

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 685 436**

51 Int. Cl.:

A61K 47/18 (2007.01)

A61K 47/42 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.12.2003 PCT/US2003/038941**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.06.2004 WO04052401**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.12.2003 E 03799876 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.06.2018 EP 1585548**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para administración de agentes farmacológicos**

30 Prioridad:

09.12.2002 US 432317 P

03.12.2003 US 526544 P

04.12.2003 US 526773 P

05.12.2003 US 527177 P

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

09.10.2018

73 Titular/es:

ABRAXIS BIOSCIENCE, LLC (100.0%)

86 Morris Avenue

Summit, NJ 07901, US

72 Inventor/es:

DESAI, NEIL, P.;

YANG, ANDREW;

CI, SHERRY, XIAOPEI;

DE, TAPAS;

TRIEU, VUONG y

SOON-SHIONG, PATRICK

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 685 436 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones y procedimientos para administración de agentes farmacológicos

Campo de la invención

- 5 Esta invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden agentes farmacéuticamente activos para uso parenteral u otro uso interno, que producen la disminución de determinados efectos secundarios no deseados con la administración, en comparación con formulaciones disponibles de fármacos similares.

Antecedentes de la invención

- 10 Es bien sabido que muchos fármacos para uso parenteral, especialmente los administrados por vía intravenosa, producen efectos secundarios no deseados tales como irritación venosa, flebitis, quemadura y dolor con la inyección, trombosis venosa, extravasación y otros efectos secundarios relacionados con la administración. Muchos de estos fármacos son insolubles en agua, y, por ende, se formulan con agentes solubilizantes, tensioactivos, disolventes y/o emulsionantes que son irritantes, alergénicos o tóxicos cuando se administran a pacientes (véase, p. ej., Briggs et al., *Anesthesia* 37, 1099 (1982), y Waugh et al., *Am. J. Hosp. Pharmacists*, 48, 1520 (1991)). A menudo, el fármaco libre
- 15 presente en la formulación induce dolor o irritación con la administración. Por ejemplo, se observó flebitis en 50 % de los pacientes que recibieron administración en vena periférica de ifosfamida y vinorelbina como quimioterapia de primera línea para carcinoma de pulmón de células no pequeñas avanzado, (véase, p. ej., Vallejo et al., *Am. J. Clin. Oncol.*, 19(6), 584-8 (1996)). Asimismo, se ha demostrado que la vancomicina induce efectos secundarios tales como flebitis (véase, p. ej., Lopes Rocha et al., *Braz. J. Infect. Dis.*, 6(4), 196-200 (2002)). El uso de cisplatina, gemcitabina,
- 20 y SU5416 en pacientes con tumores sólidos ha dado como resultado reacciones adversas tales como trombosis venosas profundas y flebitis (véase, p. ej., Kuenen et al., *J. Clin. Oncol.*, 20(6), 1657-67 (2002)). Asimismo, el propofol, un agente anestésico, puede inducir dolor con la inyección, quemadura e irritación venosa, en particular cuando se administra como una emulsión grasa estabilizada con lecitina (véase, p. ej., Tan et al., *Anesthesia*, 53, 468-76, (1998)). Otros fármacos que muestran efectos secundarios asociados a la administración incluyen, por ejemplo, Taxol
- 25 (paclitaxel) (véase, p. ej., prospecto del Taxol IV), amiodarona (hidrocloruro de amiodarona) (véase, p. ej., prospecto de amiodarona IV), la hormona tiroidea T3 o liotironina (disponible comercialmente como Triostat), tiotepa, bleomicina, y agentes diagnósticos radiológicos de contraste.

- Otro problema asociado a la fabricación de fármacos para inyección, en particular, fármacos insolubles en agua, es la garantía de esterilidad. La fabricación estéril de emulsiones/dispersiones de fármacos se puede conseguir mediante
- 30 la esterilización absoluta de todos los componentes antes de la fabricación, seguida de la técnica absolutamente aséptica en todas las etapas de fabricación. No obstante, dichos procedimientos llevan mucho tiempo y son costosos. Además, la oxidación de formulaciones de fármacos mediante exposición al aire durante la fabricación o almacenamiento puede producir, por ejemplo, pH reducido, degradación del fármaco, y decoloración, desestabilizando de este modo la formulación del fármaco y/o reduciendo su vida útil de almacenamiento.

- 35 Para evitar los problemas asociados a los efectos secundarios relacionados con la administración de las formulaciones de fármacos, se han intentado conseguir formulaciones alternativas. Con respecto al propofol, por ejemplo, los procedimientos para reducir dolor inducido por propofol incluyen aumentar el contenido de grasa del disolvente (p. ej., triglicéridos de cadena larga (TCL)), premedicación, pretratamiento con fármacos no esteroideos, anestesia local, opiáceos, agregado de lidocaína, agregado de ciclodextrina, y microfiltración (véase p. ej., Mayer et al., *Anaesthetist*,
- 40 45(11), 1082-4 (1996), Davies, et al. *Anaesthesia*, 57, 557-61 (2002), Doenicke, et al., *Anaesth. Analg.*, 82, 472-4 (1996), Larsen et al., *Anaesthesitis* 50, 842-5 (2001), Lilley et al., *Anaesthesia*, 51, 815-8 (1996), Bielen et al., *Anesth. Analg.*, 82(5), 920-4 (1996), y Knibbe et al., *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 47(6), 653-60 (1999)). Sin embargo, estas formulaciones inducen otros efectos secundarios (p. ej., complicaciones cardiovasculares), o producen desestabilización de emulsiones de propofol.

- 45 Para superar el problema de la contaminación bacteriana, las formulaciones de propofol se han desarrollado con agentes antibacterianos, tales como un equivalente de EDTA (p. ej., edetato), pentetato, o agentes que contienen sulfitos, o se han formulado con un pH más bajo (véanse, p. ej., las patentes de Estados Unidos 5.714.520, 5.731.355, 5.731.356, 6.028.108, 6.100.302, 6.147.122, 6.177.477, 6.399.087, 6.469.069, y la solicitud internacional de patente N.º WO 99/39696). Sin embargo, puesto que el edetato y el pentetato son quelantes de iones metálicos, tienen el
- 50 potencial de ser peligrosos al eliminar los iones metálicos esenciales del sistema corporal. Asimismo, el agregado de sulfitos a formulaciones de fármacos presenta efectos adversos potenciales a la población pediátrica y a aquellos en la población general que son alérgicos al azufre.

- La publicación internacional WO 99/00113 A1 describe composiciones útiles para la administración de un agente farmacológicamente activo sustancialmente insoluble en agua (tal como el fármaco contra el cáncer paclitaxel) en el
- 55 cual el agente farmacológicamente activo se administra en forma de partículas suspendidas revestidas con proteína (tal como albúmina).

Ibrahim et al. (Clinical Cancer Research 2002:8: 1038-1044) informaron en fase I y estudio farmacocinético sobre ABI-007, una formulación de nanopartículas de paclitaxel estabilizada con proteínas y libre de cremophor y su eficacia en

pacientes con cáncer de mama pretratados con Taxol. Sigue habiendo necesidad de una composición y procedimiento que reduzcan o eliminen los efectos secundarios asociados a la administración parenteral o *in vivo* de fármacos. También se necesitan una composición farmacéutica que sea estéril, y procedimientos para preparar dicha composición. Asimismo, se necesita una composición farmacéutica y procedimiento que reduzcan o eliminen la oxidación de formulaciones farmacéuticas para prevenir la desestabilización del fármaco.

La invención proporciona dichas composiciones y los usos de estas. Estas y otras ventajas de la invención, así como características de la invención adicionales, serán evidentes a partir de la descripción de la invención proporcionada en la presente memoria.

Breve resumen de la invención

La invención proporciona diversas realizaciones de composiciones farmacéuticas. Una, varias o todas las propiedades de las diversas realizaciones se pueden encontrar en distintas realizaciones de la invención y están comprendidas dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina, donde la proporción (p/p) de albúmina respecto del agente farmacéutico es 1:1 a 9:1, y donde la composición farmacéutica comprende partículas o gotas que tienen un tamaño inferior a 200 nm, donde el agente farmacéutico se selecciona de entre taxano, camptotecina, propofol, amiodarona, ciclosporina, anfotericina, liotironina, epotilona, colchicina, hormona tiroidea, corticosteroide, melatonina, tacrolimus, ácido micofenólico, y derivados de los mismos, o donde el agente farmacéutico es docetaxel o rapamicina.

La presente invención además proporciona la composición farmacéutica de la invención para uso en un procedimiento para tratar una enfermedad. Las enfermedades son preferiblemente cáncer, enfermedad cardiovascular o artritis. Como regla general, la descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende una proteína, tal como albúmina, más preferiblemente seroalbúmina humana, en una cantidad efectiva para reducir uno o más efectos secundarios de administración de la composición farmacéutica a un humano, y donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende deferoxamina en una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento microbiano en la composición farmacéutica. La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende una proteína, tal como albúmina, en una cantidad efectiva para reducir uno o más efectos secundarios de administración de la composición farmacéutica a un humano, y donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende deferoxamina en una cantidad efectiva para inhibir la oxidación en la composición farmacéutica.

La solicitud describe un procedimiento para reducir uno o más efectos secundarios asociados a la administración de una composición farmacéutica a un humano que comprende (a) administrar a un humano una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina y deferoxamina. También se proporcionan procedimientos para inhibir el crecimiento microbiano, o para inhibir la oxidación, o para inhibir el crecimiento microbiano y la oxidación en una composición farmacéutica. Estos procedimientos comprenden preparar una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende deferoxamina en una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento microbiano o en una cantidad efectiva para inhibir la oxidación en la composición farmacéutica.

La composición farmacéutica de la invención también se utiliza en un procedimiento para mejorar el transporte de un agente farmacéutico al sitio de una dolencia, y dicho procedimiento comprende administrar a un humano una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina, y donde la proporción de albúmina respecto de agente farmacéutico en la composición farmacéutica es 1:1 a 9:1. La composición farmacéutica de la invención se utiliza en un procedimiento para mejorar la unión de un agente farmacéutico a una célula *in vitro* o *in vivo*, y dicho procedimiento comprende administrar a dicha célula *in vitro* o *in vivo* una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina, y donde la proporción de albúmina respecto de agente farmacéutico en la composición farmacéutica es 1:1 a 9:1.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina en una cantidad efectiva para aumentar el transporte del fármaco al sitio de la dolencia en un humano, y donde la proporción de albúmina respecto de agente farmacéutico es 1:1 a 9:1.

La composición farmacéutica de la invención se utiliza en un procedimiento para aumentar el transporte de un agente farmacéutico a una célula *in vitro* o *in vivo* combinando dicho agente con una proteína, donde dicha proteína se une a un receptor de superficie celular específico en dicha célula, donde dicha unión de la combinación de proteína-agente farmacéutico con dicho receptor hace que se produzca el transporte, y donde la proporción de proteína respecto de

agente farmacéutico es 1:1 a 9:1.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un
 5 vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina, donde
 la proporción (p/p) de albúmina respecto del agente farmacéutico es 1:1 a 9:1, y donde la composición farmacéutica
 comprende partículas o gotas que tienen un tamaño inferior a 200 nm, donde el agente farmacéutico se selecciona de
 entre taxano, camptotecina, propofol, amiodarona, ciclosporina, anfotericina, liotironina, epotilona, colchicina, hormona
 tiroidea, corticosteroide, melatonina, tacrolimus, ácido micofenólico, y derivados de los mismos, o donde el agente
 10 farmacéutico es docetaxel o rapamicina.

La presente invención además proporciona la composición farmacéutica de la invención para uso en un procedimiento
 para tratar una enfermedad. Las enfermedades son preferiblemente cáncer, enfermedad cardiovascular o artritis.
 Como regla general, la descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico
 y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende una proteína,
 15 tal como albúmina, preferiblemente seroalbúmina humana, en una cantidad efectiva para reducir uno o más efectos
 secundarios de administración de la composición farmacéutica a un humano, y donde el vehículo farmacéuticamente
 aceptable comprende deferoxamina en una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento microbiano en la composición
 farmacéutica. Una composición farmacéutica puede comprender un agente farmacéutico y un vehículo
 farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende una proteína tal como
 20 albúmina en una cantidad efectiva para reducir uno o más efectos secundarios de administración de la composición
 farmacéutica a un humano, y donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende deferoxamina en una
 cantidad efectiva para inhibir la oxidación en la composición farmacéutica.

Cualquier agente farmacéutico puede utilizarse en la composición farmacéutica. Entre los agentes farmacéuticos
 apropiados se incluyen, sin carácter restrictivo, agentes anticancerígenos o antineoplásicos, agentes antimicrotúbulos,
 25 agentes inmunosupresores, anestésicos, hormonas, agentes para uso en trastornos cardiovasculares, agentes
 antiarrítmicos, antibióticos, antifúngicos, antihipertensivos, antiasmáticos, analgésicos, agentes antiinflamatorios,
 agentes antiartríticos, y agentes vasoactivos. Las composiciones farmacéuticas también son posibles con muchas
 otras clases de fármacos. Más específicamente, entre los agentes farmacéuticos apropiados se incluyen, sin carácter
 restrictivo, taxanos, (p. ej., Taxol® (paclitaxel), y Taxotere™ (docetaxel)), epotilonas, camptotecina, colchicina,
 30 amiodarona, hormonas tiroideas, péptidos vasoactivos (p. ej., péptido intestinal vasoactivo), anfotericina,
 corticosteroides, propofol, melatonina, ciclosporina, rapamicina (sirolimus), tacrolimus, ácidos micofenólicos,
 ifosfamida, vinorelbina, vancomicina, gemcitabina, SU5416, tiotepa, bleomicina, agentes diagnósticos radiológicos de
 contraste, y derivados correspondientes. Otros fármacos que son útiles en la composición se describen, por ejemplo,
 en la patente de Estados Unidos 5.916.596 y solicitud de patente de Estados Unidos en tramitación N.º 09/446.783.
 35 Preferiblemente, el agente farmacéutico es paclitaxel o docetaxel. Más preferiblemente, el agente farmacéutico es
 propofol o paclitaxel.

El Taxol® (paclitaxel) (Bristol-Myers Squibb) es activo contra carcinomas de ovario, mama, pulmón, esófago y cabeza
 y cuello. Sin embargo, Taxol ha demostrado inducir toxicidades asociadas a administración, así como toxicidad aguda
 y acumulativa significativa, tal como mielosupresión, fiebre neutropénica, reacción anafiláctica y neuropatía periférica.
 40 Debido a que el paclitaxel es poco soluble en agua, se utiliza normalmente cremophor como disolvente, requiriendo
 grandes volúmenes de infusión y tubos y filtros especiales. El cremophor está asociado a efectos secundarios que
 pueden ser graves, incluyendo anafilaxis y otras reacciones de hipersensibilidad que pueden requerir pretratamiento
 con corticosteroides, antihistamínicos, y antagonistas H₂ (véase, p. ej., Gelderblom et al., *Eur. J. of Cancer*, 37, 1590-
 1598, (2001)). El Taxotere™ (docetaxel) se utiliza en el tratamiento de cáncer de mama resistente a antraciclinas, pero
 45 previamente ha demostrado inducir efectos secundarios de hipersensibilidad y retención de líquidos que pueden
 resultar graves. La epotilona (y sus derivados) también se administra normalmente en cremophor, y se ha demostrado
 que induce neutropenia, hipersensibilidad y neuropatía graves.

El propofol (2,6-diisopropilfenol) es un aceite hidrofóbico, insoluble en agua, que es ampliamente utilizado como agente
 anestésico intravenoso para inducir y mantener anestesia general y sedación de humanos y animales. El propofol
 50 normalmente se administra directamente en el torrente sanguíneo y cruza la barrera hematoencefálica. Las
 composiciones farmacéuticas que comprenden propofol deben tener suficiente solubilidad en lípidos para cruzar esta
 barrera y oprimir los mecanismos relacionados del cerebro. El propofol tiene una solubilidad en agua máxima de 1,0
 +/-0,02 µM a 22,5 °C (véase, p. ej., Tonner et al., *Anesthesiology*, 77, 926-931 (1992)). Como tal, el propofol
 generalmente se formula como una emulsión que contiene agentes solubilizantes, tensioactivos, disolventes, o como
 55 una emulsión de aceite en agua (véanse, p. ej., las patentes de Estados Unidos 6.150.423, 6.326.406, y 6.362.234).
 Además del agente farmacéutico activo, las composiciones de la presente invención incluyen vehículos farmacéuticos
 o excipientes. La elección de vehículo no es necesariamente crítica, y se puede utilizar cualquiera de los vehículos
 conocidos en la técnica en la composición. La elección del vehículo está preferiblemente determinada, en parte, por
 el sitio específico en el cual se ha de administrar la composición farmacéutica y por el procedimiento específico
 60 utilizado para administrar la composición farmacéutica. Preferiblemente, el vehículo farmacéuticamente aceptable
 comprende proteínas. Se puede utilizar cualquier proteína adecuada. Entre los ejemplos de proteínas adecuadas se
 incluyen, sin carácter restrictivo, albúmina, inmunoglobulinas incluyendo IgA, lipoproteínas, apolipoproteína B, beta-2-

macroglobulina, tiroglobulina y similares. Más preferiblemente, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina, más preferiblemente seroalbúmina humana. Las proteínas, incluyendo albúmina, apropiadas para la invención pueden ser de origen natural o estar preparadas de manera sintética.

La seroalbúmina humana (HSA, por su sigla en inglés) es una proteína globular altamente soluble de M 65K y consiste en 585 aminoácidos. La HSA es la proteína más abundante en el plasma y explica el 70-80 % de la presión osmótica coloidal del plasma humano. La secuencia de aminoácidos de HSA contiene un total de 17 puentes disulfuro, un tiol libre (Cys 34) y un único triptófano (Trp 214). El uso intravenoso de la disolución de HSA se ha indicado para la prevención y tratamiento de shock hipovolémico (véase, p. ej., Tullis, *JAMA*, 237, 355-360, 460-463, (1977)) y Houser et al., *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, 150, 811-816 (1980)) y junto con transfusión de intercambio para el tratamiento de hiperbilirrubinemia neonatal (véase, p. ej., Finlayson, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 6, 85-120, (1980)).

La seroalbúmina humana (HSA) tiene múltiples sitios de unión hidrofóbicos (un total de ocho para ácidos grasos, un ligando endógeno de HSA) y une un grupo diverso de fármacos, en especial compuestos hidrofóbicos neutros y con carga negativa (Goodman et al., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9ª ed, McGraw-Hill Nueva York (1996)). Dos sitios de unión de alta afinidad se han propuesto en los subdominios IIA y IIIA de HSA, que son bolsillos hidrofóbicos altamente elongados con residuos de lisina y arginina con carga, cercanos a la superficie, que funcionan como puntos de sujeción para características de ligandos polares (véase, p. ej., Fehske et al., *Biochem. Pharmacol.*, 30, 687-92 (1981), Vorum, *Dan. Med Bull.*, 46, 379-99 (1999), Kragh-Hansen, *Dan. Med. Bull.*, 1441, 131-40 (1990), Curry et al., *Nat. Struct. Biol.*, 5, 827-35 (1998), Sugio et al., *Protein. Eng.*, 12, 439-46 (1999), He et al., *Nature*, 358, 209-15 (1992), y Carter et al., *Adv. Protein. Chem.*, 45, 153-203 (1994)). Se ha demostrado que paclitaxel y propofol se unen a HSA (véase, p. ej., Paal et al., *Eur. J. Biochem.*, 268(7), 2187-91 (2001), Purcell et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1478(1), 61-8 (2000), Altmayer et al., *Arzneimittelforschung*, 45, 1053-6 (1995), y Garrido et al., *Rev. Esp. Anestesiología y Reanimación*, 41, 308-12 (1994)). Además, se ha demostrado que el docetaxel se une a proteínas plasmáticas humanas (véase, p. ej., Urien et al., *Invest. New Drugs*, 14(2), 147-51 (1996)). Por lo tanto, sin ánimo de ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que la inclusión de proteínas tales como albúmina en las composiciones farmacéuticas de la invención da como resultado una reducción en los efectos secundarios asociados con la administración de la composición farmacéutica que se debe, al menos en parte, a la unión de la seroalbúmina humana a cualquier fármaco libre que está presente en la composición.

La cantidad de albúmina incluida en la composición farmacéutica de la presente invención variará según el agente farmacéutico activo, otros excipientes, y la vía y sitio de administración deseada. Preferiblemente, la cantidad de albúmina incluida en la composición es una cantidad efectiva para reducir uno o más efectos secundarios del agente farmacéutico activo debido a la administración de la composición farmacéutica de la invención a un humano. Normalmente, la composición farmacéutica se prepara en forma líquida y la albúmina luego se añade en disolución. Preferiblemente, la composición farmacéutica, en forma líquida, comprende entre alrededor de 0,1 % y alrededor de 25 % en peso (p. ej. alrededor de 0,5% en peso, alrededor de 5 % en peso, alrededor de 10 % en peso, alrededor de 15 % en peso, o alrededor de 20 % en peso) de albúmina. Más preferiblemente, la composición farmacéutica, en forma líquida, comprende alrededor de 0,5 % a alrededor de 5 % en peso de albúmina. La composición farmacéutica se puede deshidratar, por ejemplo, mediante liofilización, secado por pulverización, secado por lecho fluidizado, granulación en húmedo, y otros procedimientos apropiados conocidos en la técnica. Cuando la composición se prepara en forma sólida, tal como mediante granulación en húmedo, secado por lecho fluidizado y otros procedimientos conocidos para los expertos en la técnica, la albúmina preferiblemente se aplica al agente farmacéutico activo, y otros excipientes si están presentes, como una disolución. Preferiblemente, la disolución de HSA tiene entre alrededor de 0,1 % y alrededor de 25 % en peso (alrededor de 0,5% en peso, alrededor de 5 % en peso, alrededor de 10 % en peso, alrededor de 15 % en peso, o alrededor de 20 % en peso) de albúmina.

Además de albúmina, las composiciones de la presente invención preferiblemente comprenden deferoxamina. La deferoxamina es un producto natural aislado de *Streptomyces pilosus*, y es capaz de formar complejos de hierro. El mesilato de deferoxamina para inyección USP, por ejemplo, está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos como un agente quelante de hierro y está disponible para administración intramuscular, subcutánea e intravenosa. El mesilato de deferoxamina USP es un polvo blanco a blanquecino. Es libremente soluble en agua y su peso molecular es de 656,79. El nombre químico para el mesilato de deferoxamina es monometanosulfonato (sal) de ácido N-[5-[3-[(5-aminopentil)-hidroxicarbamoil]-propionamido]pentil]-3[[5-((N-hidroxiacetamido)pentil)-carbamoil]propionohidroxámico], y su fórmula estructural es $C_{25}H_{48}N_6O_8 \cdot CH_3SO_3H$. Como se describe en los Ejemplos, la deferoxamina, o análogos, derivados o sales (p. ej., sales de mesilato) correspondientes inhiben el crecimiento microbiano y la oxidación en la composición farmacéutica, y se cree que se unen a fármacos libres en la composición. La deferoxamina también ha demostrado que se une a compuestos fenólicos (véase, p. ej., Juven et al., *J. Appl. Bacteriol.*, 76(6), 626-31 (1994)). Paclitaxel, docetaxel, propofol y similares son o bien de tipo fenólico o tienen sustituyentes fenólico o fenilo. Por consiguiente, se cree que la deferoxamina se puede unir a o reducir la cantidad de fármaco libre en la composición farmacéutica de la invención, también reduciendo o aliviando de este modo la irritación o dolor con la inyección.

La cantidad de deferoxamina, o su sal preferida, es decir, una sal de mesilato de deferoxamina, incluida en la composición dependerá del agente farmacéutico activo y otros excipientes. Preferiblemente, la cantidad de deferoxamina, sus sales y análogos correspondientes en la composición es una cantidad efectiva para inhibir el

crecimiento microbiano y/o inhibir la oxidación. Como se describió antes, normalmente la composición farmacéutica se prepara en forma líquida, y la deferoxamina, sus sales y análogos correspondientes, se añaden posteriormente a la disolución. Preferiblemente, la composición farmacéutica, en forma líquida, comprende entre alrededor de 0,0001 % y alrededor de 0,5 % en peso (p. ej. alrededor de 0,005 % en peso, alrededor de 0,1 % en peso o alrededor de 0,25 % en peso) de deferoxamina, sus sales o sus análogos. Más preferiblemente, la composición, en forma líquida, comprende cantidades iguales de la sal de deferoxamina preferida, mesilato de deferoxamina. Más preferiblemente, la composición farmacéutica, en forma líquida, comprende alrededor de 0,1 % en peso de mesilato de deferoxamina. Cuando la composición se prepara en forma sólida, como se describe más arriba, tal como mediante granulación en húmedo, secado por lecho fluidizado y otros procedimientos conocidos para los expertos en la técnica, el mesilato de deferoxamina preferiblemente se aplica al agente farmacéutico activo, y otros excipientes si están presentes, como una disolución. Preferiblemente, la disolución de mesilato de deferoxamina tiene entre alrededor de 0,0001 % y alrededor de 0,5 % en peso (p. ej., alrededor de 0,005 % en peso, alrededor de 0,1 %, o alrededor de 0,25 % en peso) de deferoxamina.

Conforme a la invención, la composición farmacéutica puede incluir otros agentes, excipientes, o estabilizantes para mejorar las propiedades de la composición. Por ejemplo, para aumentar la estabilidad aumentando el potencial zeta negativo de nanopartículas o nanogotas, se pueden agregar determinados componentes con carga negativa. Dichos componentes con carga negativa incluyen, sin carácter restrictivo, sales biliares de ácidos biliares que consisten en ácido glicólico, ácido cólico, ácido quenodesoxicólico, ácido taurocólico, ácido glicoquenodesoxicólico, ácido tauroquenodesoxicólico, ácido litocólico, ácido ursodesoxicólico, ácido dehidrocólico y otros; fosfolípidos incluidos con base de Lecitina (yema de huevo) que incluyen las siguientes fosfatidilcolinas: palmitoiloleoilfosfatidilcolina, palmitoil-linoleoilfosfatidilcolina, estearoil-linoleoilfosfatidilcolina, estearoiloleoilfosfatidilcolina, estearoilaraquidilfosfatidilcolina, y dipalmitoilfosfatidilcolina. Otros fosfolípidos incluyen L- α -dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), dioleoilfosfatidilcolina (DOPC), diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), D- α -fosfatidilcolina, β -acetil- γ -O-hexadecil, L- α -fosfatidilcolina, β -acetil- γ -O-hexadecil, DL- α -fosfatidilcolina, β -acetil- γ -O-hexadecil, L- α -fosfatidilcolina, β -acetil- γ -O-octadecil, L- α -fosfatidilcolina, β -araquidonoil- γ -O-hexadecil, L- α -fosfatidilcolina, β -acetil- γ -O-(octadec-9-cis-enil), D- α -fosfatidilcolina, β -araquidonoil- γ -O-palmitoil, 3-sn-fosfatidilcolina, 2-araquidinoil-1-estearoil, L- α -fosfatidilcolina, β -araquidonoil- γ -estearoil, L- α -fosfatidilcolina, diaraquidilcolina, L- α -fosfatidilcolina, dibehenoil, L- α -fosfatidilcolina, β -(cis-8,11,14-eicosatrienoil)- γ -O-hexadecil, L- α -fosfatidilcolina, β -oleoil- γ -miristoil, L- α -fosfatidilcolina, β -(piren-1-il)decanoil- γ -palmitoil, 3-sn-fosfatidil-N,N-dimetiletanolamina, 1,2-dipalmitoil, L- α -fosfatidiletanolamina, diheptadecanoil, 3-sn-fosfatidiletanolamina, 1,2-dilauroil, 3-sn-fosfatidiletanolamina, 1,2-dimiristoil, 3-sn-fosfatidiletanolamina, 1,2-dioleoil, 3-sn-fosfatidiletanolamina, 1,2-dipalmitoil, L- α -fosfatidiletanolamina, dipalmitoil, L- α -fosfatidiletanolamina, dipalmitoil, N-dansil, L- α -fosfatidiletanolamina, dipalmitoil, N,N-dimetil, L- α -dimiristoilfosfatidilglicerol (sal de sodio) (DMPG), dipalmitoilfosfatidilglicerol (sal de sodio) (DPPG), diestearoilfosfatidilglicerol (sal de sodio) (DSPG), N-(carbonilmetoxipolietilenglicol 2000)-1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina sodio (MPEG-DSPE), ácido L- α -fosfatídico, sal de sodio didecanoil, ácido L- α -fosfatídico, sal de sodio diheptadecanoil, ácido 3-sn-fosfatídico, sal de sodio 1,2-dimiristoil, ácido L- α -fosfatídico, sal de sodio dioctanoil, ácido L- α -fosfatídico, sal de sodio dioleoil, ácido L- α -fosfatídico, sal de sodio dipalmitoil, L- α -fosfatidil-DL-glicerol, sal de sodio dimiristol, L- α -fosfatidil-DL-glicerol, sal de sodio dioleoil, L- α -fosfatidil-DL-glicerol, sal de amonio dipalmitoil, L- α -fosfatidil-DL-glicerol, sal de amonio diestearoil, L- α -fosfatidil-DL-glicerol, sal de amonio β -oleoil- γ -palmitoil, sal de amonio L- α -fosfatidilinositol, sal de sodio L- α -fosfatidilinositol, L- α -fosfatidil-L-serina, sal de sodio dioleoil, L- α -fosfatidil-L-serina, y sal de sodio dipalmitoil. Los tensioactivos con carga negativa de emulsionantes también son apropiados como aditivos, p. ej., colesterilsulfato de sodio y similares.

El agente farmacéutico (p. ej. propofol) se puede utilizar solo o disuelto en un disolvente inmiscible en agua. Se puede utilizar una amplia variedad de disolventes inmiscibles en agua tales como aceite de soja, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de girasol, aceite de cacahuete, aceite de ricino o aceite de oliva. El aceite preferido es un aceite vegetal, donde el aceite de soja es más preferido. El aceite de soja se puede utilizar en un intervalo de 1 % a 10 % en peso de la composición. Preferiblemente el aceite de soja está presente en la composición farmacéutica en una cantidad de alrededor de 3 % en peso.

La composición farmacéutica de la invención se puede estabilizar con un tensioactivo farmacéuticamente aceptable. El término «tensioactivos», como se utiliza en la presente, se refiere a uno o varios grupos activos superficiales de moléculas anfífilas. Los tensioactivos pueden ser aniónicos, catiónicos, no iónicos y zwitteriónicos. Cualquier tensioactivo apropiado puede incluirse en la composición farmacéutica de la invención. Los tensioactivos apropiados incluyen tensioactivos no iónicos tales como fosfatidas, ésteres de polioxietilensorbitán, y succinato de tocoferilopolietilenglicol. Los tensioactivos preferidos son lecitina de huevo, tween 80, y vitamina E-t succinato de d- α tocoferilopolietilenglicol-1000 (TPGS). Para las formulaciones que contienen aceite de soja, se prefiere la lecitina de huevo con no más de 1,2 % en peso para una formulación que contiene aceite de soja al 3 %, preferiblemente al 1,1 % en peso de la composición. Para formulaciones sin aceite de soja, los tensioactivos preferidos son tween 80 o vitamina E-TPGS. Normalmente, lo apropiado es 0,1 a 1,5 % en peso de tween 80 o 0,5 a 4 % en peso de vitamina E-TPGS. Preferiblemente, se utiliza 1,5 % en peso de tween 80 o 1 % en peso de vitamina E-TPGS. Los ejemplos de otros tensioactivos apropiados se describen en, por ejemplo, Becher, *Emulsions: Theory and Practice*, Robert E. Krieger Publishing, Malabar, Fla. (1965).

Existe una gran variedad de formulaciones apropiadas de la composición farmacéutica de la invención (véase, p. ej., patente de Estados Unidos N.º 5.916.596). Las siguientes formulaciones y procedimientos son meramente a título de

ejemplo y no pretenden ser restrictivos de ninguna manera. Las formulaciones apropiadas para administración oral pueden consistir en (a) disoluciones líquidas, tales como una cantidad efectiva del compuesto disuelta en diluyentes, tales como agua, solución salina, o zumo de naranja, (b) cápsulas, sobres o comprimidos, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada del ingrediente activo, como sólidos o gránulos, (c) suspensiones en un líquido apropiado, y (d) emulsiones apropiadas. Las formas de comprimidos pueden incluir uno o más de lactosa, manitol, almidón de maíz, almidón de patata, celulosa microcristalina, acacia, gelatina, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa sódica, talco, estearato de magnesio, ácido esteárico, y otros excipientes, colorantes, diluyentes, agentes tamponantes, agentes humectantes, conservantes, agentes saborizantes, y excipientes farmacológicamente aceptables. Las formas de píldoras pueden comprender el ingrediente activo en un sabor, normalmente sacarosa y acacia o tragacanto, así como pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia, emulsiones, geles y similares, que contienen, además del ingrediente activo, los excipientes como se conocen en la técnica.

Las formulaciones apropiadas para administración parenteral incluyen disoluciones de inyección estériles isotónicas acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes. Las formulaciones se pueden presentar en envases de dosis unitarias o multidosis sellados, tales como ampollas o viales, y se pueden almacenar en un estado congelado-disechado (liofilizado) que requiere solo el agregado del excipiente líquido estéril, por ejemplo, agua, para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Las disoluciones y suspensiones de inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos del tipo previamente descrito. Se prefieren formulaciones inyectables.

Las formulaciones apropiadas para administración en aerosol comprenden la composición farmacéutica de la invención e incluyen disoluciones estériles isotónicas acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, y solutos, así como suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes, solos o en combinación con otros componentes apropiados, que se pueden fabricar en formulaciones en aerosol que han de administrarse mediante inhalación. Estas formulaciones en aerosol se pueden colocar en propelentes aceptables presurizados, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno, y similares. También se pueden formular como productos farmacéuticos para preparaciones no presurizadas, tales como en un nebulizador o atomizador.

Otras formulaciones apropiadas son posibles; por ejemplo, se pueden preparar supositorios utilizando una variedad de bases tales como bases emulsionantes o bases solubles en agua. Las formulaciones apropiadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o fórmulas en aerosol que contienen, además del ingrediente activo, los vehículos conocidos en la técnica como apropiados.

En una realización preferida de la invención, la composición farmacéutica se formula para que tenga un intervalo de pH de 4,5 a 9,0, y más preferiblemente un pH de 5,0 a 8,0. La composición farmacéutica también se puede fabricar como isotónica con sangre mediante el agregado de un modificador de tonicidad apropiado, tal como glicerol. Asimismo, el vehículo farmacéuticamente aceptable preferiblemente también comprende agua libre de pirógenos o agua para inyección, USP. Preferiblemente, la composición farmacéutica de la invención se prepara como una formulación estéril acuosa, una nanopartícula, una emulsión de aceite en agua, o una emulsión de agua en aceite. Más preferiblemente, la composición farmacéutica es una emulsión de aceite en agua.

Para una composición farmacéutica que comprende propofol se prepara una emulsión de aceite en agua disolviendo propofol en un disolvente inmiscible en agua solo, y preparando una albúmina con fase acuosa, deferoxamina, tensoactivo y otros ingredientes solubles en agua, y mezclando el aceite con la fase acuosa. La emulsión cruda es homogeneizada a alta presión a presiones de 10.000 a 25.000 psi y se hace recircular en 5 a 20 ciclos para formar una emulsión ideal. La presión preferida es 15.000 a 20.000 psi, y más preferiblemente 10.000 psi. La emulsión cruda se puede recircular en 7 a 15 ciclos y preferiblemente se hace recircular en 15 ciclos. Como alternativa, se pueden utilizar pases discretos a través de un homogeneizador.

Preferiblemente, la composición farmacéutica de la invención puede tener un tamaño de partícula o gota inferior a alrededor de 200 nanómetros (nm). Por ejemplo, en el caso de paclitaxel, docetaxel, rapamicina, ciclosporina, propofol y otros, el tamaño medio de estas dispersiones es menos de 200 nm.

Adicionalmente se describe un procedimiento para reducir uno o más efectos secundarios asociados a la administración de una composición farmacéutica a un humano. El procedimiento comprende administrar a un humano una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina y deferoxamina. Las descripciones de la composición farmacéutica, agente farmacéutico y vehículo farmacéuticamente aceptable, y componentes correspondientes indicados más arriba en relación con la composición farmacéutica de la invención también son aplicables a los mismos aspectos del procedimiento de la invención.

La dosis de la composición farmacéutica de la invención administrada a un humano, en el contexto de la invención, variará con la composición farmacéutica específica, el procedimiento de administración, y el sitio específico que se

esté tratando. La dosis debería ser suficiente para producir una respuesta deseable, tal como una respuesta terapéutica o profiláctica contra una enfermedad específica, o cuando el agente farmacéutico es una anestesia, tal como propofol, una respuesta anestésica, dentro de un periodo de tiempo deseable.

Si bien es posible utilizar cualquier medio apropiado para administrar la composición farmacéutica al humano dentro del contexto de la invención, preferiblemente la composición farmacéutica de la invención se administra al humano por vía intravenosa, intraarterial, intrapulmonar, oral, por inhalación, administración intravesicular, intramuscular, intratraqueal, subcutánea, intraocular, intratecal o transdérmica. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la invención se puede administrar mediante inhalación para tratar afecciones del tracto respiratorio. Se producen efectos secundarios mínimos asociados a la inhalación de la composición farmacéutica de la invención, puesto que la albúmina es un componente natural en el revestimiento y secreciones del tracto respiratorio. La composición de la invención se puede utilizar para tratar afecciones respiratorias tales como fibrosis pulmonar, bronquiolitis obliterante, cáncer de pulmón, carcinoma bronquioloalveolar, y similares.

La invención produce la reducción de uno o más efectos secundarios asociados a la administración de una composición farmacéutica a un humano. Dichos efectos secundarios incluyen, por ejemplo, mielosupresión, neurotoxicidad, hipersensibilidad, inflamación, irritación venosa, flebitis, dolor, irritación cutánea y combinaciones de estos. No obstante, estos efectos secundarios son meramente ejemplos, y es posible reducir o evitar otros efectos secundarios, o combinación de efectos secundarios, asociados a diversos agentes farmacéuticos mediante el uso de las composiciones novedosas.

Se describe de manera adicional un procedimiento para inhibir el crecimiento microbiano en una composición farmacéutica. «Inhibir el crecimiento microbiano» significa o bien eliminar por completo microbios de la composición farmacéutica, o reducir la cantidad o velocidad del crecimiento microbiano en la composición farmacéutica. El procedimiento comprende preparar una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende deferoxamina, sus sales, sus análogos y combinaciones correspondientes, en una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento microbiano en la composición farmacéutica. Asimismo, se describe un procedimiento para inhibir la oxidación de una composición farmacéutica. Este procedimiento comprende preparar una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende deferoxamina, sus sales, sus análogos, y combinaciones correspondientes, en una cantidad efectiva para inhibir la oxidación en la composición farmacéutica. Las descripciones de la composición farmacéutica, agente farmacéutico y vehículo farmacéuticamente aceptable, y componentes correspondientes indicados más arriba en relación con la composición farmacéutica de la invención también son aplicables a los mismos aspectos del procedimiento de la invención.

La cantidad de deferoxamina, o su sal preferida, una sal de mesilato de deferoxamina, incluida en la composición dependerá del agente farmacéutico activo y otros excipientes. Preferiblemente, la cantidad de deferoxamina, sus sales y análogos correspondientes en la composición es una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento microbiano y/o inhibir la oxidación. Como se describió anteriormente, normalmente la composición farmacéutica se prepara en forma líquida, y la deferoxamina, sus sales y análogos correspondientes se añaden posteriormente en disolución. Preferiblemente, la composición farmacéutica, en forma líquida, comprende entre alrededor de 0,0001 % y alrededor de 0,5 % en peso (p. ej., alrededor de 0,005 % en peso, alrededor de 0,1 % en peso o alrededor de 0,25 % en peso) de deferoxamina, sus sales o sus análogos. Más preferiblemente, la composición, en forma líquida, comprende cantidades iguales de la sal de deferoxamina preferida, mesilato de deferoxamina. Más preferiblemente, la composición farmacéutica, en forma líquida, comprende alrededor de 0,5% en peso de mesilato de deferoxamina. Cuando la composición se prepara en forma sólida, como se describe más arriba, tal como mediante granulación en húmedo, secado por lecho fluidizado y otros procedimientos conocidos para los expertos en la técnica, el mesilato de deferoxamina preferiblemente se aplica al agente farmacéutico activo, y otros excipientes si están presentes, como una disolución. Preferiblemente, la disolución de mesilato de deferoxamina tiene entre alrededor de 0,0001 % y alrededor de 0,5 % en peso (p. ej., alrededor de 0,005 % en peso, alrededor de 0,1%, o alrededor de 0,25 % en peso) de deferoxamina.

La invención también proporciona el uso de la composición de la invención en un procedimiento para mejorar el transporte de un agente farmacéutico al sitio de una dolencia, y dicho procedimiento comprende administrar a un humano una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina, y donde la proporción de albúmina respecto de agente farmacéutico en la composición farmacéutica es 1 a 9:1. La invención además proporciona el uso de la composición de la invención en un procedimiento para mejorar la unión de un agente farmacéutico a una célula *in vivo*, y dicho procedimiento comprende administrar a dicha célula *in vivo* una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina, y donde la proporción de albúmina respecto de agente farmacéutico en la composición farmacéutica es 1: a 9:1. Las descripciones de la composición farmacéutica, agente farmacéutico, vehículo farmacéuticamente aceptable, vías de administración y componentes correspondientes indicados más arriba en relación con la composición farmacéutica de la invención y el procedimiento de la invención también son aplicables a los mismos aspectos de los procedimientos de transporte y unión.

En los procedimientos para mejorar el transporte de un agente farmacéutico al sitio de una dolencia o para mejorar la unión de un agente farmacéutico a una célula, el vehículo farmacéuticamente aceptable preferiblemente comprende albúmina, más preferiblemente seroalbúmina humana. Sin ánimo de ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que la proporción de proteína, p. ej., seroalbúmina humana, respecto de agente farmacéutico en la composición farmacéutica afecta la capacidad del agente farmacéutico para unirse a y transportar el agente farmacéutico a una célula. En este sentido, las proporciones mayores de proteína respecto de agente farmacéutico por lo general se asocian a unión y transporte escasos del agente farmacéutico, lo que posiblemente es el resultado de la competencia por los receptores en la superficie celular. La proporción de proteína, p. ej., albúmina, respecto de agente farmacéutico debe ser tal que una cantidad suficiente de agente farmacéutico se una a, o sea transportada por, la célula. Si bien la proporción de proteína respecto de agente farmacéutico deberá optimizarse para distintas combinaciones de proteína y agente farmacéutico, por lo general, la proporción de proteína, p. ej., albúmina, respecto de agente farmacéutico es 1:1 a 9:1. Preferiblemente, la formulación está esencialmente libre de cremophor, y más preferiblemente libre de Cremophor EL® (BASF). Cremophor EL® es un agente emulsionante no iónico que es un poliéter de aceite de ricino y óxido de etileno. Como se describió más arriba, el cremophor normalmente se utiliza como un disolvente para paclitaxel, y está asociado a efectos secundarios que pueden ser graves (véase, p. ej., Gelderblom et al., anteriormente).

El agente farmacéutico puede ser cualquier agente farmacéutico apropiado descrito en la presente memoria (p. ej., propofol, paclitaxel o docetaxel).

En el procedimiento para mejorar el transporte de un agente farmacéutico al sitio de una dolencia, la dolencia puede ser cualquier enfermedad o afección apropiada. Preferiblemente, la dolencia es cáncer, enfermedad cardiovascular o artritis.

En el procedimiento para mejorar la unión de un agente farmacéutico a una célula *in vivo*, la composición farmacéutica se administra a una célula *in vivo*. Preferiblemente, la célula es una célula animal. Más preferiblemente, la célula es una célula de mamífero, y más preferiblemente la célula es una célula humana. Preferiblemente, la composición farmacéutica es administrada a una célula *in vivo*. La célula puede ser cualquier célula apropiada que sea una diana deseable para administración de la composición farmacéutica. Por ejemplo, la célula puede estar ubicada en o derivada de tejidos del sistema digestivo incluyendo, por ejemplo, el esófago, estómago, intestino delgado, colon, recto, ano, hígado, vesícula biliar y páncreas. La célula también puede estar ubicada en o derivada de tejidos del sistema respiratorio, incluyendo, por ejemplo, laringe, pulmón y bronquio. La célula puede estar ubicada en o derivada de, por ejemplo, el cuello uterino, el cuerpo uterino, los ovarios, la vulva, la vagina, la próstata, los testículos y el pene, que constituyen los aparatos genitales masculino y femenino, y la vejiga, riñón, pelvis renal, y uréter, que comprenden el sistema urinario. La célula puede estar ubicada en o derivada de tejidos del sistema cardiovascular, incluyendo, por ejemplo, células endoteliales y células del músculo cardíaco. La célula también puede estar ubicada en o derivada de tejidos del sistema linfático (p. ej., células linfáticas), del sistema nervioso (p. ej., neuronas o células gliales), y del sistema endocrino (p. ej., células de la tiroides). Preferiblemente, la célula está ubicada en o derivada de tejidos del sistema cardiovascular. Más preferiblemente, la célula es una célula endotelial. En el contexto del procedimiento de la invención para mejorar el transporte y mejorar la unión de un agente farmacéutico a una célula, la composición farmacéutica preferiblemente contacta con más de una célula.

En otro aspecto de la invención, la composición farmacéutica de la invención que produce una mejora en el transporte y en la unión de un agente farmacéutico a una célula se puede utilizar para tratar células tumorales. Las células tumorales muestran una captación mejorada de proteínas incluyendo, por ejemplo, albúmina y transferrina, en comparación con células normales. Puesto que las células tumorales se dividen a una velocidad elevada, requieren fuentes de nutrientes adicionales en comparación con las células normales. Los estudios tumorales de las composiciones farmacéuticas de la invención que contienen paclitaxel y seroalbúmina humana mostraron una alta captación de albúmina-paclitaxel en los tumores. Se ha descubierto que esto se debe al fenómeno no reconocido anteriormente del transporte albúmina-fármaco por parte de los receptores de la glicoproteína 60 ("gp60"), que son específicos de la albúmina.

Por lo tanto, de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, el receptor específico de la albúmina gp60 y otros receptores de transporte de proteína que están presentes en células tumorales se pueden utilizar como diana para inhibir el crecimiento tumoral. Bloqueando el receptor gp60 mediante anticuerpos contra el receptor gp60 u otros compuestos de moléculas grandes o pequeñas que unen, bloquean o desactivan el gp60 y otros receptores de transporte de proteína en células tumorales o células endoteliales tumorales, es posible bloquear el transporte de proteínas a estas células y, por ende, reducir su velocidad de crecimiento y producir muerte celular. En consecuencia, el bloqueo de este mecanismo da como resultado el tratamiento de un sujeto (p. ej., un humano) con cáncer u otra enfermedad. La identificación del bloqueo/unión del receptor de proteína específico se lleva a cabo cribando cualquier cantidad de compuestos contra el gp60 aislado u otros receptores, tales como gp16 o gp30, o utilizando una preparación de células enteras. Asimismo, también se pueden utilizar modelos animales con este fin, tales como, por ejemplo, ratones con mutaciones «de destrucción» de los genes que codifican gp60 o caveolina-1, u otras proteínas que son específicas para transporte. Por consiguiente, el procedimiento de identificación de compuestos que bloquean o unen gp60, gp16, gp30, u otros receptores de proteína está comprendido dentro del alcance de la invención.

Asimismo, los compuestos que bloquean o unen el receptor gp60 u otros receptores de proteína se pueden utilizar en

el tratamiento de distintas enfermedades, incluyendo cáncer. Con respecto al tratamiento del cáncer, el compuesto de bloqueo o unión se puede utilizar como un agente único o en combinación con otra quimioterapia o quimioterapias estándar. Por ejemplo, es útil tratar el cáncer con quimioterapia convencional, o con las composiciones farmacéuticas de albúmina-fármaco de la invención (que muestran alta acumulación en tumores), seguidas de compuestos que
5 bloquean el transporte de proteínas a la célula tumoral. Los compuestos de bloqueo se pueden administrar antes de, o de forma conjunta con, otros agentes quimioterapéuticos o contra el cáncer. Por consiguiente, cualquier compuesto que puede bloquear o unir el receptor gp60, u otros receptores de proteína, están comprendidos dentro del alcance de la invención.

Las composiciones de albúmina-fármaco de la invención, tales como, p. ej., albúmina-paclitaxel, albúmina-docetaxel,
10 albúmina-epotilona, albúmina-camptotecina, o albúmina-rapamicina, y otras, son útiles en el tratamiento de enfermedades. Se cree que dichas composiciones de fármacos son eficaces debido al mayor transporte mediado por receptores de la composición de proteína-fármaco al sitio requerido, por ejemplo, un tumor. Sin ánimo de ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que el transporte de una composición de proteína-fármaco mediante transporte mediado por receptores que produce un efecto terapéutico es el mecanismo para transportar, por ejemplo,
15 composiciones de albúmina-paclitaxel a un tumor, así como para transportar albúmina-paclitaxel y albúmina-rapamicina a través del pulmón. El transporte se lleva a cabo mediante la presencia de gp60, gp16, o gp30 en dichos tejidos. Por consiguiente, los fármacos y las composiciones de proteína-fármaco cuyo transporte a sitios de enfermedad, p. ej., inflamación (p. ej., artritis) o tumores se asocia a receptores gp60, gp16, o gp30 y que producen un efecto terapéutico se contemplan como composiciones de la presente invención.

20 Las células endoteliales pueden ser co-cultivadas con células que tienen una función específica. La incubación de células endoteliales con otros tipos celulares tales como células de los islotes, hepatocitos, células neuroendocrinas y otras hace posible el transporte requerido de componentes tales como proteínas y otros componentes beneficiosos para estas células. Las células endoteliales proporcionan transporte de estos componentes a los tipos celulares cultivados para simular condiciones *in vivo*, es decir, donde estos tipos celulares normalmente estarían en proximidad
25 cercana a células endoteliales y dependerían de las células endoteliales para llevar a cabo el transporte de nutrientes, factores de crecimiento, señales hormonales, etc. que son requeridos para su correcto funcionamiento. Hasta ahora no ha sido posible cultivar de manera apropiada estos tipos celulares diferentes y obtener un rendimiento fisiológico cuando las células endoteliales estaban ausentes. La presencia de células endoteliales en cultivo con tipos celulares deseados permite la diferenciación y el correcto funcionamiento de islotes, hepatocitos o tejido neuroendocrino *in vitro*
30 o *ex vivo*. Por consiguiente, se ha descubierto que el co-cultivo de células endoteliales con islotes da como resultado islotes con propiedades fisiológicas mejoradas, p. ej., capacidad para secretar insulina, en comparación con las cultivadas en ausencia de células endoteliales. En consecuencia, este tejido puede utilizarse *ex vivo* o ser trasplantado *in vivo* para tratar enfermedades producidas por la falta de funcionamiento celular apropiado (p. ej., diabetes en el caso de células de los islotes, insuficiencia hepática en el caso de hepatocitos, y trastornos neuroendocrinos o alivio
35 de dolor en el caso de células neuroendocrinas). Las células que se originan de otros tejidos u órganos (como se describe más arriba) también se pueden co-cultivar con células endoteliales para proporcionar el mismo beneficio. Asimismo, el co-cultivo se puede utilizar para incorporar material genético en los tipos celulares diana. Se ha descubierto que la presencia de albúmina en estos cultivos es enormemente beneficiosa.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención siempre que sean dirigidos al tema definido en las
40 reivindicaciones.

Ejemplo 1

Este ejemplo demuestra la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina. La preparación de composiciones de paclitaxel-albúmina se describe en las patentes de Estados Unidos 5.439.686 y
45 5.916.596. De manera específica, se disolvieron 30 mg de paclitaxel en 3,0 ml de cloruro de metileno. La disolución se agregó a 27 ml de disolución de seroalbúmina humana (2 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se
50 transfirió a un rotavapor, y se retiró el cloruro de metileno rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes de paclitaxel estaba en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante pudo ser reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes
55 de la liofilización.

Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto. En comparación con la toxicidad de paclitaxel disuelto en formulaciones de cremophor, la composición farmacéutica de la invención que contiene albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

60

Ejemplo 2

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende amiodarona y albúmina. Se disolvieron 30 mg de amiodarona en 3,0 ml de cloruro de metileno. La disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (1 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el cloruro de metileno rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes de amiodarona estaba en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización.

Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto. En comparación con la toxicidad de amiodarona disuelta en formulaciones de tween, la composición farmacéutica de la invención que contiene albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 3

Este ejemplo demuestra la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden composiciones de liotironina y albúmina. La liotironina (o sal apropiada) se disolvió en una disolución alcohólica acuosa o disolución alcalina a una concentración de 0,5 - 50 mg/ml. La disolución alcohólica (o alcalina) se agregó a una disolución de albúmina (0,1 - 25 % p/v) y se agitó. La agitación fue de baja cizalladura con un agitador o de alta cizalladura utilizando un sonicador o un homogeneizador. A bajas concentraciones de liotironina, se obtuvieron disoluciones transparentes (5 - 1.000 µg/ml). A medida que aumentaba la concentración, se obtenía una suspensión estable lechosa. Estas disoluciones o suspensiones se filtraron mediante un filtro de esterilización. Los disolventes orgánicos se retiraron mediante evaporación u otro procedimiento apropiado.

Ejemplo 4

Este ejemplo demuestra la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden rapamicina y albúmina. Se disolvieron 30 mg de rapamicina en 2 ml de cloroformo/etanol. A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (3 % p/v). La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y luego se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto.

Ejemplo 5

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende epotilona B y albúmina. Se disolvieron 30 mg de epotilona B en 2 ml de cloroformo/etanol. A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (3 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos. En comparación con la toxicidad de epotilona B disuelta en formulaciones de cremophor, la composición farmacéutica que comprende albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 6

Este ejemplo demuestra la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden dímero de colchicina y albúmina. Se disolvieron 30 mg de dímero de colchicina en 2 ml de cloroformo/etanol. A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (3 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La

mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos. En comparación con la toxicidad del dímero de colchicinas disuelto en tween, la composición farmacéutica que comprende albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 7

Este ejemplo demuestra la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden docetaxel y albúmina. Se disolvieron 30 mg de docetaxel en 2 ml de cloroformo/etanol. A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (3 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes y proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos. En comparación con la toxicidad del docetaxel disuelto en tween/etanol que es el disolvente estándar para este fármaco, la composición farmacéutica que comprende albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 8

Este ejemplo demuestra la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden docetaxel y albúmina. Se disolvieron 150 mg de docetaxel en 1 ml de acetato de etilo/acetato de butilo y 0,5 ml de un aceite, por ejemplo, aceite de soja o aceite de vitamina E. Se utilizaron otras proporciones de disolventes y aceites y estas composiciones también se contemplan como parte de la invención. También se agregó opcionalmente una pequeña cantidad de un componente con carga negativa, p. ej., ácido benzoico (0,001 % - 0,5 %). A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (5 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos. En comparación con la toxicidad del docetaxel disuelto en tween/etanol que es el disolvente estándar para este fármaco, la composición farmacéutica que comprende albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 9

Este ejemplo demuestra la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden un taxano IDN5390 y albúmina. Se disolvieron 150 mg de IDN5390 en 1 ml de acetato de etilo/acetato de butilo y 0,5 ml de un aceite, por ejemplo, aceite de soja o aceite de vitamina E. Se utilizaron otras proporciones de disolventes y aceites y estas composiciones también se contemplan como parte de la invención. También se agregó opcionalmente una pequeña cantidad de un componente con carga negativa, p. ej., ácido benzoico (0,001 % - 0,5 %). A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (5 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la

liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos. En comparación con la toxicidad de IDN5390 disuelta en formulaciones de cremophor, la composición farmacéutica que comprende albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 10

- 5 Este ejemplo demuestra la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden un taxano IDN5109 y albúmina. Se disolvieron 150 mg de EDN5109 en 2 ml de cloroformo/etanol. Se utilizaron otras proporciones de disolventes y aceites y estas composiciones también se contemplan como parte de la invención. También se agregó opcionalmente una pequeña cantidad de un componente con carga negativa, p. ej., ácido benzoico (0,001 % - 0,5 %).
- 10 A continuación, la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (5 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a
- 15 presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes y proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos. En comparación con la toxicidad de IDN5109
- 20 disuelto en tween, la composición farmacéutica que comprende albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 11

- 25 Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende 10-hidroxi camptotecina (10HC) y albúmina. Se disolvieron 30 mg de 10-HC en 2,0 ml de DMF/cloruro de metileno/aceite de soja. A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (3 % p/v). La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y luego se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-
- 30 40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño
- 35 de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto.

Ejemplo 12

- 40 Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende ciclosporina y albúmina. Se disolvieron 30 mg de ciclosporina en 3,0 ml de cloruro de metileno. A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (1 % p/v). La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba
- 45 la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el cloruro de metileno rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes estuvo comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula
- 50 después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización.

Ejemplo 13

- Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que contiene aceite y que comprende ciclosporina y albúmina. Se disolvieron 30 mg de ciclosporina en 3,0 ml de un aceite apropiado (aceite de sésamo que
- 55 contiene 10 % de aceite de naranja). A continuación la disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (1 % p/v). La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y luego se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. La dispersión resultante tuvo un diámetro promedio típico comprendido en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio,
- 60 Malvern Zetasizer). La dispersión se utilizó directamente o liofilizó durante 48 horas añadiendo opcionalmente un crioprotector apropiado. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes y proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto.

Ejemplo 14

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende anfotericina y albúmina. Se disolvieron 30 mg de anfotericina en 3,0 ml de pirrolidona de metilo/cloruro de metileno. La disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (1 % p/v). La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y luego se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el disolvente rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes de paclitaxel estaba en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante podría ser reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes y proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto. El agregado de otros componentes tales como lípidos, sales biliares, etc. también dio como resultado formulaciones apropiadas.

Ejemplo 15

Este ejemplo demuestra la farmacocinética y farmacodinámica preclínicas de una composición farmacéutica que comprende albúmina y paclitaxel.

Se llevaron a cabo distintos estudios farmacocinéticos preclínicos en ratones y ratas para evaluar las posibles ventajas de composiciones farmacéuticas de albúmina-paclitaxel respecto de composiciones farmacéuticas de cremophor-paclitaxel (Taxol). Estos estudios demostraron: (1) que la farmacocinética de albúmina-paclitaxel en ratas fue lineal, mientras que la farmacocinética de Taxol fue no lineal respecto de la dosis, (2) las composiciones farmacéuticas que comprenden albúmina y paclitaxel mostraron ABC y $C_{m\acute{a}x}$ plasmáticas inferiores, lo cual sugiere una distribución más rápida de composiciones de albúmina-paclitaxel a tejidos en comparación con Taxol (la excreción es similar), (3) las composiciones farmacéuticas que comprenden albúmina y paclitaxel mostraron una $C_{m\acute{a}x}$ inferior, lo que posiblemente explica las toxicidades reducidas asociadas a niveles sanguíneos máximos respecto de Taxol, (4) la vida media de composiciones farmacéuticas que comprenden albúmina y paclitaxel fue aproximadamente 2 veces superior en ratas y 4 veces superior en ratones con tumores respecto de Taxol, y (5) el metabolismo de paclitaxel en composiciones farmacéuticas que comprenden albúmina y paclitaxel fue más lento que en composiciones farmacéuticas de Taxol. A las 24 horas después de la inyección en ratas, 44 % de la radioactividad total todavía estaba asociada a paclitaxel para composiciones farmacéuticas que comprenden albúmina y paclitaxel, en comparación con únicamente 22 % para Taxol. El efecto final de la farmacodinámica antes mencionada, es decir, captación infra-celular mejorada, vida media prolongada y metabolismo más lento para composiciones farmacéuticas que comprenden albúmina y paclitaxel dieron como resultado una ABC de tumor 1,7 veces superior, una $C_{m\acute{a}x}$ de tumor 1,2 veces superior, y una vida media de tumor 1,7 veces más prolongada que para Taxol en ratones con tumor.

Ejemplo 16

Este ejemplo demuestra efectos secundarios reducidos y toxicidad reducida asociada a composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina.

Debido a la naturaleza única de las composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina en ausencia de cremophor, la toxicidad de las composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina es sustancialmente inferior que para Taxol. En estudios preclínicos en ratones y ratas, un estudio de toxicidad aguda con dosis única en ratones mostró una dosis de DL_{50} aproximadamente 59 veces superior para composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina en comparación con Taxol. En un estudio de toxicidad multidosis en ratones, la dosis de DL_{50} fue aproximadamente 10 veces superior para composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina en comparación con Taxol. Un estudio adicional evaluó el grado de mielosupresión en ratas tratadas con composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina y Taxol. Los resultados mostraron que, con la misma dosis, las composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina produjeron considerablemente menos mielosupresión en ratas que con Taxol. En un estudio de toxicidad aguda en ratas, se observó necrosis cortical cerebral o neurotoxicidad severa en animales que recibían Taxol a 9 mg/kg pero estos no se manifestaron en animales que recibían una composición farmacéutica que comprende paclitaxel y albúmina a una dosis de hasta 120 mg/kg. Por lo tanto, la presencia de albúmina en una composición farmacéutica que comprende paclitaxel da como resultado una reducción considerable en los efectos secundarios y toxicidad en comparación con composiciones farmacéuticas convencionales que comprenden paclitaxel.

Ejemplo 17

Este ejemplo demuestra los efectos clínicos de una composición farmacéutica que comprende paclitaxel y albúmina en humanos.

Los estudios clínicos en más de 500 pacientes humanos hasta la fecha ofrecen evidencia que apoya la reducción en

toxicidad y efectos secundarios para una composición farmacéutica que comprende paclitaxel y albúmina («albúmina-paclitaxel») en comparación con composiciones de cremophor-paclitaxel (Taxol). En un estudio de fase I de 19 pacientes, la dosis máxima tolerada de albúmina-paclitaxel suministrada cada 3 semanas fue 300 mg/m². Se trata de una dosis sustancialmente superior a la dosis generalmente administrada de cremophor-paclitaxel que es 175 mg/m² 5 suministrada una vez cada 3 semanas. Las toxicidades hematológicas en estos pacientes fueron leves, sin hipersensibilidades, neuropatías leves, y sin efectos secundarios relacionados con la administración tal como irritación venosa, etc.

En otro estudio de fase I de 27 pacientes, la dosis máxima tolerada de albúmina-paclitaxel suministrada semanalmente fue 125-150 mg/m². Se trata de una dosis sustancialmente superior a la dosis generalmente administrada de 10 cremophor-paclitaxel que es 80 mg/m² cuando se la suministra semanalmente. Las toxicidades hematológicas en estos pacientes fueron leves, sin hipersensibilidades, neuropatías leves, y sin efectos secundarios relacionados con la administración tal como irritación venosa, etc.

En dos estudios fase II de albúmina-paclitaxel suministrados a o bien 175 o 300 mg/m² cada 3 semanas en 43 y 63 15 pacientes respectivamente, las toxicidades hematológicas fueron bajas con únicamente 7 % y 24 % de pacientes con ANC <500/mm³ a 175 mg/m² y 300 mg/m² respectivamente. Se produjo neuropatía severa en 0 % y 14 % de pacientes para 175 mg/m² y 300 mg/m² respectivamente. No hubo incidencia de hipersensibilidad severa, así como tampoco incidencia de efectos secundarios relacionados con la administración tal como irritación venosa, dolor con la inyección, etc. Estos efectos secundarios fueron sustancialmente menos significativos que los experimentados con Taxol.

En ensayos de fase III que comparaban la composición de albúmina-paclitaxel ABI-007 con Taxol (que contiene 20 cremophor-paclitaxel), la dosis de ABI-007 fue sustancialmente superior (260 mg/m² vs 175 mg/m² para Taxol) lo cual indicaba que se toleraba mejor. Las composiciones de albúmina-paclitaxel también demostraron neutropenia significativamente reducida en comparación con cremophor-paclitaxel.

Ejemplo 18

25 Este ejemplo demuestra eficacia preclínica mejorada utilizando una composición farmacéutica que comprende albúmina y paclitaxel.

Un estudio de citotoxicidad *in vitro* que compara el efecto de albúmina-paclitaxel y Taxol en carcinoma de células escamosas cervicales A431 mostró un aumento de aproximadamente 4 veces en la actividad citotóxica para albúmina-paclitaxel con una IC₅₀ de 0,0038 y 0,012 µg/ml para albúmina-paclitaxel y Taxol respectivamente.

30 En cinco modelos tumorales de xenoinjerto humanos distintos en ratones atímicos (MX-1 mamario, NCI-H522 pulmón, SK-OV-3 ovario, PC-3 próstata, y HT-29 colon), la dosis de MTD o equitóxica de ABI-007 fue 1,5-3,4 veces superior que para Taxol, y dio como resultado una mejora significativa desde el punto de vista estadístico en el retraso de crecimiento del tumor (p<0,05) en todos los tumores a excepción del tumor de pulmón (p=0,15).

En el modelo de MX 1 mamario, un cien por ciento (100 %) de animales tratados con albúmina-paclitaxel sobrevivieron 35 103 días, en comparación con 20-40 % de supervivientes en grupos tratados con dosis equivalentes de Taxol.

Ejemplo 19

Este ejemplo demuestra eficacia clínica mejorada utilizando una composición farmacéutica que comprende albúmina y paclitaxel administrada por vía intraarterial.

40 En un estudio de fase I/II de administración intraarterial de una composición farmacéutica que comprende albúmina y paclitaxel, como se describe en la presente memoria, los pacientes se inscribieron para cáncer de cabeza y cuello (N=31) y cáncer del canal anal (N=12). La dosis fue escalonada desde 120-300 mg/m² suministrada durante 30 minutos por infusión intraarterial superselectiva percutánea, una vez cada 3-4 semanas. Los pacientes con cáncer de cabeza y cuello mostraron una velocidad de respuesta de 76 % (N=29), mientras que los pacientes con cáncer del 45 canal anal mostraron una velocidad de respuesta de 64 % (N=11).

Ejemplo 20

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que contiene aceite al 3 % y que comprende propofol y albúmina.

50 Se preparó una emulsión de aceite en agua que contiene 1 % (en peso) de propofol de la siguiente forma. La fase acuosa se preparó agregando glicerol (2,25 % en peso) y seroalbúmina humana (0,5 % en peso) en agua para inyección y se agitó hasta que se disolvió. La fase acuosa se pasó a través de un filtro (filtro de 0,2 µm). La fase oleosa se preparó disolviendo lecitina de huevo (0,4 % en peso) y propofol (1 % en peso) en aceite de soja (3 % en peso) a alrededor de 50 °C - 60 °C y se agitó hasta que se disolvió. La fase oleosa se agregó a la fase acuosa y se 55 homogeneizó a 10.000 RPM durante 5 minutos. La emulsión cruda se homogeneizó a alta presión a 20.000 psi y se hizo recircular en 15 ciclos a 5 °C. Como alternativa, se utilizaron pases discretos a través del homogeneizador. La emulsión final se filtró (filtro de 0,2 µm) y se almacenó en nitrógeno. La composición farmacéutica resultante contenía

los siguientes intervalos generales de componentes (% en peso): propofol 0,5-5 %; seroalbúmina humana 0,5-3 %; aceite de soja 0,5-3,0 %; lecitina de huevo 0,12-1,2 %; glicerol 2,25 %; agua para inyección q.s. a 100; pH 5-8. Se agregaron opcionalmente quelantes apropiados, p. ej., deferoxamina (0,001-0,1 %).

Ejemplo 21

5

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que contiene aceite al 5 % y que comprende propofol y albúmina.

Se preparó una emulsión de aceite en agua que contiene 1 % (en peso) de propofol de la siguiente forma. La fase acuosa se preparó agregando glicerol (2,25 % en peso) y seroalbúmina humana (0,5 % en peso) en agua para inyección y se agitó hasta que se disolvió. La fase acuosa se pasó a través de un filtro (filtro de 0,2 μm). La fase oleosa se preparó disolviendo lecitina de huevo (0,8 % en peso) y propofol (1 % en peso) en aceite de soja (5 % en peso) a alrededor de 50 °C - 60 °C y se agitó hasta que se disolvió. La fase oleosa se agregó a la fase acuosa y se homogeneizó a 10.000 RPM durante 5 minutos. La emulsión cruda se homogeneizó a alta presión a 20.000 psi y se hizo recircular en 15 ciclos a 5 °C. Como alternativa, se utilizaron pases discretos a través del homogeneizador. La emulsión final se filtró (filtro de 0,2 μm) y se almacenó en nitrógeno. La composición farmacéutica resultante contenía los siguientes intervalos generales de componentes (% en peso): propofol 0,5-5 %; seroalbúmina humana 0,5-3 %; aceite de soja 0,5-10,0 %; lecitina de huevo 0,12-1,2 %; glicerol 2,25 %; agua para inyección q.s. a 100; pH 5-8. Se agregaron opcionalmente quelantes apropiados, p. ej., deferoxamina (0,001-0,1 %).

Ejemplo 22

20

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende propofol y albúmina que está libre de aceite.

Las composiciones de propofol que contienen albúmina y tween 80 se prepararon utilizando el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 18. La fase acuosa se preparó agregando glicerol (2,25 % en peso) y seroalbúmina humana (0,5 % en peso), tween 80 (1,5 % en peso) y mesilato de deferoxamina (0,1 % en peso) en agua para inyección y se agitó hasta que se disolvió. La fase acuosa se pasó a través de un filtro (filtro de 0,2 μm). Se agregó propofol (1 % en peso) a la fase acuosa y se homogeneizó a 10.000 RPM durante 5 minutos. La emulsión cruda se homogeneizó a alta presión a 20.000 psi y se hizo recircular en 15 ciclos a 5 °C. Como alternativa, se utilizaron pases discretos a través del homogeneizador. La emulsión final se filtró (filtro de 0,2 μm) y se almacenó en nitrógeno. La composición farmacéutica resultante contenía los siguientes intervalos generales de componentes (% en peso): propofol 0,5-5 %; seroalbúmina humana 0,5-3 %; tween 80 0,1-1,5 %; mesilato de deferoxamina 0,0001-0,1 %; glicerol 2,25 %; agua para inyección q.s. a 100; pH 5-8.

Ejemplo 23

35

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende propofol, albúmina y vitamina E-TPGS, que está libre de aceite.

Las composiciones de propofol que contienen albúmina y vitamina E-TPGS se prepararon utilizando el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 19. La fase acuosa se preparó agregando glicerol (2,25 % en peso) y seroalbúmina humana (0,5 % en peso), vitamina E-TPGS (1 % en peso) y mesilato de deferoxamina (0,1 % en peso) en agua para inyección y se agitó hasta que se disolvió. La fase acuosa se pasó a través de un filtro (filtro de 0,2 μm). Se agregó propofol (1 % en peso) a la fase acuosa y se homogeneizó a 10.000 RPM durante 5 minutos. La emulsión cruda se homogeneizó a alta presión a 20.000 psi y se hizo recircular en 15 ciclos a 5 °C. Como alternativa, se utilizaron pases discretos a través del homogeneizador. La emulsión final se filtró (filtro de 0,2 μm) y se almacenó en nitrógeno. La composición farmacéutica resultante contenía los siguientes intervalos generales de componentes (% en peso): propofol 0,5-5 %; seroalbúmina humana 0,5-3 %; vitamina E-TPGS 0,5-4,0 %; opcionalmente mesilato de deferoxamina 0,0001-0,1 %; glicerol 2,25 %; agua para inyección q.s. a 100; pH 5-8.

Ejemplo 24

50

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende propofol, albúmina, vitamina E-TPGS y aceite al 1 %.

Se preparó una emulsión que contiene 1 % (en peso) de propofol mediante el siguiente procedimiento. La fase acuosa se preparó agregando glicerol (2,25 % en peso) y seroalbúmina humana (0,5 % en peso) en agua para inyección y se agitó hasta que se disolvieron. La fase acuosa se pasó a través de un filtro (filtro de 0,2 μm). Se agregó un tensioactivo, p. ej., vitamina E-TPGS (0,5 %) a la fase acuosa. La fase oleosa consistía en propofol (1 % en peso) y aceite de soja al 1 %. La fase oleosa se agregó a la fase acuosa y se homogeneizó a 10.000 RPM durante 5 minutos. La emulsión cruda se homogeneizó a alta presión a 20.000 psi y se hizo recircular en 15 ciclos a 5 °C. Como alternativa, se utilizaron pases discretos a través del homogeneizador. La emulsión final se filtró (filtro de 0,2 μm) y se almacenó en nitrógeno.

La composición farmacéutica resultante contenía los siguientes intervalos generales de componentes (% en peso):

propofol 0,5-5 %; seroalbúmina humana 0,01-3 %; vitamina E-TPGS 0,1-2 %; aceite de soja u otro aceite (0,1 %-5 %); glicerol 2,25 %; agua para inyección q.s. a 100; pH 5-8. Opcionalmente se agregó deferoxamina (0,001 % - 0,1 % en peso).

Ejemplo 25

5

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende propofol, albúmina, vitamina E-TPGS, aceite al 1 % y un componente con carga negativa.

Se preparó una emulsión que contiene 1 % (en peso) de propofol mediante el siguiente procedimiento. La fase acuosa se preparó agregando glicerol (2,25 % en peso) y seroalbúmina humana (0,5 % en peso) en agua para inyección y se agitó hasta que se disolvió. La fase acuosa se pasó a través de un filtro (filtro de 0,2 µm). Se agregó un tensioactivo, p. ej., vitamina E-TPGS (0,5 %) a la fase acuosa. La fase oleosa consistía en propofol (1 % en peso) y aceite de soja al 1 %. Se agregó una pequeña cantidad de componente con carga negativa (0,001 %-1 %), p. ej., fosfolípido o sal biliar. La fase oleosa se agregó a la fase acuosa y se homogeneizó a 10.000 RPM durante 5 minutos. La emulsión cruda se homogeneizó a alta presión a 20.000 psi y se hizo recircular en 15 ciclos a 5 °C. Como alternativa, se utilizaron pases discretos a través del homogeneizador. La emulsión final se filtró (filtro de 0,2 µm) y se almacenó en nitrógeno.

La composición farmacéutica resultante contenía los siguientes intervalos generales de componentes (% en peso): propofol 0,5-5 %; seroalbúmina humana 0,01-3 %; vitamina E-TPGS 0,1-2 %; aceite de soja u otro aceite (0,1 %-5 %); glicerol 2,25 %; agua para inyección q.s. a 100; pH 5-8. Opcionalmente se agregó deferoxamina (0,001 %-0,1 % en peso).

20 Ejemplo 26

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende propofol, albúmina, vitamina E-TPGS, aceite al 1 % y un componente con carga negativa (desoxicolato sódico).

Se preparó una emulsión que contiene 1 % (en peso) de propofol mediante el siguiente procedimiento. La fase acuosa se preparó agregando glicerol (2,25 % en peso) y seroalbúmina humana (0,5 % en peso) en agua para inyección y se agitó hasta que se disolvió. La fase acuosa se pasó a través de un filtro (filtro de 0,2 µm). Se agregó un tensioactivo, p. ej., vitamina E-TPGS (0,5 %) a la fase acuosa. La fase oleosa consistía en propofol (1 % en peso) y aceite de soja al 1 %. Se agregó una pequeña cantidad de componente con carga negativa (0,001 %-1 %), p. ej., desoxicolato sódico. La fase oleosa se agregó a la fase acuosa y se homogeneizó a 10.000 RPM durante 5 minutos. La emulsión cruda se homogeneizó a alta presión a 20.000 psi y se hizo recircular en 15 ciclos a 5 °C. Como alternativa, se utilizaron pases discretos a través del homogeneizador. La emulsión final se filtró (filtro de 0,2 µm) y se almacenó en nitrógeno.

La composición farmacéutica resultante contenía los siguientes intervalos generales de componentes (% en peso): propofol 0,5-5 %; seroalbúmina humana 0,01-3 %; vitamina E-TPGS 0,1-2 %; aceite de soja u otro aceite (0,1 %-5 %); glicerol 2,25 %; agua para inyección q.s. a 100; pH 5-8. Opcionalmente se agregó deferoxamina (0,001 %-0,1 % en peso).

Ejemplo 27

Este ejemplo demuestra la preparación de una composición farmacéutica que comprende propofol, albúmina, vitamina E-TPGS, aceite al 1 % y un componente con carga negativa (fosfolípidos, sales biliares, poliaminoácidos, etc.).

Se preparó una emulsión que contiene 1 % (en peso) de propofol de la siguiente forma. La fase acuosa se preparó agregando glicerol (2,25 % en peso) y seroalbúmina humana (0,5 % en peso) en agua para inyección y se agitó hasta que se disolvieron. La fase acuosa se pasó a través de un filtro (filtro de 0,2 µm). Se agregó un tensioactivo, p. ej., vitamina E-TPGS (0,5 %) a la fase acuosa. La fase oleosa consistía en propofol (1 % en peso) y aceite de soja al 1 %. Se agregó una pequeña cantidad de componente con carga negativa (0,001 %-1 %), p. ej., fosfatidilcolina. La fase oleosa se agregó a la fase acuosa y se homogeneizó a 10.000 RPM durante 5 minutos. La emulsión cruda se homogeneizó a alta presión a 20.000 psi y se hizo recircular en 15 ciclos a 5 °C. Como alternativa, se utilizaron pases discretos a través del homogeneizador. La emulsión final se filtró (filtro de 0,2 µm) y se almacenó en nitrógeno.

La composición farmacéutica resultante contenía los siguientes intervalos generales de componentes (% en peso): propofol 0,5-5 %; seroalbúmina humana 0,01-3 %; vitamina E-TPGS 0,1-2 %; aceite de soja u otro aceite (0,1 %-5 %); glicerol 2,25 %; agua para inyección q.s. a 100; pH 5-8. Opcionalmente se agregó deferoxamina (0,001 %-0,1 % en peso).

Ejemplo 28

Este ejemplo demuestra la unión de propofol a albúmina.

La unión de propofol a albúmina se determinó de la siguiente forma. La solubilidad de propofol se analizó en agua y en disoluciones que contenían albúmina. Se agregaron 250 µL de propofol a 10 mL de disolución de agua o albúmina y se agitó durante 2 horas en un vial de centelleo. A continuación, la disolución se transfirió a un tubo de centrifuga de

polietileno de 15 mL y se almacenó a 40 °C durante alrededor de 16 horas. Las muestras de disoluciones de agua y albúmina se analizaron para determinar presencia de propofol. Se determinó una solubilidad de propofol en agua de 0,12 mg/ml. La solubilidad de propofol en disoluciones de albúmina dependía de la concentración de albúmina y aumentó a 0,44 mg/ml cuando la concentración de albúmina era de 2 % (20 mg/ml). Las disoluciones se ultrafiltraron mediante un filtro de 30 kD MWCO y los filtrados se analizaron para determinar presencia de propofol. Se descubrió que para la disolución de propofol/agua, 61 % del propofol se podía recuperar en el filtrado mientras que para la disolución de propofol/albúmina, solo 14 % se recuperó en el filtrado, indicando una unión sustancial de propofol con albúmina. Según estos resultados, el agregado de albúmina a las composiciones farmacéuticas que comprenden propofol da como resultado una disminución en la cantidad de propofol libre debido a la unión a albúmina del propofol.

10 Ejemplo 29

Este ejemplo demuestra la reducción de propofol libre en una composición farmacéutica mediante filtración/contacto con membrana.

Como se observó en los experimentos descritos en el Ejemplo 28, la filtración o ultrafiltración de composiciones farmacéuticas que comprenden propofol da como resultado una reducción en la cantidad de propofol libre. El Diprivan y una composición farmacéutica preparada de acuerdo con la presente invención que contiene albúmina, cada uno de los cuales contenía propofol al 1 % (10 mg/ml), se ultrafiltraron utilizando una membrana de 30 kD. La cantidad de propofol libre se midió en el filtrado utilizando HPLC. La concentración de propofol libre en el filtrado fue de alrededor de 17 µg/ml para Diprivan, mientras que la concentración de propofol libre en el filtrado fue de alrededor de 7 µg/ml para la composición farmacéutica de la invención. Los resultados corresponden a una reducción efectiva de propofol libre en más de un factor de 2 para una composición farmacéutica que comprende propofol y albúmina.

Ejemplo 30

Este ejemplo demuestra la administración de una composición farmacéutica que comprende propofol y albúmina a humanos.

Se llevó a cabo un ensayo aleatorizado doble ciego para comparar sensaciones cutáneas adversas de una composición farmacéutica que comprende propofol y albúmina con las de una formulación de propofol disponible en el mercado, Diprivan. Los ensayos se llevaron a cabo de acuerdo con las buenas prácticas clínicas y se tomó el consentimiento informado de los sujetos. Los sujetos elegibles para participar fueron adultos humanos de cualquier sexo si tenían piel intacta, aparentemente normal, en el costado dorsal de las manos.

Las formulaciones originalmente almacenadas en un refrigerador se llevaron a temperatura ambiente y a continuación una cantidad de 10 µL de las formulaciones se aplicó lentamente en el costado trasero de ambas manos de un sujeto de forma simultánea. Se notaron la reacción general y sensación en las manos para las formulaciones. Los resultados de este estudio se indican en la Tabla 1.

35 Tabla 1

Orden de una prueba en un sujeto	% de sujetos con sensación de ABI-Propofol		% de sujetos con sensación de Diprivan	
	Calor leve o escozor o picazón	Sin sensaciones	Calor leve o escozor o picazón	Sin sensaciones
1ª incidencia	0,0	100,0	75	25

Ejemplo 31

Este ejemplo demuestra el uso de deferoxamina como antioxidante en una composición farmacéutica que comprende propofol.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden propofol y mesilato de deferoxamina, y que contienen tween o TPGS se almacenaron a 4 °C, 25 °C o 40 °C para analizar el efecto del mesilato de deferoxamina para prevenir la oxidación del propofol. La concentración de propofol se midió para estas formulaciones en el tiempo para determinar la actividad antioxidante de la deferoxamina. Los datos se indican más abajo en las Tablas 2 y 3 como % de potencia respecto de tiempo cero.

Tabla 2 Formulación albúmina/tween

	1 mes de almacenamiento		
Temp	4 °C	25 °C	40 °C
CONTROL	100 %	88 %	48 %
0,01 % Def	101 %	89 %	61 %
0,1 % Def	103 %	89 %	64 %

Tabla 3. Formulación albúmina/TPGS

	1 mes de almacenamiento		
Temp	4 °C	25 °C	40 °C
CONTROL	99 %	73 %	42 %
0,01 % DEF	99 %	87 %	55 %
0,1 % DEF	99 %	85 %	58 %

- 5 En estas condiciones, la deferoxamina fue eficiente para reducir el nivel de oxidación de propofol. El efecto fue más pronunciado a temperaturas más altas. No se produjo oxidación significativa a 4 °C. Este estudio se llevó a cabo utilizando tapones que no eran inertes o no estaban revestidos con Teflon.

Ejemplo 32

- 10 Este ejemplo demuestra la administración intrapulmonar de una composición farmacéutica que comprende paclitaxel y albúmina (ABI-007).

El fin de este estudio fue determinar el transcurso del tiempo de [³H]ABI-007 en sangre y seleccionar tejidos después de la instilación intratraqueal a ratas Sprague-Dawley.

- 15 El volumen diana de la formulación de dosis intratraqueal que iba a administrarse a los animales se calculó según un volumen de dosis de 1,5 mL por kg de peso corporal. El aparato dosificador consistía en un micropulverizador Penn-Century (Modelo 1A-1B; Penn-Century, Inc., Filadelfia, PA; adquirido en DeLong Distributors, Long Branch, NJ) sujeto a una jeringa de 1 mL luer-lock estanca al gas. El volumen apropiado de preparación de dosis se introdujo en el aparato dosificador, se pesó el aparato cargado y se registró su peso. Se colocó un catéter en la tráquea del animal anestesiado, la porción del micropulverizador del aparato dosificador se colocó dentro de la tráquea a través del catéter
- 20 y se administró la dosis. Después de administrar la dosis el aparato dosificador vacío se volvió a pesar y la dosis administrada se calculó como la diferencia en los pesos del aparato dosificador antes y después de la dosificación. La dosis media para todos los animales fue $4,7738 \pm 0,0060$ (CV 1,5059) mg paclitaxel por kg de peso corporal.

- Se recogieron muestras de sangre de aproximadamente 250 µL de las cánulas yugulares permanentes de ratas JVC en los siguientes puntos de tiempo post-dosificación predeterminados. 1, 5, 10, 15, 30, y 45 minutos (min), y 1, 4, 8, y
- 25 24 horas (h). Las muestras de sangre de 24 horas, así como las muestras de sangre recogidas de animales sacrificados a los 10 min, 45 min y 2 h se recogieron mediante punción cardíaca de ratas anestesiadas en el momento del sacrificio. Todas las muestras de sangre analizadas en cuanto a radioactividad total se dispensaron en tubos de muestras pre-pesados, y los tubos de muestras se volvieron a pesar, y el peso de cada muestra se calculó mediante resta. Las muestras de sangre recogidas de la vena yugular así como las alícuotas de 250-µL de sangre recogidas de
- 30 cada animal en el momento del sacrificio se analizaron para determinar el contenido total de tritio.

- Para todas las ratas, la concentración máxima de tritio en sangre se observó a los 5 min (0,0833 h) después de la dosificación. La vida media de eliminación de tritio, determinada en el intervalo de tiempo desde 4 h a 24 h, osciló entre 19,73 h y 43,02 h. Cabe señalar que este intervalo incluye solo tres puntos de datos, que pueden explicar la variabilidad en este parámetro. El aclaramiento aparente de tritio de la sangre estuvo en el orden de 0,04 L/h. Los
- 35 resultados de estos experimentos se indican en la Tabla 4 que se muestra a continuación.

Tabla 4. Análisis no compartimental de concentración de tritio en sangre (mg-eq/L) vs perfiles temporales en ratas después de instilación intratraqueal de [³H]ABI-007

Parámetro	DE +/- media
C _{máx} (mg-eq/L)	1,615 +/- 0,279
T _{máx} (h)	0,0833 +/- 0,0
t _{1/2} beta (h)	33,02 +/- 1,99
ABC hasta el último punto de tiempo medido (mg-eq x h/L)	7,051 +/- 1,535
Cl/F (L/h)	0,0442 +/- 0,0070
Fa (Biodisponibilidad)	1,229 +/- 0,268

La concentración en sangre media de radioactividad derivada de [³H]ABI-007 después de una dosis intravenosa a 5 ratas se analizó como una función de tiempo para evaluar la biodisponibilidad de tritio derivada de una dosis intratraqueal de [³H]ABI-007. Este análisis dio como resultado una ABC de 24 horas (ABC hasta el último punto de tiempo medido) de 6,1354 mg-eq □ h/L. De acuerdo con estos datos, la radioactividad derivada de la dosis intratraqueal de [³H]ABI-007 es altamente biodisponible. Estos análisis están basados en radioactividad total.

El tritio derivado de [³H]ABI-007 se absorbe rápidamente después de instilación intratraqueal. La absorción y vidas 10 media de eliminación promedio (vida media de k₀₁ y vida media de k₁₀, respectivamente) para tritio en sangre después de una dosis intratraqueal de [³H]ABI-007 (DE +/- media) fueron de 0,0155 +/- 0,0058 h y 4,738 +/- 0,366 h, respectivamente. El aclaramiento aparente promedio de tritio de la sangre fue de 0,1235 +/- 0,0180 L/h (véase Tabla 4 más arriba).

El tritio derivado de [³H]ABI-007 se absorbió y distribuyó después de administración intratraqueal. El transcurso del 15 tiempo de tritio en sangre se describió bien mediante un modelo de dos compartimentos, con vidas medias de absorción y eliminación medias de 0,0155 y 4,738 h, respectivamente. Aproximadamente 28 % de la dosis administrada se recuperó en el pulmón a los 10 minutos después de la dosis intratraqueal. Un máximo de menos de 1 % de la dosis se recuperó en otros tejidos, excluyendo el tracto gastrointestinal, en todos los puntos de tiempo evaluados.

De acuerdo con los resultados de un estudio de dosis intravenosas llevado a cabo previamente con [³H]Capxol™, la 20 biodisponibilidad de tritio derivada de la dosis intratraqueal fue 1,229 ± 0,268 (DE ± media) para los tres animales de este grupo de dosis. Sin embargo, cabe señalar que esta estimación de biodisponibilidad está basada en la radioactividad total. De manera sorprendente, el paclitaxel administrado por vía pulmonar utilizando las composiciones de la invención con albúmina fue rápidamente biodisponible, lo cual indicó un excelente transporte por el endotelio 25 pulmonar. No se observó toxicidad en los animales, lo cual fue sorprendente puesto que la administración pulmonar de citotóxicos es conocida por producir toxicidades pulmonares.

Se observó una cantidad considerable de radioactividad en el tracto gastrointestinal (incluyendo contenidos) al cabo 30 de las 24 horas de la dosificación (27 % para la dosis intratraqueal). La presencia de tritio en el tracto gastrointestinal se puede deber a la excreción biliar o aclaramiento de tritio del tracto respiratorio mediante aclaramiento mucociliar con posterior ingesta.

Ejemplo 33

Este ejemplo demuestra una investigación de nebulizadores Aerotech II y Pari para administración pulmonar de composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina.

El estudio se llevó a cabo utilizando la composición farmacéutica de paclitaxel-albúmina ABI-007 en las siguientes 35 condiciones: temperatura ambiente (20-23 °C), humedad relativa (48-54 %), presión ambiente (629 mmHg), velocidad de flujo de nebulizador (10 L/min para *Aerotech II*; 7 L/min para *Pari*), velocidad de flujo total (28,3 L/min), caída de presión de nebulizador (23 lb/in² para *Aerotech II*; 32 lb/in² para *Pari*), tiempo de funcionamiento (15 a 60 segundos), volumen de muestra (1,5 mL), concentración de paclitaxel ABI-007 (5, 10, 15 y 20 mg/mL).

Tanto el nebulizador Aerotech II como el nebulizador Pari proporcionaron una eficacia general aceptable (30 % - 60 40 %) cuando se reconstituyó el ABI-007 a un intervalo de concentración de 5-15 mg/mL. La eficacia del nebulizador Pari mostró una eficacia de nebulizador superior al nebulizador Aerotech II. La eficacia del nebulizador Pari disminuyó en

cierta medida a medida que la concentración de ABI-007 aumentaba. Se observó una excelente fracción de partículas finas (74 % - 96 %). El nebulizador Aerotech II mostró una fracción de partículas finas superior que el nebulizador Pari. La fracción de partículas finas fue independiente de la concentración.

El nebulizador Pari administró 100 mg de paclitaxel en menos de 30 minutos utilizando una disolución de 15 mg/mL de ABI-007. El nebulizador Aerotech II administró 100 mg de paclitaxel en alrededor de 65 min utilizando o bien una disolución de 10 mg/mL o 15 mg/mL de ABI-007. La estabilidad de funcionamiento se analizó en ambos nebulizadores, Aerotech II y Pari. La concentración de aerosol y la eficacia de ambos nebulizadores fueron estables hasta que se acabó el fármaco. A los 15 mg/mL, el nebulizador Pari consumió el fármaco a dos veces la velocidad del nebulizador Aerotech II y produjo concentraciones de aerosol superiores que el nebulizador Aerotech II.

10 En conclusión, la formulación de nanopartículas/albúmina de paclitaxel (ABI-007) muestra excelente biodisponibilidad en ratas cuando se administra por vía pulmonar. No se observaron señales manifiestas de toxicidad temprana con la dosis administrada. La administración pulmonar de paclitaxel en nanopartículas (ABI-007) se puede conseguir utilizando nebulizadores convencionales.

Ejemplo 34

15 Este ejemplo describe la administración intrapulmonar de una composición farmacéutica que comprende albúmina y rapamicina. El fin de este estudio fue determinar la absorción pulmonar de rapamicina en sangre después de instilación intratraqueal a ratas Sprague-Dawley en comparación con instilación intravenosa.

El volumen diana de la formulación de dosis intratraqueal que se administró a los animales se calculó según un volumen de dosis de 1 mL por kg de peso corporal. El aparato dosificador consistía en un micropulverizador Penn-Century (Modelo 1A-1B; Penn-Century, Inc., Filadelfia, PA; adquirido en DeLong Distributors, Long Branch, NJ) sujeto a una jeringa de 1 mL luer-lock estanca al gas. El volumen apropiado de preparación de dosis se introdujo en el aparato dosificador, se pesó el aparato cargado y se registró su peso. Se colocó un catéter en la tráquea del animal anestesiado, la porción del micropulverizador del aparato dosificador se colocó dentro de la tráquea a través del catéter y se administró la dosis. Después de administrar la dosis el aparato dosificador vacío se volvió a pesar y la dosis administrada se calculó como la diferencia en los pesos del aparato dosificador antes y después de la dosificación.

Se recogieron muestras de 250 µL de las cánulas yugulares permanentes de ratas en los siguientes puntos de tiempo post-dosificación predeterminados. 1, 5, 10, 15, 30, y 45 minutos (min), y 1, 4, 8, y 24 horas (h). Todas las muestras de sangre analizadas se dispensaron en tubos de muestras pre-pesados, y los tubos de muestras se volvieron a pesar, y el peso de cada muestra se calculó mediante resta. Las muestras de sangre recogidas se analizaron para determinar la concentración total de rapamicina utilizando LC/MS/MS.

De manera sorprendente, los resultados no mostraron diferencia significativa en la concentración en sangre de rapamicina administrada por vía pulmonar versus intravenosa. Se calculó que la biodisponibilidad de rapamicina administrada por vía pulmonar utilizando una composición farmacéutica que comprende albúmina fue 109 %, lo cual indicó un excelente transporte por el endotelio pulmonar.

Ejemplo 35

Este ejemplo demuestra distribución en tejido de albúmina-rapamicina después de administración intrapulmonar de una composición farmacéutica que comprende rapamicina y albúmina preparada de acuerdo con la presente invención. El fin de este estudio fue determinar la absorción pulmonar de rapamicina en tejido después de instilación intratraqueal a ratas Sprague-Dawley en comparación con instilación intravenosa.

El volumen diana de la formulación de dosis intratraqueal que se administró a los animales se calculó según un volumen de dosis de 1 mL por kg de peso corporal. El aparato dosificador consistía en un micropulverizador Penn-Century (Modelo 1A-1B; Penn-Century, Inc., Filadelfia, PA; adquirido en DeLong Distributors, Long Branch, NJ) sujeto a una jeringa de 1 mL luer-lock estanca al gas. El volumen apropiado de preparación de dosis se introdujo en el aparato dosificador, se pesó el aparato cargado y se registró su peso. Se colocó un catéter en la tráquea del animal anestesiado, la porción del micropulverizador del aparato dosificador se colocó dentro de la tráquea a través del catéter y se administró la dosis. Después de administrar la dosis el aparato dosificador vacío se volvió a pesar y la dosis administrada se calculó como la diferencia en los pesos del aparato dosificador antes y después de la dosificación.

Las muestras se recogieron del cerebro, pulmón e hígado de tres ratas por grupo por punto de tiempo a los 10 minutos, 45 minutos, 2 horas y 24 horas. Las muestras se recogieron y analizaron para determinar la concentración total de rapamicina utilizando LC/MS/MS. Los resultados indican que la concentración de rapamicina es mayor en tejido pulmonar cuando se administra por vía pulmonar en comparación con administración intravenosa. Sin embargo, la concentración total de rapamicina en el cerebro es inferior cuando se administra por vía intratraqueal (IT) en comparación con la vía intravenosa (IV). En el hígado, parece no haber diferencia en la concentración de rapamicina si se administra por vía IT o IV. En base a estos resultados, la administración pulmonar de rapamicina puede ser apropiada para el tratamiento de una afección (es decir, trasplante de pulmón), donde la concentración local elevada de rapamicina sería beneficiosa.

Ejemplo 36

Este ejemplo demuestra la administración oral de una composición farmacéutica que comprende paclitaxel y albúmina (ABI-007).

- 5 La ABI-007 tritlada se utilizó para determinar la biodisponibilidad oral de paclitaxel después de gavaje oral en ratas. Después de ayuno durante una noche, se les administró a 5 ratas 5,5 mg/kg de paclitaxel en ABI-007 (Grupo A) y otras 5 ratas (Grupo B) fueron pretratadas con ciclosporina (5,0 mg/kg) seguida de 5,6 mg/kg de paclitaxel en ABI-007. Un análisis farmacocinético de muestras de sangre obtenidas a las 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, y 24 horas se llevó a cabo después de determinar radioactividad en las muestras de sangre mediante combustión. La biodisponibilidad oral se determinó por comparación con datos de la vía intravenosa obtenidos previamente. Los resultados se indican en la Tabla 5 que se muestra a continuación.

Tabla 5. ABC media 0-24, $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$ y % absorción de radioactividad derivada de ^3H -Paclitaxel después de administración oral

Grupo	Dosis/vía de tratamiento mg/kg	ABC0-24 ($\mu\text{g} \times \text{eq h/mL}$)	Absorción (%)	$C_{m\acute{a}x}$ (mg/kg) ($\mu\text{g} \times \text{eq/mL}$)	$T_{m\acute{a}x}$ (h)
A	ABI-007 en 5,5/PO(P) solución salina normal	2,92	44,3	0,245	1
B	ABI-007 en 5/PO(C), 5,6/PO(P) solución salina normal con CsA	8,02	121,1	0,565	0,5

- 15 Se utilizaron ABC 0-24 IV (6,06 $\mu\text{g} \times \text{h/mL}$) y dosis IV (5,1 mg/kg) para calcular el porcentaje de absorción (datos basados en dosis IV de ABI-007).

Se observó una biodisponibilidad oral de 44 % para ABI-007 sola. Esto es drásticamente superior que lo que se observa para otras formulaciones de paclitaxel. La biodisponibilidad aumentó a 121 % cuando los animales fueron tratados con ciclosporina (CsA). Esto es esperable puesto que la CsA es un supresor conocido de la bomba p-glicoproteína que podría normalmente evitar la absorción de compuestos tales como paclitaxel del tracto gastrointestinal. La biodisponibilidad mayor de 100 % se puede explicar mediante reabsorción después de excreción biliar de paclitaxel en el tracto gastrointestinal. Otros supresores conocidos o potenciadores de absorción también se pueden utilizar para este fin.

Ejemplo 37

- 25 Este ejemplo demuestra la penetración mejorada de paclitaxel en eritrocitos y células tumorales con la administración de una composición farmacéutica que comprende paclitaxel y albúmina.

Se implantaron fragmentos de tumor de mama MX-1 humano por vía subcutánea en ratones atímicos. Una composición farmacéutica que comprende paclitaxel y albúmina («paclitaxel-albúmina»), como se describió anteriormente, y Taxol fueron preparados con ^3H paclitaxel para una actividad específica de 25 $\mu\text{Ci/mg}$ de paclitaxel. Se administraron 20 mg/kg de paclitaxel-albúmina o Taxol marcados radioactivamente por vía intravenosa en solución salina cuando el volumen del tumor alcanzó aproximadamente 500 mm^3 . Se obtuvieron muestras de plasma, sangre y tejido tumoral y se analizaron para determinar radioactividad a los 5, 15 y 30 minutos y a las 1, 3, 8 y 24 horas después de la administración. Se analizó la farmacocinética del tumor (ABC y constante de absorción) utilizando WinNonlin, Pharsight, EE.UU.

La composición farmacéutica paclitaxel-albúmina mostró una rápida partición en eritrocitos (RBC por su sigla en inglés) como se muestra con una rápida caída de la proporción de radioactividad plasma/sangre respecto de la unidad después de la administración intravenosa del fármaco. La partición completa en RBC se produjo tan pronto como 1 h después de la administración de paclitaxel-albúmina. Por otra parte, la partición de paclitaxel formulado como Taxol en RBC fue mucho más lenta y no se completó hasta transcurridas más de 8 horas.

La composición farmacéutica paclitaxel-albúmina mostró una rápida partición en tejido tumoral con una constante de absorción (K_a) que fue 3,3 veces superior que el Taxol. Las K_a fueron 0,43 h^{-1} y 0,13 h^{-1} para paclitaxel-albúmina y Taxol, respectivamente. La rápida captación de paclitaxel produjo una ABC de tumor 33 % más grande para paclitaxel-albúmina que para Taxol. Las ABC fueron 3632 $\text{nCi}^*\text{h/g}$ y 2739 $\text{nCi}^*\text{h/g}$ para paclitaxel-albúmina y Taxol, respectivamente.

Ejemplo 38

Este ejemplo demuestra la seguridad de una composición farmacéutica que comprende paclitaxel y albúmina

administrada a ratones.

Los ratones atímicos fueron tratados con dosis escalonadas de paclitaxel-albúmina o Taxol todos los días durante 5 días consecutivos. La supervivencia se representó en contraposición a la dosis para determinar la LD₅₀. La supervivencia se mejoró de manera considerable con paclitaxel-albúmina en contraposición con Taxol (p=0,017, ANOVA). Las LD₅₀ para paclitaxel-albúmina y Taxol se calcularon en 47 mg/kg/día y 30 mg/kg/día con un programa de una vez por día durante 5 días, respectivamente. Con un nivel de dosis de 13,4 mg/kg/día, tanto paclitaxel-albúmina como Taxol fueron bien tolerados con mortalidad de 1 % (1 muerte en 72 ratones) y 4 % (2 muertes en 47 ratones), respectivamente. Con un nivel de dosis de 20 mg/kg/día, hubo 1 % de mortalidad para paclitaxel-albúmina (1 muerte en 72 ratones) versus 17 % de mortalidad para Taxol (8 muertes en 47 ratones) (p=0,0025). Con un nivel de dosis de 30 mg/kg/día, hubo 4 % de mortalidad para paclitaxel-albúmina (3 muertes en 72 ratones) versus 49 % de mortalidad para Taxol (23 muertes en 47 ratones) (p=0,0001).

Ejemplo 39

Este ejemplo demuestra un mecanismo de transporte de paclitaxel novedoso por las células endoteliales (EC por su sigla en inglés) microvasculares para composiciones de paclitaxel-albúmina.

Las nanopartículas y las composiciones de paclitaxel-albúmina se pueden acumular en tejido tumoral debido al efecto de RPE que resulta de los vasos «con fugas» en un tumor. Un receptor gp60 específico de albúmina (albodina) transportó albúmina por los EC mediante transcitosis de los receptores dentro de caveolas en la superficie celular. Este mecanismo de transcitosis permite el transporte de albúmina-paclitaxel al espacio intersticial subyacente. Por el contrario, el cremophor en Taxol inhibió la unión de paclitaxel a albúmina, reduciendo en gran medida el transporte de paclitaxel al tumor. Asimismo, los receptores gp16 y gp30 también estuvieron implicados en transporte intracelular de albúminas modificadas que contienen paclitaxel unido, produciendo una unión aumentada de paclitaxel a células endoteliales con un efecto antiangiogénico mayor en comparación con Taxol.

Ejemplo 40

Este ejemplo demuestra un aumento en la transcitosis endotelial de composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina en comparación con Taxol.

Se cultivaron células endoteliales microvasculares de pulmón humano (HLMVEC por su sigla en inglés) para confluir en un trans-pocillo. La composición farmacéutica de la invención que comprende paclitaxel y albúmina, o Taxol con paclitaxel fluorescente (Flutax) a una concentración de 20 µg/mL, se agregó a la cámara superior de trans-pocillos.

El transporte de paclitaxel mediante transcitosis desde la cámara superior hasta la cámara inferior fue monitorizada de forma continua con un fluorímetro. También se utilizó un control con solo Flutax sin albúmina. No se observó transporte en el control con Flutax, de este modo validando la integridad de la monocapa de HLMVEC confluyente. El transporte de paclitaxel desde la composición de albúmina-paclitaxel fue mucho más rápido que el paclitaxel desde el Taxol en presencia de HSA al 5 % (concentración fisiológica). Las constantes de velocidad de transporte (K_t) para la composición de albúmina-paclitaxel y Taxol fueron 1,396 h⁻¹ y 0,03 h⁻¹, respectivamente. La cantidad total de paclitaxel transportado por la monocapa fue tres veces mayor para la composición de albúmina-paclitaxel que para Taxol.

Ejemplo 41

Este ejemplo demuestra unión de células endoteliales (EC) mejorada mediante las composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina en comparación con Taxol.

Se cultivaron células endoteliales de la vena del cordón umbilical humano (HUVEC, por su sigla en inglés) en una placa de microtitulación de 96 pocillos. En un experimento, el paclitaxel (paclitaxel marcado con Oregon Green - Flutax) se hizo reaccionar con las HUVEC en presencia de concentraciones en aumento de Cremophor EL/EtOH, que constituye el vehículo para Taxol. En otro experimento, una composición farmacéutica que comprende albúmina y Flutax y una composición de Taxol-Flutax se hicieron reaccionar con las HUVEC en distintas concentraciones finales. La unión de paclitaxel a células fue inhibida por Cremophor. La inhibición se mostró mediante una IC₅₀ de 0,02 % de Cremophor EL/EtOH. Se ha demostrado que esta concentración de Cremophor persiste durante quimioterapia con Taxol durante al menos 24 horas. Por lo tanto, es un proceso importante *in vivo*. Con todas las concentraciones analizadas, una cantidad significativa de paclitaxel de la composición de albúmina-paclitaxel se unió a las células. En comparación, para Taxol se observó poca unión o directamente no se observó unión.

Ejemplo 42

Este ejemplo demuestra unión a albúmina mejorada mediante composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina en comparación con Taxol.

La seroalbúmina humana (HSA) se inmovilizó en una placa plástica ELISA. El paclitaxel (paclitaxel marcado con Oregon Green - Flutax) se hizo reaccionar con la HSA inmovilizada en presencia de concentraciones en aumento de Cremophor EL/EtOH. En otro experimento, una composición de albúmina-paclitaxel-Flutax y una composición de

Taxol-Flutax se hicieron reaccionar con HSA inmovilizada con una concentración final de 20 µg paclitaxel/mL. La unión de paclitaxel a albúmina fue inhibida mediante Cremophor. La inhibición se mostró mediante una IC₅₀ de 0,003 % de Cremophor EL/EtOH. Se ha demostrado que esta concentración de Cremophor persiste durante quimioterapia con Taxol durante al menos 24 horas. Por lo tanto, se trata de un proceso importante *in vivo*. Con una concentración de paclitaxel farmacológica importante (20 µg/mL), una cantidad significativa de paclitaxel de la composición de albúmina-paclitaxel se unió a la HSA inmovilizada. En comparación, para Taxol no se observó unión.

Ejemplo 43

Este ejemplo demuestra transferencia incrementada de paclitaxel a albúmina para composiciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel y albúmina en comparación con Taxol.

Las composiciones de Taxol-Flutax y albúmina-paclitaxel-Flutax se mezclaron o bien con 5 % de HSA en tampón Hanks o con suero, a 20 µg/mL, 40 µg/ml, y 80 µg/ml. Las mezclas se separaron inmediatamente en un gel de poliacrilamida nativo al 3-14 % y la cantidad de paclitaxel unido a albúmina se determinó mediante un fluorímetro de barrido. La transferencia de paclitaxel a HSA fue más rápida para la composición de albúmina-paclitaxel versus Taxol. Más paclitaxel se co-sometió a electroforesis con HSA cuando o bien el suero o HSA al 5 % se incubaron con la composición de albúmina-paclitaxel-Flutax o la composición de Taxol-Flutax. Con la exposición a HSA al 5 %, 45 %, 60 %, y 33 % más de paclitaxel se transfirió a HSA para la composición de albúmina-paclitaxel-Flutax que para la composición de Taxol-Flutax, a 20 µg/ml, 40 µg/ml, y 80 µg/ml, respectivamente. Con la exposición a suero humano, 121 %, 31 %, y 83 % más paclitaxel se transfirió a HSA para la composición de albúmina-paclitaxel-Flutax que para la composición de Taxol-Flutax, a 20 µg/ml, 40 µg/ml, y 80 µg/ml, respectivamente. La C_{máx} para ABI-007 a 260 mg/m² es aproximadamente 20 µg/mL; por lo tanto, se trata de un importante proceso *in vivo*.

Ejemplo 44

Este ejemplo demuestra que el receptor de glicoproteína gp60 es responsable de la unión y transcitosis de albúmina-paclitaxel.

Las composiciones de albúmina de paclitaxel marcado fluorescente (Flutax) se pusieron en contacto con células endoteliales microvasculares en cultivo. La tinción fluorescente se observó bajo microscopio con evidencia de zonas punteadas que fueron postuladas para ser el receptor gp60 que se une a albúmina-paclitaxel. Esto fue confirmado mediante el uso de albúmina marcada con rodamina que fue colocalizada con la fluorescencia puntuada de paclitaxel.

Ejemplo 45

Este ejemplo demuestra que cantidades en aumento de albúmina pueden competir con la unión de paclitaxel.

La albúmina se inmovilizó en una placa de microtitulación. El paclitaxel fluorescente se añadió a los pocillos y la unión de paclitaxel se midió utilizando un fluorímetro de barrido. Se añadieron cantidades en aumento de albúmina a los pocillos y se midió el nivel de inhibición de paclitaxel de unión a albúmina inmovilizada. Los datos mostraron que a medida que la cantidad de albúmina agregada aumentaba, se observaba una correspondiente disminución en la unión. Se observó un efecto similar con la unión a células endoteliales. Esto indicó que una mayor concentración de albúmina inhibió la unión de paclitaxel. Por lo tanto se prefieren las composiciones de la invención con cantidades inferiores de albúmina.

Ejemplo 46

Este ejemplo demuestra que las cantidades inferiores de albúmina en la composición farmacéutica de la invención dan como resultado composiciones estables.

Para investigar si las cantidades inferiores de albúmina en composiciones afectarían la estabilidad de la composición farmacéutica de la invención, se prepararon composiciones de albúmina-paclitaxel con cantidades reducidas de albúmina. Se descubrió que estas composiciones eran tan estables como las composiciones con cantidades superiores de albúmina cuando fueron analizadas durante varios meses a distintas temperaturas (2-8 °C, 25 °C y 40 °C) para determinar la potencia de paclitaxel, la formación de impurezas, el tamaño de partículas, el pH y otros parámetros de estabilidad típicos. Por lo tanto, se prefieren las composiciones con cantidades inferiores de albúmina puesto que estas pueden reducir en gran medida los costes así como permitir mayor unión y transporte a células.

Ejemplo 47

Este ejemplo demuestra una composición farmacéutica que comprende albúmina y paclitaxel con una proporción elevada de albúmina a paclitaxel.

Se disolvieron 30 mg de paclitaxel en 3,0 ml de cloruro de metileno. La disolución se agregó a 27,0 ml de disolución de seroalbúmina humana (3 % p/v) (correspondiente a una proporción de albúmina a paclitaxel de 27). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de

alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el cloruro de metileno rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes de paclitaxel estaba en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización.

Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto. En comparación con la toxicidad de paclitaxel disuelto en formulaciones de cremophor, la composición farmacéutica de la invención que contiene albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 48

Este ejemplo demuestra una composición farmacéutica que comprende albúmina y paclitaxel con una proporción baja de albúmina a paclitaxel.

De manera específica, se disolvieron 300 mg de paclitaxel en 3,0 ml de cloruro de metileno. La disolución se agregó a 27 ml de disolución de seroalbúmina humana (5 % p/v) (correspondiente a una proporción de albúmina a paclitaxel de 4,5). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y posteriormente se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el cloruro de metileno rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes de paclitaxel estaba en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización.

Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto. En comparación con la toxicidad de paclitaxel disuelto en formulaciones de cremophor, la composición farmacéutica de la invención que contiene albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 49

Este ejemplo demuestra una composición farmacéutica que comprende albúmina y paclitaxel con una proporción intermedia de albúmina a paclitaxel.

De manera específica, se disolvieron 135 mg de paclitaxel en 3,0 ml de cloruro de metileno. La disolución se agregó a 27 ml de disolución de seroalbúmina humana (5 % p/v). Se agregó deferoxamina según fue necesario. La mezcla se homogeneizó durante 5 minutos a RPM bajas (homogeneizador Vitris, modelo Tempest I.Q.) para formar una emulsión cruda, y luego se transfirió a un homogeneizador de alta presión (Avestin). La emulsificación se llevó a cabo a 9.000-40.000 psi mientras se reciclaba la emulsión en al menos 5 ciclos. El sistema resultante se transfirió a un rotavapor, y se retiró el cloruro de metileno rápidamente a 40 °C, a presión reducida (30 mm Hg) durante 20-30 minutos. La dispersión resultante fue traslúcida, y el diámetro promedio típico de las partículas resultantes de paclitaxel estaba en el intervalo de 50-220 nm (diámetro promedio, Malvern Zetasizer). La dispersión se liofilizó adicionalmente durante 48 horas. La torta resultante fue reconstituida fácilmente a la dispersión original añadiendo agua estéril o solución salina. El tamaño de partícula después de la reconstitución fue el mismo que antes de la liofilización. La proporción calculada (p/p) de albúmina a paclitaxel en esta composición de la invención es aproximadamente 10.

Debería reconocerse que las cantidades, tipos y proporciones de fármaco, disolventes, proteínas utilizados en este ejemplo no son restrictivos en absoluto. En comparación con la toxicidad de paclitaxel disuelto en formulaciones de cremophor, la composición farmacéutica de la invención que contiene albúmina mostró una toxicidad sustancialmente inferior.

Ejemplo 50

Este ejemplo demuestra el tratamiento de artritis reumatoide en un modelo animal con una composición de albúmina-paclitaxel.

El modelo de artritis inducido con colágeno en la rata Louvain se utilizó para analizar el efecto terapéutico de la composición de albúmina-paclitaxel en la artritis. Se monitorizaron los tamaños de pata de los animales experimentales para evaluar la gravedad de la artritis.

Después de que se desarrolló la artritis por completo (normalmente ~9-10 días después de la inyección de colágeno), los animales experimentales se dividieron en distintos grupos para recibir o bien albúmina-paclitaxel 1mg/kg día por

medio, o albúmina-paclitaxel 0,5 mg/kg + prednisona 0,2 mg/kg día por medio (tratamiento combinado) por vía intraperitoneal en 6 dosis, a continuación una dosis por semana durante tres semanas. Se midieron los tamaños de pata al comienzo del tratamiento (día 0) y cada vez que se inyectaba el fármaco. Un grupo recibió solo solución salina como control. Al final del experimento, el grupo que recibió albúmina-paclitaxel consiguió una reducción del 42 % en el tamaño de pata, el grupo de tratamiento combinado mostró una reducción del 33 % en el tamaño de pata, mientras que el grupo de control mostró un incremento de aproximadamente 20 % en el tamaño de pata respecto del momento en el cual se inició el tratamiento.

En conclusión, las composiciones de albúmina-paclitaxel demostraron un efecto terapéutico en la artritis. Las combinaciones de albúmina-paclitaxel probablemente se localizan en sitios de lesiones artríticas mediante transporte a través de mecanismos mediados por receptores como gp60.

Ejemplo 51

Este ejemplo demuestra el uso de composiciones de albúmina-paclitaxel para tratar reestenosis cardiovascular.

Los stents liberadores de paclitaxel en animales producen una cicatrización incompleta y, en algunos casos, una falta de supresión continua de crecimiento neointimal en las arterias. El presente estudio analizó la eficacia de una composición de la invención de albúmina-paclitaxel de administración sistémica novedosa para reducir la reestenosis intra-stent.

Se analizó albúmina-paclitaxel reconstituida en solución salina en 38 conejos blancos de Nueva Zelanda que recibieron stents de arteria ilíaca bilaterales. Se administraron dosis de albúmina-paclitaxel (dosis de paclitaxel de 1,0 a 5,0 mg/kg) como una infusión intraarterial de 10 minutos; los animales de control recibieron un vehículo (solución salina normal 0,9 %).

En un experimento crónico de seguimiento, se proporcionó albúmina-paclitaxel 5,0 mg/kg en el momento de la colocación de los stent con o sin una dosis intravenosa de albúmina-paclitaxel de repetición de 3,5-mg/kg a los 28 días; estos estudios concluyeron al cabo de 3 meses. A los 28 días, se redujo el grosor neointimal medio ($p < 0,02$) con dosis de albúmina-paclitaxel $\geq 2,5$ mg/kg con evidencia de cicatrización retardada. Sin embargo, la eficacia de una dosis única de albúmina-paclitaxel de 5,0 mg/kg se perdió a los 90 días. Por otra parte, una segunda dosis de repetición de albúmina-paclitaxel de 3,5 mg/kg suministrada 28 días después de la colocación de los stents dio como resultado la supresión continua de grosor neointimal a los 90 días ($p < 0,009$ versus dosis única de albúmina-paclitaxel de 5,0 mg/kg y controles) con cicatrización neointimal casi completa.

Si bien la composición albúmina-paclitaxel sistémica reduce el crecimiento neointimal a los 28 días, una dosis única de repetición fue necesaria para la supresión neointimal continua. Por lo tanto, la composición de la invención es apropiada para tratar enfermedades cardiovasculares tales como reestenosis. Las composiciones de la invención que comprenden agentes farmacéuticos que no son paclitaxel, por ejemplo rapamicina, otros taxanos, epotilonas, etc. son todas apropiadas para tratar reestenosis en vasos sanguíneos o injertos de vasos sanguíneos artificiales tales como los utilizados para acceso arterio-venoso en pacientes que requieren hemodiálisis.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende albúmina, donde la proporción (p/p) de albúmina respecto del agente farmacéutico es 1:1 a 9:1, y donde la composición farmacéutica comprende partículas
5 o gotas que tienen un tamaño inferior a 200 nm, donde el agente farmacéutico se selecciona de entre taxano, camptotecina, propofol, amiodarona, ciclosporina, anfotericina, liotironina, epotilona, colchicina, hormona tiroidea, corticosteroide, melatonina, tacrolimus, ácido micofenólico, y derivados de los mismos, o donde el agente farmacéutico es docetaxel o rapamicina.
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, donde la proporción (p/p) de albúmina respecto de agente
10 farmacéutico en la composición farmacéutica es 1:1 a 5:1.
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, donde la proporción (p/p) de albúmina respecto de agente farmacéutico en la composición farmacéutica es 1:1 a 3:1.
4. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la composición farmacéutica comprende gotas que tienen un tamaño inferior a 200 nm.
- 15 5. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la composición farmacéutica comprende partículas que tienen un tamaño inferior a 200 nm.
6. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde la composición es de dosis unitarias y está contenida en un envase sellado.
7. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde la composición es multidosis
20 y está contenida en un envase sellado.
8. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el agente farmacéutico es un taxano.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, donde el taxano es paclitaxel.
10. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la albúmina es
25 seroalbúmina humana.
11. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el agente farmacéutico es docetaxel o rapamicina.
12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11, donde la proporción (p/p) de albúmina respecto de agente farmacéutico en la composición farmacéutica es 1:1 a 5:1.
- 30 13. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la composición está en forma líquida y comprende 0,1 % a 25 % en peso de albúmina.
14. La composición farmacéutica de la reivindicación 13, donde la composición farmacéutica comprende 0,5 % a 5 % en peso de albúmina.
15. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, donde la composición
35 farmacéutica está deshidratada.
16. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, donde la composición farmacéutica está liofilizada.
17. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, donde la composición farmacéutica es un líquido.
- 40 18. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 17, donde la composición es de dosis unitarias y está contenida en un envase sellado.
19. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 17, donde la composición es multidosis y está contenida en un envase sellado.
20. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 19, donde la composición además
45 comprende deferoxamina.
21. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 20, donde la albúmina es seroalbúmina humana.
22. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 para uso en un procedimiento para

tratar una enfermedad.

23. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 22, donde el procedimiento es para tratar cáncer, enfermedad cardiovascular o artritis.

24. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 22, donde el procedimiento comprende mejorar el transporte de dicho agente farmacéutico al sitio de una dolencia, mejorando la unión de dicho agente farmacéutico a una célula o aumentando la estabilidad de la composición.

25. Uso de la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 para la fabricación de un medicamento para tratar cáncer, enfermedad cardiovascular o artritis.