Hz, CF_2), 121.44, 121.40 (CH-Ar), 96.67 (CH-base), 85.90 (señal ancha, C-1'), 80.27 (C-4'), 71.30 (t aparente, $^2J_{\text{C-F}}$ = 23.7 Hz, C-3'), 68.02 (OCH_2Ph), 65.50 (C-5'), 51.83 (CHCH_3), 20.22 (d, $^3J_{\text{C-P}}$ = 7.5 Hz, CHCH_3).

HPLC inversa, eluyendo con $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ de 100/0 a 0/100 en 35 min, mostró un pico de diaestereoisómero con t_{R} = 21.87 min

En toda la descripción y en las reivindicaciones de esta especificación, las palabras "comprender" y "contener" y variaciones de las mismas significan "incluir pero sin limitarse a", y no están destinadas a excluir (y no excluyen) otros grupos químicos, aditivos, componentes, números enteros o pasos. En toda la descripción de las reivindicaciones de esta especificación, el singular abarca el plural a menos que el contexto requiera algo diferente. En particular, cuando se usa el artículo indefinido, la especificación debe entenderse de manera que contemple la pluralidad, así como también la singularidad, a menos que el contexto requiera algo diferente.

Rasgos, números enteros, características, grupos químicos o grupos descritos conjuntamente con un aspecto particular, forma de realización o ejemplo de la invención deben entenderse como aplicables a cualquier otro aspecto, forma de realización o ejemplo descritos aquí a menos que sean incompatibles con los mismos. Todos los rasgos divulgados en esta especificación (incluyendo cualquier reivindicación, resumen y dibujo acompañantes) y/o todos los pasos de cualquier método o procedimiento divulgados pueden combinarse en cualquier combinación, excepto combinaciones donde al menos algunos de tales rasgos y/o pasos son mutuamente excluyentes. La invención no se restringe a los detalles de ninguna forma de realización anterior. La invención se extiende a cualquier otro rasgo nuevo o combinación nueva de rasgos divulgados en esta especificación (incluyendo cualquier

reivindicación, resumen y dibujos acompañantes) o a cualquier paso nuevo, o cualquier combinación nueva de pasos, de cualquier método o procedimiento divulgado de esta manera.

La atención del lector se dirige a todos los artículos y documentos que han sido presentados simultáneamente con, o previamente a esta especificación en conexión con esta solicitud y que están abiertos a la inspección pública con esta especificación.

Las siguientes abreviaturas se usan en esta especificación:

API - ingrediente farmacéutico activo, es decir fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]

DMA - dimetilacetamida DMF - N,N-dimetilformamida

DMSO -dimetilsulfóxido; IPA - alcohol isopropílico

NMP - N-metilpirrolidinona; PEG -polietilenglicol

Ejemplo 1 -Desarrollo de una formulación de primera generación

Fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] (NUC-1031; 2) fue obtenido como una mezcla de diaestereoisómeros de fosfato mediante el método descrito en la publicación WO2005/012327.

Los experimentos del ejemplo 1 se llevaron a cabo todos usando NUC-1031 como una mezcla de diaestereoisómeros de fosfato.

La solubilidad de NUC-1031 fue determinada en un intervalo de sistemas solventes farmacéuticamente aceptables. El protocolo adoptado fue tal como sigue:

Un pequeño volumen, 1 - 2 mL, de cada sistema solvente fue preparado y se adicionó un peso del compuesto en cuestión. Las soluciones fueron agitadas durante aproximadamente 4 horas y luego fueron filtradas por una membrana de 0.45 µL. La concentración del compuesto en cuestión en el filtrado fue determinada luego mediante un ensayo de HPLC.

Con base en el plan de dosificación de la gemcitabina que se usa en el tratamiento de cáncer pancreático, la dosis ajustada del peso molecular de NUC-1031 sería de alrededor de 3200 mg, dada como una perfusión una vez a la semana. Como una indicación del nivel de solubilidad requerido, tomando un objetivo teórico de un volumen de perfusión de 500 mL, la solubilidad requerida del NUC-1031 sería >6 mg/ml en el fluido de perfusión. Sin embargo, este nivel de solubilidad es sólo una indicación y solubilidades más bajas pueden proporcionar todavía terapias efectivas.

Tabla 1 muestra la solubilidad de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo] 2 en un intervalo de solventes adecuados para administración intravenosa

Solvente	Apariencia	Ensayo (mg/ml)
Etanol	Solubilizados rápidamente, después de 30 minutos se precipitó en una pasta blanca	
Glicerina	API evidente	
Propilenglicol	Precipitación evidente después de 30 minutos	371
PEG 400	Precipitación evidente después de 120 minutos	385
NMP	Solución transparente	>207
DMSO	Solución transparente	>217
DMA	Solución transparente	>656

DMSO, DMA y NMP, todos los cuales son solventes apróticos polares, proporcionaron soluciones estables.

Después de diluir 1:1 con agua o solución salina, NMP y DMA no mostraron ninguna evidencia de precipitación. El apéndice 1 muestra la solubilidad de NUC-1031 en un intervalo de solventes en dilución. DMA suministro solubilidad suficiente para administrar la dosis requerida.

Tabla 2 muestra la solubilidad de NUC-1031 en un intervalo de solventes en dilución

ES 2 655 820 T3

Solvente, cantidad de NUC-1031	Solvente: Solución salina (0.9%)	Apariencia	NUC-1031 mg/mL ensayo de HPLC filtrado	Recuperación del valor teórico	Evidencia de precipitación adicional al almacenarse el filtrado a temperatura ambiente ≥24 h
PEG 400, 91.2 mg/mL	1:1	Solución transparente	n/a	n/a	Si
PEG 400, 91.2 mg/mL	1:2	Precipitación evidente	16.2	53%	Si
PEG 400, 91.2 mg/mL	1:2*	Solución ligeramente turbia	18.8	62%	Si
PEG 400, 45.6 mg/mL	1:1.5*	Solución transparente	n/a	n/a	Si
PEG 400, 45.6 mg/mL	1:2*	Solución transparente	n/a	n/a	Si
PEG 400, 45.6 mg/mL	1:2.5*	Precipitación, solución también precipitada después de filtration	10.5	80%	Si
DMA 92.5 mg/mL	1:1 glucosa	Solución transparente	47.3	102%	No
DMA 92.5 mg/mL	1:2 glucosa	Solución ligeramente turbia	29.7	96%	Si
PEG 400 87.7 mg/mL	1:1 glucosa	Solución ligeramente turbia	46.1	105%	Si
PEG 400 87.7 mg/mL	1:2 glucosa	Solución turbia/ precipitación	17.4	60%	No
NMP 115.0 mg/mL	1:1 solución salina	Solución ligeramente turbia	60.0	104%	No
NMP 115.0 mg/mL	1:2 solución salina	Solución ligeramente turbia	40.5	106%	Si
NMP 115.0 mg/mL	1:1 glucosa	Solución ligeramente turbia	58.5	102%	No
NMP 115.0 mg/mL	1:2 glucosa	Solución ligeramente turbia	39.6	103%	Si
DMA 91.6 mg/mL	1:1	Solución transparente	47.0	103%	
DMA 91.6 mg/mL	1:2	Solución ligeramente turbia	30.2	99%	
DMA 91.6% mg/mL	1:3	Precipitación observada	14.8	65%	
DMA 91.6 mg/mL	1:2*	Inicialmente transparente ≥30 min escasa precipitación	30.9	101%	
DMA 91.6 mg/mL	1:3*	Precipitación evidente	15.2	66%	
DMA 73.3 mg/mL	1:3*	Precipitación evidente	14.7	80%	
DMA 55.0 mg/mL	1:3*	Solución ligeramente turbia	13.9	101%	
DMA 45.8 mg/mL	1:3*	Solución transparente	11.5	100%	
DMA 45.8 mg/mL	1:3.5*	Solución transparente	n/a	n/a	
DMA 45.8 mg/mL	1:4*	Inicialmente transparente, precipita ≥30 min, agitando precipitado se disuelve	8.4	92%	
DMA 45.8 mg/mL	1:4.5*	Solución ligeramente turbia	7.2	87%	

*0.9% solución salina que contiene 0.13% de Tween 80

Efectos de dilución en la solubilidad de DMA

La tabla 2 indica el efecto de la dilución acuosa en la solubilidad de DMA

Tabla 2

Solución	Ensayo (mg/ml)	Precipitación >24 horas
100% DMA	592	No
95:5 DMA:solución salina al 0.9%	518	No
90:10 DMA:solución salina al 0.9%	483	No
80:20 DMA:solución salina al 0.9%	386	Si
70:30 DMA:solución salina al 0.9%	339	Si
60:40 DMA:solución salina al 0.9%	293	Si
50:50 DMA:solución salina al 0.9%	66	Si

- 5 Estas soluciones de DMA fueron evaluadas además para la estabilidad física durante un tiempo más largo y los resultados se indican en la tabla 2a

Tabla 2a

Solución en solución salina al 0.9%	Ensayo (mg/ml)	Precipitación (2 semanas)
80:20 DMA	304	Si
80:20 DMA	272	No
80:20 DMA	315	Si
80:20 DMA	270	Si
85:15 DMA	338	No

- 10 Siguiendo los experimentos descritos antes, se usó una formulación de 250 mg de NUC-1031 en una solución 80:20 DMA:0.9% de solución en un vial de 5 ml en ensayo clínico. La formulación suministró un tratamiento exitoso en el estudio clínico, pero necesitó administrarse por una línea central debido al dolor por la inyección.

Después se buscó una formulación que permitiera la administración por venas periféricas.

Ejemplo 2

Los experimentos de los ejemplos 2 a 6 se llevaron a cabo todos usando el (S)-epímero de NUC-1031.

- 15 Realización de la combinación

NUC-1031 fue combinado en nueve formulaciones diferentes usando DMA y un co-excipiente tal como se describe en la tabla 3.

Tabla 3: Formulaciones de NUC-1031

Formulación	Peso de NUC-1031	Volumen de DMA	Co-excipiente	Volumen de co-excipiente
A	1 g	3 mL	Kolliphor® EL	7 mL
B	1 g	4 mL	Kolliphor® EL	6 mL
C	1 g	3 mL	Kolliphor® ELP	7 mL
D	1 g	4 mL	Kolliphor® ELP	6 mL
E	1 g	3 mL	Kolliphor® HS15	7 mL
F	1 g	4 mL	Kolliphor® HS15	6 mL
G	1 g	4 mL	PEG 400	6 mL
H	1 g	4 mL	PEG 300	6 mL
I	1 g	4 mL	Polietilenglicol	6 mL

El API fue combinado usando el siguiente método:

1. La DMA fue adicionada a NUC-1031 en un vial de vidrio de centelleo. Se observó disolución instantánea del API.

2. El co-excipientes fue adicionado en segundo lugar y mezclando brevemente (menos de un minuto) usando un mezclador vortex (Whirlmixer, de marca Fisher).

- 5 Se encontró que esto proporcionaba un método más eficiente de combinación del API que disolver NUC-1031 en una mezcla de la DMA y el co-excipientes. Disolver el NUC-1031 en la mezcla se proporciona el API combinado pero el procedimiento es menos eficiente.

Todas las formulaciones eran soluciones transparentes que permanecieron estables (visualmente) durante varios días (> 7 días).

- 10 Se observó que el API contribuye al volumen de la formulación. Una formulación típica en este estudio tiene un volumen de 10.6-10.7 mL (concentración de API 93-94 mg/mL).

Ejemplo 3 - Estudios de solución de perfusión

Fue investigada la solubilidad de las formulaciones de NUC-1031 en soluciones para perfusión. En la clínica se pretendió solubilizar 2 g de API en 500 mL de solución de perfusión (4 mg/mL). Las formulaciones descritas antes fueron diluidas para generar una solución de perfusión con una concentración de API ligeramente superior (4.6-4.7 mg/mL) para representar un escenario del peor caso. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Solubilidad de formulaciones de NUC-1031 en soluciones de perfusión (p = precipitado; c = solución transparente)

Formulación	Solución de perfusión	T=0 horas	T=2 horas	T=4.5 horas	T=7 horas	T=24 horas
A	0.45% de solución salina	c	c	c	c	p
B	WFI	c	c	p	p	p
C	0.45% de solución salina	c	c	c	p	p
D	WFI	c	c	p	p	p
E	0.45% de solución salina	c	c	c	c	p
F	WFI	c	c	c	c	c
G	WFI	p	n/a	n/a	n/a	n/a
H	WFI	p	n/a	n/a	n/a	n/a
I	WFI	p	n/a	n/a	n/a	n/a

- 20 Las formulaciones B y F fueron seleccionadas para estudios de bolsa de perfusión.

Ejemplo 4 - Estudios de bolsa de perfusión

Las formulaciones B y F (5 mL de cada una) fueron inyectadas en bolsas Viaflo® de 100 mL de APP de Baxter. Las bolsas Viaflo® se fabrican a partir de un plástico libre de PVC. Esto elimina el riesgo de lixiviación de compuestos tóxicos de ftalato.

- 25 Tabla 5 - Solubilidad de las formulaciones B y F en bolsas de perfusión de APP (p = precipitado; c = solución transparente)

Formulación	Solución de perfusión	T=0	T=2 horas	T=24 horas
Formulación B: API - EL -6 mL 1 g, DMA - 4 mL, Kolliphor®	WFI	c	c	p
Formulación F: API - HS15 -6 mL 1 g, DMA - 4 mL, Kolliphor®	WFI	c	c	p

Los resultados anteriores muestran que pueden generarse formulaciones que comprenden DMA las cuales, después de diluirse con un vehículo acuoso, son capaces de permanecer estables por suficiente tiempo para administrarse a un paciente. Las formulaciones pueden diluirse hasta que la DMA sea un componente relativamente secundario (1-2%), y la mayor parte del restante del solvente es agua sin fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] que se precipita de la solución.

Ejemplo 5 - Otros estudios de estabilización de la formulación

Se preparó y se investigó una gama de otras formulaciones del (S)-isómero de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo]] (Tabla 6).

Tabla 6. Otras formulaciones de (S)-isómero

Formulación	Target API Concentration (mg/mL)	API Weight* (g)	Formulación Volume (mL)	Excipients
J	75	1.90	25	30% DMA, 70% Kolliphor® ELP
K	75	1.90	25	40% DMA, 60% Kolliphor® ELP
L	75	1.89	25	50% DMA, 50% Kolliphor® ELP
M	75	1.89	25	50% DMA, 50% Tween® 80
N	100	2.53	25	30% DMA, 70% Kolliphor® ELP
O	100	2.54	25	40% DMA, 60% Kolliphor® ELP
P	100	2.54	25	50% DMA, 50% Kolliphor® ELP
Q	100	2.53	25	50% DMA, 50% Tween® 80
*El peso real de API ponderado en la potencia 99.1% del API				

Para cada formulación, inicialmente se solubilizar o el API en DMA y luego se constituyó al volumen en el matraz volumétrico con Kolliphor® ELP o con Tween® 80. El Kolliphor® ELP fue fundido aplicando la cantidad mínima de calor requerido para alcanzar la fusión (horno de 50 °C, 10 minutos).

Filtración y envasado

Las formulaciones fueron filtradas manualmente por medio de un filtro de jeringa en viales de vidrio transparentes de 2mL.

Las formulaciones proporcionaron una contra-presión durante la filtración que hizo físicamente difícil hacer pasar la solución a través de un filtro dado y que contribuyó a la pérdida de muestra. Cuanto mayor fue la concentración de Kolliphor® ELP en la formulación, mayor fue la contra-presión experimentada durante la filtración.

El espacio libre de los viales llenos fue purgado con nitrógeno antes de sellarlos con un tapón West de 13 mm y engastando con un sobre-sello de aluminio.

Todos los viales fueron almacenados a 2-8°C durante 3 días antes de ensayar a T = 0 y ponerlos para estabilidad. No se observó la formación de precipitado o gelificación en ninguno de los viales.

Estabilidad

Para cada formulación fueron evaluados cuatro viales para estabilidad a 25°C y cuatro viales a 2-8°C.

Apariencia - los lotes 1-3 y 5-7 estuvieron conformes con la descripción "solución incolora transparente, libre de partículas visibles" a T = 0 y 1 mes en todas las condiciones de almacenamiento. Los lotes 4 y 8 estuvieron conformes con la descripción "solución amarilla transparente, libre de partículas visibles" a T = 0 y 1 mes en todas las condiciones de almacenamiento.

Ensayos y sustancias relacionadas - Las muestras fueron analizadas usando el ensayo y sustancias relacionadas en el método ADP173 vs. 04 para NUC-1031. Para las muestras de 100 mg/mL se transfirieron 200 µl a matraz volumétrico de 20 mL usando una pipeta de desplazamiento positivo y se diluyeron a volumen con el diluyente. Para

las muestras de 75 mg/mL se transfirieron 250 µl a matraz volumétrico de 20 mL usando pipeta de desplazamiento positivo y se diluyeron a volumen con diluyente.

Tabla 7 - Ensayo a 2-8°C

Formulación	Ensayo (mg/mL) T = 0	Ensayo (mg/mL) 2-8°C T = 1m
J	77.43	73.96
K	78.56	74.82
L	75.59	75.90
M	74.21	71.73
N	108.27	101.05
O	95.09	97.97
P	96.48	95.75
Q	94.95	73.90

5

Tabla 8 - Ensayo a 25 °C/60% de humedad relativa

Formulación	Ensayo (mg/mL) T=0	Ensayo (mg/mL) 25°C/60%RH T = 1m
J	77.43	73.90
K	78.56	74.74
L	75.59	75.94
M	74.21	64.80
N	108.27	103.76
O	95.09	98.51
P	96.48	97.70
Q	94.95	89.05

Las formulaciones fueron diluidas luego en solución salina de 0.45% y se evaluó la estabilidad tal como se indica en la tabla 9.

Tabla 9 Estabilidad de las formulaciones en solución salina de 0.45%

Formulación	Excipientes	Concentración de API en solución salina al 0.45% (mg/mL)	pH	Osmolalidad (mOsm/kg)	Observación T=6 horas	Observación T=24 horas
J	30% DMA, 70% Kolliphor® ELP	3	6.2	281	Solución transparente	Solución transparente
K	40% DMA, 60% Kolliphor® ELP	3	6.3	316	Solución transparente	Solución transparente
L	50% DMA, 50% Kolliphor® ELP	3	6.5	371	Solución transparente	Solución transparente
M	50% DMA, 50% Tween® 80	3	7.1	377	Solución transparente	Solución transparente
N	30% DMA, 70% Kolliphor® ELP	5	6.3	292	Solución transparente	Precipitado - cantidad pequeña
O	40% DMA, 60% Kolliphor® ELP	5	6.3	458	Solución transparente	Precipitado - cantidad pequeña

Formulación	Excipientes	Concentración de API en solución salina al 0.45% (mg/mL)	pH	Osmolalidad (mOsm/kg)	Observación T=6 horas	Observación T=24 horas
P	50% DMA, 50% Kolliphor® ELP	5	6.3	437	Solución transparente	Precipitado - cantidad grande
Q	50% DMA, 50% Tween® 80	5	7.0	471	Solución transparente	Gel sólido

Los resultados indican que las formulaciones de 75 mg/mL (J-M) diluidas 3 mg/mL en solución salina de 0.45% son físicamente estables durante 24 horas. Las formulaciones de 100 mg/mL (N-Q) diluidas a 5 mg/mL en solución salina de 0.45% son físicamente estables hasta 6 horas. Las formulaciones L y O fueron evaluadas en un día diferente por un operador diferente y se obtuvieron los mismos resultados.

Evaluación de solución de perfusión

Fue evaluada la estabilidad a largo plazo de las formulaciones diluyendo con solución salina de 0.45% después que las formulaciones habían sido almacenadas durante 1 mes tal como se indica en la tabla 10.

Tabla 10 - Formulaciones en solución salina de 0.45% T=1 mes

Formulación	Sample	Excipients	API concentration in solución salina al 0.45% (mg/mL)	Observación T=24 horas
J	T=1 mes 2-8°C	30% DMA, 70% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
J	T=1 mes 25°C	30% DMA, 70% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
K	T=1 mes 2-8°C	40% DMA, 60% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
K	T=1 mes 25°C	40% DMA, 60% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
L	T=1 mes 2-8°C	50% DMA, 50% Kolliphor ELP	3	Solución transparente
L	T=1 mes 25°C	50% DMA, 50% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
M	T=1 mes 2-8°C	50% DMA, 50% Tween® 80	3	Solución transparente
M	T=1 mes 25°C	50% DMA, 50% Tween® 80	3	Solución transparente
N	T=1 mes 2-8°C	30% DMA, 70% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
N	T=1 mes 25°C	30% DMA, 70% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
O	T=1 mes 2-8°C	40% DMA, 70% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
O	T=1 mes 25°C	40% DMA, 60% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
P	T=1 mes 2-8°C	50% DMA, 50% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
P	T=1 mes 25°C	50% DMA, 50% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
Q	T=1 mes 2-8°C	50% DMA, 50% Tween® 80	3	Solución transparente
Q	T=1 mes 25°C	50% DMA, 50% Tween® 80	3	Solución transparente

Los resultados indican que las formulaciones de 75 mg/mL (J-M) y las formulaciones de 100 mg/mL (N-Q) que han sido almacenadas durante 1 mes y luego diluidas a 3 mg/mL en solución salina de 0.45% son físicamente estables después de 24 horas.

Las formulaciones que habían sido almacenadas a 25 °C (durante 2 meses) y que contenían Kolliphor ELP™ fueron evaluadas en solución salina filtrada de 0.45% a una cantidad de concentraciones según se indica en la tabla 11.

Tabla 11 - Formulaciones de NUC-1031 en solución salina de 0.45%, T=2 meses, 25°C

Formulación	Composición	Concentración de API en solución salina al 0.45% (mg/mL)	Observación T = 19 horas
J	75mg/mL API, 30% DMA, 70% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
		3.5	Solución transparente
		4	Solución transparente
		4.5	Solución transparente
K	75 mg/mL, 40% DMA, 60% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
		3.5	Solución transparente
		4	Solución transparente
		4.5	Solución transparente
L	75 mg/mL API, 50% DMA, 50% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
		3.5	Solución transparente
		4	Solución transparente
		4.5	Solución transparente
N	100 mg/mL API, 30% DMA, 70% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
		3.5	Solución transparente
		4	Solución transparente
		4.5	Solución transparente
O	100 mg/mL API, 40% DMA, 60% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
		3.5	Solución transparente
		4	Solución transparente
		4.5	Solución transparente
P	100 mg/mL API, 50% DMA, 50% Kolliphor® ELP	3	Solución transparente
		3.5	Solución transparente
		4	Solución transparente
		4.5	Solución transparente

- 5 Los resultados indican que las formulaciones diluidas en solución salina de 0.45% son físicamente estables hasta una concentración de 4.5 mg/mL.

Ejemplo 7 - Combinaciones de solubilizantes

Se prepararon muestras en las cuales estaba presente una combinación de solubilizantes.

Primero se preparó una solución de 250 mg/mL del S-epímero en DMA disolviendo el S-epímero en DMA. Ésta fue diluida luego hasta una solución de 100 mg/mL mediante adición de la combinación deseada de solubilizantes, de acuerdo con la tabla 12.

Formulación No	DMA %	Kolliphor® ELP%	Kolliphor® HS15%	Tween® 80%
1	40		30	30
2	40		20	40
3	40		40	20
4	40	30		30
5	40	20		40
6	40	40		20
7	40	30	30	
8	40	20	40	
9	40	40	20	
10	40	10	20	30
11	40	10	30	20
12	40	20	10	30
13	40	20	30	10
14	40	30	20	10
15	40	30	10	20
16	40	20	20	20

Las formulaciones se diluyeron cada una en solución salina de 0.45% (pH 5.9) para proporcionar soluciones que eran de 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL. La apariencia de la solución fue verificada después de agitar y después de 3 horas, 6 horas y 24 horas de almacenamiento a temperatura ambiente. Todas las soluciones, incluyendo aquellas a 10 mg/mL permanecieron soluciones incoloras transparentes después de 24 horas. La solución de 10 mg/mL de formulación 3 si mostró, no obstante, cierta turbidez y formación de partículas después de 26 horas. El análisis de HPLC de las otras soluciones de 10 mg/mL mostraron que la concentración del componente activo en la solución y pureza del componente activo permanecieron en los niveles esperados.

Por lo tanto, el uso de combinaciones de más de un solubilizante puede permitir que se formen soluciones estables de NUC-1031 a concentraciones más altas.

Ejemplo 8

Un sistema de formulación preferido para formular NUC-1031 es tal como sigue:

Una solución de 250 mg/mL de NUC-1031 (el S-epímero, el R-epímero o una mezcla de los mismos) se forma en una mezcla 80:20 (en volumen) de DMA y solución salina al 0.9%. Este sistema es suficientemente estable para almacenamiento de largo plazo y transporte de NUC-1031.

Esta formulación puede administrarse a pacientes por vía intravenosa a través de una línea central (por ejemplo, una línea de Hickman, una línea de PICC, Portacath). El aparato de administración intravenosa se descarga normalmente con una mezcla de 80:20 (en volumen) de DMA y solución salina al 0.9% tanto antes como después de la administración de la formulación que comprende NUC-1031. Esto ayuda a mitigar el riesgo de cualquier precipitación potencial de NUC-1031 en el aparato de administración intravenosa al contacto con la descarga de solución salina.

De manera alternativa, cuando la administración intravenosa a una vena periférica es el método preferido de administración, esta primera formulación se diluye luego a 100 mg/mL con una mezcla 40%:40%:20% de DMA:Tween® 80:Kolliphor® ELP (por ejemplo 6.9 mL de 250 mg/ml de NUC-1031 en 80:20 DMA: solución salina al 0.9% se adiciona a 10.35 mL del diluyente DMA:Tween®80:Kolliphor® ELP). Se ha mostrado que la formulación resultante (segunda) es estable hasta durante 5 días tanto para el S-epímero como para una mezcla de los epímeros R y S.

La formulación de administración final se prepara luego diluyendo esta segunda formulación a la concentración deseada con solución salina. Se ha mostrado que las soluciones de una mezcla de los epímeros R y S a 4, 8 y 10 mg/mL son estables (tanto frente a la precipitación de NUC-1031 como frente a la degradación de NUC-1031) durante 48 horas después de la dilución de esta formulación en solución salina tanto al 0.45% como al 0.9% en un

intervalo de pH (4.5, 6.0 y 7.0), siempre que las mezclas no se agitaron. Se ha mostrado que la osmolaridad de todas estas soluciones es aceptable para administración periférica.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica que comprende:
fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo];
dimetil acetamida; y
- 5 opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
2. Una formulación según la reivindicación 1, donde la formulación también comprende un vehículo acuoso.
3. Una formulación según la reivindicación 2, donde el vehículo acuoso es solución salina.
4. Una formulación según la reivindicación 2, donde el vehículo acuoso es agua para perfusión.
- 10 5. Una formulación según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la formulación también comprende un solubilizante.
6. Una formulación según la reivindicación 5, donde la formulación comprende dos o más solubilizantes.
7. Una formulación según la reivindicación 5 o la reivindicación 6, donde el solubilizante o cada uno de los solubilizantes es un ácido graso polietoxilado o una mezcla de estos.
8. Una formulación según la reivindicación 1, donde la formulación comprende:
- 15 de 30 % a 95% en volumen de dimetilacetamida;
de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y
de 100 mg a 400 mg por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)].
9. Una formulación según la reivindicación 1, donde la formulación comprende:
de 0.5 % a 7.5% en volumen dimetilacetamida;
- 20 de 0.5% a 7.5% en volumen de solubilizante o solubilizantes;
de 85% a 99% en volumen de vehículo acuoso y
de 2.0 mg a 12.0 mg por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)].
10. Una formulación según cualquier reivindicación anterior donde el fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)] se encuentra en la forma del (S)-epímero de fosfato con una pureza diaestereoisomérica mayor a 95%.
- 25 11. Una formulación según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 que es adecuada para administración intravenosa.
12. Una formulación según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 5 a 7 que es adecuada para dilución con un vehículo acuoso para formar una formulación para administración intravenosa.
13. Una formulación según cualquier reivindicación anterior para uso médico.
- 30 14. Una formulación según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, para uso en el tratamiento de cáncer.
15. Un método para preparar una formulación farmacéutica de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)] que es adecuada para perfusión o inyección y el método comprende:
diluir una solución que comprende fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)] y dimetilacetamida con un vehículo acuoso para proporcionar la formulación adecuada para perfusión o inyección.
- 35 16. Un kit que comprende:
una primera formulación que comprende:
de 30 % a 95% en volumen dimetilacetamida;

- de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y
- una segunda formulación que comprende:
- de 30 % a 95% en volumen dimetilacetamida;
- de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y
- 5 de 100 mg a 400 mg por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)].
17. Un kit que comprende:
- una primera formulación que comprende:
- de 30 % a 95% en volumen de dimetilacetamida;
- de 5% a 50% en volumen de vehículo acuoso; y
- 10 de 100 mg a 400 mg por mL de fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)]; y
- una segunda formulación que comprende:
- de 20 % a 80% en volumen de dimetilacetamida;
- de 20% a 60% en volumen de un primer solubilizante;
- de 10% a 40% en volumen de un segundo solubilizante.
- 15 18. Un kit según la reivindicación 16 o la reivindicación 17, donde el fosfato de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninilo)] se encuentra en la forma del (S)-epímero de fosfato con una pureza diaestereoisomérica mayor a 95%.