

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 721 850**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 9/51</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/127</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/14</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/475</b>	(2006.01)
<b>A61P 13/08</b>	(2006.01)
<b>A61P 11/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 15/00</b>	(2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2009 PCT/US2009/047517**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2010 WO10005725**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2009 E 09794917 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 2309991**

54 Título: **Nanopartículas poliméricas terapéuticas que comprenden alcaloides vinca y procedimientos de fabricación y uso de las mismas**

30 Prioridad:

<b>15.04.2009 US 169514</b>	<b>04.05.2009 US 175219</b>
<b>15.04.2009 US 169519</b>	<b>15.04.2009 US 169541</b>
<b>29.05.2009 US 182300</b>	<b>16.06.2008 US 61704</b>
<b>29.04.2009 US 173784</b>	<b>04.05.2009 US 175226</b>
<b>16.10.2008 US 105916</b>	<b>12.08.2008 US 88159</b>
<b>20.10.2008 US 106777</b>	<b>16.06.2008 US 61760</b>
<b>04.05.2009 US 175209</b>	<b>16.06.2008 US 61697 P</b>

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**05.08.2019**

73 Titular/es:

**PFIZER INC. (100.0%)  
235 East 42nd Street  
New York, NY 10017, US**

72 Inventor/es:

**ZALE, STEPHEN, E.;  
TROIANO, GREG;  
ALI, MIR MUKKARAM;  
HRKACH, JEFF y  
WRIGHT, JAMES**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 721 850 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Nanopartículas poliméricas terapéuticas que comprenden alcaloides vinca y procedimientos de fabricación y uso de las mismas

**Antecedentes**

- 5 Sistemas que administran ciertos fármacos a un paciente (por ejemplo, dirigidos a un tejido o tipo de célula en particular o dirigidos a un tejido enfermo específico, pero no a un tejido normal), o que el control de la liberación de fármacos ha sido reconocido como beneficioso durante mucho tiempo. Por ejemplo, las terapias que incluyen un fármaco activo y que son capaces de ubicarse en un tejido o tipo de célula particular, por ejemplo, un tejido enfermo específico, pueden reducir la cantidad del fármaco en tejidos del cuerpo que no requieren tratamiento.
- 10 Esto es particularmente importante cuando se trata una afección, como el cáncer, donde es deseable que se administre una dosis citotóxica del fármaco a las células cancerosas sin matar el tejido circundante no canceroso. Además, tales terapias pueden reducir los efectos secundarios indeseables y en ocasiones, potencialmente mortales, comunes en la terapia contra el cáncer. Por ejemplo, debido a su pequeño tamaño, las terapias con nanopartículas pueden evadir el reconocimiento dentro del cuerpo permitiendo una administración dirigida y controlada, mientras que, por ejemplo, permanecen estables durante un período de tiempo efectivo.
- 15

Los productos terapéuticos que ofrecen dicha terapia y/o liberación controlada y/o terapia dirigida también deben poder administrar una cantidad efectiva de fármaco. Puede ser un desafío preparar sistemas de nanopartículas que tengan una cantidad adecuada de fármaco asociado a cada nanopartícula, al tiempo que mantiene el tamaño de las nanopartículas lo suficientemente pequeño como para tener propiedades de administración ventajosas. Por ejemplo, aunque es deseable cargar una nanopartícula con una alta cantidad de agente terapéutico, las preparaciones de nanopartículas que usan una carga de fármaco que es demasiado alta darán como resultado nanopartículas que son demasiado grandes para el uso terapéutico práctico. Además, puede ser deseable que las nanopartículas terapéuticas permanezcan estables para, por ejemplo, limitar sustancialmente la liberación rápida o inmediata del agente terapéutico.

20

25 El documento WO 03/017987 se refiere a una composición de nanocápsulas poliméricas biodegradables, adaptable para la encapsulación de un agente de interés terapéutico para mejorar el tiempo de circulación *in vivo* de este y usos de este.

Gu et al. (Proceedings of the National Academy of Sciences, vol 105, no 7, 19 February 2008, p2586-2591) se refiere a la ingeniería precisa de nanopartículas dirigidas mediante el uso de copolímeros de bloques biointegrados autoensamblados.

30

El documento WO 2010/005721 se refiere a nanopartículas que tienen aproximadamente 0,2 a aproximadamente 35 por ciento en peso de un agente terapéutico; y aproximadamente 10 a aproximadamente 99 por ciento en peso de un polímero biocompatible tal como un ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) dibloque.

En consecuencia, existe la necesidad de nuevas formulaciones de nanopartículas y procedimientos para fabricar tales nanopartículas y composiciones, que puedan administrar niveles terapéuticos de fármacos para tratar enfermedades como el cáncer, al tiempo que reducen los efectos secundarios del paciente.

35

**Sumario**

La invención proporciona una nanopartícula terapéutica que comprende: 3 a 20 por ciento en peso de un alcaloide vinca; y 50 a 99 por ciento en peso de polímero biocompatible, en la que el polímero biocompatible se selecciona del grupo que consiste en (a) un copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) dibloque, (b) una combinación de (a) y un homopolímero de ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico)-co-(glicólico); y en el que dicho copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) dibloque comprende poli(ácido láctico) que tiene un peso molecular promedio en número de 15 a 20 kDa y poli(etilenglicol) que tiene un peso molecular promedio en número de 4 a 6 kDa.

40

45 El diámetro de las nanopartículas divulgadas puede ser, por ejemplo, aproximadamente 60 a aproximadamente 120 nm, aproximadamente 70 a aproximadamente 120 nm, aproximadamente 70 a aproximadamente 140 nm o aproximadamente 80 a aproximadamente 130 nm.

Las nanopartículas terapéuticas divulgadas pueden ser estables durante al menos 5 días a 25 °C, por ejemplo, puede permanecer estable durante 5 días *in vitro*, por ejemplo, en una solución de sacarosa. En otra realización, las partículas divulgadas pueden liberar sustancialmente de manera inmediata menos de aproximadamente el 2 % o menos de aproximadamente el 5 %, menos de aproximadamente el 7 %, o incluso menos de aproximadamente el 10 % del alcaloide vinca cuando se colocan en una solución tampón de fosfato a temperatura ambiente o a 37 °C.

50

Los alcaloides vinca pueden incluir, por ejemplo, vinorelbina o vincristina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, las nanopartículas contempladas pueden incluir de aproximadamente 9 a

55

aproximadamente 16 por ciento en peso de un compuesto alcaloide vinca. En otro ejemplo, las nanopartículas contempladas pueden incluir de 3 a 9 por ciento en peso de un compuesto alcaloide vinca. Las nanopartículas terapéuticas divulgadas pueden incluir aproximadamente 10 por ciento en peso a aproximadamente 20 por ciento en peso de vinorelbina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta. Además, las nanopartículas terapéuticas divulgadas pueden incluir aproximadamente 3 por ciento en peso a aproximadamente 10 por ciento en peso de vincristina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

Las nanopartículas divulgadas incluyen un polímero biocompatible que es un copolímero ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque. Los copolímeros de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque que forman parte de una nanopartícula divulgada pueden comprender poli(ácido láctico) que tiene un peso molecular promedio en número de aproximadamente 15 a 20 kDa y poli(etilen)glicol que tiene un peso molecular promedio en número de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 kDa.

Un ejemplo de nanopartícula terapéutica puede incluir aproximadamente 40 a aproximadamente 50 por ciento en peso de copolímero de poli ácido (láctico) poli(etilen)glicol dibloque y aproximadamente 40 a aproximadamente 49 por ciento en peso de homopolímero de ácido poli(láctico). Dichos homopolímeros de ácido poli(láctico) pueden tener, por ejemplo, un peso molecular promedio en peso de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 kDa, por ejemplo, aproximadamente 10 kDa.

En una realización opcional, una nanopartícula divulgada puede incluir además de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 10 por ciento en peso de un copolímero de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico)- poli(etilen)glicol dibloque enlazado covalentemente a un ligando de direccionamiento.

Se proporciona un ejemplo de nanopartícula terapéutica que incluye aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de vinorelbina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta o aproximadamente 3 a aproximadamente 10 por ciento en peso de vincristina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta; un copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque y un homopolímero de ácido poli(láctico), por ejemplo un homopolímero de ácido poli(láctico) tiene un peso molecular promedio en peso de aproximadamente 10 kDa. Dicha nanopartícula terapéutica puede, en algunas realizaciones, comprender aproximadamente 40 a aproximadamente 45 por ciento en peso de polímero dibloque y aproximadamente 40 a aproximadamente 45 por ciento en peso de homopolímero. En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas pueden incluir además alcohol cetílico.

En el presente documento también se divulga una composición farmacéuticamente aceptable que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas divulgadas y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables son un azúcar tal como sacarosa.

En el presente documento también se divulga una composición que comprende una nanopartícula divulgada para su uso en procedimientos de tratamiento del cáncer de próstata, de mama o de pulmón de células no pequeñas.

Se puede preparar una pluralidad de nanopartículas terapéuticas divulgadas combinando vinorelbina o vincristina o sales farmacéuticamente aceptables de estas y un ácido poli(láctico) polietilenglicol dibloque y opcionalmente un homopolímero, con un disolvente orgánico para formar una primera fase orgánica que tiene de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 % de sólidos; combinando la primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionando la segunda fase para formar una fase de emulsión; inactivando la fase de emulsión para formar una fase inactiva; añadiendo un solubilizante de fármaco a la fase inactivada para formar una fase solubilizada de agente terapéutico no encapsulado; y filtrando la fase solubilizada para recuperar las nanopartículas, formando así una suspensión de nanopartículas terapéuticas, teniendo cada una de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 por ciento en peso de vinorelbina o vincristina.

### Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama de flujo para un proceso de emulsión para formar nanopartículas divulgadas.

La Figura 2 es un diagrama de flujo para un proceso de emulsión divulgado.

La Figura 3 representa el efecto de la preparación de emulsión gruesa sobre el tamaño de partícula inactivada. Se usó placebo orgánico al 30 % de sólidos, emulsionado a 5:1 W:O usando una fase acuosa estándar (colato de sodio al 1 %, alcohol bencílico al 2 %, acetato de etilo al 4 %).

La Figura 4 representa el efecto de la presión de alimentación sobre el tamaño de partícula resultante.

La figura 5 representa la dependencia del tamaño de partícula en la escala. La fase placebo orgánica consistió en un 25,5 % de polímero madre de 50:50 16,5/5 PLA/PEG:8,2 PLA. La fase orgánica se emulsionó 5:1 O:W con fase acuosa estándar y se realizaron múltiples pasadas discretas, inactivando una pequeña porción de emulsión después de cada pasada. La escala indicada representa los sólidos totales de la formulación.

La Figura 6 representa el efecto de la concentración de sólidos en el tamaño de partícula.

La Figura 7 representa las propiedades de liberación *in vitro* de una nanopartícula de ejemplo divulgada que incluye vinorelbina.

5 La Figura 8 representa las propiedades de liberación *in vitro* de una nanopartícula de ejemplo divulgada que incluye vincristina.

La Figura 9 representa la farmacocinética de vincristina y vincristina PTNP en ratas.

### Descripción detallada

10 La presente invención se relaciona en general con nanopartículas poliméricas que incluyen un agente o fármaco activo o terapéutico y procedimientos para fabricar y usar tales nanopartículas terapéuticas. En general, una "nanopartícula" se refiere a cualquier partícula que tenga un diámetro inferior a 1.000 nm, por ejemplo, aproximadamente 10 nm a aproximadamente 200 nm. Las nanopartículas terapéuticas divulgadas pueden incluir nanopartículas que tienen un diámetro de aproximadamente 60 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 70 nm a aproximadamente 140 nm.

15 Un agente alcaloide vinca es, por ejemplo, vinorelbina o vincristina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 Las nanopartículas divulgadas en el presente documento incluyen uno, dos, tres o más polímeros biocompatibles y/o biodegradables. Por ejemplo, una nanopartícula contemplada puede incluir aproximadamente 60 a aproximadamente 99 por ciento en peso de un polímero dibloque que incluye ácido poli(láctico) y polietilenglicol, y opcionalmente aproximadamente 0 a aproximadamente 50 por ciento en peso de ácido poli(láctico).

### Polímeros

25 Las nanopartículas divulgadas incluyen una matriz de polímeros. Las nanopartículas divulgadas pueden incluir uno o más polímeros, por ejemplo, un copolímero de dibloque y un homopolímero. Las nanopartículas terapéuticas divulgadas incluyen un agente terapéutico que puede asociarse con la superficie de, encapsularse dentro, ser rodeado por y/o dispersarse a lo largo de una matriz polimérica.

Una amplia variedad de polímeros y procedimientos para formar partículas a partir de ellos son conocidos en la técnica de administración de fármacos. La divulgación está dirigida a las nanopartículas con al menos un polímero, un primer polímero que es un copolímero dibloque y opcionalmente un polímero que es un homopolímero.

30 El término "polímero", como se usa en el presente documento, tiene su significado ordinario como se usa en la técnica, es decir, una estructura molecular que comprende una o más unidades de repetición (monómeros), conectadas por enlaces covalentes. Las unidades de repetición pueden ser todas idénticas o, en algunos casos, puede haber más de un tipo de unidad de repetición presente dentro del polímero. En algunos casos, el polímero puede ser derivado biológicamente, es decir, un biopolímero. Los ejemplos no limitantes incluyen péptidos o proteínas. En algunos casos, también pueden estar presentes fracciones adicionales en el polímero, por ejemplo, fracciones biológicas tales como las descritas a continuación. Si más de un tipo de unidad de repetición está presente dentro del polímero, entonces se dice que el polímero es un "copolímero". Debe entenderse que en cualquier realización que emplee un polímero, el polímero empleado puede ser un copolímero en algunos casos. Las unidades de repetición que forman el copolímero pueden estar dispuestas de cualquier manera. Por ejemplo, las unidades de repetición pueden disponerse en un orden aleatorio, en orden alternado, o como un copolímero de bloque, es decir, que comprende una o más regiones, cada una de las cuales comprende una primera unidad de repetición (por ejemplo, un primer bloque) y una o más regiones donde cada una comprende una segunda unidad de repetición (por ejemplo, un segundo bloque), etc. Los copolímeros de bloques pueden tener dos (un copolímero de dibloques), tres (un copolímero de tribloques), o más números de bloques distintos.

45 Un copolímero puede comprender un primer polímero y un segundo polímero, que se han conjugado juntos para formar un copolímero de bloques donde el primer polímero puede ser un primer bloque del copolímero de bloques y el segundo polímero puede ser un segundo bloque del copolímero de bloques. Por supuesto, las personas de experiencia ordinaria en la técnica entenderán que un copolímero de bloque puede, en algunos casos, contener múltiples bloques de polímero, y que un "copolímero de bloque", como se usa en el presente documento, no se limita a solo copolímeros de bloque que tienen un primer bloque único y un segundo bloque único. Por ejemplo, un copolímero de bloque puede comprender un primer bloque que comprende un primer polímero, un segundo bloque que comprende un segundo polímero y un tercer bloque que comprende un tercer polímero o el primer polímero, etc. En algunos casos, los copolímeros de bloque pueden contener cualquier número de primeros bloques de un primer polímero y segundos bloques de un segundo polímero (y en ciertos casos, terceros bloques, cuartos bloques, etc.). Además, debe observarse que los copolímeros de bloque también pueden formarse, en algunos casos, a partir de otros copolímeros de bloque. Por ejemplo, un primer

copolímero de bloques puede conjugarse con otro polímero (que puede ser un homopolímero, un biopolímero, otro copolímero de bloques, etc.), para formar un nuevo copolímero de bloques que contenga múltiples tipos de bloques y/o con otras fracciones (por ejemplo, a fracciones no poliméricas).

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

15 Un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloque) contemplado en el presente documento es un polímero biocompatible, es decir, el polímero que no suele inducir una respuesta adversa cuando se inserta o inyecta en un sujeto vivo, por ejemplo, sin inflamación significativa y/o rechazo agudo del polímero por el sistema inmunitario, por ejemplo, a través de una respuesta de células T. Por consiguiente, las partículas terapéuticas contempladas en el presente documento pueden ser no inmunogénicas. El término no inmunogénico, tal como se usa en el presente documento, se refiere al factor de crecimiento endógeno en su estado nativo que normalmente no provoca, o solo niveles mínimos de, anticuerpos circulantes, células T o células inmunitarias reactivas, y que normalmente no provoca en el individuo una respuesta inmune contra sí mismo.

25 La biocompatibilidad generalmente se refiere al rechazo agudo del material por al menos una parte del sistema inmunitario, es decir, un material no biocompatible implantado en un sujeto provoca una respuesta inmunitaria en el sujeto que puede ser lo suficientemente grave como para que el rechazo del material por parte del sistema inmunitario no se pueda controlar adecuadamente y a menudo, es de tal grado, que el material debe eliminarse del sujeto. Una prueba simple para determinar la biocompatibilidad puede ser exponer un polímero a las células *in vitro*; los polímeros biocompatibles son polímeros que normalmente no causarán una muerte celular significativa en concentraciones moderadas, por ejemplo, en concentraciones de 50 microgramos/10<sup>6</sup> células. Por ejemplo, un polímero biocompatible puede causar menos de aproximadamente el 20 % de muerte celular cuando se expone a células como los fibroblastos o las células epiteliales, incluso si son fagocitadas o si de otra forma son captadas por dichas células. Los ejemplos no limitantes de polímeros biocompatibles que pueden ser útiles en diversas realizaciones de la presente invención incluyen polidioxanona (PDO), polihidroxialcanoato, polihidroxibutirato, poli(glicerol sebacato), poliglicolida, polilactida, PLGA, policaprolactona o copolímeros o derivados que incluyen estos y/u otros polímeros.

35 En ciertas realizaciones, los polímeros biocompatibles contemplados pueden ser biodegradables, es decir, el polímero puede degradarse, química y/o biológicamente, dentro de un entorno fisiológico, tal como dentro del cuerpo. Tal como se usa en el presente documento, los polímeros "biodegradables" son aquellos que, cuando se introducen en las células, se descomponen por la maquinaria celular (biológicamente degradable) y/o por un proceso químico, como la hidrólisis, (químicamente degradable) en componentes que las células pueden reutilizar o desechar sin efecto tóxico significativo en las células. En una realización, el polímero biodegradable y sus subproductos de degradación pueden ser biocompatibles.

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

55 Los polímeros pueden ser poliésteres, incluyendo copolímeros que comprenden unidades de ácido láctico y ácido glicólico, tales como poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) y poli(lactida-co-glicolida), colectivamente referidos aquí como "PLGA"; y homopolímeros que comprenden unidades de ácido glicólico, referidas en el presente documento como "PGA" y unidades de ácido láctico, tales como ácido poli-L-láctico, ácido poli-D-láctico, ácido poli-D,L-láctico, poli-L-lactida, poli-D-lactida y poli-D,L-lactida, colectivamente referidos en el presente documento como "PLA". Los poliésteres de ejemplo incluyen, por ejemplo, polihidroxiácidos; polímeros y copolímeros PEGilados de lactida y glicolida (por ejemplo, PLA PEGilada, PGA PEGilada, PLGA PEGilada y derivados de estos. En algunas realizaciones, los poliésteres incluyen, por ejemplo, polianhídridos,

60

poli(ortoéster), poli(ortoéster) PEGilado, poli(ortoéster) poli(caprolactona), poli(caprolactona) PEGilada, polilisina, polilisina PEGilada, poli(etilenimina), poli(etilenimina) PEGilada, poli(L-lactida-co-L-lisina), poli(éster de serina), poli(éster 4-hidroxi-L-prolina), poli[ácido  $\alpha$ -(4-aminobutil)-L-glicólico] y derivados de estos.

5 En algunas realizaciones, un polímero puede ser PLGA. PLGA es un copolímero biocompatible y biodegradable de ácido láctico y ácido glicólico, y diversas formas de PLGA pueden caracterizarse por la proporción de ácido láctico:ácido glicólico. El ácido láctico puede ser ácido L-láctico, ácido D-láctico o ácido D,L-láctico. La rata de degradación de PLGA se puede ajustar alterando la proporción ácido láctico-ácido glicólico. En algunas realizaciones, el PLGA a usar de acuerdo con la presente invención puede caracterizarse por una proporción molar de ácido láctico:ácido glicólico de aproximadamente 85:15, aproximadamente 75:25, aproximadamente 60:40, aproximadamente 50:50, aproximadamente 40:60, aproximadamente 25:75, o aproximadamente 15:85.

10 En algunas realizaciones, la proporción de monómeros de ácido láctico a ácido glicólico en el polímero de la partícula (por ejemplo, el copolímero PLGA de bloque), puede seleccionarse para optimizar para diversos parámetros como la absorción de agua, la liberación de agentes terapéuticos y/o la cinética de degradación del polímero que pueden ser optimizados.

15 Los polímeros pueden ser polímeros acrílicos. Los polímeros acrílicos incluyen, por ejemplo, copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, metacrilatos de etoxietilo, metacrilato de cianoetilo, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamida de ácido metacrílico, poli(metil metacrilato), poli(poliacrilamida del ácido metacrílico, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, copolímeros de metacrilato de glicidilo, policianoacrilatos y combinaciones que comprenden uno o más de los polímeros anteriores. El polímero acrílico puede comprender copolímeros totalmente polimerizados de ésteres de ácido acrílico y metacrílico con un bajo contenido de grupos de amonio cuaternario.

20 Los polímeros pueden ser polímeros catiónicos. En general, los polímeros catiónicos son capaces de condensar y/o proteger cadenas cargadas negativamente de ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN, ARN o derivados de estos). Polímeros que contienen amina tales como poli(lisina), polietilenimina (PEI) y dendrímeros de poli(amidoamina) se contemplan para su uso, en algunas realizaciones, en una partícula divulgada.

25 Los polímeros pueden ser poliésteres degradables que llevan cadenas laterales catiónicas. Los ejemplos de estos poliésteres incluyen poli(L-lactida-co-L-lisina), poli(éster de serina) y poli(éster de 4-hidroxi-L-prolina). Un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloque) que contiene unidades de repetición de poli(etilenglicol) también puede denominarse un polímero "PEGilado". Dichos polímeros pueden controlar la inflamación y/o la inmunogenicidad (es decir, la capacidad de provocar una respuesta inmunitaria) y/o disminuir la rata de eliminación del sistema circulatorio a través del sistema reticuloendotelial (RES), debido a la presencia de los grupos poli(etilenglicol).

30 La PEGilación también se puede usar, en algunos casos, para disminuir la interacción de carga entre un polímero y una fracción biológica, por ejemplo, creando una capa hidrófila en la superficie del polímero, que puede proteger al polímero de interactuar con la fracción biológica. En algunos casos, la adición de unidades de repetición de poli(etilenglicol) puede aumentar la vida media en plasma del polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloque), por ejemplo, al disminuir la absorción del polímero por el sistema fagocítico mientras disminuye la eficiencia de transfección/captación por las células. Las personas con experiencia ordinaria en la técnica conocerán procedimientos y técnicas para PEGilar un polímero, por ejemplo, utilizando EDC(1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) clorhidrato de carbodiimida) y NHS (N-hidroxisuccinimida) para hacer reaccionar a un polímero con un grupo PEG que termina en una amina, mediante técnicas de polimerización de apertura de anillo (ROMP), o similares.

35 Se contempla que el PEG puede incluir un grupo terminal de extremo, por ejemplo, cuando el PEG no está conjugado a un ligando. Por ejemplo, el PEG puede terminar en un grupo hidroxilo, un metoxi u otro grupo alcoxilo, un grupo metilo u otro grupo alquilo, un grupo arilo, un ácido carboxílico, una amina, una amida, un grupo acetilo, un grupo guanidino o un imidazol. Otros grupos de extremo contemplados incluyen azida, alquino, maleimida, aldehído, hidrazida, hidroxilamina, alcoxiamina, o fracciones tiol.

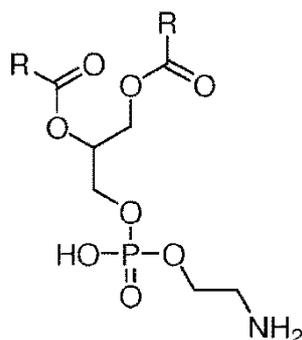
40 Las partículas divulgadas en el presente documento contienen PEG. Además, ciertas realizaciones pueden dirigirse hacia copolímeros que contienen poli(éster-éter), por ejemplo, polímeros que tienen unidades de repetición unidas por enlaces éster (por ejemplo, enlaces R-C(O)-O-R') y enlaces éter (por ejemplo, enlaces R-O-R'). En algunas realizaciones de la invención, un polímero biodegradable, tal como un polímero hidrolizable, que contiene grupos ácido carboxílico, puede conjugarse con unidades de repetición de poli(etilenglicol) para formar un poli(éster-éter).

55 El peso molecular de los polímeros se puede optimizar para un tratamiento eficaz como se divulga en el presente documento. Por ejemplo, el peso molecular de un polímero puede influir en la rata de degradación de las partículas (como cuando se puede ajustar el peso molecular de un polímero biodegradable), la solubilidad, la captación de agua y la cinética de liberación del fármaco. Por ejemplo, el peso molecular del polímero se puede

ajustar de modo que la partícula se biodegrade en el sujeto que se está tratando dentro de un período de tiempo razonable (que oscila desde unas pocas horas hasta 1-2 semanas, 3-4 semanas, 5-6 semanas, 7-8 semanas, etc.).

- 5 Aquí se divulga una nanopartícula terapéutica de ejemplo que incluye aproximadamente 70 a aproximadamente 90 por ciento en peso de copolímero de ácido poli (láctico)-poli(etilenglicol). Los copolímeros de ejemplo ácido poli (láctico)-poli(etilenglicol) pueden incluir un peso molecular promedio en número de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 kDa, o aproximadamente 10 a aproximadamente 25 kDa de ácido poli(láctico) y un peso molecular promedio en número de aproximadamente 4 a aproximadamente 6, o aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 10 kDa de poli(etilenglicol).
- 10 Las nanopartículas divulgadas pueden incluir opcionalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 por ciento en peso de ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico) ácido co-poli(glicólico) (que no incluye PEG, por ejemplo, un homopolímero de PLA), o puede incluir opcionalmente 1 a aproximadamente 50 por ciento en peso, o aproximadamente 10 a aproximadamente 50 por ciento en peso o aproximadamente 30 a aproximadamente 50 por ciento en peso de ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico) ácido co-poli(glicólico). Por ejemplo, ácido poli (láctico) o poli(láctico)-co-poli(glicólico) puede tener un peso molecular en número promedio de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 kDa, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 kDa. El PLA homopolimérico de ejemplo puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 kDa. El PLGA de ejemplo puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 kDa.
- 15 En ciertas realizaciones, los polímeros divulgados pueden conjugarse con un lípido, por ejemplo, "protegidos en el extremo", por ejemplo, puede incluir un PEG terminado en lípidos. Como se describe a continuación, la porción lipídica del polímero se puede usar para el autoensamblaje con otro polímero, facilitando la formación de una nanopartícula. Por ejemplo, un polímero hidrófilo podría conjugarse con un lípido que se autoensamblará con un polímero hidrófobo.
- 20 Los lípidos de ejemplo incluyen ácidos grasos tales como hidrocarburos de cadena larga (por ejemplo, C<sub>8</sub>-C<sub>50</sub>), sustituidos o no sustituidos. En algunas realizaciones, un grupo de ácido graso puede ser un ácido graso C<sub>10</sub>-C<sub>20</sub> o una sal de este. En algunas realizaciones, un grupo de ácido graso puede ser un ácido graso C<sub>15</sub>-C<sub>20</sub> o una sal de este. En algunas realizaciones, un ácido graso puede ser insaturado, monoinsaturado o poliinsaturado. Por ejemplo, un grupo de ácidos grasos puede ser uno o más de ácido butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, araquídico, behénico o lignocérico. En algunas realizaciones, un grupo de ácidos grasos puede ser uno o más de ácido palmitoleico, oleico, vacénico, linoleico, alfa-linolénico, gamma-linoleico, araquidónico, gadoleico, araquidónico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico o erúxico.
- 25
- 30

En una realización particular, el lípido es de Fórmula V:



(V)

- 35 y sus sales, en la que cada R es, independientemente, alquilo C<sub>1-30</sub>. En una realización de Fórmula V, el lípido es 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE), y sus sales, por ejemplo, la sal de sodio.

- En una realización, las fracciones opcionales de direccionamiento de moléculas pequeñas están enlazados, por ejemplo, enlazados covalentemente, al componente lipídico de la nanopartícula. Por ejemplo, en el presente documento se contempla también una nanopartícula que comprende un agente terapéutico, una matriz polimérica que comprende polímeros funcionalizados y no funcionalizados, un lípido y un ligando de direccionamiento de bajo peso molecular, en la que el ligando de direccionamiento está enlazado, por ejemplo, enlazado covalentemente, al componente lipídico de la nanopartícula.
- 40

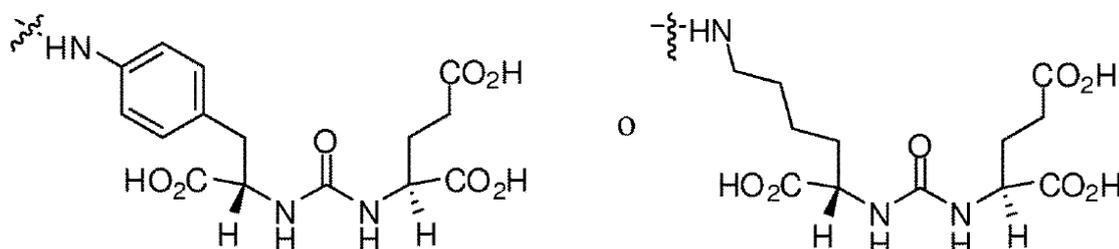
Fracciones de direccionamiento

En el presente documento se proporcionan nanopartículas que pueden incluir una fracción de direccionamiento opcional, es decir, una fracción capaz de enlazar o de otro modo asociarse con una entidad biológica, por ejemplo, un componente de membrana, un receptor de superficie celular, un antígeno de membrana específico de próstata o similares. Una fracción de direccionamiento presente en la superficie de la partícula puede permitir

que la partícula se localice en un sitio de direccionamiento particular, por ejemplo, un tumor, un sitio de enfermedad, un tejido, un órgano, un tipo de célula, etc. El fármaco u otra carga útil puede entonces, en algunos casos, liberarse de la partícula y permitirle interactuar localmente con el sitio de direccionamiento particular.

En una realización de la presente invención, la fracción de direccionamiento puede ser un ligando de bajo peso molecular, por ejemplo, un ligando de PSMA de bajo peso molecular. Por ejemplo, una porción de direccionamiento puede hacer que las partículas se localicen en un tumor, un sitio de enfermedad, un tejido, un órgano, un tipo de célula, etc., dentro del cuerpo de un sujeto, dependiendo de la fracción de direccionamiento utilizada. Por ejemplo, un ligando de PSMA de bajo peso molecular puede hacerse localizado en células de cáncer de próstata. El sujeto puede ser un animal humano o no humano. Ejemplos de sujetos incluyen, pero no se limitan a, un mamífero como un perro, un gato, un caballo, un burro, un conejo, una vaca, un cerdo, una oveja, una cabra, una rata, un ratón, un cobayo, un hámster, un primate, un ser humano o similares.

Las fracciones de direccionamiento contempladas incluyen moléculas pequeñas. En ciertas realizaciones, el término "molécula pequeña" se refiere a compuestos orgánicos, ya sean de origen natural o creados artificialmente (por ejemplo, a través de síntesis química) que tienen un peso molecular relativamente bajo y que no son proteínas, polipéptidos o ácidos nucleicos. Las moléculas pequeñas típicamente tienen múltiples enlaces carbono-carbono. En ciertas realizaciones, las moléculas pequeñas tienen un tamaño inferior a aproximadamente 2.000 g/mol. En algunas realizaciones, las moléculas pequeñas tienen menos de aproximadamente 1.500 g/mol o menos de aproximadamente 1.000 g/mol. En algunas realizaciones, las moléculas pequeñas tienen menos de aproximadamente 800 g/mol o menos de aproximadamente 500 g/mol, por ejemplo, de aproximadamente 100 g/mol a aproximadamente 600 g/mol, o de aproximadamente 200 g/mol a aproximadamente 500 g/mol. Por ejemplo, un ligando puede ser un ligando de PSMA de bajo peso molecular tal como



y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos de estos.

En algunas realizaciones, fracciones de direccionamiento de molécula pequeña que pueden usarse para dirigirse a las células asociadas con tumores de cáncer de próstata incluyen inhibidores de peptidasa PSMA tales como 2-PMPA, GPI5232, VA-033, fenilalquilfosfonamidatos y/o análogos y derivados de estos. En algunas realizaciones, fracciones de direccionamiento de molécula pequeña que pueden usarse para dirigirse a células asociadas con tumores de cáncer de próstata incluyen tiol y derivados de indol tiol, tales como derivados de ácido 2-MPPA y 3-(2-mercaptoetil)-1H-indol-2-carboxílico. En algunas realizaciones, fracciones de direccionamiento de molécula pequeña que pueden usarse para dirigirse a células asociadas con tumores de cáncer de próstata incluyen derivados de hidroxamato. En algunas realizaciones, fracciones de direccionamiento de molécula pequeña que se pueden usar para dirigirse a células asociadas con tumores de cáncer de próstata incluyen inhibidores a base de PBDA y urea, como ZJ 43, ZJ 11, ZJ 17, ZJ 38 y/o análogos y derivados de estos, agentes de direccionamiento del receptor de andrógenos (ARTAs), poliaminas, como putrescina, espermina y espermidina, inhibidores de la enzima glutamato carboxilasa II (GCPII), también conocida como NAAG Peptidasa o NAALADasa.

En otra realización de la presente invención, la fracción de direccionamiento puede ser un ligando que se dirige a Her2, EGFR o receptores toll. Por ejemplo, las fracciones de direccionamiento contempladas pueden incluir un ácido nucleico, polipéptido, glicoproteína, carbohidrato o lípido. Por ejemplo, una fracción de direccionamiento puede ser una fracción de direccionamiento de ácido nucleico (por ejemplo, un aptámero, por ejemplo, el aptámero A10) que se enlaza a un marcador de tipo de célula específico. En general, un aptámero es un oligonucleótido (por ejemplo, ADN, ARN o un análogo o derivado de este) que se enlaza a un objetivo particular, como un polipéptido. En algunas realizaciones, una fracción de direccionamiento puede ser un ligando natural o sintético para un receptor de superficie celular, por ejemplo, un factor de crecimiento, hormona, LDL, transferrina, etc. Una fracción de direccionamiento puede ser un anticuerpo, cuyo término pretende incluir fragmentos de

anticuerpo, porciones características de anticuerpos, se pueden identificar fracciones de direccionamiento de cadena única, por ejemplo, utilizando procedimientos tales como despliegue de fago. Las fracciones de direccionamiento pueden ser un péptido de direccionamiento o el peptidomimético de direccionamiento tiene una longitud de hasta aproximadamente 50 residuos. Por ejemplo, las fracciones de direccionamiento pueden incluir la secuencia de aminoácidos AKERC, CREKA, ARYLQKLN o AXYLZZLN, en la que X y Z son aminoácidos variables, o variantes conservativas o peptidomiméticos de estas. En realizaciones particulares, la fracción de direccionamiento es un péptido que incluye la secuencia de aminoácidos AKERC, CREKA, ARYLQKLN o AXYLZZLN, en la que X y Z son aminoácidos variables, y tiene una longitud de menos de 20, 50 o 100 residuos. El péptido CREKA (Cys Arg Glu Lys Ala) o un péptido peptidomimético de este o el octapéptido AXYLZZLN también se contemplan como fracciones de direccionamiento, así como péptidos, o variantes conservativas o peptidomiméticos de estos, que se enlazan o forman un complejo con colágeno IV, o la membrana basal del tejido objetivo (por ejemplo, la membrana basal de un vaso sanguíneo), se puede utilizar como una fracción de direccionamiento.

Las fracciones de direccionamiento de ejemplo incluyen péptidos que se dirigen a ICAM (molécula de adhesión intercelular, por ejemplo, ICAM-1).

Las fracciones de direccionamiento divulgadas en el presente documento se conjugan típicamente a un polímero o copolímero divulgado (por ejemplo, PLA-PEG), y dicho conjugado de polímero puede formar parte de una nanopartícula divulgada. Por ejemplo, una nanopartícula terapéutica divulgada puede incluir opcionalmente de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 10 por ciento en peso de un PLA-PEG o PLGA-PEG, en el que el PEG está funcionalizado con un ligando de direccionamiento. Las nanopartículas terapéuticas contempladas pueden incluir, por ejemplo, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 10 por ciento en moles de ligando PLA-PEG o de ácido poli(láctico)-ácido co-poli(glicólico)-PEG-ligando. Por ejemplo, el ligando PLA-PEG puede incluir un PLA con un peso molecular promedio en número de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 20 kDa y PEG con un peso molecular promedio en número de aproximadamente 4.000 a aproximadamente 8.000 Da.

#### Nanopartículas

Las nanopartículas divulgadas pueden tener una configuración sustancialmente esférica (es decir, las partículas generalmente parecen ser esféricas) o no esférica. Por ejemplo, las partículas, al hincharse o contraerse, pueden adoptar una configuración no esférica. En algunos casos, las partículas pueden incluir mezclas poliméricas. Por ejemplo, una mezcla de polímeros puede incluir un primer copolímero que incluye polietilenglicol y un segundo polímero.

Las nanopartículas divulgadas pueden tener una dimensión característica de menos de aproximadamente 1 micrómetro, donde la dimensión característica de una partícula es el diámetro de una esfera perfecta que tiene el mismo volumen que la partícula. Por ejemplo, la partícula puede tener una dimensión característica de la partícula que puede ser menos de aproximadamente 300 nm, menos de aproximadamente 200 nm, menos de aproximadamente 150 nm, menos de aproximadamente 100 nm, menos de aproximadamente 50 nm, menos de aproximadamente 30 nm, menos de aproximadamente 10 nm, menos de aproximadamente 3 nm, o menos de aproximadamente 1 nm en algunos casos. En realizaciones particulares, las nanopartículas divulgadas pueden tener un diámetro de aproximadamente 70 nm a 200 nm, o aproximadamente 70 nm a aproximadamente 180 nm, aproximadamente 80 nm a aproximadamente 130 nm, aproximadamente 80 nm a aproximadamente 120 nm.

En un conjunto de realizaciones, las partículas pueden tener un interior y una superficie, donde la superficie tiene una composición diferente del interior, es decir, puede haber al menos un compuesto presente en el interior pero no presente en la superficie (o viceversa) y/o al menos un compuesto está presente en el interior y en la superficie en diferentes concentraciones. Por ejemplo, en una realización, un compuesto, como una fracción de direccionamiento (es decir, un ligando de bajo peso molecular) de un conjugado polimérico de la presente invención, puede estar presente tanto en el interior como en la superficie de la partícula, pero una mayor concentración en la superficie que en el interior de la partícula, aunque en algunos casos, la concentración en el interior de la partícula puede ser esencialmente distinta de cero, es decir, hay una cantidad detectable del compuesto presente en el interior de la partícula.

En algunos casos, el interior de la partícula es más hidrófobo que la superficie de la partícula. Por ejemplo, el interior de la partícula puede ser relativamente hidrófobo con respecto a la superficie de la partícula, y un fármaco u otra carga útil puede ser hidrófobo, y se asocia fácilmente con el centro relativamente hidrófobo de la partícula. El fármaco u otra carga útil puede, por lo tanto, estar contenida dentro del interior de la partícula, que puede protegerla del ambiente externo que rodea la partícula (o viceversa). Por ejemplo, un fármaco u otra carga útil contenida dentro de una partícula administrada a un sujeto se protegerá del cuerpo de un sujeto, y el cuerpo también puede estar sustancialmente aislado del fármaco durante al menos un período de tiempo.

Por ejemplo, en el presente documento se divulga una nanopartícula polimérica terapéutica que comprende un primer polímero no funcionalizado; un segundo polímero opcional no funcionalizado; un polímero opcional funcionalizado que comprende una fracción de direccionamiento; y un agente terapéutico. El primer polímero no

funcionalizado es un copolímero de dibloque PLA-PEG. Por ejemplo, una nanopartícula de ejemplo puede tener una corona de PEG con una densidad de aproximadamente 0,065 g/cm, o aproximadamente de 0,01 a aproximadamente 0,10 g/cm<sup>3</sup>.

5 Las nanopartículas divulgadas pueden ser estables, por ejemplo, en una solución que puede contener un sacárido, durante al menos unos 3 días, al menos unos 4 días o al menos unos 5 días a temperatura ambiente o a 25 °C.

En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas también pueden incluir un alcohol graso, que puede aumentar la tasa de liberación del fármaco. Por ejemplo, las nanopartículas divulgadas pueden incluir un alcohol C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> tal como alcohol cetílico, octanol, alcohol estearílico, alcohol araquidílico, docosonal u octosonal.

10 Las nanopartículas pueden tener propiedades de liberación controlada, por ejemplo, pueden ser capaces de administrar una cantidad de agente activo a un paciente, por ejemplo, a un sitio específico en un paciente, durante un período prolongado de tiempo, por ejemplo, más de 1 día, 1 semana, o más. En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas liberan sustancialmente de manera inmediata (por ejemplo, durante aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 30 minutos) menos de aproximadamente el 2 %, menos de aproximadamente el 4 %, menos de aproximadamente el 5 %, o menos de aproximadamente el 10 % de un agente activo (por ejemplo, un agente alcaloide vinca), por ejemplo, cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a temperatura ambiente y/o a 37 °C.

20 En una realización, la invención comprende una nanopartícula que comprende 1) una matriz polimérica y 2) un compuesto o capa anfifílica que rodea o se dispersa dentro de la matriz polimérica que forma una corteza continua o discontinua para la partícula. Una capa anfifílica puede reducir la penetración de agua en la nanopartícula, mejorando así la eficiencia de encapsulación del fármaco y retardando la liberación del fármaco. Además, estas nanopartículas protegidas por la capa anfifílica pueden proporcionar ventajas terapéuticas al liberar el fármaco y el polímero encapsulados en los momentos apropiados.

25 Como se usa en el presente documento, el término "anfifílico" se refiere a una propiedad donde una molécula tiene una porción polar y una porción no polar. A menudo, un compuesto anfifílico tiene una cabeza polar unida a una larga cola hidrófoba. En algunas realizaciones, la porción polar es soluble en agua, mientras que la porción no polar es insoluble en agua. Además, la porción polar puede tener una carga positiva formal o una carga negativa formal. Alternativamente, la porción polar puede tener una carga positiva formal y una carga negativa y puede ser un zwitterion o sal interna. Los compuestos anfifílicos de ejemplo incluyen, por ejemplo, uno o varios de los siguientes: lípidos de origen natural, tensioactivos o compuestos sintetizados con fracciones hidrófilas e hidrófobas.

30 Los ejemplos específicos de compuestos anfifílicos incluyen, pero no se limitan a, fosfolípidos, como 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), diaraquidoilfosfatidilcolina (DAPC), dibehenoilfosfatidilcolina (DBPC), ditricosanoilfosfatidilcolina (DTPC) y dilignoceroilfosfatidilcolina (DLPC), incorporados en una proporción de entre 0,01-60 (peso de lípido/peso de polímero), más preferiblemente entre 0,1-30 (peso de lípido/peso de polímero). Los fosfolípidos que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, ácidos fosfatídicos, fosfatidilcolinas con lípidos saturados e insaturados, fosfatidil etanolaminas, fosfatidilgliceroles, fosfatidilserinas, fosfatidilinositoles, derivados de lisofosfatidil, cardiolipina, y fosfolípidos de β-acil-i-alkil. Ejemplos de fosfolípidos incluyen, pero no se limitan a, fosfatidilcolinas tales como dioleoilfosfatidilcolina, dimiristoilfosfatidilcolina, dilauroilfosfatidilcolina dipentadecanoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), diaraquidoilfosfatidilcolina (DAPC), dibehenoilfosfatidilcolina (DBPC), ditricosanoilfosfatidilcolina (DTPC), dilignoceroilfosfatidilcolina (DLPC); y fosfatidiletanolaminas tales como dioleoilfosfatidiletanolamina o 1-hexadecil-2-palmitoilglicerofosfoetanolamina. También se pueden usar fosfolípidos sintéticos con cadenas de acilo asimétricas (por ejemplo, con una cadena de acilo de 6 carbonos y otra cadena de acilo de 12 carbonos).

En una realización particular, un componente anfifílico puede incluir lecitina y/o en particular, fosfatidilcolina.

#### Preparación de nanopartículas

Otro aspecto de la invención está dirigida a sistemas y procedimientos para fabricar nanopartículas divulgadas. En algunas realizaciones, pueden controlarse las propiedades de partículas con el uso de dos o más polímeros diferentes (por ejemplo, un copolímero tal como un copolímero de dibloque y un homopolímero).

En una realización particular, los procedimientos descritos en el presente documento forman nanopartículas que tienen una alta cantidad de agente terapéutico encapsulado, por ejemplo, pueden incluir aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de agente terapéutico.

55 En una realización, se proporciona un proceso de nanoemulsión, como el proceso representado en las Figuras 1 y 2. Por ejemplo, un agente terapéutico, un primer polímero (PLA-PEG) y un segundo polímero (por ejemplo, PL(G)A o PLA), con una solución orgánica para formar una primera fase orgánica. Dicha primera fase puede incluir aproximadamente 5 a aproximadamente 50 % en peso de sólidos, por ejemplo, aproximadamente 5 a

aproximadamente 40 % de sólidos, o aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % de sólidos, por ejemplo, aproximadamente 10 %, 15 %, 20 % de sólidos. La primera fase orgánica se puede combinar con una primera solución acuosa para formar una segunda fase. La solución orgánica puede incluir, por ejemplo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, acetato de etilo, alcohol isopropílico, acetato de isopropilo, dimetilformamida, cloruro de metileno, diclorometano, cloroformo, acetona, alcohol bencílico, Tween 80, Span 80 o similares, y combinaciones de estos. En una realización, la fase orgánica puede incluir alcohol bencílico, acetato de etilo y combinaciones de estos. La segunda fase puede estar entre aproximadamente 1 y 50 % en peso, por ejemplo, 5-40 % en peso de sólidos. La solución acuosa puede ser agua, opcionalmente en combinación con uno o más de colato de sodio, acetato de etilo y alcohol bencílico.

Por ejemplo, la fase oleosa u orgánica puede usar un disolvente que solo sea parcialmente miscible con el no disolvente (agua). Por lo tanto, cuando se mezcla en una proporción suficientemente baja y/o cuando se utiliza agua presaturada con los disolventes orgánicos, la fase oleosa permanece líquida. La fase oleosa se puede emulsionar en una solución acuosa y en forma de gotitas líquidas, cortarse en nanopartículas utilizando, por ejemplo, sistemas de dispersión de alta energía, como homogeneizadores o sonicadores. La porción acuosa de la emulsión, también conocida como la "fase acuosa", puede ser una solución de agente tensioactivo que consiste en colato de sodio y presaturada con acetato de etilo y alcohol bencílico.

La emulsión de la segunda fase para formar una fase de emulsión se puede realizar en una o dos etapas de emulsificación. Por ejemplo, se puede preparar una emulsión primaria y luego emulsionar para formar una emulsión fina. La emulsión primaria se puede formar, por ejemplo, utilizando una mezcla simple, un homogeneizador de alta presión, un sonicador de sonda, una barra de agitación o un homogeneizador de rotor estator. La emulsión primaria se puede formar en una emulsión fina mediante el uso de, por ejemplo, sonicador de sonda o un homogeneizador de alta presión, por ejemplo, al usar 1, 2, 3 o más pases a través de un homogeneizador. Por ejemplo, cuando se usa un homogeneizador de alta presión, la presión utilizada puede ser de aproximadamente 27,6 MPa a aproximadamente 55,2 MPa, o de aproximadamente 27,6 a aproximadamente 34,5 MPa, por ejemplo, 27,6 o 34,5 MPa.

Se puede necesitar evaporación o dilución del disolvente para completar la extracción del disolvente y solidificar las partículas. Para un mejor control sobre la cinética de la extracción y un proceso más expansible, se puede usar una dilución de disolvente a través de una inactivación acuosa. Por ejemplo, la emulsión se puede diluir en agua fría hasta una concentración suficiente para disolver todo el disolvente orgánico para formar una fase inactivada. La inactivación se puede realizar al menos parcialmente a una temperatura de aproximadamente 5 °C o menos. Por ejemplo, el agua utilizada en la inactivación puede estar a una temperatura inferior a la temperatura ambiente (por ejemplo, aproximadamente 0 a aproximadamente 10 °C, o aproximadamente 0 a aproximadamente 5 °C).

En algunas realizaciones, no todo el agente terapéutico está encapsulado en las partículas en esta etapa y se agrega un solubilizante de fármaco a la fase inactivada para formar una fase solubilizada.

El solubilizante de fármacos puede ser, por ejemplo, Tween 80, Tween 20, polivinilpirrolidona, ciclodextrano, dodecilsulfato de sodio o colato de sodio. Por ejemplo, Tween-80 puede agregarse a la suspensión de nanopartículas inactivada para solubilizar el fármaco libre y prevenir la formación de cristales de fármaco. En algunas realizaciones, una proporción de solubilizante de fármaco a agente terapéutico es de aproximadamente 100:1 a aproximadamente 10:1.

La fase solubilizada se puede filtrar para recuperar las nanopartículas. Por ejemplo, las membranas de ultrafiltración se pueden usar para concentrar la suspensión de nanopartículas y eliminar sustancialmente el disolvente orgánico, el fármaco libre y otros auxiliares de procesamiento (tensioactivos). La filtración ejemplar se puede realizar utilizando un sistema de filtración de flujo tangencial. Por ejemplo, al usar una membrana con un tamaño de poro adecuado para retener las nanopartículas mientras se permite que pasen solutos, micelas y disolventes orgánicos, las nanopartículas pueden separarse selectivamente. Se pueden usar membranas de ejemplo con límites de peso molecular de aproximadamente 300-500 kDa (~5-25 nm).

La diafiltración se puede realizar utilizando una metodología de volumen constante, lo que significa que el diafiltrado (agua desionizada fría, por ejemplo, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 5 °C, o de 0 a aproximadamente 10 °C) puede agregarse a la suspensión de alimentación a la misma tasa en la que el filtrado se retira de la suspensión. En algunas realizaciones, el filtrado puede incluir un primer filtrado usando una primera temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 5 °C, o de 0 °C a aproximadamente 10 °C y una segunda temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, o 15 °C a aproximadamente 35 °C. Por ejemplo, el filtrado puede incluir el procesamiento de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 diavolumenes a aproximadamente 0 °C a aproximadamente 5 °C y el procesamiento de al menos un diavolumen (por ejemplo, aproximadamente 1 a aproximadamente 3 o aproximadamente 1-2 diavolumenes) a aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C.

Después de purificar y concentrar la suspensión de nanopartículas, las partículas se pueden pasar a través de uno, dos o más filtros de esterilización y/o profundidad, por ejemplo, utilizando un prefiltro de ~0,2 µm de profundidad.

5 En una realización de ejemplo de preparación de nanopartículas, se forma una fase orgánica compuesta por una mezcla de un agente terapéutico, por ejemplo, vinorelbina o vincristina, y polímero (homopolímero y copolímero). La fase orgánica se puede mezclar con una fase acuosa en una proporción de aproximadamente 1:5 (fase oleosa:fase acuosa) donde la fase acuosa está compuesta por un tensioactivo y un disolvente opcionalmente disuelto. Luego se puede formar una emulsión primaria mediante la combinación de las dos fases bajo mezcla simple o mediante el uso de un homogeneizador de rotor estator. La emulsión primaria se forma luego en una emulsión fina mediante el uso de, por ejemplo, homogeneizador de alta presión. Dicha emulsión fina puede inactivarse, por, por ejemplo, añadiendo a agua desionizada bajo mezcla. Una proporción de inactivación:emulsión de ejemplo puede ser de aproximadamente 8,5:1. Una solución de Tween (por ejemplo, Tween 80) se puede entonces agregar a la inactivación para lograr, por ejemplo, aproximadamente en general Tween al 2 %, lo que puede servir para disolver el fármaco libre, no encapsulado. Las nanopartículas formadas se pueden entonces aislar mediante centrifugación o ultrafiltración/diafiltración.

#### Agentes terapéuticos

En una realización particular, el fármaco puede ser liberado de la partícula de una manera de liberación controlada y se le permite interactuar localmente con el sitio del paciente particular (por ejemplo, un tumor). El término "liberación controlada" generalmente pretende abarcar la liberación de una sustancia (por ejemplo, un fármaco) en un sitio seleccionado o de otro modo en rata, intervalo y/o cantidad controlables. La liberación controlada abarca, pero no necesariamente se limita a, administración sustancialmente continua, administración con patrón (por ejemplo, administración intermitente durante un período de tiempo que se interrumpe por intervalos de tiempo regulares o irregulares), y administración de un bolo de una sustancia seleccionada (por ejemplo, como una cantidad predeterminada y discreta de una sustancia durante un período de tiempo relativamente corto (por ejemplo, unos pocos segundos o minutos).

El agente activo o fármaco es un alcaloide vinca como la vinorelbina, vinblastina, vincristina o vindesina.

#### Formulaciones farmacéuticas

Las nanopartículas divulgadas en el presente documento pueden combinarse con portadores farmacéuticamente aceptables para formar una composición farmacéutica. Como apreciará una persona experimentada en esta técnica, los portadores se pueden elegir en función de la vía de administración como se describe a continuación, la ubicación del problema objetivo, el fármaco que se administra, el curso de tiempo de administración del fármaco, etc.

Las composiciones y partículas farmacéuticas divulgadas en el presente documento pueden administrarse a un paciente por cualquier medio conocido en la técnica, incluidas las vías oral y parenteral. El término "paciente", como se usa en el presente documento, se refiere tanto a seres humanos como a no humanos, incluidos, por ejemplo, mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces. Por ejemplo, los no humanos pueden ser mamíferos (por ejemplo, un roedor, un ratón, una rata, un conejo, un mono, un perro, un gato, un primate o un cerdo). En ciertas realizaciones, las vías parenterales son deseables ya que evitan el contacto con las enzimas digestivas que se encuentran en el canal alimentario. De acuerdo con dichas realizaciones, las composiciones de la invención pueden administrarse mediante inyección (por ejemplo, intravenosa, subcutánea o intramuscular, inyección intraperitoneal), por vía rectal, vaginal, tópica (como por polvos, cremas, pomadas o gotas), o por inhalación (como por pulverizadores).

En una realización particular, las nanopartículas divulgadas pueden administrarse a un sujeto que lo necesite sistémicamente, por ejemplo, mediante infusión IV o inyección.

45 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas inyectables estériles u oleaginosas pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, la solución de Ringer, la U.S.P. y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo insípido, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos como el ácido oleico se utilizan en la preparación de inyectables. En una realización, el conjugado de la invención se suspende en un fluido portador que comprende 1 % (p/v) carboximetilcelulosa de sodio y 0,1 % (v/v) TWEEN™ 80. Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, por filtración a través de filtro de retención de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el conjugado encapsulado o no encapsulado se mezcla con al menos un excipiente o portador inerte, farmacéuticamente aceptable, tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o (a) agentes de relleno o extensores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, (b) aglomerantes como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidina, sacarosa y acacia, (c) humectantes tales como glicerol, (d) agentes desintegrantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio, (e) agentes retardantes de la solución como la parafina, (f) aceleradores de la absorción como los compuestos de amonio cuaternario, (g) agentes humectantes como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, (h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita, y (i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de estos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

Las nanopartículas divulgadas pueden formularse en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma de unidad de dosificación" como se usa en el presente documento se refiere a una unidad físicamente discreta de nanopartículas apropiada para el paciente a tratar. Para cualquier nanopartícula, la dosis terapéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente ya sea en ensayos de cultivo celular o en modelos animales, generalmente ratones, conejos, perros o cerdos. Un modelo animal también puede usarse para lograr un intervalo de concentración y una vía de administración deseables. Dicha información se puede usar entonces para determinar las dosis útiles y las vías de administración en seres humanos. La eficacia terapéutica y la toxicidad de las nanopartículas pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, ED<sub>50</sub> (la dosis es terapéuticamente efectiva en el 50 % de la población) y LD<sub>50</sub> (la dosis es letal para el 50 % de la población). La proporción de dosis de efectos tóxicos a terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la proporción, LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>. Las composiciones farmacéuticas que muestran grandes índices terapéuticos pueden ser útiles en algunas realizaciones. Los datos obtenidos de los ensayos de cultivos celulares y estudios en animales se pueden usar para formular un intervalo de dosificación para uso humano.

En una realización de ejemplo, se divulga una composición farmacéutica que incluye una pluralidad de nanopartículas que comprenden cada una un agente terapéutico; y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, se contempla una composición adecuada para la congelación, incluidas las nanopartículas divulgadas en el presente documento y una solución adecuada para la congelación, por ejemplo, se añade una solución de azúcar (por ejemplo, sacarosa) a una suspensión de nanopartículas. La sacarosa puede, por ejemplo, actuar como un crioprotector para evitar que las partículas se agreguen al congelarse. Por ejemplo, se proporciona en el presente documento una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas, sacarosa y agua divulgadas; en donde, por ejemplo, las nanopartículas/sacarosa/agua están presentes en aproximadamente 5-10 %/10-15 %/80-90 % (p/p/p).

#### Procedimientos de tratamiento

Las partículas terapéuticas divulgadas en el presente documento se pueden usar para tratar, aliviar, mejorar, mitigar, retrasar la aparición de, inhibir la progresión de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno y/o afección. Por ejemplo, las partículas terapéuticas divulgadas, que incluyen, por ejemplo, vinorelbina o vincristina o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden usarse para tratar cánceres tales como cáncer de próstata, mama o pulmón, como cáncer de pulmón de células no pequeñas en un paciente que lo necesite. También se contemplan aquí los procedimientos para tratar el cáncer de próstata, el cáncer de pulmón de células no pequeñas, el carcinoma colorrectal y el glioblastoma utilizando nanopartículas divulgadas.

Los procedimientos para el tratamiento del cáncer (por ejemplo, cáncer de próstata o de mama) pueden comprender administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de las partículas terapéuticas divulgadas a un sujeto que las necesite, en tales cantidades y durante el tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado. En ciertas realizaciones de la presente invención, una "cantidad terapéuticamente eficaz" es aquella cantidad efectiva para tratar, aliviar, mejorar, mitigar, retrasar la aparición de, inhibir la progresión de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de, por ejemplo, un cáncer que está siendo tratado.

Los protocolos terapéuticos incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una partícula terapéutica divulgada a un individuo sano (es decir, un sujeto que no muestra ningún síntoma de cáncer y/o que no ha sido diagnosticado con cáncer). Por ejemplo, los individuos sanos pueden ser "inmunizados" con una partícula direccionada inventiva antes del desarrollo del cáncer y/o la aparición de los síntomas del cáncer; individuos en riesgo (por ejemplo, pacientes con antecedentes familiares de cáncer; pacientes portadores de una o más mutaciones genéticas asociadas con el desarrollo del cáncer; pacientes que tienen un polimorfismo genético asociado con el desarrollo del cáncer; pacientes infectados por un virus asociado con el desarrollo del cáncer; pacientes con hábitos y/o estilos de vida asociados con el desarrollo de cáncer; etc.) pueden tratarse sustancialmente de manera contemporánea con (por ejemplo, dentro de 48 horas, dentro de 24 horas o dentro

de 12 horas de) la aparición de los síntomas del cáncer. Por supuesto, las personas que se sabe que tienen cáncer pueden recibir tratamiento en cualquier momento.

En otras realizaciones, las nanopartículas divulgadas pueden usarse para inhibir el crecimiento de células cancerosas, por ejemplo, células de cáncer de próstata. Como se usa en el presente documento, el término "inhibe el crecimiento de células cancerosas" o "inhibir el crecimiento de células cancerosas" se refiere a cualquier desaceleración de la tasa de proliferación y/o migración de células cancerosas, detención de la proliferación y/o migración de células cancerosas, o muerte de células cancerosas, de manera que la tasa de crecimiento de las células cancerosas se reduce en comparación con la tasa de crecimiento observada o predicha de una célula cancerosa de control no tratada. El término "inhibe el crecimiento" también puede referirse a una reducción en el tamaño o la desaparición de una célula cancerosa o tumor, así como a una reducción en su potencial metastásico. Preferiblemente, tal inhibición a nivel celular puede reducir el tamaño, disuadir el crecimiento, reducir la agresividad, o prevenir o inhibir la metástasis de un cáncer en un paciente. Las personas experimentadas en la técnica pueden determinar fácilmente, mediante cualquiera de una variedad de indicios adecuados, si se inhibe el crecimiento de células cancerosas.

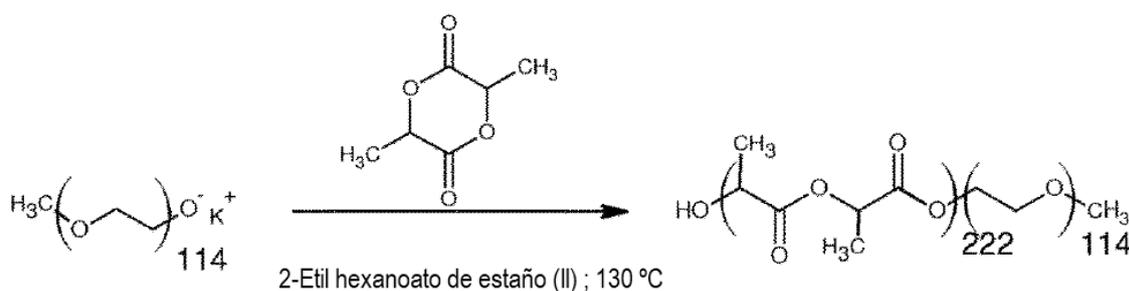
La inhibición del crecimiento de células cancerosas se puede evidenciar, por ejemplo, mediante la detención de células cancerosas en una fase particular del ciclo celular, por ejemplo, la detención en la fase G2/M del ciclo celular. La inhibición del crecimiento de las células cancerosas también se puede evidenciar mediante la medición directa o indirecta de las células cancerosas o el tamaño del tumor. En pacientes humanos con cáncer, tales mediciones generalmente se realizan mediante procedimientos de imagen bien conocidos, como la resonancia magnética, la tomografía axial computarizada y los rayos X. El crecimiento de las células cancerosas también se puede determinar indirectamente, por ejemplo, al determinar los niveles de antígeno carcinoembrionario circulante, antígeno prostático específico u otros antígenos específicos del cáncer que se correlacionan con el crecimiento de las células cancerosas. La inhibición del crecimiento del cáncer también se correlaciona generalmente con la supervivencia prolongada y/o el aumento de la salud y el bienestar del sujeto.

## Ejemplos

La invención, que se describe ahora en general, se entenderá más fácilmente por referencia a los siguientes ejemplos que se incluyen simplemente con el propósito de ilustrar ciertos aspectos y realizaciones de la presente invención y no pretenden limitar la invención de ninguna manera.

### Ejemplo 1 Preparación de PLA-PEG

La síntesis se realiza mediante la polimerización por apertura de anillo de d,l-lactida con  $\alpha$ -hidroxi- $\omega$ -metoxipoli (etilenglicol) como macroiniciador y se realiza a una temperatura elevada utilizando 2-etil hexanoato de estaño (II) como catalizador, como se muestra a continuación (PEG Mn ~ 5.000 Da; PLA Mn ~16.000 Da; PEGPLA Mn 21.000 Da)



El polímero se purifica disolviendo el polímero en diclorometano y precipitándolo en una mezcla de hexano y éter dietílico. El polímero recuperado de esta etapa se secará en un horno.

### Ejemplo 2 Preparación de nanopartículas-Proceso de emulsión

Se forma una fase orgánica compuesta de una mezcla de vinorelbina y polímero (homopolímero, copolímero y copolímero con ligando). La fase orgánica se mezcla con una fase acuosa en una proporción de aproximadamente 1:5 (fase de aceite: fase acuosa) donde la fase acuosa se compone de un tensioactivo y algún disolvente disuelto. Para lograr una alta carga de fármaco, se utiliza aproximadamente el 30 % de sólidos en la fase orgánica.

La emulsión primaria y gruesa se forma mediante la combinación de las dos fases bajo mezcla simple o mediante el uso de un homogeneizador de rotor estator. El rotor/estator produjo una solución lechosa homogénea, mientras que la barra de agitación produjo una emulsión gruesa visiblemente más grande. Se

5 observó que el procedimiento de la barra de agitación daba como resultado que las gotitas de la fase oleosa se adhirieran de forma significativa al lado del recipiente de alimentación, lo que sugiere que, si bien el tamaño de la emulsión gruesa no es un parámetro del proceso crítico para la calidad, debe hacerse adecuadamente fino para prevenir pérdida en el rendimiento o separación de fases. Por lo tanto, el rotor estator se utiliza como procedimiento estándar de formación de emulsiones gruesas, aunque un mezclador de alta velocidad puede ser adecuado a una escala mayor.

La emulsión primaria se forma luego en una emulsión fina mediante el uso de un homogeneizador de alta presión. El tamaño de la emulsión gruesa no afecta significativamente el tamaño de partícula después de pases sucesivos (1-3) a través del homogeneizador. M-110-EH (Figura 3).

10 Se encontró que la presión de alimentación del homogeneizador tiene un impacto significativo en el tamaño de partícula resultante. En ambos homogeneizadores neumático y eléctrico M-I IOEH, se encontró que reducir la presión de alimentación también reducía el tamaño de partícula (Figura 4). Por lo tanto, la presión de operación estándar utilizada para el M-110EH es de 27,6-34,5 MPa por cámara de interacción, que es la presión de procesamiento mínima sobre la unidad. El M-110EH también tiene la opción de una o dos cámaras de interacción. Viene estándar con una cámara Y restrictiva, en serie con una cámara Z de 200 µm menos restrictiva. Se encontró que el tamaño de partícula se redujo realmente cuando la cámara Y se retiró y se reemplazó con una cámara en blanco. Además, la eliminación de la cámara Y aumenta significativamente la tasa de flujo de la emulsión durante el procesamiento.

20 Después de 2-3 pases, el tamaño de partícula no se redujo significativamente, y los pases sucesivos incluso pueden causar un aumento del tamaño de partícula. Los resultados se resumen en la Figura 5.

25 El efecto de la escala sobre el tamaño de partícula mostró una sorprendente dependencia de la escala. La tendencia muestra que en el intervalo de tamaño de lote de 2-10 g, los lotes más grandes producen partículas más pequeñas. Se ha demostrado que esta dependencia de escala se elimina al considerar lotes de escala de más de 10 g. La cantidad de sólidos utilizados en la fase oleosa fue de alrededor del 30 %. La Figura 6 representa el efecto de la concentración de sólidos en el tamaño de partícula.

La tabla A resume los parámetros del proceso de emulsificación.

Tabla A

TABLA A

Parámetro	Valor	Observación
Formación de emulsión gruesa	Homogeneizador de rotor estator	El tamaño grueso de la emulsión no afecta el tamaño de partícula final, pero la emulsión gruesa grande puede causar una mayor retención de la fase oleosa en el recipiente de alimentación
Presión de alimentación del homogeneizador	27,6-34,5 MPa por cámara	Presión más baja reduce el tamaño de partícula
Cámara o cámaras de interacción	2x200 µm cámara Z	La cámara Z de 200 µm produce el tamaño de partícula más pequeño y permite el mayor rendimiento del homogeneizador
Número de pases por el homogeneizador	2-3 pases	Los estudios han demostrado que el tamaño de partícula no se reduce significativamente después de 2 pases discretos y el tamaño puede incluso aumentar con pases sucesivos
Fase de agua [colato de sodio]	0,1 %	[Colato de sodio] puede alterar efectivamente el tamaño de partícula; el valor está optimizado para un proceso y formulación dados.

(continuación)

Parámetro	Valor	Observación
Proporción W:O	5:1	La proporción más baja sin un aumento significativo del tamaño de partícula es -5:1
[Sólidos] en fase oleosa	30 %	Aumento de la eficiencia del proceso, aumento de la encapsulación de fármacos, viscosidad trabajable

5 La emulsión fina se inactiva luego bajo mezclado, por adición a agua desionizada a una temperatura dada. En la operación de la unidad de inactivación, la emulsión se agrega a una inactivación acuosa fría bajo agitación. Esto sirve para extraer una porción significativa de los disolventes de la fase oleosa, endureciendo efectivamente las nanopartículas para la filtración corriente abajo. El enfriamiento de la inactivación mejoró significativamente la encapsulación de fármacos. La proporción de inactivación:emulsión es de aproximadamente 5:1.

10 Una solución de 35 % ( % en peso) de Tween 80 se agrega a la inactivación para lograr aproximadamente en general Tween 80 al 2 %. Después de que la emulsión se inactiva, se agrega una solución de Tween-80 que actúa como un solubilizador de fármacos, lo que permite la eliminación efectiva del fármaco no encapsulado durante la filtración. La tabla B indica cada uno de los parámetros del proceso de inactivación.

Tabla B: Resumen de los parámetros del proceso de inactivación.

Tabla B: Resumen de los parámetros del proceso de inactivación.

Parámetro	Valor	Observación
Temperatura inicial de inactivación	< 5 °C	Baja temperatura produce una mayor encapsulación de fármaco
[Tween-80] solución	35 %	La concentración más alta que se puede preparar y se dispersa fácilmente en la inactivación.
Proporción Tween-80:fármaco	25:1	Cantidad mínima de Tween-80 requerida para eliminar efectivamente el arrastre no encapsulado
Proporción I:E	5:1	Proporción I:E mínima mientras se mantiene una alta encapsulación de fármaco
Retención de inactivación/temperatura de procesamiento	≤ 5 °C (con proporción actual 5:1 I:E, proporción 25:1 Tween-80:fármaco)	Temperatura que evita la lixiviación significativa del fármaco durante el tiempo de retención de inactivación y la etapa de concentración inicial

15 La temperatura debe permanecer lo suficientemente fría con una suspensión suficientemente diluida (concentración suficientemente baja de disolventes) para permanecer por debajo de la  $T_g$  de las partículas. Si la proporción I:E no es lo suficientemente alta, entonces la mayor concentración de disolvente plastifica las partículas y permite la fuga de fármaco. Por el contrario, las temperaturas más frías permiten una alta encapsulación del fármaco a bajas proporciones I:E (hasta ~3:1), lo que hace posible ejecutar el proceso de  
20 manera más eficiente.

Las nanopartículas se aíslan luego a través de un proceso de filtración de flujo tangencial para concentrar la suspensión de nanopartículas y el intercambio de tampón de los disolventes, el fármaco libre y el solubilizador de fármaco de la solución de inactivación al agua. Una membrana regenerada de celulosa se utiliza con un límite de peso molecular (MWCO) de 300.

5 Se realiza una diafiltración de volumen constante (DF) para eliminar los disolventes de inactivación, el fármaco libre y el Tween-80. Para realizar una DF constante de volumen, se agrega tampón al recipiente de retenido a la misma rata que se elimina el filtrado. Los parámetros de proceso para las operaciones de TFF se resumen en la Tabla C. La rata de flujo cruzado se refiere a la rata del flujo de la solución a través de los canales de alimentación y a través de la membrana. Este flujo proporciona la fuerza para barrer las moléculas que pueden ensuciar la membrana y restringir el flujo de filtrado. La presión transmembrana es la fuerza que impulsa las moléculas permeables a través de la membrana.

Tabla C: Parámetros TFF

Tabla C: Parámetros TFF

Parámetro	Valor optimizado	Efecto
Material de Membrana	Celulosa regenerada-membrana de pantalla gruesa	No hay diferencia en el rendimiento entre RC y PES, pero la compatibilidad con disolventes es superior para RC.
Límite de peso molecular	300 kDa	No hay diferencia en las características de NP (es decir, tween residual) Se observa un aumento en las ratas de flujo con una membrana de 500 kDa, pero 500 kDa no está disponible en RC
Rata de flujo cruzado	11 l/min/m <sup>2</sup>	Una mayor rata de flujo cruzado condujo a un mayor flujo
Presión de transmembrana	137,9 kPa diferencial	Las membranas de canal abierto tienen ratas de flujo máximas entre 68,9 y 206,8 kPa diferencial. Las membranas de canal grueso tienen ratas de flujo máximas con un TMP mínimo (~137,9 kPa diferencial).
Concentración de la suspensión de nanopartículas para la diafiltración	30 mg/ml	La diafiltración es más eficiente a [NP] ~50 mg/ml con membranas TFF de canal abierto a base de las ratas de flujo y el rendimiento. Con membranas de canal grueso, la rata de flujo se optimiza a ~30 mg/ml en el tampón de inicio.
Número de diavolumenes	≥15 (con base en el aumento de flujo)	Se necesitan aproximadamente 15 diavolumenes para eliminar efectivamente el tween-80. El punto final de la diafiltración se determina mediante el control en proceso (estabilización de aumento de flujo).
Area de membrana	~1 m <sup>2</sup> /g	Tamaño de las membranas con base en las ratas de flujo anticipadas y los volúmenes requeridos.

10

La suspensión de nanopartículas filtradas se somete entonces a un ciclo térmico a una temperatura elevada durante el tratamiento. Una pequeña porción (típicamente 5-10 %) del fármaco encapsulado se libera de las nanopartículas muy rápidamente después de su primera exposición a 25 °C. Debido a este fenómeno, los lotes que se mantienen fríos durante todo el tratamiento son susceptibles a que se formen fármacos libres o cristales de fármaco durante la administración o cualquier porción de almacenamiento no congelado. Al exponer la suspensión de nanopartículas a una temperatura elevada durante el tratamiento, este fármaco "ligeramente encapsulado" se puede eliminar y mejorar la estabilidad del producto a expensas de una pequeña caída en la carga de fármaco. Se utilizan 5 diavolumenes como la cantidad para el procesamiento en frío antes del tratamiento a 25 °C.

15

Después del proceso de filtración, la suspensión de nanopartículas se pasa a través de un filtro de grado de esterilización (0,2  $\mu\text{m}$  absolutos). Los prefiltros se usan para proteger el filtro de grado de esterilización para usar un área/tiempo de filtración razonable para el proceso. Los valores se resumen en la Tabla D.

Tabla D:

Parámetro	Valor O	Efecto
Concentración de suspensión de nanopartículas	50 mg/ml	Las pérdidas de rendimiento son mayores a mayor [NP], pero la capacidad de filtrar a 50 mg/ml obvia la necesidad de concentrar asépticamente después de la filtración
Rata de flujo de filtración	~1,3 l/min/m <sup>2</sup>	La filtrabilidad disminuye a medida que aumenta la rata de flujo.

5

El tren de filtración es la membrana M953P del filtro de profundidad Ertel Alsop Micromedia XL (0,2  $\mu\text{m}$  Nominal); Pall SUPRAcap con medio de filtro de profundidad Seitz EKSP (0,1-0,3  $\mu\text{m}$  Nominal); Pall Life Sciences Supor EKV 0,65/filtro PES de grado de esterilización de 0,2  $\mu\text{m}$ .

10 Se pueden usar 0,2 m<sup>2</sup> de área de superficie de filtración por kg de nanopartículas para filtros de profundidad y 1,3 m<sup>2</sup> de área de superficie de filtración por kg de nanopartículas para los filtros de grado de esterilización.

### Ejemplo 3 Crioprotector

15 La congelación de una suspensión de nanopartículas de nanoemulsión en agua desionizada sola, da como resultado la agregación de partículas. Se cree que esto se debe a la cristalización y el enredo de las cadenas de PEG en las superficies de las nanopartículas. Los excipientes a base de azúcar (sacarosa, trehalosa o manitol) pueden actuar para crioprotger estas nanopartículas en condiciones de congelación/descongelación, con concentraciones tan bajas como 1 % en peso para suspensiones de nanopartículas diluidas (-10 mg/ml). Una formulación incluye 10 % en peso de sacarosa, que contiene un exceso de sacarosa de lo que se requiere y es la misma osmolalidad que la solución salina fisiológica.

20 La Tabla E muestra que 16/5 copolímero de PLA-PEG es menos susceptible a la agregación de congelación y descongelación.

Tabla E

Descripción	Mediana Original PSD/PD	Post-F/T Mediana PS (nm)	Post-F/T Polidispersidad	Post-F/T Índice de referencia
1:1 45/5 y PLA (referencia)	143,4, 0,124	358,9	0,358	0,0/23,16 %
16/5 PLA-PEG y PLA (1:1)	186,7, 0,080	189,5	0,126	9,7/91,57 %
2:1:1 16/5:PLA:cetil	174,1, 0,084	232,7	0,146	0,0/61,19 %
2:1:1 45/5:PLA:cetil	111,0, 0,182	0	0	0,0/1,55 %
16/5 PLA-PEG solamente	218,8, 0,098	226,9	0,03	7,3/60,56 %
16/5 PLA-PEG y PLA (3:1)	222,2, 0,126	230,7	0,065	4,1/35,36 %
45/5 PLGA-PEG y PLA (3:1)	162,7, 0,099	178,6	0,091	7,7/95,41 %
2:1:1 45/5 PLA-PEG:PLA:cetil	115,9, 0,154	734,6	0,392	0,0/13,27 %

**Ejemplo 4: Liberación *in vitro***

Se utiliza un procedimiento de liberación *in vitro* para determinar la liberación de la fase de estallido inicial de las nanopartículas en condiciones ambientales y a 37 °C. Con el fin de mantener las condiciones de drenaje y evitar que las nanopartículas ingresen a las muestras de liberación, se diseñó un sistema de diálisis. Después de obtener una ultracentrifuga capaz de formar pelotas de partículas de 100 nm, se eliminaron las membranas de diálisis y se usó la centrifugación para separar el fármaco liberado del fármaco encapsulado.

El sistema de diálisis es el siguiente: 3 ml de suspensión de nanopartículas de vinorelbina (aproximadamente 250 µg/ml de nanopartículas de vinorelbina PLGA/PLA, correspondientes a 2,5 mg/ml de concentración de sólidos) en agua DI se coloca por pipeteo, en el tubo interno de un dializador MWCO de 300 kDa. La nanopartícula está suspendida en este medio. El dializador se coloca en botellas de vidrio que contienen 130 ml de medio de liberación (2,5 % de hidroxil beta ciclodextrina en PBS), que se agita continuamente a 150 rpm con un agitador para evitar la formación de una capa de agua no agitada en la interfase de la membrana/solución externa. En los puntos de tiempo predeterminados, se retiraron partes alícuotas de muestras (1 ml) de la solución externa (dializado) y se analizaron para determinar la concentración de vinorelbina por HPLC.

El sistema centrífugo se ejecuta en condiciones similares a volúmenes de suspensión más bajos sin bolsas de diálisis. Las muestras se centrifugaron a 60.000 g durante 30 minutos y el sobrenadante se analizó en cuanto al contenido de vinorelbina para medir la vinorelbina liberada.

**Ejemplo 5 Análisis de tamaño de partícula**

El tamaño de partícula se analiza mediante dos técnicas: dispersión dinámica de luz (DLS) y difracción por láser. La DLS se realiza utilizando un instrumento Brookhaven ZetaPals a 25 °C en suspensión acuosa diluida utilizando un láser de 660 nm dispersado a 90° y se analiza utilizando los procedimientos Cumulants y NNLS (TP008). La difracción por láser se realiza con un instrumento Horiba LS950 en suspensión acuosa diluida utilizando un láser HeNe a 633 nm y un LED a 405 nm, dispersos a 90° y analizados utilizando el modelo óptico Mie (TP009). La salida del DLS está asociada con el radio hidrodinámico de las partículas, que incluye la "corona" de PEG, mientras que el instrumento de difracción por láser está más estrechamente asociado con el tamaño geométrico del "núcleo" de la partícula de PLA.

**Ejemplo 6: Nanopartículas de vinorelbina**

Las tandas de nanopartículas se prepararon utilizando el procedimiento general del Ejemplo 2, con 80 % (p/p) de Polímero-PEG o Polímero-PEG con homopolímero PLA al 40 % (p/p) cada uno, con una tanda de % de sólidos totales del 5 %, 15 % y 30 %. Los disolventes utilizados fueron: alcohol bencílico al 21 % y acetato de etilo al 79 % (p/p). Para cada tamaño de tanda de 2 gramos, se utilizaron 400 mg de fármaco y 1,6 g de 16-5 Polímero-PEG o 0,8 g de 16-5 Polímero-PEG + 0,8 g de 10 kDa PLA (homopolímero). Se usó el polímero de dibloque 16-5 PLA-PEG o PLGA-PEG (50:50 L:G), y si se usa, el homopolímero: PLA con un Mn= 6,5 kDa, Mw= 10 kDa, y Mw/Mn = 1,55.

La fase orgánica (fármaco y polímero) se prepara en tandas de 2 g: a un frasco de centelleo de 20 ml, agregar el fármaco y el polímero o polímeros. La masa de disolventes necesarios al % de concentración de sólidos se muestra a continuación:

- i. 5 % de sólidos: 7,98 g de alcohol bencílico + 30,02 g de acetato de etilo
- ii. 15 % de sólidos: 2,38 g de alcohol bencílico + 8,95 g de acetato de etilo
- iii. 30 % de sólidos: 0,98 g de alcohol bencílico + 3,69 g de acetato de etilo

Se prepara una solución acuosa con colato de sodio al 0,5 %, alcohol bencílico al 2 % y acetato de etilo al 4 % en agua. Añadir a la botella 7,5 g de colato de sodio, 1402,5 g de agua DI, 30 g de alcohol bencílico y 60 g de acetato de etilo y mezclar en un plato de agitación hasta que se disuelva.

Para la formación de la emulsión, una proporción de fase acuosa a fase oleosa es 5:1. La fase orgánica se vierte en la solución acuosa y se homogeneiza usando IKA durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión. La solución se alimenta a través del homogeneizador (110S) a 62053 kPa (310,3 kPa en calibrador) durante 2 pases discretos para formar nanoemulsión.

La emulsión se vierte al inactivador (D.I. agua) a <5 °C mientras se agita en una placa de agitación. La proporción de inactivación a emulsión es 8:1. Se añade Tween 80 al 35 % (p/p) en agua para inactivar en una proporción de 25:1 de Tween 80 a fármaco. Las nanopartículas se concentran a través de TFF y la inactivación se concentra en TFF con un casete Pall de 500 kDa (membrana 2) hasta ~100 ml. El diafiltrado se usa con ~20 diavolumenes (2 litros) de agua DI fría, y el volumen se reduce a un volumen mínimo y luego se recoge la suspensión final, ~100 ml. La concentración de sólidos de la suspensión final no filtrada se determina mediante el uso de un vial de centelleo tarado de 20 ml y la adición de 4 ml de la suspensión final y se seca al vacío en

## ES 2 721 850 T3

lio/horno y se determina el peso de las nanopartículas en los 4 ml de suspensión seca. Se agrega sacarosa concentrada (0,666 g/g) a la muestra de suspensión final para obtener sacarosa al 10 %.

5 La concentración de sólidos de la suspensión final filtrada de 0,45 µm se determinó filtrando aproximadamente 5 ml de la muestra de la suspensión final antes de la adición de sacarosa a través de un filtro de jeringa de 0,45 µm; al frasco de centelleo tarado de 20 ml se agrega 4 ml de muestra filtrada y se seca al vacío en lio/horno.

La muestra restante de suspensión final sin filtrar se congeló con sacarosa.

Formulaciones de vinorelbina:

% Sólidos	Liberación realizada in-vitro	Tipo de polímero:	% carga de vinorelbina (HPLC)	Tamaño de partícula (nm)
5 %		16-5 PLA-PEG	4,27	143,3
		16-5 PLA-PEG + PLA	3,39	105,7
15 %		16-5 PLA-PEG	6,2	100,3
		16-5 PLA-PEG + PLA	15,95	141,3
30 %		16-5 PLA-PEG (n=3)	10,41	90,8
			10,31	84,4
	*		12,01	95
		16-5 PLA-PEG + PLA	15,03	125,5
		16-5 PLGA-PEG + PLA	14,66	120,3

\* = liberación in-vitro realizada en muestras

10 La liberación *in vitro* se realizó en tres formulaciones con 30 % de sólidos totales: 16-5 PLA-PEG; 16-5 PLA-PEG + PLA; y 16-5 PLGA-PEG + PLA, y los datos de liberación *in vitro* se recolectaron a 37 °C en una cámara de aire usando urea al 10 % en solución de PBS como medio de liberación. La siguiente tabla y la Figura 7 muestran los resultados:

	16-5 PLA-PEG	16-5 PLA-PEG + 10kDa PLA	16-5 PLGA-PEG + 10kDa PLA
Punto de tiempo (horas)			
0	5,62	0,84	4,79
2	35,29	35,35	67,63
5	41,28	49,58	87,05

(continuación)

	16-5 PEG	PLA-	16-5 PLA-PEG + 10kDa PLA	16-5 PLGA-PEG + 10kDa PLA
Punto de tiempo (horas)				
24	65,20		91,81	101,62
48	73,02		88,63	89,57
144	81,08		84,98	91,46

**Ejemplo 7: Nanopartículas de vincristina**

5 Las formulaciones de nanopartículas que incluyen vincristina se prepararon usando el procedimiento general del Ejemplo 2.

Formulaciones de vincristina

No. de referencia	Componentes	Composición por peso ( %)
50-103-3-5	mPEG(5k)-PLA(16K)/Vincristina	96/4
50-117-1-5	mPEG(5k)-PLA(16K)/Vincristina	95/5
50-117-2-5	mPEG(5k)-PLA(16K)/Vincristina	96/4
50-103-4	mPEG(5k)-PLA(16K)/PLA(16K)/Vincristina	46/46/8
50-103-2	mPEG(5k)-PLA(16K)/PLA(16K)/Vincristina	47/47/6

Caracterización analítica de las formulaciones de vincristina:

No. de referencia	Tamaño (nm)	Carga de fármaco ( %)	Eficiencia de encapsulación ( %)
50-103-3-5	103	4,4	21,8
50-117-1-5	110	4,6	22,8
50-117-2-5	115	4,2	20,8
50-103-4	146	8,3	41,6
50-103-2	98	6,0	30,0

10 La liberación *in vitro* se realizó en las formulaciones de vincristina y los datos de liberación *in vitro* se recolectaron a 37 °C en una cámara de aire usando urea al 10 % en solución de PBS como el medio de liberación. La Figura 8 representa la liberación *in vitro* de varias de estas nanopartículas.

**Ejemplo 8: Farmacocinética**

5 La farmacocinética (PK) de nanopartículas que tienen vincristina como la preparada en el Ejemplo 7 se determinó en ratas Sprague-Dawley (SD). A las ratas (Sprague Dawley macho, aproximadamente 300 g con cánulas yugulares) se les administró una dosis intravenosa única de 0,5 mg/kg de fármaco libre o nanopartículas de fármaco encapsulando pasivamente direccionadas (10 % en peso del fármaco, 90 % en peso de polímero (PLA-PEG, Mn PLA= 16 Da; Mn PEG= 5 Da, PTNP) con 5 mg/kg de fármaco y PTNP en el momento= 0. En diversos momentos después de la dosificación, se recolectaron muestras de sangre de las cánulas yugulares en tubos que contenían heparina de litio y se preparó el plasma. Se determinaron los niveles de plasma por extracción de los fármacos del plasma seguido de análisis LCMS.

La Figura 9 representa los perfiles PK de vincristina y vincristina PTNP.

10

## REIVINDICACIONES

1. Una nanopartícula terapéutica que comprende:
  - 3 a 20 por ciento en peso de un alcaloide vinca; y
  - 50 a 99 por ciento en peso de polímero biocompatible, en la que el polímero biocompatible se selecciona del grupo que consiste en
    - a) un copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque,
    - b) una combinación de a) y un homopolímero de ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico)-co-(glicólico); y
 en la que dicho copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque comprende poli(ácido láctico) que tiene un peso molecular promedio en número de 15 a 20 kDa y poli(etilen)glicol que tiene un peso molecular promedio en número de 4 a 6 kDa.
2. La nanopartícula terapéutica de la reivindicación 1, en la que dicho alcaloide vinca es vinorelbina o vincristina o una sal farmacéuticamente aceptable de estas.
3. La nanopartícula terapéutica de la reivindicación 1 o 2, en la que el diámetro de la nanopartícula terapéutica es de 70 a 140 nm, opcionalmente en la que el diámetro es de 80 a 130 nm.
4. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende 9 a 16 por ciento en peso de un compuesto de alcaloide vinca.
5. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el polímero biocompatible es un copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque.
6. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la nanopartícula terapéutica comprende 40 a 50 por ciento en peso de copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque y 40 a 49 por ciento en peso de homopolímero de ácido poli(láctico).
7. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que el homopolímero de ácido poli(láctico) tiene un peso molecular promedio en peso de 8 a 12 kDa, opcionalmente en la que el homopolímero de ácido poli(láctico) tiene un peso molecular promedio en peso de 10 kDa.
8. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que dicho copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque comprende poli(ácido láctico) que tiene un peso molecular promedio en número de 16 kDa y poli(etilen)glicol que tiene un peso molecular promedio en número de 5 kDa.
9. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 5-8, en la que:
  - a) dicha nanopartícula terapéutica comprende 10 por ciento en peso a 20 por ciento en peso de vinorelbina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, o
  - b) dicha nanopartícula terapéutica comprende 3 por ciento en peso a 10 por ciento en peso de vincristina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.
10. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende además de 0,2 a 10 por ciento en peso de un copolímero de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico)-poli(etilen)glicol dibloque enlazado covalentemente a un ligando de direccionamiento.
11. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende además alcohol cetílico.
12. Una composición farmacéuticamente aceptable que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas de cualquiera de las reivindicaciones 1-11; y
- un excipiente farmacéuticamente aceptable, opcionalmente en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable es un azúcar, por ejemplo sacarosa.
13. Una composición que comprende la nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para su uso en el tratamiento de cáncer de próstata, de mama o de pulmón de células no pequeñas.
14. Una pluralidad de nanopartículas terapéuticas preparadas mediante:
  - combinación de vinorelbina o vincristina o sales farmacéuticamente aceptables de estas y un ácido poli(láctico) polietilenglicol dibloque y opcionalmente un homopolímero, con un disolvente orgánico para formar una primera fase orgánica que tenga de 10 a 40 % en sólidos;

combinación de la primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase;

emulsión de la segunda fase para formar una fase de emulsión;

inactivación de la fase de emulsión para formar una fase inactivada;

5        adición de un solubilizante de fármaco a la fase inactivada para formar una fase solubilizada de agente terapéutico no encapsulado; y

filtración de la fase solubilizada para recuperar las nanopartículas, formando así una suspensión de nanopartículas terapéuticas que tienen cada una de 3 a 20 por ciento en peso de vinorelbina o vincristina, y

10        en la que dicho copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilen)glicol dibloque comprende poli(ácido láctico) que tiene un peso molecular promedio en número de 15 a 20 kDa y poli(etilen)glicol que tiene un peso molecular promedio en número de 4 a 6 kDa.

Figura 1

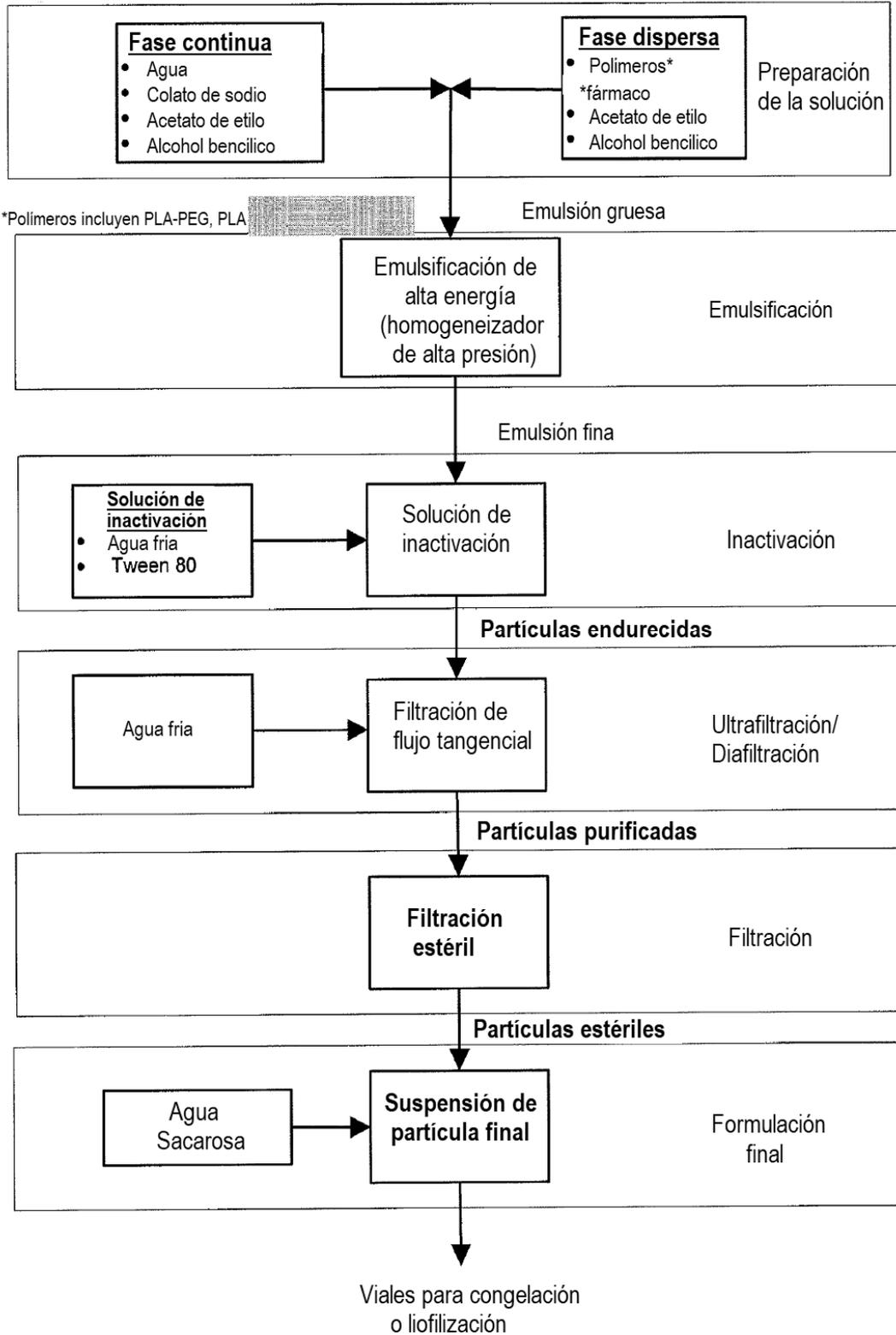
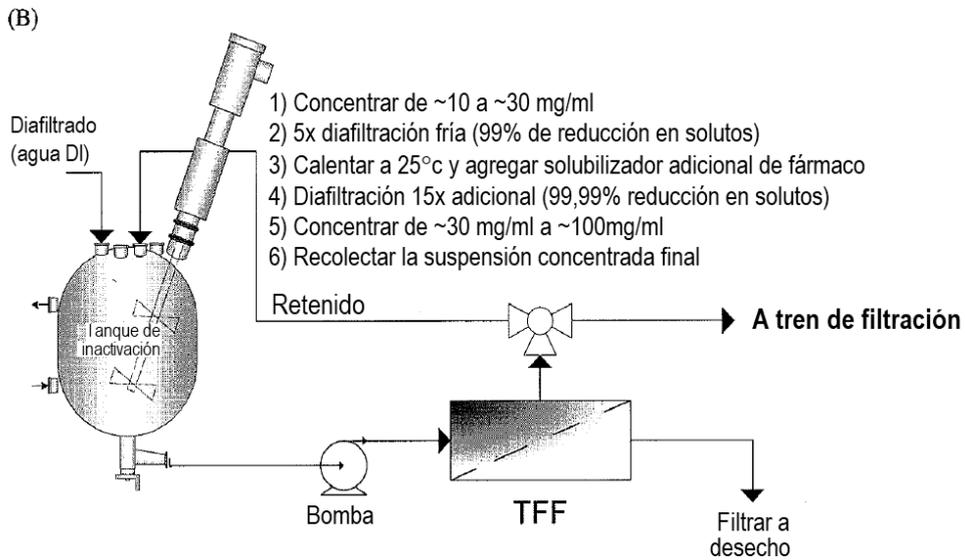
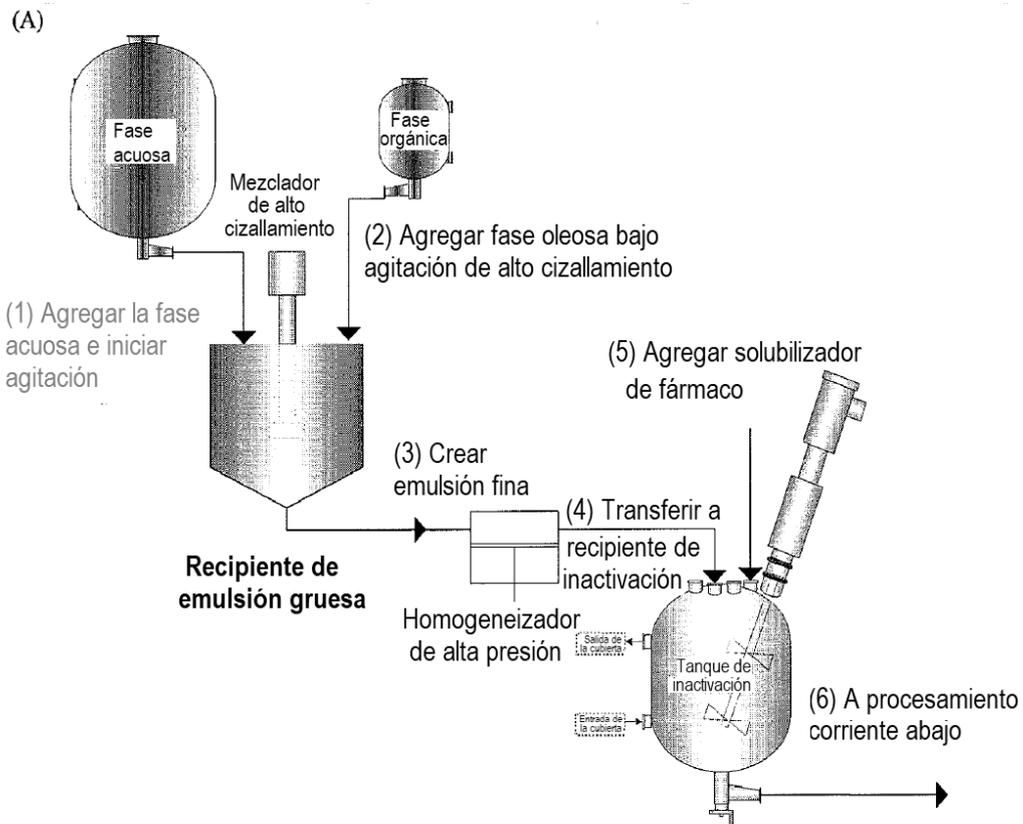


Figura 2



(A) Formación de partícula y endurecimiento (procesamiento corriente arriba); (B) tratamiento de partícula y purificación (procesamiento corriente abajo)

Figura 3

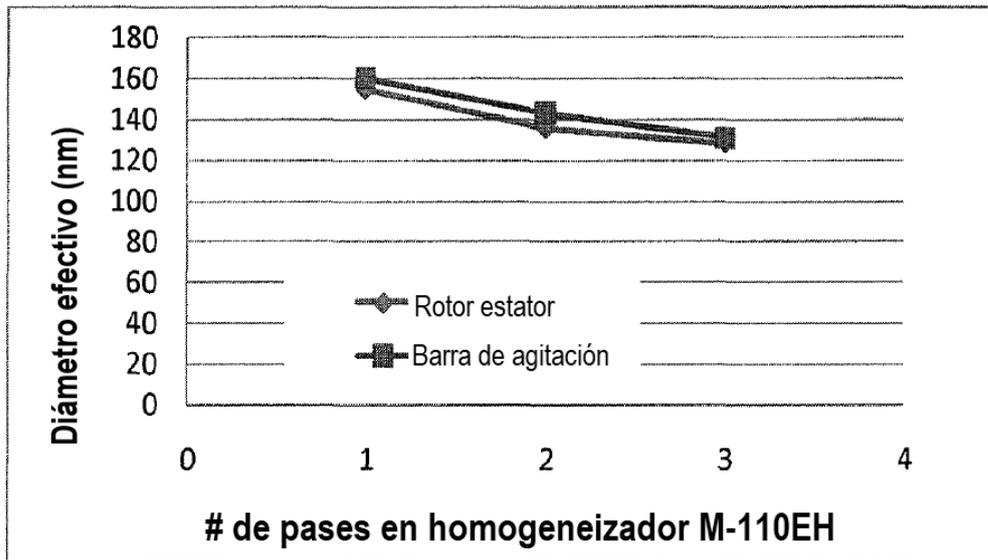


Figura 4

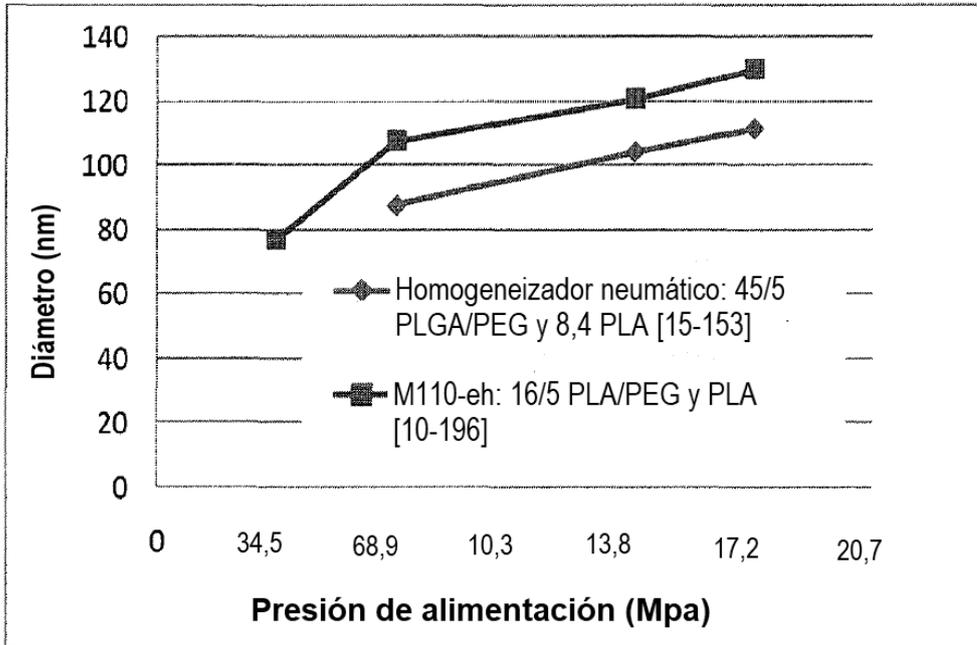


Figura 5

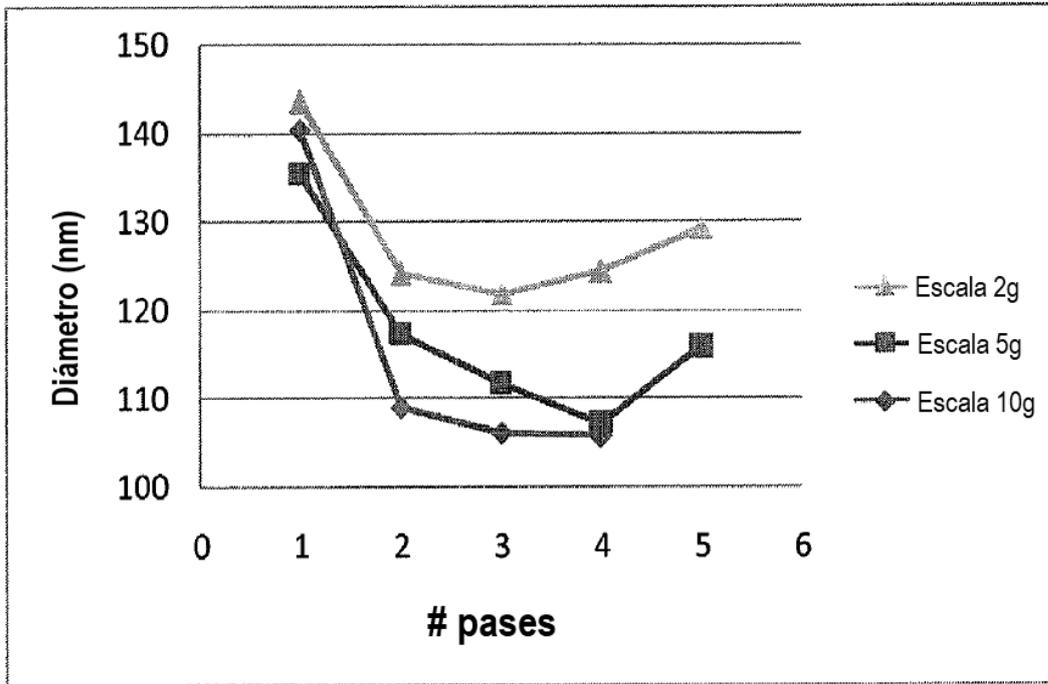


Figura 6

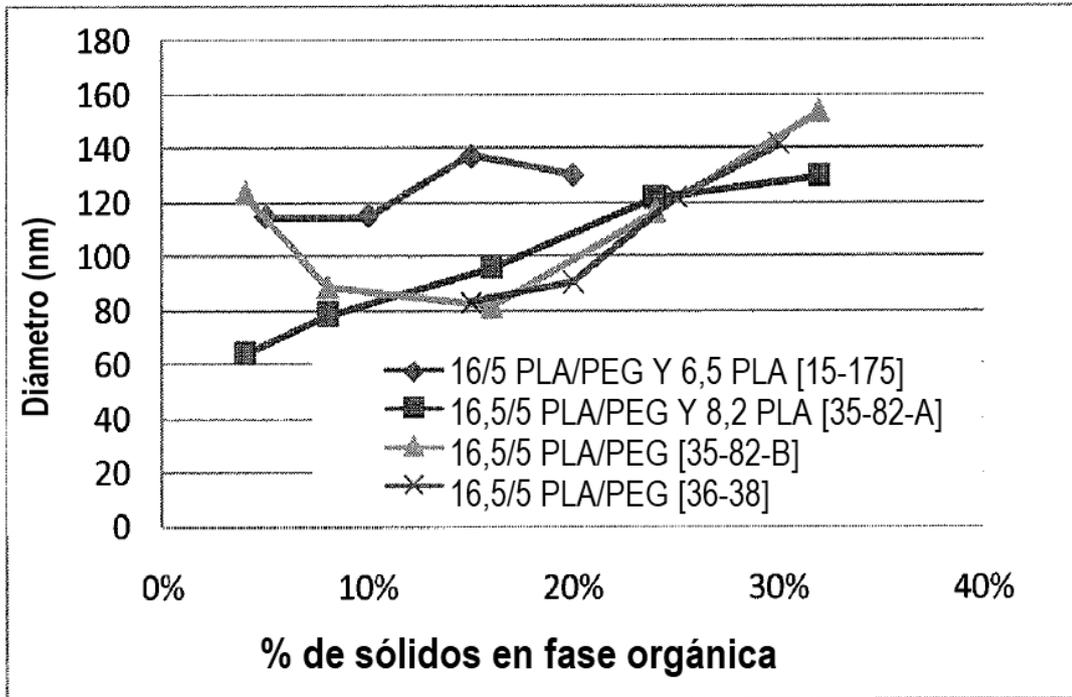


Figura 7

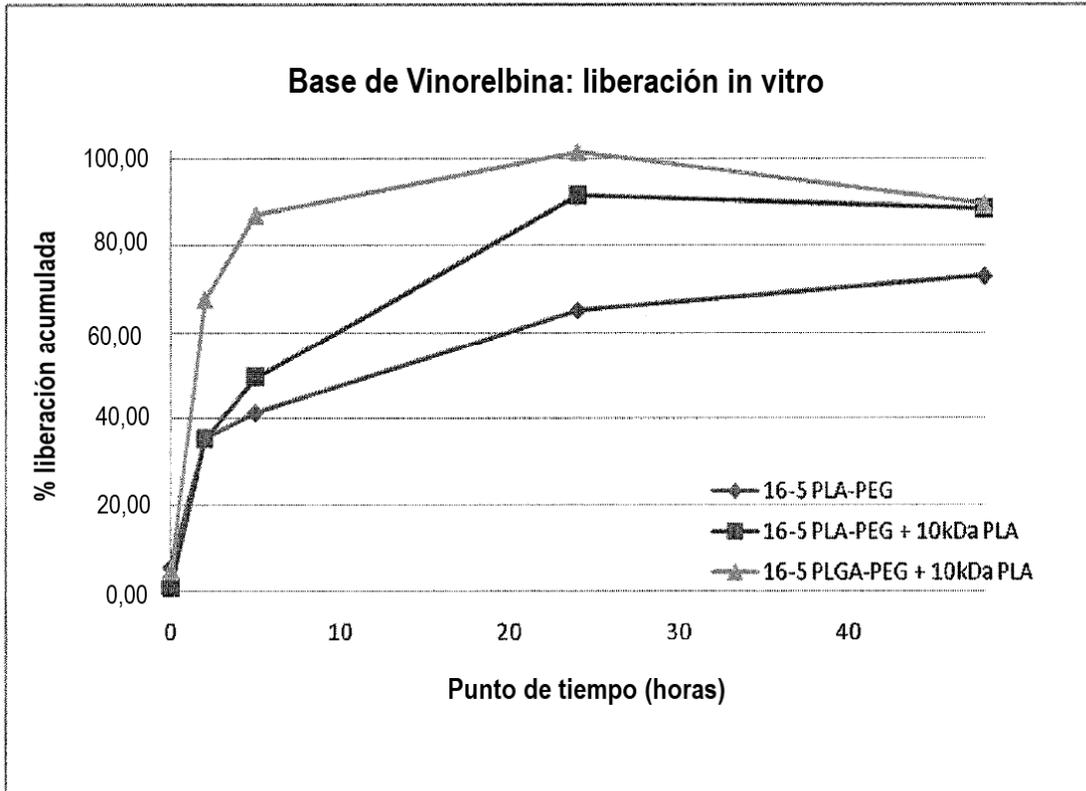


Figura 8

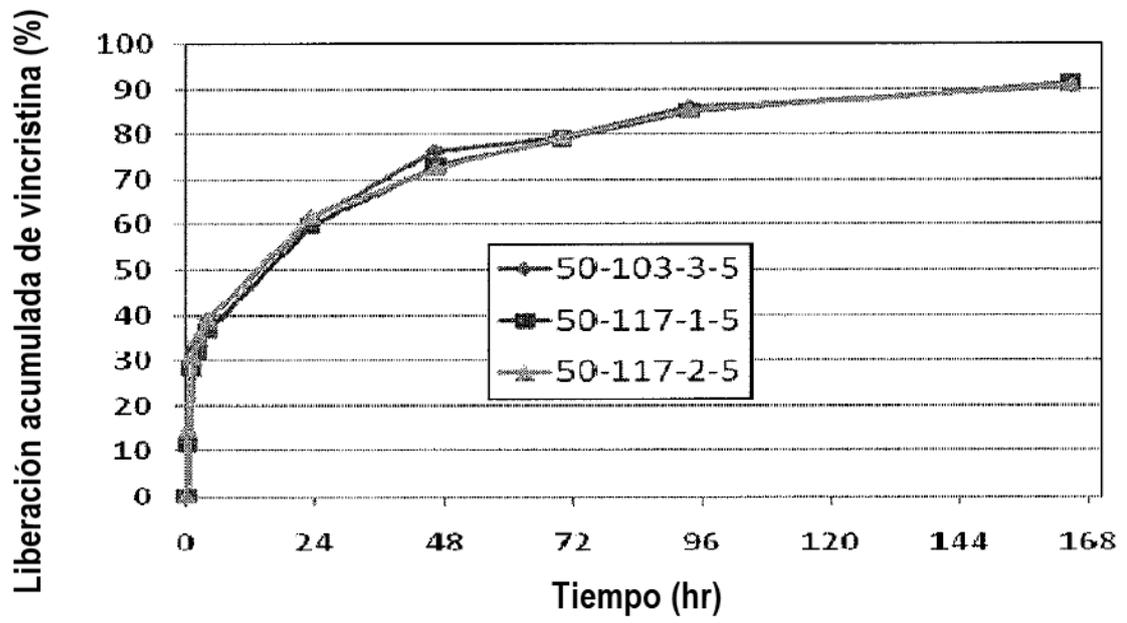


Figura 9

