

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 674 052**

51 Int. Cl.:

A61K 31/70 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61K 8/00 (2006.01)
A61K 31/26 (2006.01)
A61K 47/40 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2008** E 14166888 (9)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.05.2018** EP 2796140

54 Título: **Sulforafano estabilizado**

30 Prioridad:

23.01.2007 US 881875 P

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

27.06.2018

73 Titular/es:

**PHARMAGRA LABS, INC. (100.0%)
40 McLean Road
Brevard, NC 28801, US**

72 Inventor/es:

**FRISBEE, ALBERT, ROGER;
NEWSOME, PETER, WYATT;
BAUDET, MICHEL, PIERRE y
DAGAN, IDO, DOV**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 674 052 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

Sulforafano estabilizado

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere en general al sulforafano estabilizado y a análogos de los mismos. La presente invención se refiere además en general a métodos de estabilización de sulforafano y análogos de los mismos.

10 Se ha demostrado que los isotiocianatos, tales como fenetil isotiocianato (PEITC) y sulforafano, inhiben la carcinogénesis y tumorigénesis y, como tales, son agentes quimiopreventivos útiles contra el desarrollo y la proliferación de cánceres. Estos compuestos funcionan en una variedad de niveles. En particular, se ha demostrado que inhiben la carcinogénesis mediante la inhibición de las enzimas del citocromo P450, que oxidan compuestos tales como el benzo[a]pireno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) en dioles epoxi más polares que luego pueden causar mutación e inducir el desarrollo del cáncer. Se ha demostrado que el isotiocianato de fenetilo (PEITC) induce la apoptosis en ciertas líneas celulares cancerosas y, en algunos casos, incluso es capaz de inducir la apoptosis en células que son resistentes a algunos fármacos quimioterapéuticos actualmente usados.

15 El sulforafano, como se discutió anteriormente, se conoce como un compuesto anticanceroso y antimicrobiano encontrada en las verduras crucíferas tal como repollo, brócoli, brotes de brócoli, coles de Bruselas, coliflor, brotes de coliflor, col china, col rizada, clase de repollo, rúcula, colinabo, mostaza, nabo, rábano rojo y berros. En la planta, está presente en forma enlazada como la glucorafanina, un glucosinolato. El sulforafano a menudo se forma a partir de la glucorafanina en el daño de las células vegetales a través de una reacción enzimática.

20 Se conocen en la técnica diversos métodos de síntesis de producción de sulforafano. El sulforafano se sintetizó ya en 1948 por Schimid and Karrer (Schimid H. and Karrer, P., Helvetica Chimica Acta. 1948; 31; 6: 1497-1505). La síntesis de Schimid da como resultado una mezcla racémica. Otros métodos de síntesis de sulforafano desarrollados desde 1948 también tienden a dar como resultado mezclas racémicas de sulforafano. Adicionalmente, el sulforafano se conoce como un aceite inestable. Debido a su inestabilidad, el sulforafano es difícil de fabricar y distribuir.

25 Las ciclodextrinas son una familia de oligosacáridos cíclicos compuestos por 5 o más unidades de α -D-glucopiranosido unidas por 1-4. La ciclodextrina bien caracterizada más grande contiene 32 unidades de 1,4-anhidroglucopiranosido, mientras que (como una mezcla poco caracterizada) también se conocen oligosacáridos cíclicos de 150 miembros (y mayores).

30 Las ciclodextrinas son capaces de formar complejos huésped-huésped con moléculas hidrófobas dada la naturaleza única impartida por su estructura. Las ciclodextrinas incluyen un exterior que es suficientemente hidrófilo para impartir solubilidad en agua a la ciclodextrina. Se sabe que el interior de la ciclodextrina es hidrófilo, pero se puede considerar hidrófobo con respecto al exterior de la ciclodextrina.

35 Las ciclodextrinas naturales, en particular beta-ciclodextrina, tienen una solubilidad acuosa limitada y su formación de complejo con fármacos lipófilos a menudo da como resultado la precipitación de complejos sólidos de fármaco-ciclodextrina. De este modo, la solubilidad de la beta-ciclodextrina en agua es solo de aproximadamente 18.5 mg/mL a temperatura ambiente. Esta baja solubilidad acuosa está asociada, al menos parcialmente, con un fuerte enlace de hidrógeno intramolecular en la red cristalina de ciclodextrina. La sustitución de cualquiera de los grupos hidroxilo formadores de enlaces de hidrógeno, incluso por unidades estructurales hidrófobas tales como grupos metoxi, aumentará la solubilidad acuosa de beta-ciclodextrina. Además, dado que estas manipulaciones frecuentemente producen grandes cantidades de productos isoméricos, la modificación química puede transformar las ciclodextrinas cristalinas en mezclas amorfas aumentando su solubilidad acuosa.

40 Los derivados de ciclodextrina de interés farmacéutico actual incluyen los derivados de hidroxipropilo de alfa, beta y gamma-ciclodextrina, sulfoalquiléter ciclodextrinas tales como sulfobutiléter beta-ciclodextrina, ciclodextrinas alquiladas tales como la beta-ciclodextrina aleatoriamente metilada, y diversas ciclodextrinas ramificadas tales como glucosil- y maltosil-beta-ciclodextrina T. Loftsson and M. E. Brewster, "Cyclodextrins as pharmaceutical excipients", Pharm. Technol. Eur., 9(5), 26-34 (1997); T. Loftsson and M. E. Brewster, "Pharmaceutical applications of cyclodextrins. I. Drug solubilization and stabilization", J. Pharm. Sci. 85(10), 1017-1025 (1996); R. A. Rajewski and V. J. Stella, "Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery", J. Pharm. Sci. 85(11), 1142-1169 (1996); T. Irie and K. Uekama, "Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 3. Toxicological issues and safety evaluation", J. Pharm. Sci., 86(2), 147-162 (1997); V. J. Stella and R. A. Rajewski, "Cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery", Pharm. Res., 14(5), 556-567 (1997); T. Loftsson, "Increasing the cyclodextrin complexation of drugs and drug bioavailability through addition of water-soluble polymers", Pharmazie, 53, 733-740 (1998).

45 En las soluciones acuosas, las ciclodextrinas forman complejos con muchos fármacos a través de un procedimiento en el que las moléculas de agua localizadas en la cavidad central son reemplazadas por ya sea la molécula completa del fármaco, o más frecuentemente, por alguna porción lipófila de la estructura del fármaco. Una vez incluidos en la cavidad de ciclodextrina, las moléculas del fármaco se pueden disociar por dilución compleja, reemplazando el fármaco incluido por alguna otra molécula apropiada (tal como lípidos dietéticos o sales biliares en el tracto GI) o, si el complejo se

encuentra en estrecha aproximación a una membrana biológica lipófila (tal como la membrana mucosa del tracto GI), el fármaco se puede transferir a la matriz para la que tiene la mayor afinidad. Es importante destacar que, dado que no se forman o rompen enlaces covalentes durante la formación del complejo fármaco-ciclodextrina, los complejos están en equilibrio dinámico con moléculas de fármaco y ciclodextrina libres (R. A. Rajewski and V. J. Stella, "Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery", J. Pharm. Sci. 85(11), 1142-1169 (1996)).

Se han aplicado diversos métodos para la preparación de complejos de fármaco-ciclodextrina (T. Loftsson and M. E. Brewster, "Pharmaceutical applications of cyclodextrins. I. Drug solubilization and stabilization", J. Pharm. Sci. 85(10), 1017-1025 (1996); T. Loftsson and M. E. Brewster, "Cyclodextrins as pharmaceutical excipients", Pharm. Technol. Eur., 9(5), 26-34 (1997)). En solución, los complejos se preparan usualmente mediante la adición de una cantidad en exceso del fármaco a una solución acuosa de ciclodextrina. La suspensión formada se equilibra (durante períodos de hasta una semana a la temperatura deseada) y luego se filtra o se centrifuga para formar una solución clara de complejo de fármaco-ciclodextrina. Dado que la etapa de determinación de la velocidad en la formación del complejo es a menudo la transición de fase a fase de la molécula del fármaco, a veces es posible acortar este procedimiento mediante la formación de soluciones sobresaturadas mediante sonicación seguida de precipitación.

Para la preparación de los complejos sólidos, el agua se puede eliminar de las soluciones acuosas de fármaco-ciclodextrina por evaporación o sublimación, por ejemplo, secado por pulverización o liofilización. También se pueden aplicar otros métodos para preparar complejos sólidos de fármaco-ciclodextrina que incluyen métodos de amasado, coprecipitación, neutralización y técnicas de trituración. En el método de amasado, el fármaco se añade a una lechada acuosa de una ciclodextrina escasamente soluble en agua tal como betaciclodextrina. La mezcla se puede mezclar a fondo, a menudo a temperaturas elevadas, para producir una pasta que luego se seca. Esta técnica se puede modificar con frecuencia de modo que pueda realizarse en una sola etapa con la ayuda de mezcladores comercialmente disponibles que puedan funcionar a temperaturas superiores a 100 °C y al vacío. El método de amasado es un medio rentable para preparar complejos sólidos de ciclodextrina de fármacos escasamente solubles en agua. La coprecipitación de un complejo de ciclodextrina a través de la adición de solvente orgánico también es posible. Desafortunadamente, los solventes orgánicos usados como precipitantes a menudo interfieren con la formación de complejos, lo que hace que este enfoque sea menos atractivo que el método de amasado. Se ha descubierto que algunos solventes orgánicos en algunas condiciones específicas, por ejemplo, solución acuosa de ácido acético al 10% (v/v), puede potenciar la formación de complejos. Los complejos sólidos de fármacos ionizables se pueden preparar algunas veces mediante el método de neutralización en el que el fármaco se disuelve en una solución acuosa de ciclodextrina ácida (para fármacos básicos) o básica (para fármacos ácidos). La solubilidad del fármaco se reduce a continuación mediante ajustes de pH apropiados (esto es, la formación del fármaco sin unión) para expulsar el complejo de la solución. Finalmente, se pueden formar complejos de fármaco-ciclodextrina sólidos mediante el triturado de una mezcla física del fármaco y ciclodextrina y luego calentar la mezcla en un recipiente sellado a 60 a 90 °C.

Resumen de la invención

En un aspecto, la invención es un método de estabilización de sulforafano. El método incluye poner en contacto el sulforafano y W6 (alfa) ciclodextrina para formar un complejo entre el sulforafano y la W6 (alfa) ciclodextrina, en el que la etapa de contacto del sulforafano y la W6 (alfa) ciclodextrina comprende añadir sulforafano a una solución saturada de W6 (alfa) ciclodextrina en agua y permitir que el complejo de sulforafano y W6 (alfa) ciclodextrina precipite de la solución.

También se describe en este documento, una composición que incluye un complejo de sulforafano y una ciclodextrina.

También se describe en este documento, una composición que incluye un complejo de un análogo de sulforafano y una ciclodextrina.

También se describe en este documento una composición farmacéutica. La composición farmacéutica incluye un complejo de ciclodextrina y sulforafano, o un análogo de sulforafano, y un excipiente.

También se describe en este documento una composición nutracéutica. La composición nutracéutica incluye un complejo de ciclodextrina y sulforafano, o un análogo de sulforafano, y un excipiente.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un esquema de reacción representativo según la presente invención.

La figura 2 es un esquema de reacción representativo según la presente invención.

La figura 3 es una tabla que muestra datos de estabilización de formulaciones formadas según la presente invención y almacenadas a temperatura ambiente.

La figura 4 es una tabla que muestra datos de estabilización de formulaciones formadas según la presente invención y almacenadas en recipientes abiertos a 40 °C.

La figura 5 es una tabla que muestra datos de estabilización de formulaciones formadas según la presente invención y almacenadas en un congelador.

La figura 6 es una tabla que muestra datos de estabilización a largo plazo de composiciones de alfaB según la presente invención.

5 La figura 7 es una tabla que muestra datos de estabilización a largo plazo de composiciones de alfaC según la presente invención.

La figura 8 es una tabla que muestra datos de estabilización a largo plazo de composiciones de betaB según la presente invención.

Descripción detallada de varias realizaciones

10 La figura 1 representa un método mejorado para formar sulforafano. En una realización, la ftalimida de potasio y el dibromuro de tetrametileno se pueden combinar para formar bromobutilftalimida (Intermedio A). La bromobutilftalimida se puede combinar entonces con metil mercaptano (MeSH) en presencia de metanol y sodio para formar el intermedio B. Después del secado, el intermedio B se puede combinar con peróxido de hidrógeno y metil tert-butil éter (MTBE) para formar una mezcla racémica del intermedio C.

15 Para formar un intermedio C enantioméricamente rico (Figura 2), y finalmente un sulforafano enantioméricamente rico, la reacción de oxidación asimétrica (Sharpless modificada) puede incluir la adición de un reactivo Sharpless, tal como una mezcla 1: 1: 2 de isopropóxido de titanio (IV), tartrato de dietilo e hidroperóxido de t-butilo. En otra realización, el reactivo Sharpless puede ser una mezcla 1: 2: 1: 1 de isopropóxido de titanio (IV), tartrato de dietilo, agua e hidroperóxido de t-butilo a -20°C en un solvente, tal como diclorometano. Los expertos en el arte reconocerán que el tartrato de dietilo se debe usar en una forma enantioméricamente pura para producir el sulforafano enantioméricamente rico. De acuerdo con lo anterior, se debe elegir el isómero (+) o (-), dependiendo de la quiralidad deseada del sulforafano. La oxidación se realiza por lo general a temperatura reducida (esto es, inferior a aproximadamente 0 °C) en diclorometano.

20 El intermedio C (ya sea la mezcla racémica o la versión enantioméricamente pura, dependiendo del sulforafano deseado) se puede combinar luego con metilamina en etanol para formar el intermedio D. Finalmente, el intermedio D se puede combinar con cloroformo, hidróxido de sodio y tiosfogeno para formar sulforafano

También se describe en este documento una composición que incluye un complejo de sulforafano, o un análogo del mismo, y una ciclodextrina. En un aspecto, las ciclodextrinas apropiadas se pueden seleccionar de una o más de W6 (alfa) ciclodextrina (una molécula de anillo de seis azúcares), W7 (beta) ciclodextrina (una molécula de siete anillos de azúcar), W8 (gamma) ciclodextrina (una molécula de ocho anillos de azúcar), y mezclas de los mismos.

30 En una realización, el sulforafano puede ser un sulforafano enantioméricamente rico. En otra realización, el sulforafano puede ser una mezcla racémica. En otra realización más, cualquier proporción de enantiómeros de sulforafano puede estar presente en el complejo.

35 En aspectos que utilizan análogos de sulforafano, los análogos apropiados incluyen, pero no se limitan a, 6-isotiocianato-2-hexanona, exo-2-acetil-6-isotiocianatonorbornano, exo-2-isotiocianato-6-metilsulfonilnorbornano, 6-isotiocianato-2-hexanol, 1-isotiocianato-4-dimetilfosfonilbutano, exo-2-(1'-hidroxietil)-5-isotiocianatonorbornano, exo-2-acetil-5-isotiocianatonorbornano, 1-isotiocianato-5-metilsulfonilpentano y cis- o trans-3- (metilsulfonil) ciclohexilmetilisotiocianato, y mezclas de los mismos.

40 En otro aspecto más, las composiciones pueden incluir complejos de ciclodextrina con sulforafano y análogos de sulforafano.

En otro aspecto, la invención es un método de estabilización de sulforafano y análogos del mismo. El método incluye poner en contacto el sulforafano, o un análogo del mismo, y al menos una ciclodextrina para formar un complejo entre el sulforafano, o análogo del mismo, y la ciclodextrina.

45 La etapa de contacto del sulforafano, o un análogo del mismo, con al menos una ciclodextrina puede incluir Se disuelve o suspender la ciclodextrina en un solvente o mezcla de solventes para formar una primera solución o suspensión. De forma similar, el sulforafano, o un análogo del mismo, se puede Se disuelve o suspender en el mismo o diferente solvente o mezcla de solventes para formar una segunda solución o suspensión. La primera solución o suspensión se puede combinar luego para formar el presente complejo entre sulforafano, o un análogo del mismo, y la al menos una ciclodextrina. El complejo luego se puede separar de la solución y opcionalmente purificar, dando como resultado un complejo de sulforafano estabilizado.

50 La etapa de contacto del sulforafano, o un análogo del mismo, con al menos una ciclodextrina puede incluir alternativamente Se disuelve o suspender al menos una ciclodextrina en un solvente o mezcla de solventes para formar una solución o suspensión, y luego añadir sulforafano, o un análogo del mismo, a la solución o suspensión para formar el presente complejo.

Adicionalmente, la etapa de contacto del sulforafano, o un análogo del mismo, con al menos una ciclodextrina se puede realizar por otros métodos. Por ejemplo, se puede utilizar un solvente que se disuelve completamente tanto el sulforafano, o análogo del mismo, como la ciclodextrina. En otra realización, la ciclodextrina se puede disolver o suspender en un solvente o mezcla de solventes y luego colocarse en el rotavapor. El sulforafano, o análogo del mismo, se puede pulverizar luego directamente en la solución o suspensión, ya sea como una forma pura o como una solución o suspensión de sulforafano, o un análogo del mismo, en un solvente o mezcla de solventes.

La etapa de contacto también se puede realizar mediante el uso de un sistema de solvente bifásico. Por ejemplo, el sulforafano, o análogo del mismo, se puede combinar en solventes separados inmiscibles (ya sea como suspensiones o en solución). A continuación, los solventes inmiscibles se pueden mezclar a fondo hasta que se forme un complejo. El complejo puede luego aislarse a través de una de las técnicas de aislamiento discutidas en este documento.

Puede ser deseable llevar a cabo la etapa de contacto en ausencia de solventes. Por ejemplo, en una técnica de secado por pulverización, una neblina de sulforafano, o un análogo del mismo, se puede pulverizar o empañar sobre ciclodextrina pura para producir el presente complejo.

En una realización o aspecto descrito en este documento, la etapa de disolución o suspensión de ciclodextrina incluye disolver o suspender una ciclodextrina seleccionada de una o más de W6 (alfa) ciclodextrina, W7 (beta) ciclodextrina, W8 (gamma) ciclodextrina y combinaciones de las mismas. La etapa de disolución o suspensión de una ciclodextrina también puede incluir disolver o suspender una o más de otras ciclodextrinas conocidas en la técnica.

Adicionalmente, la etapa de disolución o suspensión de ciclodextrina puede incluir disolver o suspender la ciclodextrina en un solvente seleccionado del grupo que incluye solventes débilmente no polares a polares. Los solventes apropiados contemplados como útiles según la presente invención incluyen uno o más de agua, metanol, etanol, n-propanol, iso-propanol, n-butanol, sec-butanol, iso-butanol, tert-butanol, alcoholes de alto peso molecular, dimetilformamida, dietilformamida, etilenglicol, trietilenglicol, glicerina, polietilenglicol, ácido fórmico, ácido acético, formamida, acetona, tetrahidrofurano, dioxano, metiletilcetona, cetonas de alto peso molecular, acetato de etilo, acetonitrilo, N, N-dimetilacetimida, dimetilsulfóxido, disulfuro de carbono, hexano, isómeros de hexano, ciclohexano, heptano, isómeros de heptano, solventes C₈-C₁₆, aceite mineral, éter dietílico, metil tert-butil éter, cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, benceno, nitrobenceno, tolueno y mezclas de los mismos.

Los solventes que tienen una constante dieléctrica superior a aproximadamente 5.0 se consideran útiles según la presente invención para formar suspensiones. Los solventes que tienen una constante dieléctrica superior a aproximadamente 20.0 se consideran útiles según la presente invención para formar soluciones. Sin estar limitados por la teoría, se cree que los solventes más útiles son solventes débilmente no polares, tales como acetato de etilo y diclorometano.

Los análogos de sulforafano y sulforafano contemplados como útiles para formar los presentes complejos incluyen uno o más de sulforafano, 6-isotiocianato-2-hexanona, exo-2-acetil-6-isotiocianatonorbornano, exo-2-isotiocianato-6-metilsulfonilnorbornano, 6-isotiocianato-2-hexanol, 1-isotiocianato-4-dimetilfosfonilbutano, exo-2-(1'-hidroxietil)-5-isotiocianatonorbornano, exo-2-acetil-5-isotiocianatonorbornano, 1-isotiocianato-5-metilsulfonilpentano, y cis o trans-3-(metilsulfonil) ciclohexilmetilisotiocianato, y mezclas de los mismos.

La etapa opcional de eliminar el complejo de la solución se puede realizar por procedimientos conocidos en la técnica como útiles en técnicas de separación. Las técnicas de separación contempladas como útiles en la presente invención pueden incluir una o más de precipitación, filtración, evacuación, liofilización (deshidratación por congelación), secado por pulverización y destilación. En una realización, el complejo se puede precipitar de la solución añadiendo un alcohol, tal como etanol, a la solución.

En otra realización, el sulforafano se puede pulverizar sobre ciclodextrina en un secador de tambor giratorio. En esta realización, el sulforafano pulverizado puede ser puro o en solución. De forma similar, la ciclodextrina puede ser pura o puede estar en solución.

Cada etapa de disolución se puede realizar a temperaturas apropiadas para el solvente seleccionado. Por ejemplo, la solubilidad de ciclodextrina y sulforafano en algunos solventes puede requerir temperaturas elevadas, mientras que la solubilidad de ciclodextrina y sulforafano en otros solventes puede requerir temperaturas más bajas. En algunas realizaciones, la solubilidad de ciclodextrina y sulforafano puede permitir la disolución a temperatura ambiente. Los expertos en el arte reconocerán la relación entre la ciclodextrina y el sulforafano y los solventes seleccionados, y serán capaces de realizar una determinación de la temperatura en función de la relación reconocida.

El sulforafano estabilizado formado según la presente invención se puede almacenar a temperatura ambiente, a temperaturas elevadas, o a temperaturas por debajo de la temperatura ambiente. El sulforafano estabilizado almacenado a temperaturas por debajo de aproximadamente la temperatura ambiente demostró la mayor estabilidad (como se ve en la figura 5), pero el sulforafano estabilizado mostró una estabilidad mejorada sobre el sulforafano no estabilizado a todas las temperaturas.

- 5 El sulforafano, como la mayoría de los isotiocianatos, se conoce en la técnica como una molécula hidrófila. De acuerdo con lo anterior, los expertos en el arte esperarían que un complejo de sulforafano y ciclodextrina fuera más soluble en agua que la ciclodextrina sola. Inesperadamente, los presentes inventores descubrieron que un complejo de sulforafano y ciclodextrina es realmente menos soluble que la ciclodextrina sola. La solubilidad reducida permite además la separación del complejo de la solución, permaneciendo en la solución la ciclodextrina no complejada.
- 10 Sin estar limitados por la teoría, se cree que el sulforafano, aunque es una molécula hidrófila, en realidad es hidrófobo con respecto a la ciclodextrina. Dicho de otra manera, el sulforafano y análogos del mismo parecen ser menos hidrofílicos que otros isotiocianatos. De acuerdo con lo anterior, cuando se forman complejos en el centro relativamente hidrófobo de las ciclodextrinas, el complejo global pierde solubilidad en agua, permitiendo la separación.
- 15 En otro aspecto, se describe en este documento sulforafano estabilizado para usar en proporcionar tratamientos anticancerosos y/o antimicrobianos a un sujeto que necesita tal tratamiento.
- 20 Para facilitar la referencia, la presente invención se describirá con referencia a la administración a sujetos humanos. Se entenderá, sin embargo, que tales descripciones no están limitadas a la administración a seres humanos, sino que también incluirán la administración a otros animales, tales como mamíferos, a menos que se indique explícitamente lo contrario. Por ejemplo, además de ser útiles para el tratamiento humano, estas combinaciones también son útiles para el tratamiento de mamíferos, incluidos caballos, perros, gatos, ratas, ratones, ovejas, cerdos, etc.
- 25 Un primer componente del uso es sulforafano, o un análogo del mismo, estabilizado según los métodos discutidos anteriormente. Los componentes pueden ser de cualquier pureza o grado, siempre que la preparación sea de una calidad y estabilidad apropiadas para uso farmacéutico. Los componentes se pueden proporcionar en forma pura, o pueden estar acompañados con impurezas o compuestos comúnmente asociados que no afectan su actividad fisiológica o seguridad.
- 30 El uso puede incluir además la administración de otros componentes farmacéuticamente aceptables. El término "farmacéuticamente aceptable" se usa adjetivamente en este documento para significar que el nombre modificado es apropiado para uso en un producto farmacéutico.
- 35 Cuando el presente sulforafano estabilizado se suministra junto con un portador farmacéuticamente aceptable, se forma una composición farmacéutica.
- 40 En este documento se describe una composición farmacéutica para uso en la prevención o el tratamiento de los trastornos descritos en este documento. La composición farmacéutica comprende sulforafano estabilizado, o un análogo del mismo, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable, o excipiente farmacéuticamente aceptable, cuyos términos se pueden usar indistintamente en este documento.
- 45 Los portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables se eligen de modo que los efectos secundarios del (de los) compuesto (s) farmacéutico (s) se minimicen y el rendimiento del (de los) compuesto (s) no se cancele ni se inhiba hasta el punto de que el tratamiento sea ineficaz.
- 50 El portador farmacéuticamente aceptable también se puede seleccionar sobre la base de la ruta de administración deseada del compuesto o compuestos. La ruta de administración deseada puede ser una o más de administración oral, enteral, parenteral, inyectable, bucal y tópica. Por ejemplo, en un aspecto, el portador es apropiado para la administración oral. En algunos aspectos, la composición incluye un portador o agente adicional que es apropiado para promover la administración del (de los) compuesto (s) al tracto gastrointestinal o intestinal.
- El portador debe ser aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no ser perjudicial para el receptor. El portador puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y se formula preferiblemente con el (los) compuesto (s) como una composición de dosis unitaria, por ejemplo, un comprimido, que puede contener de 0.01% a 95% en peso del (los) compuesto (s) activo (s).
- Las composiciones farmacéuticas descritas en este documento se pueden preparar mediante cualquiera de las técnicas de farmacia bien conocidas, por ejemplo, mezclando los componentes.
- Ya sea que los compuestos terapéuticos descritos en este documento se administren enteral o parenteralmente, por separado o juntos, cada compuesto terapéutico puede estar contenido en una formulación farmacéutica apropiada de cualquiera de los excipientes, diluyentes u otros componentes de formulaciones farmacéuticamente aceptables descritos en este documento.
- Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, solución salina fisiológica, solución de fosfato de Ringer o solución reguladora, solución salina regulada y otros portadores conocidos en la técnica. Las composiciones farmacéuticas también pueden incluir estabilizantes, antioxidantes, colorantes y diluyentes. Los portadores y aditivos farmacéuticamente aceptables se eligen de modo que los efectos secundarios del compuesto farmacéutico se minimizan y el rendimiento del compuesto no se cancela o inhibe hasta el punto de que el tratamiento es ineficaz. El término "cantidad farmacológicamente eficaz" significa la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico

que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que está siendo buscado por un investigador o médico. Esta cantidad puede ser una cantidad terapéuticamente eficaz.

5 Las presentes composiciones farmacéuticas se pueden administrar por vía enteral y/o parenteral. La administración parenteral incluye métodos administrativos subcutáneos, intramusculares, intradérmicos, intravenosos y otros conocidos en la técnica. La administración enteral incluye solución, comprimidos, cápsulas de liberación sostenida, cápsulas con cubierta entérica, jarabes, bebidas, alimentos y otros suplementos nutricionales. Cuando se administra, la presente composición farmacéutica puede estar en o cerca de la temperatura corporal.

10 En particular, las composiciones farmacéuticas descritas en este documento, o las composiciones en las que están incluidas, se pueden administrar por vía oral, por ejemplo, como comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, trociscos, comprimidos para deshacer en la boca, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral se pueden preparar según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente atrayentes y paladeables. Los comprimidos contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son apropiados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo almidón, gelatina o goma arábiga, y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de 15 magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertas por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la adsorción en el tracto gastrointestinal y, por consiguiente, proporcionan una acción sostenida durante un período más prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

25 Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en las que los ingredientes activos se mezclan con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que los ingredientes activos están presentes como tal, o mezclado con agua o un medio de aceite, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida, cualquiera de una variedad de extractos de hierbas, leche o aceite de oliva.

30 Se pueden producir suspensiones acuosas que contienen los materiales activos en mezcla con excipientes apropiados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; agentes dispersantes o humectantes pueden ser fosfátidos de origen natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo 35 heptadecaetilenoxicetanol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polioxietilensorbitán.

40 Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, o uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo los ingredientes activos en un ácido graso omega-3, un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico.

45 Se pueden añadir agentes edulcorantes, tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral paladeable. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

50 Los polvos y gránulos dispersables apropiados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión apropiados se ejemplifican por los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes los excipientes adicionales, por ejemplo edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

55 Los jarabes y elixires que contienen la presente terapia de combinación se pueden formular con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un emoliente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes.

El presente método y las composiciones en las que se puede utilizar también se pueden administrar por vía parenteral, ya sea por vía subcutánea, intravenosa, intramuscular o intraesternal, o mediante técnicas de infusión, en forma de

- suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles, o por vía tópica. Tales suspensiones se pueden formular según la técnica conocida usando los agentes dispersantes o humectantes apropiados y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente, u otros agentes aceptables. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave que incluya mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos poliinsaturados n-3 se pueden usar en la preparación de inyectables;
- En muchos casos, la ruta de administración preferida es enteral (por ejemplo, por vía oral). La administración oral incluye solución, comprimidos, cápsulas de liberación sostenida, cápsulas con cubierta entérica y jarabes. La composición farmacéutica se puede administrar en formulaciones de unidades de dosificación que contienen portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales según se desee.
- Las composiciones destinadas para uso oral se pueden preparar según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente atrayentes y paladeables.
- El portador farmacéuticamente aceptable también se puede seleccionar sobre la base de la ruta de administración deseada del (de los) compuesto (s). Por ejemplo, en una realización preferida, el portador es apropiado para administración oral. En algunos aspectos, la composición incluye un portador o agente adicional que es apropiado para promover la administración del (de los) compuesto (s) al tracto gastrointestinal o intestinal.
- El portador debería ser aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no ser perjudicial para el receptor. El portador puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y se formula preferiblemente con el (los) compuesto (s) como una composición de dosis unitaria, por ejemplo, un comprimido, que puede contener desde 0.01% a 95% en peso del (los) compuesto (s) activo (s).
- Las composiciones farmacéuticas descritas en este documento se pueden preparar mediante cualquiera de las técnicas de farmacia bien conocidas, por ejemplo, mezclando los componentes.
- Los comprimidos contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos, que son apropiados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio, agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico, agentes aglutinantes, por ejemplo almidón, gelatina o goma arábiga, y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.
- Las composiciones farmacéuticas apropiadas para administración oral se pueden presentar en unidades discretas que contienen cada una una cantidad predeterminada de al menos un compuesto terapéutico útil en la presente invención; como polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión de aceite en agua o agua en aceite. Como se indicó, tales composiciones se pueden preparar mediante cualquier método de farmacia apropiado, que incluye la etapa de poner en asociación el (los) compuesto (s) activo (s) y el portador (que puede constituir uno o más ingredientes accesorios). En general, las composiciones se preparan mezclando uniforme e íntimamente el compuesto activo con un portador sólido líquido o finamente dividido, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.
- Por ejemplo, un comprimido se puede preparar comprimiendo o moldeando un polvo o gránulos del compuesto, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo, en una máquina apropiada, el compuesto en una forma de flujo libre, tal como un polvo o gránulos opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte y/o agente (s) de superficie activa (s)/dispersante (s). Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando, en una máquina apropiada, el compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.
- La administración oral de las combinaciones descritas en este documento puede incluir formulaciones, como es bien sabido en la técnica, para proporcionar la liberación prolongada o sostenida del fármaco en el tracto gastrointestinal y/o intestinal por cualquier número de mecanismos. Estos incluyen, pero no se limitan a, liberación sensible al pH de la forma de dosificación basada en el pH cambiante del intestino delgado, erosión lenta de un comprimido o cápsula, retención en el estómago basada en las propiedades físicas de la formulación, bioadherencia de la forma de dosificación al revestimiento de la mucosa del tracto intestinal, o liberación enzimática del fármaco activo a partir de la forma de dosificación. Para algunos de los compuestos terapéuticos útiles en los métodos, combinaciones y composiciones de la presente invención, el efecto deseado es extender el período de tiempo durante el cual la molécula de fármaco activa se administra al sitio de acción mediante la manipulación de la forma de dosificación. De este modo, las formulaciones de liberación controlada recubiertas entéricamente y recubiertas entéricamente están dentro del alcance de la presente invención. Los recubrimientos entéricos apropiados incluyen ftalato de acetato de celulosa, ftalato de polivinilacetato, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y polímeros aniónicos de ácido metacrílico y éster metílico de ácido metacrílico.

En ciertos aspectos, la composición farmacéutica puede comprender comprimidos que pueden estar sin recubrir o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y por consiguiente proporcionar una acción retardada durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso del tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

5 Los jarabes y elixires que contienen el sulforafano estabilizado, o un análogo del mismo, se pueden formular con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un emoliente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes. Las formas de dosificación líquidas para la administración oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica, tales como agua. Tales composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, y agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

10 Los polvos y gránulos dispersables apropiados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión apropiados se ejemplifican por los ya mencionados anteriormente.

15 También se describe en este documento la administración bucal o "sublingual", que incluye comprimidos para deshacer en la boca o una goma masticable que comprende los compuestos, expuestos en este documento. Los compuestos se pueden depositar en una base aromatizada, normalmente sacarosa, y goma arábica o tragacanto, y pastillas que comprenden los compuestos en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica.

20 El método descrito para prescribir uno o más de sulforafano estabilizado, análogos estabilizados de sulforafano y composiciones que lo comprenden también se puede administrar por vía parenteral, por ejemplo, por vía subcutánea o intravenosa, o intramuscular o intraesternal o por técnicas de infusión, en forma de suspensiones acuosas u oleaginosas estériles inyectables. Tales suspensiones se pueden formular según la técnica conocida usando aquellas dispersiones apropiadas de agentes humectantes y agentes de suspensión, que se han mencionado anteriormente, u otros agentes aceptables. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluidos mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos poliinsaturados n-3 pueden usarse en la preparación de inyectables.

25 Las composiciones farmacéuticas apropiadas para administración parenteral pueden comprender convenientemente preparaciones acuosas estériles de un compuesto de la presente invención. Estas preparaciones se administran preferiblemente por vía intravenosa, aunque la administración también puede efectuarse por inyección subcutánea, intramuscular o intradérmica o por infusión. Tales preparaciones se pueden preparar convenientemente mezclando el compuesto con agua y haciendo que la solución resultante sea estéril e isotónica con la sangre. Las composiciones inyectables según la invención generalmente contendrán de 0.01 a 10% p/p de un compuesto descrito en este documento.

35 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles se pueden formular según la técnica conocida usando agentes dispersantes o de fraguado y agentes de suspensión apropiados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear se encuentran el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave que incluya mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

40 Los ingredientes activos también se pueden administrar por inyección como una composición en la que, por ejemplo, se puede usar solución salina, dextrosa o agua como un portador apropiado. Una dosis diaria apropiada de cada compuesto terapéutico activo es aquella que alcanza el mismo nivel de suero sanguíneo que se produce por administración oral como se describió anteriormente.

45 Las composiciones farmacéuticas apropiadas para aplicación tópica a la piel preferiblemente toman la forma de ungüentos, cremas, lociones, pastas, geles, pulverizadores, polvos, gelatinas, colirios, soluciones o suspensiones, aerosoles o aceites. Los portadores, que se pueden usar, incluyen vaselina (por ejemplo, Vaseline®), lanolina, polietilenglicoles, alcoholes y combinaciones de dos o más de los mismos. El compuesto o compuestos activos generalmente están presentes a una concentración desde 0.01 a 50% p/p de la composición, por ejemplo, desde 0.01 a 2%.

Las composiciones descritas también pueden incluir cantidades seguras y efectivas de agentes de isotonicidad, por ejemplo, sales, tales como cloruro de sodio, y más preferiblemente agentes de isotonicidad no electrolíticos tales como sorbitol y manitol.

La solubilidad de los componentes de las presentes composiciones se puede mejorar mediante un surfactante u otro cosolvente apropiado en la composición. Tales cosolventes incluyen polisorbato 20, 60 y 80, surfactantes de polioxietileno/polioxipropileno (por ejemplo, Pluronic F-68, F-84 y P-103), ciclodextrina u otros agentes conocidos por los expertos en el arte. Por lo general, tales cosolventes se emplean a un nivel desde 0.01% a 2% en peso.

5 Los excipientes y portadores farmacéuticamente aceptables abarcan todo lo anterior y similares. Las consideraciones anteriores con respecto a formulaciones eficaces y procedimientos de administración son bien conocidas en la técnica y se describen en libros de texto patrón. Véase por ejemplo, Gennaro, A. R., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, (Lippincott, Williams and Wilkins), 2000; Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975; Liberman, et al., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; y Kibbe, et al., Eds., Handbook of Pharmaceutical Excipients (3rd Ed.), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999.

10 En el método descrito en este documento, un sujeto que necesita tratamiento y/o prevención de los trastornos descritos en este documento y/o afecciones relacionadas se puede tratar con una cantidad del presente sulforafano estabilizado y/o análogos estabilizados de sulforafano, donde la cantidad de los componentes individuales proporciona una dosificación o cantidad que es suficiente para constituir una cantidad eficaz de tratamiento o prevención.

15 Como se usa en este documento, una "cantidad eficaz" significa la dosis o cantidad de la presente terapia de combinación que se administrará a un sujeto y la frecuencia de administración al sujeto que se determina fácilmente por un experto en el arte, mediante el uso de técnicas conocidas y mediante la observación de resultados obtenidos en circunstancias análogas y tiene alguna acción terapéutica. La dosis o cantidad eficaz que se va a administrar a un sujeto y la frecuencia de administración al sujeto se pueden determinar fácilmente por un experto en el arte mediante el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas.

20 La frase "terapéuticamente eficaz" y "eficaz para el tratamiento, prevención o inhibición" tiene por objeto calificar la cantidad de cada agente para su uso en la terapia que alcanzará el objetivo de proporcionar un anticáncer, quimiopreventivo, antibacterial, y/u otra terapia medicinal.

25 La cantidad de los presentes compuestos estabilizados que se requiere para lograr el efecto biológico deseado dependerá, por supuesto, de un número de factores tales como el compuesto específico elegido, el uso para el que está destinado, el modo de administración, y el huésped a ser tratado y la condición clínica del receptor.

Se considera aliviado o mejorado un síntoma carcinogénico, tumorigénico o antibacteriano si se logra algún beneficio, sin importar cuán leve sea.

30 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende calificar la cantidad de sulforafano estabilizado requerido para tratar, prevenir o inhibir carcinogénesis, tumorigénesis y afecciones inducidas por bacterias, tales como úlceras.

35 Como se usa en este documento, los términos "profilácticamente eficaces" se refieren a una cantidad de sulforafano estabilizado que causa una disminución en la frecuencia de incidencia de cánceres o afecciones inducidas por bacterias, tales como úlceras. El término "profiláctico" se refiere a la prevención de cánceres y afecciones inducidas por bacterias, mientras que el término "terapéutico" se refiere al tratamiento eficaz de un cáncer existente o afección inducida por bacterias.

Como se usa en este documento, una "cantidad eficaz" significa la dosis o cantidad que se administrará a un sujeto y la frecuencia de administración al sujeto, que se determina fácilmente por un experto en el arte, mediante el uso de conocidas técnicas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas.

40 Las dosificaciones para las presentes composiciones y métodos proporcionados en este documento se pueden determinar y ajustar basándose en la eficacia demostrada al proporcionar un resultado quimioprotector o quimiopreventivo. Además, un experto en el arte sabrá cómo medir y cuantificar la presencia o ausencia de síntomas de carcinogénesis o tumorigénesis.

45 Las dosificaciones preferidas para las composiciones son aquellas que son eficaces para proporcionar un efecto quimioprotector, quimiopreventivo y/o antibacteriano.

Los expertos en el arte apreciarán que las dosificaciones también se pueden determinar con la orientación desde Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ninth Edition (1996), Appendix II, pp. 1707-1711.

En los ejemplos, todos los porcentajes se dan en peso a menos que se indique lo contrario.

Ejemplos

50 Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra un método para formar una mezcla racémica de sulforafano. La ruta de reacción se ilustra como la figura 1.

Intermedio A:

Se combinaron ftalimida de potasio (65 g, 350 mmol, 1.00 eq.) y dibromuro de tetrametileno (200 g, 930 mmol, 2.66 eq.) (puro) y se calentó durante 12 horas. El exceso de dibromuro de tetrametileno se eliminó mediante evaporación rotatoria (rotovap). El residuo resultante se digirió con etanol y se filtró. El material que cristalizó al dejar reposar se filtró, se lavó con etanol y se secó al vacío. Se obtuvo una segunda cosecha por concentración de filtrado combinado y lavados. La masa combinada de cultivos fue 60.5 g (61% de rendimiento).

Intermedio B:

Se secó todo el material de vidrio (corriente de N_2 /pistola de calor). Un matraz de fondo redondo de 2 L, equipado con una barra de agitación, se cargó con 300 mL de metanol anhidro. Se añadió cuidadosamente sodio (6.48 g, 281.8 mmol, 1.06 eq.). A temperatura ambiente, se cargó metil mercaptano (MeSH, 13.56 g, 281.8 mmol, 1.06 eq.) mediante una jeringa en una porción. [MeSH (gaseoso) se atrapó en un matraz de fondo redondo de múltiples bocas separado en un baño de hielo seco/acetona equipado con una trampa para dedos fría de hielo seco/acetona y se transfirió en una jeringa enfriada/congelada]. Se suspendió bromobutilftalimida (75.0 g, 265.8 mmol, 1.00 eq.) en 300 mL de metanol anhidro y se cargó en la reacción. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante la noche bajo nitrógeno. Una alícuota de reacción analizada por cromatografía de gases confirmó que la reacción se completó. A continuación, se añadieron 300 mL de agua a la reacción y el alcohol se eliminó mediante destilación en rotavapor, en cuyo momento el producto precipitó fuera de la solución. El producto (sólido de color blanco) se separó por filtración y se lavó con 2 x 150 ml de agua fría. El producto se secó en un horno de vacío a 40°C durante la noche para dar 65.2 g (98% de rendimiento) de un sólido de color blanco que era 98.4% puro mediante cromatografía de gases. El producto se almacenó bajo nitrógeno.

Este procedimiento se adaptó a partir de un procedimiento informado en Helvetica Chimica Acta. 1948: 31;6: 1497-1505. El procedimiento actual difería del procedimiento informado en varios aspectos. Primero, el procedimiento de informe utilizó un solvente de reacción que era alcohol absoluto (EtOH). También, después de permitir que la reacción se agite durante la noche a temperatura ambiente, el procedimiento descrito incluía la etapa adicional de someter a reflujo la mezcla durante varias horas. La referencia original también resolvió la reacción de manera diferente. Por ejemplo, el NaBr se separó por filtración del alcohol y el filtrado se concentró para dar un residuo. El residuo se disolvió a continuación en una mezcla de disulfuro de carbono-éter y se lavó con agua y solución de bicarbonato de sodio. El rendimiento de papel en tres experimentos estuvo entre aproximadamente 82 y 92%.

Los expertos en el arte reconocerán que el presente procedimiento incluye menos etapas, reduciendo el tiempo de reacción global, y da como resultado rendimientos más altos que los del procedimiento descrito anteriormente.

Intermedio C:

Se suspendió el intermedio B (45.0 g, 180.5 mmol, 1.00 eq.) (no completamente disuelto) en 580 mL de una mezcla 1: 1 de ácido acético y etanol. La suspensión se enfrió sobre un baño de hielo/salmuera. Se añadió una solución de peróxido de hidrógeno (120.014 M AQ, previamente titulada, 15.02 mL, 180.5 mmol, 1.00 eq.) y la reacción se dejó en agitación, calentándose a temperatura ambiente durante la noche. El material se disolvió durante el procedimiento para dar una solución de color amarillo claro. Se verificó una alícuota mediante cromatografía en capa fina (EtOAc puro) para confirmar la finalización de la reacción. La reacción se concentró a través de rotavapor (no completamente, ~ 90% del solvente eliminado) y se diluyó con 400 mL de metil tert-butil éter (MTBE) en cuyo momento el producto (sólido de color amarillo claro) precipitó de la solución. El sólido se separó por filtración y se lavó con 100 mL adicionales de MTBE. Se recolectó un segundo cultivo del filtrado de MTBE. La masa combinada de ambos cultivos (después de un secado adicional) fue de 44.5 g (95% de rendimiento) con una pureza de HPLC de ~95%. La RMN mostró ácido acético residual. El material no se purificó más.

Este procedimiento se adaptó del procedimiento informado mencionado anteriormente. El procedimiento reportado proporcionó dos procedimientos diferentes. El primero usó acetona anhidra como solvente, sin ácido, y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante cinco días. El segundo procedimiento requería ácido acético glacial y enfriamiento de la reacción para moderar la exotermia. El tratamiento de referencia es la precipitación del producto usando éter absoluto.

Los expertos en el arte reconocerán que el presente procedimiento da como resultado tiempos de reacción reducidos y se puede llevar a cabo en condiciones de reacción ambiente.

Intermedio D:

Se cargó un matraz de fondo redondo seco de 500 mL (corriente de N_2 /pistola de calor), equipado con una barra agitadora, con intermedio C (35.34 g, 133.19 mmol, 1.0 eq.). Se cargó metilamina (solución al 33% en peso en etanol, 175 mL, ~ 10 eq.) en el matraz de fondo redondo. El sólido intermedio C entró lentamente en solución durante aproximadamente 45 minutos. Después de una hora adicional, el sólido comenzó a precipitar fuera de la solución (presumiblemente metil ftalimida). La reacción se dejó en agitación, bien sellada, a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con 50 mL de etanol (parte del sólido se disolvió) y se filtró para eliminar el subproducto de

metilftalimida. El subproducto sólido se lavó con un etanol adicional de 2 x 25 mL. El filtrado se concentró mediante rotovap (temperatura del baño inferior a aproximadamente 30 °C). El residuo se adsorbió sobre 50 g de sílice y se pasó por una columna de 50 g de sílice. Tres volúmenes de columna de diclorometano fueron suficientes para eliminar el subproducto de metilftalimida residual. El producto se eluyó usando 40% de metanol: hidróxido de amonio 9: 1 en diclorometano. Se recogieron 19.1 g de un aceite de color amarillo claro que era puro a través de GC pero contenía agua e hidróxido de amonio por RMN. El aceite se destiló por kugelrohr a un 1 mbar y una temperatura de 185 °C de baño de aire para dar 11.80 g de un aceite de color amarillo (65.5% de rendimiento) que tenía una pureza superior al 99% a través de GC. El residuo del recipiente pesó 3.14 g, lo que indica una posible degradación térmica.

Sulforafano:

10 Se cargó un matraz de fondo redondo de un litro equipado con una barra de agitación con el intermedio D (10.8 g, 79.9 mmol, 1.00 eq.), 300 mL de cloroformo y 133 mL de solución de NaOH 1 N (acuosa) (132.8 mmol), 1.66 eq.). A la solución bifásica, se le cargó tiosfogeno (13.78 g, 119.8 mmol, 1.50 eq.). La reacción se agitó vigorosamente durante una hora antes de comprobar una alícuota mediante cromatografía en capa fina. La mezcla se diluyó con ~ 300 mL de cloroformo y 200 mL de salmuera. Los compuestos orgánicos se eliminaron y se volvieron a extraer en forma acuosa con 2 x 500 mL de cloroformo. Los compuestos orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron. El residuo se adsorbió sobre 20 g de sílice y se pasó por una columna de 50 g de sílice, eluyendo con 0 a 4% de metanol en cloroformo. Se recogieron 12.14 gramos (85.7% de rendimiento) del producto deseado como un aceite de color amarillo claro.

Estabilización de sulforafano:

20 El sulforafano se formuló con tres tipos de ciclodextrinas: W6 (alfa), W7 (beta) y W8 (gamma). Estas ciclodextrinas se compraron de Wacker Chemie AG (marca CAVAMAX™, ya sea de calidad alimentaria o de calidad farmacéutica).

El sulforafano se formuló usando tres condiciones/procedimientos diferentes:

25 Tipo A: Se disuelve todo (ciclodextrina/sulforafano) en agua burbujeada con nitrógeno (eliminar el CO₂). Se deja agitar durante la noche a temperatura ambiente. Se seca hasta peso constante al vacío (mantener el baño a menos de 30 °C). (La recuperación es teóricamente cuantitativa. Hay pérdida de masa debido al secado de la ciclodextrina, que generalmente es de 5 a 10% humedecida con agua). Las cargas típicas fueron ~1% p/p de sulforafano a ciclodextrina. La carga teórica se calcula a partir de la cantidad de sulforafano que pasa a las formulaciones dividido por la masa final de secado.

30 Tipo B: a una suspensión de ciclodextrina en acetato de etilo, se le añade sulforafano. Se deja agitar durante la noche a temperatura ambiente. Se seca hasta peso constante al vacío (mantener el baño a menos de 30 °C). (La recuperación es teóricamente cuantitativa. Hay una pérdida de masa debida al secado de la ciclodextrina que generalmente está entre el 5 y el 10% humedecida con agua). Las cargas típicas fueron ~1 a 5% p/p de sulforafano a ciclodextrina. La carga teórica se calcula a partir de la cantidad de sulforafano que pasa a la formulación dividida por la masa final de secado. Tipo C: a una solución saturada de ciclodextrina en agua, se le añade sulforafano. Se deja que la solución se quede toda la noche. Se recolecta el precipitado por filtración. Si no se forma precipitado, se enfría a -4 °C durante la noche. Se seca hasta un peso constante al vacío (mantener el baño a menos de 30 °C). La recuperación es generalmente deficiente: 28% con alfa ciclodextrina, 26% con beta ciclodextrina y 62% con gamma ciclodextrina. La carga teórica se calcula usando el análisis de RMN de la formulación seca y por lo general está entre 7 y 13% dependiendo de la ciclodextrina usada.

40 La tabla 1 incluye una lista de cada una de las formulaciones preparadas según los procedimientos de tipo A, tipo B y tipo C descritos anteriormente.

Tabla 1: Formulaciones producidas

Clave de la muestra	Ciclodextrina	Tipo de formulación	Carga teórica
alfaB	alfa CD	B	4.73%
alfaC	alfa CD	C	7.1%
betaB	beta CD	B	5.15%
betaC	beta CD	C	13.3%
gammaA	gamma CD	A	1.01%
gammaB	gamma CD	B	0.94%
gammaC	gamma cd	C	9.8%

Resumen del análisis de estabilidad

5 Descripción general del análisis: Las formulaciones de sulforafano se analizaron mediante HPLC (detección UV a 254 nm) usando un método patrón interno (DEET). Se supone que el sulforafano se disocia por completo desde la ciclodextrina en las condiciones cromatográficas. Se usa un patrón de sulforafano (almacenado en un congelador) para determinar el factor de respuesta para cada análisis. El trabajo inicial demostró la linealidad de la respuesta frente a la concentración de este patrón. El factor de respuesta (RF) de todas las inyecciones patrón a lo largo de todos los análisis se ha mantenido estable, lo que demuestra la estabilidad del patrón en el congelador.

10 Condiciones de almacenamiento: Las muestras se almacenaron en tres condiciones: Tapadas y a temperatura ambiente, tapadas y almacenadas en el congelador

(-30 °C), y abiertas y almacenadas en un horno a 40 °C. Estas muestras se analizaron para determinar la carga de sulforafano a lo largo del tiempo. La estabilización de las diferentes muestras y las diferentes condiciones de almacenamiento se puede ver en las figuras 3-5.

15 Ejemplo de preparación de la muestra: una muestra de formulación de 20 mg a 50 mg (pesada cuidadosamente) se disuelve en 1 mL de solución de patrón interno (DEET en DMF). La cantidad de solución de ISTD también se mide cuidadosamente. La muestra se diluye adicionalmente con 1 mL de agua desionizada burbujeada con nitrógeno. Las muestras se someten a ultrasonidos durante aproximadamente diez minutos y se filtran a través de un filtro de nylon de 0.45 µm. A continuación, las muestras se analizaron mediante HPLC con detección UV a 254 nm.

Condiciones cromatográficas

Columna: Agilent Eclipse XDB-C18, 5 µm, 250 x 4.6 mm a 30 °C

Solvente A: Ácido fórmico al 0.1% en agua

Solvente B: MeCN

Gradiente: 5% a 100% de solvente B en solvente A, durante más de 30 minutos

Flujo: 1.5 mL/minuto

Detector: UV 254 nm, ESI-MS (pos/neg) para confirmación

Retención: Sulforafano: 9.2 min. DEET: 15.5 min.

20 Resultados del análisis: los resultados se presentan como porcentaje de la carga teórica frente al tiempo (el cálculo teórico se describió anteriormente).

25 La figura 3 demuestra los datos de estabilización de las formulaciones almacenadas a temperatura ambiente durante 150 días. Como puede verse en la figura 3, la muestra de alfaB mantuvo el mayor porcentaje de carga teórica después de 150 días a temperatura ambiente. La muestra gammaC perdió el mayor porcentaje de carga teórica durante el mismo periodo de tiempo.

30 La figura 4 demuestra los datos de estabilización de las formulaciones almacenadas en un recipiente abierto en un horno a 40 °C durante hasta aproximadamente 150 días. Varias muestras fueron eliminadas antes de 150 días. La muestra de alfaC mostró la velocidad de degradación más lenta durante aproximadamente los primeros 40 días. Después de 150 días, la muestra de betaB mantuvo el 40% de la carga teórica original de sulforafano y la muestra de alfaB mantuvo aproximadamente el 45% de la carga teórica original.

35 La figura 5 demuestra los datos de estabilización de las formulaciones almacenadas en un congelador. Las muestras alfaB y betaB permanecieron en el congelador durante aproximadamente 150 días. Las otras muestras permanecieron en el congelador durante aproximadamente 40 días. Después de 40 días, cada muestra aún mantenía más del 80% de sus cargas teóricas originales. Después de 150 días, cada uno de alfaB y betaB mantuvo aproximadamente el 90% de sus cargas teóricas originales.

Ejemplo 2

Este ejemplo demuestra estudios de estabilidad prolongados para las presentes composiciones de sulforafano estabilizadas.

40 Se volvió a sintetizar sulforafano usando el procedimiento descrito anteriormente en una escala aumentada. La síntesis dio como resultado aproximadamente 94 gramos del producto. Se reprodujeron tres formulaciones, el alfaB, alfaC y betaB, como se muestra en la tabla 2:

Tabla 2: Descripciones de la muestra

Muestra	Ciclodextrina	Método de la formulación	Resultado
AlfaB (ID de la muestra: 122PAL31)	W6 (Alfa)	Tipo B: se añadieron 20.15 gramos de sulforafano a una suspensión de 380.0 gramos de alfa CD en 9.1 litros de EtOAc. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se secó hasta peso constante a vacío (a una temperatura del baño <30 °C).	Masa seca final 370 gramos. Porcentaje de recuperación: Cantidad Carga teórica = 5.44%. Carga experimental (análisis T-Zero) = 4.91%
AlfaC (ID de la muestra: 122PAL33)	W6 (Alfa)	Tipo C: se añadieron 25.10 gramos de sulforafano a una solución saturada con agitación de CD en H ₂ O. La mezcla se dejó en agitación durante tres horas a temperatura ambiente y luego se colocó en un refrigerador durante la noche. El precipitado se recogió por filtración y se secó adicionalmente a peso constante a vacío (mantenimiento del baño a <30°C).	Masa seca final 89.7 gramos. Porcentaje de recuperación: 23% Carga teórica = N/A. Carga experimental (análisis T-Zero) = 6.42%
BetaB (ID de la muestra:122PAL35)	W7 (Beta)	Tipo B: se añadieron 17.50 gramos de sulforafano a una suspensión de 332.5 gramos de beta CD en 8.9 litros de EtOAc. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se secó hasta peso constante a vacío (a una temperatura del baño <30 °C).	Masa seca final 334 gramos. Porcentaje de recuperación: Cantidad Carga teórica = 5.24%. Carga experimental (análisis T-Zero) = 5.19%

5 Las formulaciones de sulforafano se analizaron mediante HPLC (detección UV a 254 nm) usando un método patrón interno (DEET). Se usó un patrón de sulforafano (almacenado en un congelador) para determinar el factor de respuesta para cada análisis. El trabajo inicial demostró la linealidad de la respuesta frente a la concentración de este patrón. El factor de respuesta (RF) de todas las inyecciones patrón a lo largo de todos los análisis se ha mantenido estable, lo que demuestra la estabilidad del patrón en el congelador.

Preparación de la muestra:

10 Se disolvió una muestra de formulación de aproximadamente 300 mg (pesada cuidadosamente) en 8 mL de solución de patrón interno (DEET en DMF, aproximadamente 2 mg/mL). La cantidad de solución de ISTD también se pesó cuidadosamente. La muestra se diluyó adicionalmente con 8 mL de agua DI burbujeada con nitrógeno. Las muestras se sonicaron durante ~10 minutos y se filtraron a través de un filtro de nylon de 0.45 µm. Las muestras se analizaron luego mediante HPLC con detección UV a 254 nm.

Condiciones cromatográficas:

15 Columna: Agilent Eclipse XDB-C18, 5 µm, 250x4.6 mm @ 30 °C solvente A: Ácido fórmico al 0.1% en H₂O

Solvente B: MeCN

Gradiente: 5% a 100% de solvente B en Solvente A durante 30 minutos Velocidad de flujo: 1.5 mL/minuto

Detector: UV 254 nm, ESI-MS (pos/neg) para confirmación

Tiempos de retención: sulforafano: 9.2 minutos DEET: 15.5 minutos

20 Resultados del análisis: los resultados se presentan como porcentaje de la carga de "tiempo cero" frente al tiempo. Los resultados del estudio de estabilización de la muestra de alfaB se muestran en la figura 6. Como se puede observar, la muestra de alfaB (descrita en la tabla 2 anterior) mantuvo su integridad durante 7 meses a temperatura ambiente y a temperaturas reducidas, mientras que se degradaba aproximadamente un 50% en un ambiente de temperatura elevada (40 °C).

25 La figura 7 demuestra los datos de estabilidad generados por la muestra de alfaC (descritos en la tabla 2 anterior). Como puede verse, la estabilidad del complejo alfaC se mantuvo durante un período de siete meses a temperaturas reducidas, a temperatura ambiente y a temperaturas elevadas.

5 La figura 8 demuestra los datos de estabilidad generados por la muestra de betaB (descrita en la tabla 2 anterior). Como se puede ver, la estabilidad del complejo betaB disminuyó ligeramente durante un período de cuatro meses a temperaturas reducidas y a temperatura ambiente, antes de estabilizarse durante los tres meses restantes del estudio. La muestra de temperatura elevada del complejo betaB mostró más degradación, pero aun así demostró una estabilidad mejorada más allá de lo que se esperaría para una muestra de sulforafano no estabilizado.

10 Estos ejemplos demuestran que los presentes complejos de sulforafano proporcionan estabilidad mejorada para sulforafano. De acuerdo con lo anterior, el sulforafano se puede fabricar y distribuir más fácilmente como un agente para tratamientos contra el cáncer, tratamientos antimicrobianos y otros usos. Además, estos datos de estabilidad demuestran que las composiciones de sulforafano se pueden almacenar durante períodos de tiempo más largos antes del tratamiento.

REIVINDICACIONES

1. Un método de estabilización de sulforafano, el método que comprende:
poner en contacto el sulforafano y W6 (alfa) ciclodextrina para formar un complejo entre el sulforafano y la W6 (alfa) ciclodextrina
- 5 en el que la etapa de contacto del sulforafano y la W6 (alfa) ciclodextrina comprende:
añadir sulforafano a una solución saturada de W6 (alfa) ciclodextrina en agua y permitir que el complejo de sulforafano y W6 (alfa) ciclodextrina precipite de la solución.
2. Un método según la reivindicación 1, en el que el precipitado se recoge por filtración.
3. Un método según las reivindicaciones 1 o 2, en el que el precipitado se seca a un peso constante a vacío.
- 10 4. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la solución de sulforafano y ciclodextrina en agua se equilibra durante la noche para permitir que el complejo de sulforafano y W6 (alfa) ciclodextrina precipite de la solución.
5. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el complejo se fuerza a precipitar por enfriamiento a -4°C .

15

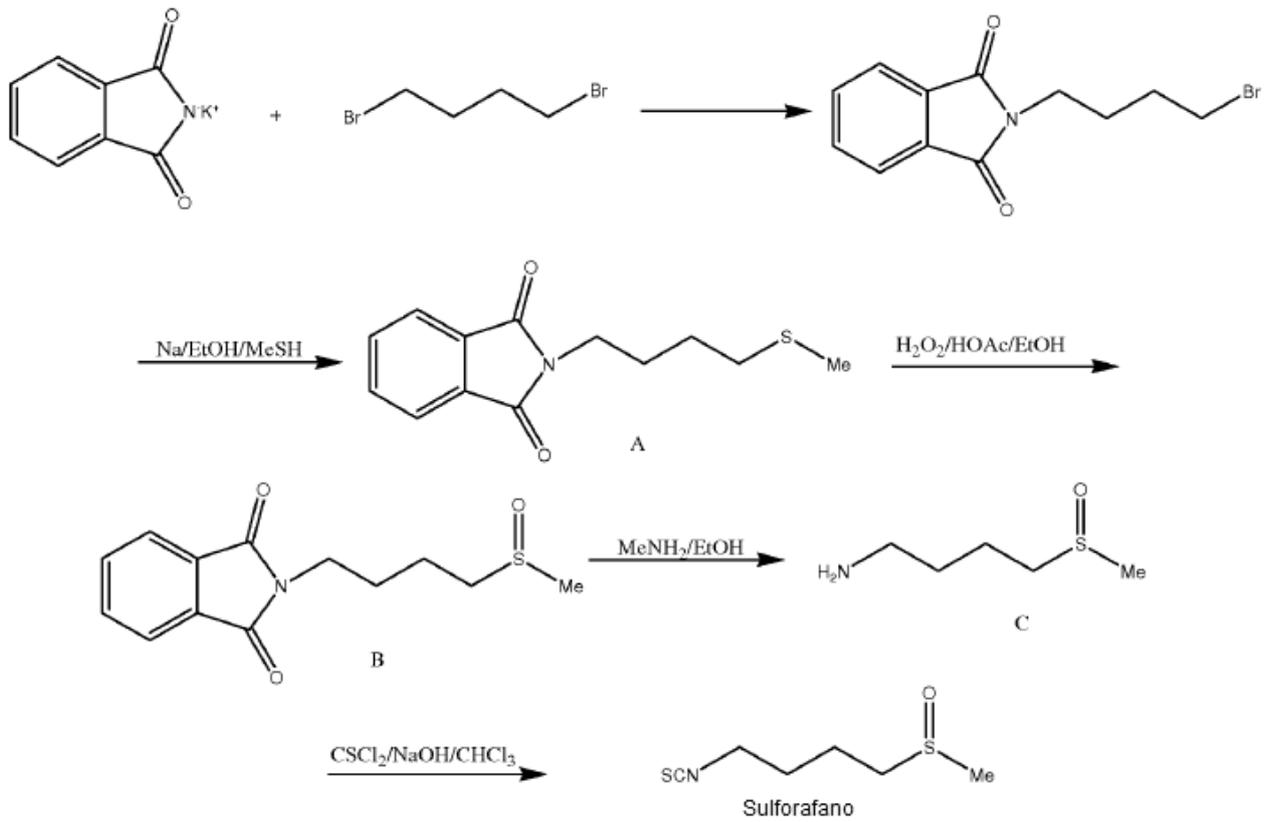


Figura 1

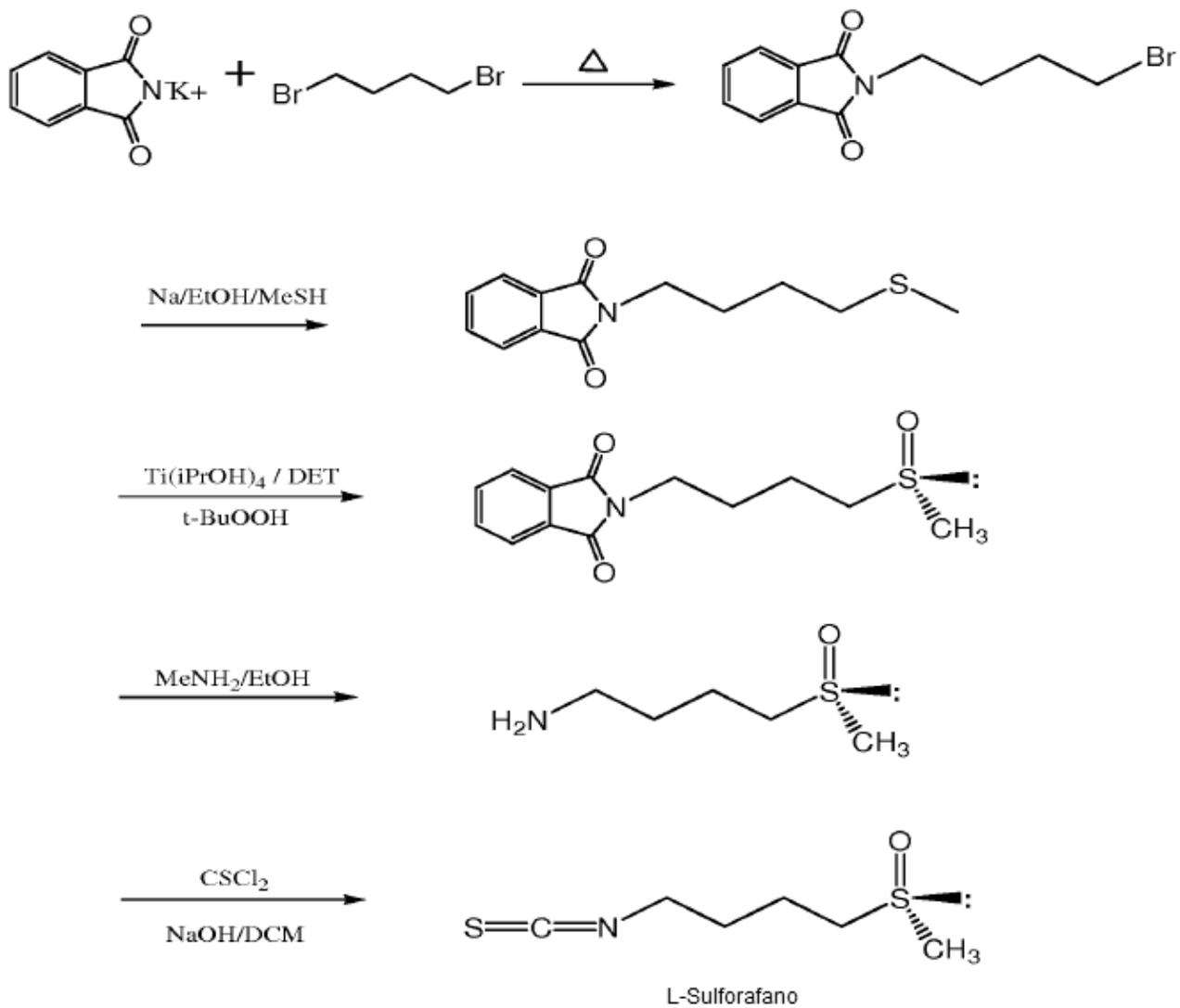


Figura 2

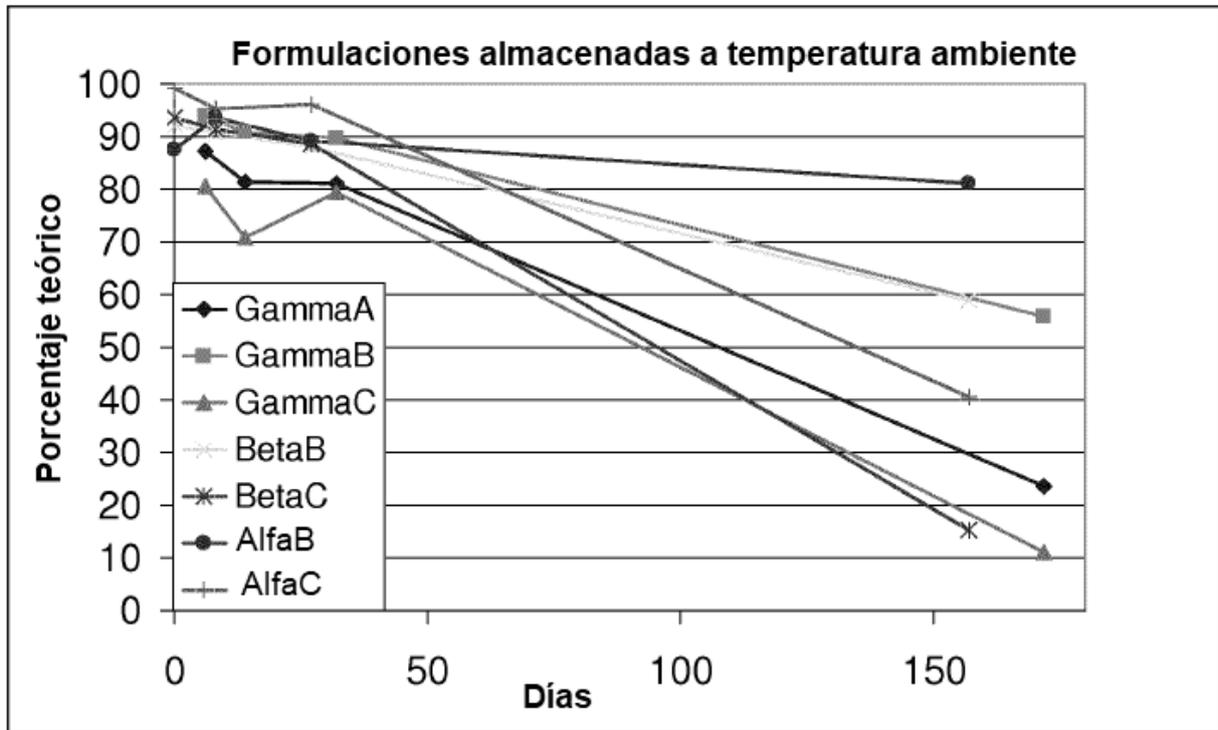


Figura 3

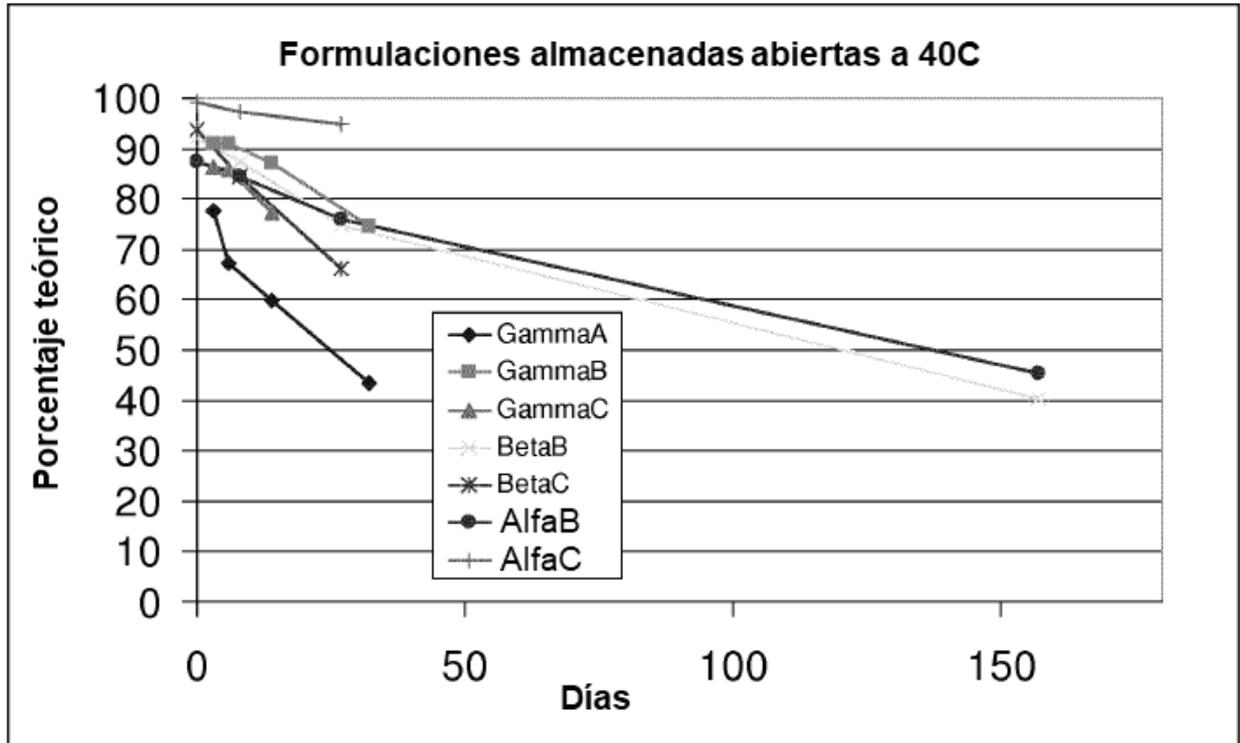


Figura 4

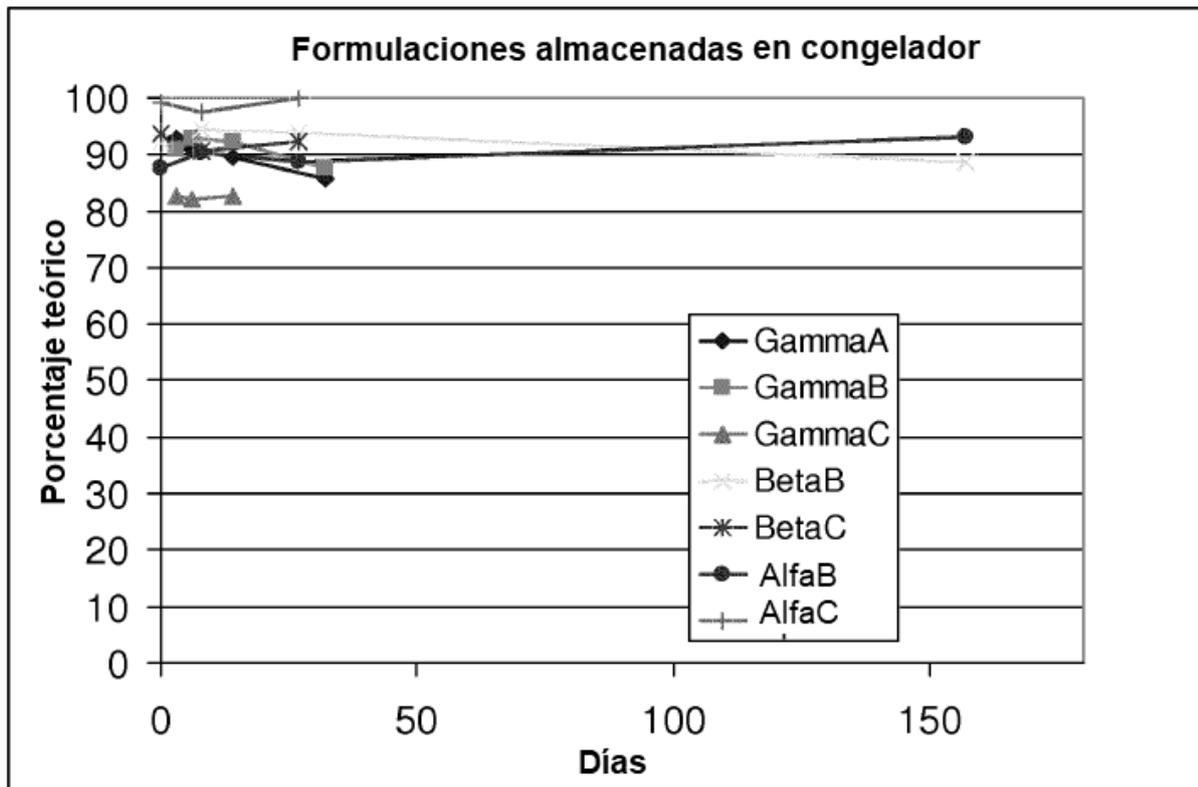


Figura 5

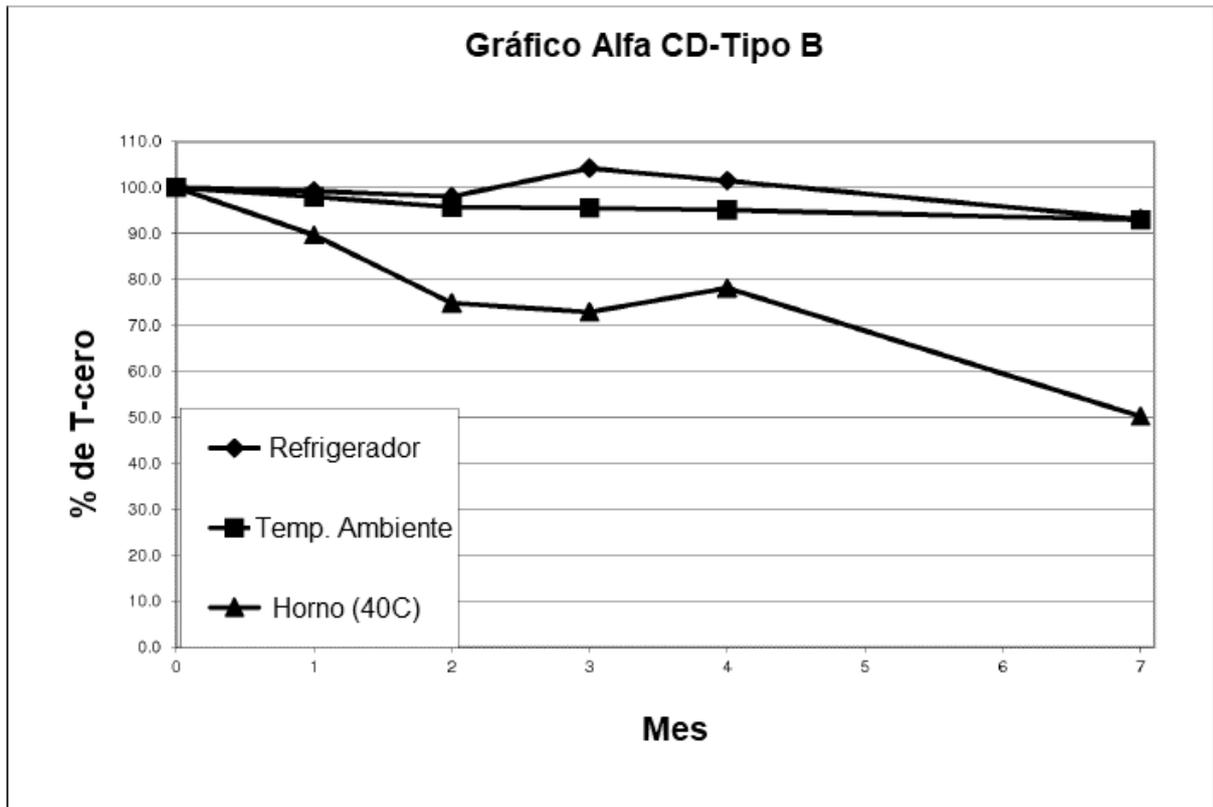


Figura 6

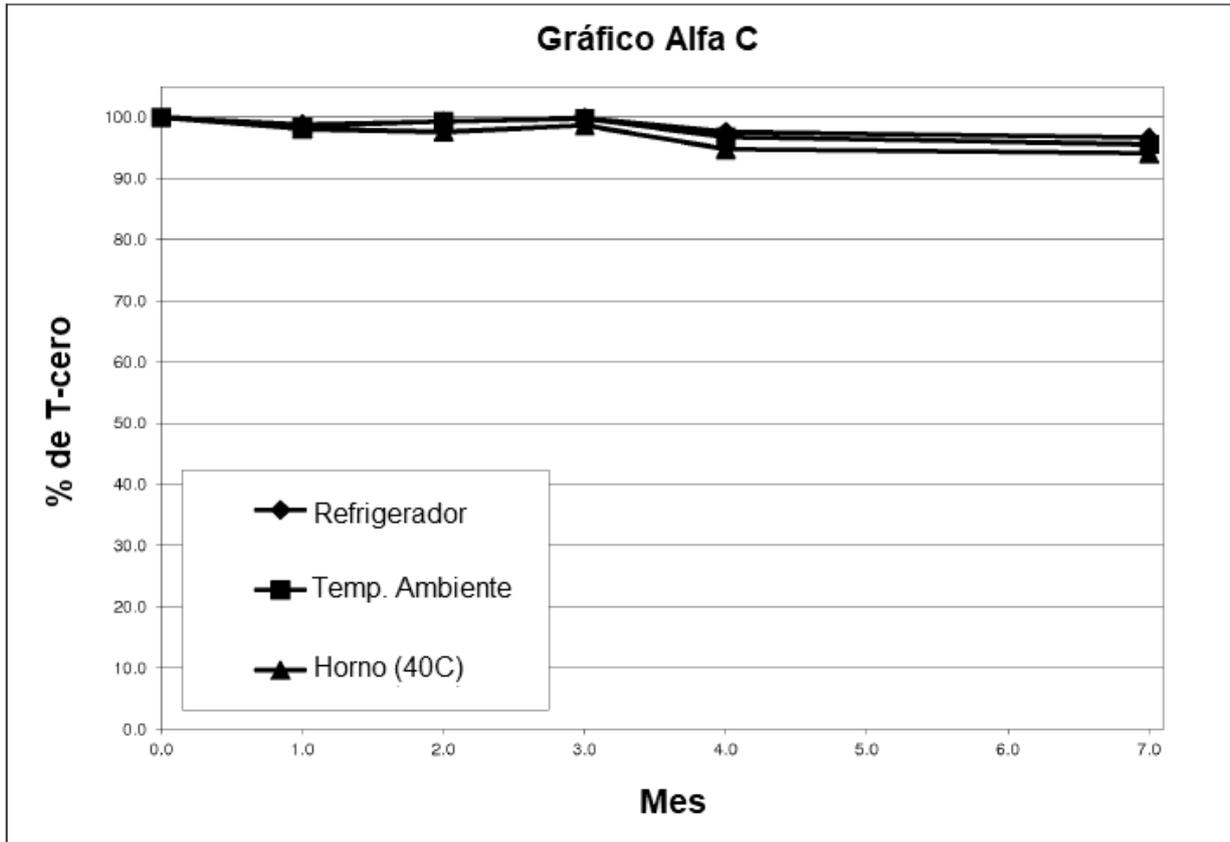


Figura 7

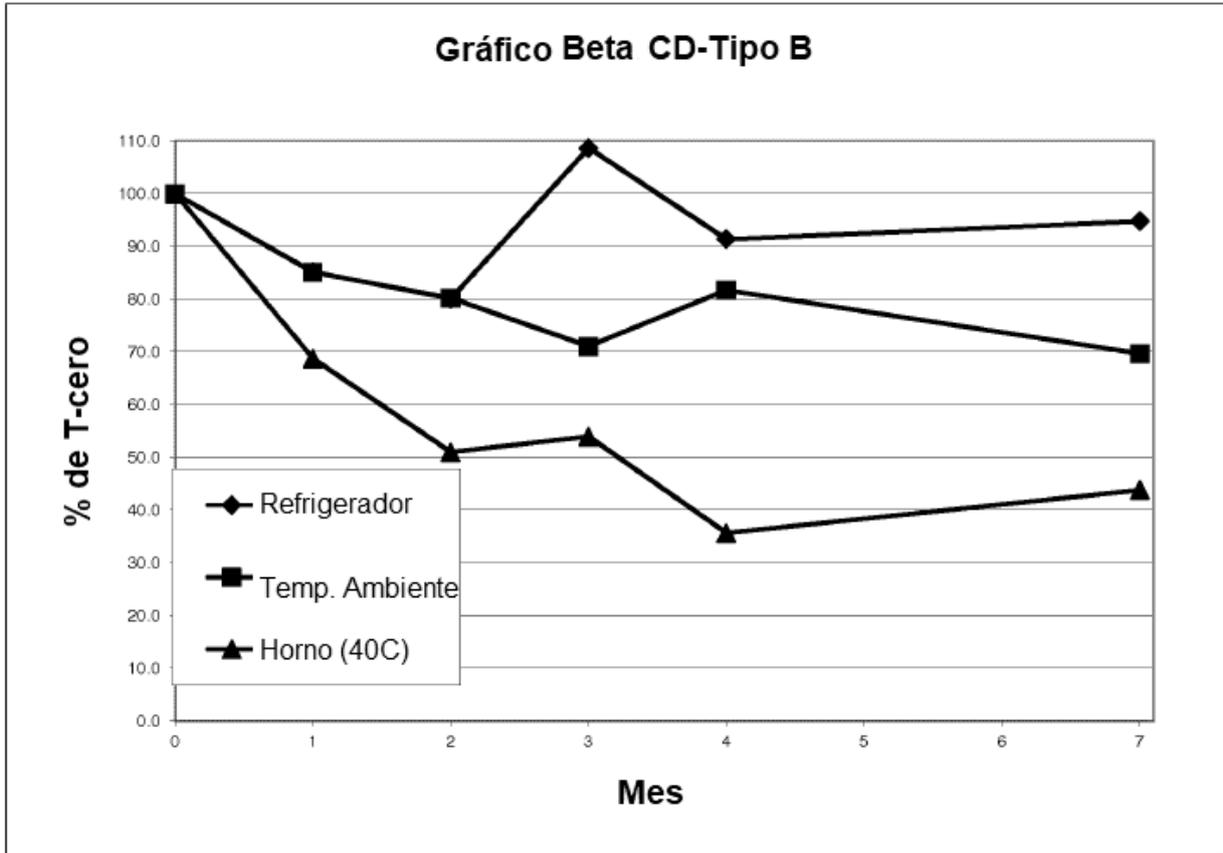


Figura 8