

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 732 377**

51 Int. Cl.:

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.09.2013 PCT/US2013/059936**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.03.2014 WO14043618**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.09.2013 E 13771005 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2895156**

54 Título: **Procedimiento de preparación de nanopartículas terapéuticas**

30 Prioridad:

17.09.2012 US 201261702037 P

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

22.11.2019

73 Titular/es:

**PFIZER INC. (100.0%)
235 East 42nd Street
New York, NY 10017-5755, US**

72 Inventor/es:

**FIGUEIREDO, MARIA;
PEEKE, ERICK;
DEWITT, DAVID;
VAN GEEN HOVEN, CHRISTINA;
TROIANO, GREG;
WRIGHT, JAMES;
SONG, YOUNG-HO y
WANG, HONG**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 732 377 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

Procedimiento de preparación de nanopartículas terapéuticas

Antecedentes

5 Los sistemas que administran determinados fármacos a un paciente (por ejemplo, dirigidos a un tipo de tejido o célula particular o dirigidos a un tejido enfermo específico, pero no un tejido normal) o que controlan la liberación de fármacos han sido reconocidos desde hace tiempo como beneficiosos.

10 Por ejemplo, la terapéutica que incluye un fármaco activo y que está, por ejemplo, dirigida a un tipo de tejido o célula particular o dirigida a un tejido enfermo específico, pero no a tejido normal, puede reducir la cantidad del fármaco en los tejidos del cuerpo que no están dirigidos. Esto resulta particularmente importante cuando se somete a tratamiento una afección, tal como cáncer, en la que resulta deseable que se administre una dosis citotóxica del fármaco en las células cancerígenas sin destruir el tejido no canceroso circundante. La dirección del fármaco eficaz puede reducir los efectos secundarios no deseables y a veces potencialmente mortales comunes en la terapia antineoplásica. Además, tal terapéutica puede permitir que los fármacos alcancen determinados tejidos que de otro modo serían incapaces de alcanzar.

15 La terapéutica que ofrece una liberación controlada y/o una terapia dirigida también debe ser capaz de administrar una cantidad eficaz de fármaco, que es una limitación conocida en otros sistemas de administración de nanopartículas. Por ejemplo, puede resultar un desafío preparar sistemas de nanopartículas que tengan una cantidad adecuada de fármaco asociado a cada nanopartícula, al tiempo que mantengan el tamaño de las nanopartículas lo suficientemente pequeño como para tener propiedades de administración ventajosas. Sin embargo, aunque resulta 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.

20 Por consiguiente, existe la necesidad de terapéutica y procedimientos de nanopartículas para la fabricación de tales nanopartículas que sean capaces de administrar niveles terapéuticos de fármacos para someter a tratamiento enfermedades, tales como cáncer, al tiempo que también reduzcan los efectos secundarios del paciente.

25 El documento US-2009/0022806 desvela el uso de nanopartículas que contienen un agonista, agonista parcial o antagonista de la hormona tiroidea para someter a tratamiento sujetos que tienen afecciones relacionadas con la angiogénesis.

30 El documento WO-2012/040513 desvela composiciones de micelas para la administración de un agente terapéutico encapsulado, tal como beta-lapachona.

Sumario

35 Un aspecto de la invención es un procedimiento para la preparación de una pluralidad de nanopartículas terapéuticas, que comprende: combinar un agente terapéutico, un primer polímero y un ácido carboxílico halogenado, que es un ácido carboxílico alifático, con un disolvente orgánico para formar una primera fase orgánica, que es una solución, en el que los sólidos usados para formar la primera fase orgánica comprenden del 1 al 50 % en peso de la primera fase orgánica; combinar la primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar la pluralidad de nanopartículas terapéuticas; y recuperar las nanopartículas terapéuticas mediante filtración.

40 En algunas realizaciones, el ácido orgánico puede tener un pK_a de menos de aproximadamente 3,5 a 25 °C. En otras realizaciones, el ácido orgánico puede tener un pK_a de menos de aproximadamente 2,0 a 25 °C. En otras realizaciones más, el ácido orgánico puede tener un pK_a de menos de aproximadamente 1 a 25 °C. En realizaciones adicionales, el ácido orgánico puede tener un pK_a de menos de aproximadamente 0 a 25 °C.

En algunos casos, el ácido orgánico puede tener un punto de ebullición de entre aproximadamente 50 °C y aproximadamente 110 °C. En algunas realizaciones, el ácido orgánico puede tener un punto de fusión de entre aproximadamente -30 °C y aproximadamente 0 °C.

45 En algunos casos, las nanopartículas terapéuticas pueden comprender de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 35 por ciento en peso del agente terapéutico. En otros casos, las nanopartículas terapéuticas pueden comprender de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 10 por ciento en peso del agente terapéutico.

50 En algunas realizaciones, el procedimiento puede ser un primer procedimiento y las nanopartículas terapéuticas pueden tener una carga de agente terapéutico de al menos aproximadamente 2 veces mayor en comparación con las nanopartículas terapéuticas preparadas mediante un segundo procedimiento, en el que el segundo procedimiento es idéntico al primer procedimiento, excepto que el segundo procedimiento no incluye el ácido orgánico. En algunos casos, las nanopartículas terapéuticas pueden tener una carga de agente terapéutico de al menos aproximadamente 5 veces mayor. En otros casos, las nanopartículas terapéuticas pueden tener una carga de agente terapéutico de al menos aproximadamente 10 veces mayor.

- 5 En algunos casos, el agente terapéutico puede tener una solubilidad en una primera solución que consiste en el agente terapéutico, el disolvente orgánico y el ácido orgánico que es al menos 5 veces mayor en comparación con una segunda solución que consiste en el agente terapéutico y el disolvente orgánico. En otros casos, el agente terapéutico puede tener una solubilidad en una primera solución que consiste en el agente terapéutico, el disolvente orgánico y el ácido orgánico que es de entre aproximadamente 2 a aproximadamente 20 veces mayor en comparación con una segunda solución que consiste en el agente terapéutico y el disolvente orgánico. En algunas realizaciones, la concentración del ácido orgánico puede ser de al menos aproximadamente el 1 por ciento en peso, al menos aproximadamente el 2 por ciento en peso o al menos aproximadamente el 3 por ciento en peso. En otras realizaciones, la concentración del ácido orgánico puede ser de entre aproximadamente el 1 a aproximadamente el 10 por ciento en peso.
- 10 En algunas realizaciones, el ácido orgánico puede ser ácido trifluoroacético.
- 15 En algunos casos, las nanopartículas terapéuticas pueden liberar sustancialmente de manera inmediata menos de aproximadamente el 5 % del agente terapéutico cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a 37 °C. En otros casos, las nanopartículas terapéuticas pueden liberar de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 25 % del agente terapéutico durante aproximadamente 1 hora cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a 37 °C. En otros casos más, las nanopartículas terapéuticas pueden liberar de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 45 % del agente terapéutico durante aproximadamente 4 horas cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a 37 °C.
- 20 En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas pueden tener un diámetro de aproximadamente 60 nm a aproximadamente 150 nm, de aproximadamente 80 nm a aproximadamente 150 nm o de aproximadamente 90 nm a aproximadamente 140 nm.
- 25 En algunos casos, la combinación de la primera fase orgánica con la primera solución acuosa puede comprender la emulsión de una segunda fase, formada a partir de la combinación de la primera fase orgánica con la primera solución acuosa, para formar una fase de emulsión.
- 30 En algunas realizaciones, el procedimiento comprende, además, inactivar la fase de emulsión para formar una fase inactivada. Por ejemplo, el procedimiento puede comprender, además, añadir un solubilizante de fármaco a la fase inactivada para formar una fase solubilizada de agente terapéutico no encapsulado.
- 35 En algunos casos, la emulsión de la segunda fase puede comprender emulsionar la segunda fase para formar una emulsión gruesa y emulsionar la emulsión gruesa para formar una fase de emulsión fina.
- 40 En determinadas realizaciones, el disolvente orgánico puede comprender un disolvente seleccionado del grupo que consiste en acetato de etilo, alcohol de bencilo, cloruro de metileno, cloroformo, tolueno, metil etil cetona, dimetil formamida, dimetil sulfóxido, acetona, acetonitrilo, ácido acético, Tween 80 y Span 80 y combinaciones de dos o más de los mismos.
- 45 En algunas realizaciones, la solución acuosa puede comprender un reactivo seleccionado del grupo que consiste en colato de sodio, acetato de etilo, alcohol de bencilo o combinaciones de los mismos.
- 50 La emulsión de la segunda fase puede comprender, en algunas realizaciones, el uso de un homogeneizador de rotor y estator, un sonicador de sondas, una barra de agitación o un homogeneizador de alta presión. En algunos casos, la emulsión de la emulsión gruesa puede comprender el uso de un homogeneizador de alta presión. En algunas realizaciones, la emulsión de la emulsión primaria puede comprender de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 pasadas a través del homogeneizador. En algunos casos, la presión de alimentación del homogeneizador puede ser de aproximadamente 13.790 kPa (2.000 psi) a aproximadamente 55.158 kPa (8.000 psi) por cámara de interacción. El homogeneizador puede comprender, en algunos casos, múltiples cámaras de interacción.
- 55 En algunas realizaciones, la inactivación se puede realizar al menos parcialmente a una temperatura de aproximadamente 5 °C o menos. En otras realizaciones, la inactivación se puede realizar entre aproximadamente 0 °C y aproximadamente 5 °C.
- En algunos casos, la relación de inactivación:emulsión puede ser de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 40:1 o de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 15:1.
- En algunas realizaciones, el solubilizante de fármaco se puede seleccionar del grupo que consiste en Tween 80, Tween 20, polivinil pirrolidona, ciclodextrano, dodecil sulfato de sodio y colato de sodio. En otras realizaciones, el solubilizante de fármaco se puede seleccionar del grupo que consiste en dietilnitrosamina, acetato de sodio, urea, glicerina, propilen glicol, glicofuro, poli(etilen)glicol, bris(polioxietilenglicol)dodecil éter, benzoato de sodio y salicilato de sodio. La relación de solubilizante de fármaco respecto a agente terapéutico puede ser, en algunas realizaciones, de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 10:1.
- En algunos casos, la filtración puede comprender la filtración de flujo tangencial. En algunas realizaciones, la filtración puede comprender el filtrado a una primera temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 5 °C. En

- 5 algunos casos, la filtración puede comprender, además, el filtrado a una segunda temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C. El filtrado puede comprender, en algunas realizaciones, el procesamiento de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 diavolumenes entre aproximadamente 0 °C y aproximadamente 5 °C y el procesamiento de al menos un diavolumen entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 30 °C. En otro ejemplo, el filtrado puede comprender el procesamiento de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 diavolumenes entre aproximadamente 0 °C y aproximadamente 5 °C y el procesamiento de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 diavolumenes entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 30 °C. En determinados casos, la filtración puede comprender el procesamiento de diferentes diavolumenes a diferentes temperaturas distintas.
- 10 En algunas realizaciones, el procedimiento puede comprender, además, la purificación de la fase solubilizada antes de la filtración para retirar sustancialmente el disolvente orgánico, el agente terapéutico no encapsulado y/o el solubilizante de fármaco.
- En algunos casos, la filtración puede comprender la filtración estéril. Por ejemplo, la filtración estéril puede comprender el filtrado de las nanopartículas terapéuticas usando un tren de filtración a una velocidad controlada. El tren de filtración puede comprender, en algunos casos, un filtro de profundidad y un filtro estéril.
- 15 En algunas realizaciones, el primer polímero puede ser un copolímero dibloque de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol). En otras realizaciones, el primer polímero puede ser un copolímero dibloque de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico)-poli(etilenglicol). En algunos casos, el procedimiento comprende, además, la combinación de un segundo polímero con el disolvente orgánico, en el que el segundo polímero es un copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) funcionalizado con un ligando de direccionamiento. En algunos casos, el procedimiento comprende, además, la
- 20 combinación de un segundo polímero con el disolvente orgánico, en el que el segundo polímero es un copolímero de ácido poli(láctico)-co-ácido poli(glicólico)-poli(etilenglicol) funcionalizado con un ligando de direccionamiento. El ligando de direccionamiento puede estar, en algunas realizaciones, enlazado de manera covalente al poli(etilenglicol).
- En determinadas realizaciones, el ácido orgánico comprende una mezcla de dos o más ácidos orgánicos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el ácido orgánico comprende una mezcla de dos ácidos orgánicos, una mezcla de tres ácidos orgánicos, una mezcla de cuatro ácidos orgánicos o una mezcla de cinco ácidos orgánicos.
- 25 Las nanopartículas terapéuticas preparadas de acuerdo con el procedimiento desvelado pueden comprender de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 35 por ciento en peso de un inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl y de aproximadamente el 50 a aproximadamente el 99,8 por ciento en peso de un copolímero dibloque de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) o un copolímero dibloque de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico)-poli(etilenglicol), en el que las nanopartículas terapéuticas comprenden de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol).
- 30 En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas pueden comprender, además, un ácido orgánico que tiene un pK_a de menos de aproximadamente 3,5 a 25 °C. En otra realización, el ácido orgánico puede tener un pK_a de entre aproximadamente -1 y aproximadamente 2 a 25 °C.
- 35 En algunos casos, el ácido orgánico puede ser ácido trifluoroacético.
- En algunas realizaciones, el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas terapéuticas puede ser de aproximadamente 60 a aproximadamente 150 nm. En otra realización, el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas terapéuticas puede ser de aproximadamente 90 a aproximadamente 140 nm.
- 40 En algunos casos, las nanopartículas terapéuticas pueden comprender de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 10 por ciento en peso del inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl. En otros casos, las nanopartículas terapéuticas pueden comprender de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 5 por ciento en peso del inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl.
- En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas pueden retener sustancialmente el inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl durante al menos 1 minuto cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a 37 °C. En otras
- 45 realizaciones, las nanopartículas terapéuticas pueden liberar sustancialmente de manera inmediata menos de aproximadamente el 5 % del inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a 37 °C. En realizaciones adicionales, las nanopartículas terapéuticas pueden liberar de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 25 % del inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl durante aproximadamente 1 hora cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a 37 °C. En otras realizaciones más, las nanopartículas terapéuticas
- 50 pueden liberar de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 45 % del inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl durante aproximadamente 4 horas cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a 37 °C.
- En algunos casos, el inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl puede ser dasatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otros casos, el inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl se puede seleccionar del grupo que consiste en imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib, bafetinib y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 55 En algunas realizaciones, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) puede tener una fracción de peso

molecular promedio en número de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,95, de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,8, de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 0,85 o de aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,9.

5 En determinadas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas pueden comprender de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de poli(etilenglicol), de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 20 por ciento en peso de poli(etilenglicol), de aproximadamente el 15 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de poli(etilenglicol) o de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol).

10 En algunos casos, las nanopartículas terapéuticas pueden comprender, además, de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 30 por ciento en peso de copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) funcionalizado con un ligando de direccionamiento. En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas pueden comprender, además, de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 30 por ciento en peso de copolímero de ácido poli(láctico)-co-ácido poli(glicólico)-poli(etilenglicol) funcionalizado con un ligando de direccionamiento. El ligando de direccionamiento puede enlazarse de manera covalente al poli(etilenglicol).

15 Las nanopartículas terapéuticas preparadas de acuerdo con el procedimiento desvelado pueden comprender de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 35 por ciento en peso de dasatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 99,5 por ciento en peso de copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) o copolímero de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico)-poli(etilenglicol) y, opcionalmente, de aproximadamente el 0,0001 a aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de un ácido orgánico que tiene un pK_a de menos de aproximadamente 3,5 a 25 °C, en el que las nanopartículas terapéuticas comprenden de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de poli(etilenglicol).

En determinadas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas comprenden, además, una mezcla de dos o más ácidos orgánicos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas contempladas comprenden una mezcla de dos ácidos orgánicos, una mezcla de tres ácidos orgánicos, una mezcla de cuatro ácidos orgánicos o una mezcla de cinco ácidos orgánicos.

25 Se puede preparar una composición farmacéuticamente aceptable que comprenda una pluralidad de nanopartículas terapéuticas, tal como se describe en el presente documento, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición farmacéuticamente aceptable puede comprender, además, un sacárido. En algunos casos, el sacárido puede ser un disacárido seleccionado del grupo que consiste en sacarosa o trehalosa o una mezcla de las mismas. En otra realización, la composición farmacéuticamente aceptable puede comprender, además, una ciclodextrina. En algunos casos, la ciclodextrina se puede seleccionar del grupo que consiste en α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina y mezclas de las mismas.

35 Se proporcionan nanopartículas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en un procedimiento para el tratamiento de cáncer en un paciente que lo necesite. El procedimiento comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende nanopartículas terapéuticas, tal como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el cáncer puede ser leucemia mielógena crónica. En otras realizaciones, el cáncer se puede seleccionar del grupo que consiste en leucemia mielomonocítica crónica, síndrome hipereosinofílico, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, leucemia linfoblástica aguda con cromosoma Filadelfia positivo, cáncer de pulmón de células no microcíticas, cáncer de páncreas, cáncer de mama, tumor sólido y linfoma de células del manto.

40 Se proporcionan nanopartículas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en un procedimiento para el tratamiento de un tumor de estroma gastrointestinal en un paciente que lo necesite. El procedimiento comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende nanopartículas terapéuticas, tal como se describe en el presente documento.

45 Se proporcionan nanopartículas terapéuticas, tal como se describen en el presente documento, para su uso como medicamento en un animal de sangre caliente, tal como el hombre.

Se proporcionan nanopartículas terapéuticas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en la producción de un efecto antiproliferativo en un animal de sangre caliente, tal como el hombre.

50 Se proporcionan nanopartículas terapéuticas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, como agente antiinvasivo en la contención y/o el tratamiento de una enfermedad de tumor sólido.

Se proporciona el uso de nanopartículas terapéuticas, tal como se describe en el presente documento, en la prevención o el tratamiento de cáncer en un animal de sangre caliente, tal como el hombre.

Se proporcionan nanopartículas terapéuticas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer en un animal de sangre caliente, tal como el hombre.

55 Se proporcionan nanopartículas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en un procedimiento

para la producción de un efecto antiproliferativo en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que necesite tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de nanopartículas terapéuticas, tal como se describe en el presente documento.

5 Se proporcionan nanopartículas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en un procedimiento para la producción de un efecto antiinvasivo mediante la contención y/o el tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que necesite tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de nanopartículas terapéuticas, tal como se describe en el presente documento.

Se proporcionan nanopartículas terapéuticas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un animal de sangre caliente, tal como el hombre.

10 Se proporcionan nanopartículas, tal como se describen en el presente documento, para su uso en un procedimiento para la prevención o el tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un animal de sangre caliente. tal como el hombre, que necesite tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de nanopartículas terapéuticas, tal como se describe en el presente documento.

Breve descripción de los dibujos

15 La Figura 1 representa una representación pictórica de una realización de una nanopartícula desvelada.

La Figura 2 es un diagrama de flujo de un procedimiento de emulsión para la formación de una nanopartícula desvelada.

La Figura 3A es un diagrama de flujo de un procedimiento de emulsión desvelado.

La Figura 3B es un diagrama de flujo de un procedimiento de emulsión desvelado.

20 La Figura 4 representa perfiles de liberación *in vitro* de diversas formulaciones de nanopartículas.

Descripción detallada

En el presente documento, se describe un procedimiento para la preparación de nanopartículas terapéuticas, en el que el procedimiento incluye combinar un agente terapéutico con un ácido orgánico. En algunas realizaciones, la inclusión de un ácido orgánico en un procedimiento de preparación de nanopartículas puede dar como resultado nanopartículas que contienen una carga sustancialmente alta de un agente terapéutico. Además, en determinadas realizaciones, las nanopartículas que incluyen o se preparan en presencia del ácido orgánico pueden presentar propiedades mejoradas de liberación controlada. Por ejemplo, las nanopartículas desveladas pueden liberar más lentamente el agente terapéutico en comparación con las nanopartículas preparadas en ausencia del ácido orgánico. En el presente documento, también se describen nanopartículas terapéuticas preparadas mediante el procedimiento desvelado.

30 Tal como apreciará un experto habitual en la materia, las formulaciones de nanopartículas de algunos agentes terapéuticos resultan más problemáticas que de otros agentes terapéuticos. Por ejemplo, el intento de preparar nanopartículas que contengan un agente terapéutico problemático puede dar como resultado nanopartículas con carga insuficiente de fármaco, propiedades de liberación deficientemente controlada, partículas que son demasiado grandes, etc. De manera sorprendente, se ha descubierto que la inclusión de un ácido (por ejemplo, ácido trifluoroacético) en un procedimiento para la preparación de nanopartículas terapéuticas puede mejorar las propiedades de las nanopartículas terapéuticas resultantes. Tal como se ha analizado anteriormente, en algunas realizaciones, el uso de un ácido en un procedimiento desvelado puede conferir propiedades ventajosas a las nanopartículas terapéuticas preparadas mediante el procedimiento, tales como, por ejemplo, propiedades de carga de fármaco y/o liberación controlada mejoradas. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que el ácido confiere propiedades ventajosas a las nanopartículas desveladas mediante la mejora de la solubilidad del agente terapéutico en disolventes usados en la preparación de las nanopartículas terapéuticas.

45 El ácido es un ácido carboxílico halogenado (por ejemplo, un ácido monocarboxílico, ácido dicarboxílico, ácido tricarboxílico o similares). En algunos casos, un ácido contemplado puede incluir una mezcla de dos o más ácidos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un ácido contemplado puede comprender una mezcla de dos ácidos, en algunas realizaciones, una mezcla de tres ácidos, en algunas realizaciones, una mezcla de cuatro ácidos, o, en algunas realizaciones, una mezcla de cinco ácidos.

50 El ácido carboxílico desvelado es un ácido carboxílico alifático (por ejemplo, un ácido carboxílico que tiene una cadena de hidrocarburos cíclica o acíclica, ramificada o no ramificada). El ácido carboxílico es un ácido carboxílico halogenado (por ejemplo, ácido trifluoroacético).

Los ácidos carboxílicos ejemplares pueden incluir un ácido graso sustituido o no sustituido (por ejemplo, ácido graso C₈-C₅₀). En algunos casos, el ácido graso puede ser un ácido graso C₁₀-C₂₀. En otros casos, el ácido graso puede ser un ácido graso C₁₅-C₂₀. El ácido graso puede estar, en algunos casos, saturado. En otras realizaciones, el ácido graso puede estar insaturado. Por ejemplo, el ácido graso puede ser un ácido graso monoinsaturado o un ácido graso

poliinsaturado. En algunas realizaciones, un enlace doble de un grupo ácido graso insaturado puede estar en la conformación *cis*. En algunas realizaciones, un enlace doble de un ácido graso insaturado puede estar en la conformación *trans*. Los ejemplos no limitantes de ácidos carboxílicos halogenados incluyen ácido fluoroacético, ácido difluoroacético, ácido trifluoroacético, ácido cloroacético, ácido dicloroacético y ácido tricloroacético y combinaciones de los mismos.

En algunos casos, un ácido contemplado puede tener un peso molecular de menos de aproximadamente 1.000 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 500 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 400 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 300 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 250 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 200 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 150 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 100 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 90 Da, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 85 Da y, en algunas realizaciones, de menos de aproximadamente 75 Da. En algunos casos, el ácido puede tener un peso molecular de entre aproximadamente 40 Da y aproximadamente 1.000 Da, en algunas realizaciones, de entre aproximadamente 91 Da y aproximadamente 1.000 Da, en algunas realizaciones, de entre aproximadamente 95 Da y aproximadamente 1.000 Da, en algunas realizaciones, de entre aproximadamente 100 Da y aproximadamente 1.000 Da, en algunas realizaciones, de entre aproximadamente 91 Da y aproximadamente 150 Da, en algunas realizaciones, de entre aproximadamente 95 Da y aproximadamente 150 Da y, en algunas realizaciones, de entre aproximadamente 100 Da y aproximadamente 150 Da.

En algunas realizaciones, un ácido se puede elegir, al menos en parte, sobre la base de la resistencia del ácido. Por ejemplo, el ácido puede tener una constante de disociación ácida en agua (pK_a) de aproximadamente -15 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones, de aproximadamente -3 a aproximadamente 5, en algunas realizaciones, de aproximadamente -3 a aproximadamente 4, en algunas realizaciones, de aproximadamente -3 a aproximadamente 3,5, en algunas realizaciones, de aproximadamente -3 a aproximadamente 3, en algunas realizaciones, de aproximadamente -3 a aproximadamente 2, en algunas realizaciones, de aproximadamente -3 a aproximadamente 1, en algunas realizaciones, de aproximadamente -3 a aproximadamente 0,5, en algunas realizaciones, de aproximadamente -0,5 a aproximadamente 0,5, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones, de aproximadamente 2 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones, de aproximadamente 3 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6, en algunas realizaciones, de aproximadamente 4 a aproximadamente 5,5, en algunas realizaciones, de aproximadamente 4 a aproximadamente 5, y, en algunas realizaciones, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 5, determinado a 25 °C. En algunas realizaciones, el ácido puede tener un pK_a de menos de aproximadamente 7, de menos de aproximadamente 5, de menos de aproximadamente 3,5, de menos de aproximadamente 3, de menos de aproximadamente 2, de menos de aproximadamente 1 o de menos de aproximadamente 0, determinado a 25 °C.

En algunas realizaciones, un ácido contemplado puede tener una temperatura de transición de fase que resulta ventajosa, por ejemplo, para la mejora de las propiedades de las nanopartículas terapéuticas o para la reducción de la concentración (por ejemplo, al vacío) del ácido en las nanopartículas terapéuticas finales. Por ejemplo, el ácido puede tener un punto de ebullición de menos de aproximadamente 300 °C o, en algunos casos, de menos de aproximadamente 100 °C. En determinadas realizaciones, el ácido puede tener un punto de ebullición de entre aproximadamente 50 °C y aproximadamente 110 °C o, en algunos casos, entre aproximadamente 60 °C y aproximadamente 90 °C. En algunos casos, el ácido puede tener un punto de fusión de menos de aproximadamente 15 °C, en algunos casos, de menos de aproximadamente 10 °C, o, en algunos casos, de menos de aproximadamente 0 °C. En determinadas realizaciones, el ácido puede tener un punto de fusión de entre aproximadamente -30 °C y aproximadamente 0 °C o, en algunos casos, de entre aproximadamente -20 °C y aproximadamente -10 °C.

Por ejemplo, se puede elegir un ácido para su uso en procedimientos y nanopartículas desvelados en el presente documento, al menos en parte, sobre la base de la solubilidad del agente terapéutico en un disolvente que comprende el ácido. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un agente terapéutico disuelto en un disolvente que comprende el ácido puede tener una solubilidad de entre aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 75 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml o aproximadamente 125 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml. En algunas realizaciones, un agente terapéutico disuelto en un disolvente que comprende el ácido puede tener una solubilidad mayor de aproximadamente 50 mg/ml o mayor de aproximadamente 100 mg/ml. En algunas realizaciones, un agente terapéutico disuelto en un disolvente que comprende el ácido (por ejemplo, una primera solución que consiste en el agente terapéutico, el disolvente y el ácido) puede tener una solubilidad de al menos aproximadamente 2 veces mayor, en algunas realizaciones, al menos aproximadamente 5 veces mayor, en algunas realizaciones, al menos aproximadamente 10 veces mayor, en algunas realizaciones, al menos aproximadamente 20 veces mayor, en algunas realizaciones, de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 20 veces mayor, o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 10 veces a aproximadamente 20 veces mayor que cuando el agente terapéutico se disuelve en un disolvente que no contiene el ácido (por ejemplo, una segunda solución que consiste en el agente terapéutico y el disolvente). Tal como se analiza con más detalle más adelante, la concentración de ácido en una solución de fármaco puede ser entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 10 % o, en algunas realizaciones, entre aproximadamente el 2,5 % y aproximadamente el 3,5 %.

Tal como se analiza con más detalle más adelante, en algunos casos, la concentración de ácido en una solución de fármaco (es decir, una solución de agente terapéutico) puede ser entre aproximadamente el 1 por ciento en peso y aproximadamente el 10 por ciento en peso o, en algunas realizaciones, entre aproximadamente el 2,5 por ciento en peso y aproximadamente el 3,5 por ciento en peso. En determinadas realizaciones, la concentración de ácido en una solución de fármaco puede ser de al menos aproximadamente el 1 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de al menos aproximadamente el 2 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de al menos aproximadamente el 3 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de al menos aproximadamente el 10 por ciento en peso.

En algunos casos, una solución que contiene el agente terapéutico se puede preparar por separado de una solución que contiene el polímero y, después, las dos soluciones se pueden combinar antes de la formulación de nanopartículas. Por ejemplo, en una realización, una primera solución contiene el agente terapéutico y el ácido y una segunda solución contiene el polímero y, opcionalmente, el ácido. Las formulaciones en las que la segunda solución no contiene el ácido pueden resultar ventajosas, por ejemplo, para la disminución de la cantidad de ácido usado en un procedimiento o, en algunos casos, para la disminución del tiempo de contacto entre el ácido y, por ejemplo, un polímero que puede degradarse en presencia del ácido. En otros casos, se puede preparar una solución individual que contenga el agente terapéutico, el polímero y el ácido.

En determinadas realizaciones, el ácido puede tener una solubilidad de al menos aproximadamente 100 mg por 100 ml de agua, al menos aproximadamente 1 g por 100 ml de agua, al menos aproximadamente 10 g por 100 ml de agua o al menos aproximadamente 50 g por 100 ml de agua, determinado a 25 °C. En otras realizaciones, el ácido puede tener una solubilidad de entre aproximadamente 100 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 1 g por 100 ml de agua, entre aproximadamente 0,5 g por 100 ml de agua a aproximadamente 2 g por 100 ml de agua, entre aproximadamente 1 g por 100 ml de agua a aproximadamente 10 g por 100 ml de agua o entre aproximadamente 5 g por 100 ml de agua a aproximadamente 50 g por 100 ml de agua, determinado a 25 °C. En algunas realizaciones, el ácido puede ser miscible con agua a 25 °C.

En algunas realizaciones, las nanopartículas desveladas pueden estar esencialmente libres del ácido usado durante la preparación de las nanopartículas. En otras realizaciones, las nanopartículas desveladas pueden comprender el ácido. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el contenido de ácido en las nanopartículas desveladas puede ser entre aproximadamente el 0,0001 % en peso a aproximadamente el 0,5 % en peso, entre aproximadamente el 0,001 % en peso a aproximadamente el 0,5 % en peso, entre aproximadamente el 0,1 % en peso a aproximadamente el 0,5 % en peso, entre aproximadamente el 0,0001 % en peso a aproximadamente el 0,4 % en peso, entre aproximadamente el 0,0001 % en peso a aproximadamente el 0,3 % en peso, entre aproximadamente el 0,0001 % en peso a aproximadamente el 0,2 % en peso, entre aproximadamente el 0,0001 % en peso a aproximadamente el 0,1 % en peso, entre aproximadamente el 0,0001 % en peso a aproximadamente el 0,01 % en peso o entre aproximadamente el 0,0001 % en peso a aproximadamente el 0,001 % en peso.

En algunas realizaciones, las nanopartículas desveladas liberan sustancialmente de manera inmediata (por ejemplo, durante aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 30 minutos, de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 25 minutos, de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 30 minutos, de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 1 hora, aproximadamente 1 hora o aproximadamente 24 horas) menos de aproximadamente el 2 %, menos de aproximadamente el 5 %, menos de aproximadamente el 10 %, menos de aproximadamente el 15 %, menos de aproximadamente el 20 %, menos de aproximadamente el 25 % o menos de aproximadamente el 30 % del agente terapéutico, por ejemplo, cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a temperatura ambiente (por ejemplo, 25 °C) y/o a 37 °C. En determinadas realizaciones, las nanopartículas desveladas que comprenden un agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución de tampón de fosfato), por ejemplo, a 25 °C y/o a 37 °C, a una velocidad que corresponde sustancialmente entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 50 %, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 25 %, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 15 %, o, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 10 %, del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 1 hora. En algunas realizaciones, las nanopartículas desveladas que comprenden un agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución de tampón de fosfato), por ejemplo, a 25 °C y/o a 37 °C, a una velocidad que corresponde sustancialmente entre aproximadamente el 10 y aproximadamente el 70 %, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 45 %, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 35 %, o, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 25 %, del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 4 horas.

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

Las nanopartículas desveladas en el presente documento incluyen uno, dos, tres o más polímeros biocompatibles y/o biodegradables. Por ejemplo, las nanopartículas desveladas pueden incluir de aproximadamente el 40 a aproximadamente el 99,8 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 50 a aproximadamente

- el 99,8 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 50 a aproximadamente el 99,5 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 50 a aproximadamente el 98 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 40 a aproximadamente el 94 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 50 a aproximadamente el 94 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 60 a aproximadamente el 96 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 60 a aproximadamente el 85 por ciento en peso, y, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 65 a aproximadamente el 85 por ciento en peso de uno o más copolímeros de bloques, que incluyen un polímero biodegradable y poli(etilenglicol) (PEG), y de aproximadamente el 0 a aproximadamente el 50 por ciento en peso de un homopolímero biodegradable.
- 5 Las nanopartículas desveladas incluyen un agente terapéutico. Por ejemplo, una composición que comprende tales nanopartículas puede ser capaz de administrar una cantidad eficaz del agente terapéutico a, por ejemplo, un área del cuerpo diana de un paciente. Se puede usar cualquier agente terapéutico adecuado en las nanopartículas desveladas.
- 10 En algunas realizaciones, las nanopartículas desveladas pueden incluir de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 35 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 20 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 10 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 5 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,3 a aproximadamente el 5 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,4 a aproximadamente el 5 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 5 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,75 a aproximadamente el 5 por ciento en peso, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 5 por ciento en peso, de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 5 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,3 a aproximadamente el 3 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,4 a aproximadamente el 3 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 3 por ciento en peso, de aproximadamente el 0,75 a aproximadamente el 3 por ciento en peso, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 3 por ciento en peso, de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 3 por ciento en peso, de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 10 por ciento en peso, de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 20 por ciento en peso, de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 30 por ciento en peso, de aproximadamente el 3 a aproximadamente el 40 por ciento en peso, de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 15 por ciento en peso, de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 30 por ciento en peso, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30 por ciento en peso, de aproximadamente el 15 al 25 por ciento en peso o incluso de aproximadamente el 4 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de un agente terapéutico.
- 15 20 25 30 Las nanopartículas desveladas se preparan mediante un procedimiento que incluye un ácido carboxílico alifático halogenado. Tales nanopartículas pueden tener una carga de fármaco más alta que las nanopartículas preparadas mediante un procedimiento sin ácido. Por ejemplo, la carga de fármaco (por ejemplo, en peso) de las nanopartículas desveladas preparadas mediante un procedimiento que comprende el ácido puede ser entre aproximadamente 2 veces a aproximadamente 10 veces mayor que las nanopartículas desveladas preparadas mediante un procedimiento sin el ácido. En algunas realizaciones, la carga de fármaco (en peso) de las nanopartículas desveladas preparadas mediante un primer procedimiento que comprende el ácido puede ser al menos aproximadamente 2 veces mayor, al menos aproximadamente 3 veces mayor, al menos aproximadamente 4 veces mayor, al menos aproximadamente 5 veces mayor o al menos aproximadamente 10 veces mayor que las nanopartículas desveladas preparadas mediante un segundo procedimiento, en la que el segundo procedimiento es idéntico al primer procedimiento, excepto que el segundo procedimiento no incluye el ácido.
- 35 40 En una realización, las nanopartículas terapéuticas desveladas pueden incluir un ligando de direccionamiento, por ejemplo, un ligando de PSMA de bajo peso molecular eficaz para la dirección o el enlace al antígeno de membrana específico de la próstata. En determinadas realizaciones, el ligando de bajo peso molecular se conjuga con un polímero y las nanopartículas comprenden una determinada relación de polímero conjugado con ligando (por ejemplo, PLA-PEG-Ligando) con respecto a polímero no funcionalizado (por ejemplo, PLA-PEG o PLGA-PEG). Las nanopartículas pueden tener una relación optimizada de estos dos polímeros, de tal manera que una cantidad eficaz de ligando se asocia a las nanopartículas para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno, tal como cáncer. Por ejemplo, una densidad de ligando aumentada puede aumentar el enlace a la diana (enlace celular/captación por diana), haciendo que la nanopartícula sea "específica para la diana". Como alternativa, una determinada concentración de polímero no funcionalizado (por ejemplo, copolímero PLGA-PEG no funcionalizado) en la nanopartícula puede controlar la inflamación y/o la inmunogenia (es decir, la capacidad de provocar una respuesta inmunitaria) y permitir que la nanopartícula tenga una semivida de circulación que sea adecuada para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno (por ejemplo, cáncer de próstata). Además, el polímero no funcionalizado puede disminuir, en algunas realizaciones, la velocidad de depuración del sistema circulatorio a través del sistema reticuloendotelial (RES en inglés). Por tanto, el polímero no funcionalizado puede proporcionar a la nanopartícula características que pueden permitir que la partícula se desplace a través del cuerpo tras la administración. En algunas realizaciones, un polímero no funcionalizado puede equilibrar una concentración de ligando, de otro modo alta, que de otro modo puede acelerar la depuración por el sujeto, dando como resultado una menor administración a las células diana.
- 45 50 55 En algunas realizaciones, las nanopartículas desveladas en el presente documento pueden incluir polímeros funcionalizados conjugados con un ligando que constituyen aproximadamente el 0,1 - 50, por ejemplo, 0,1 - 30, por ejemplo, 0,1 - 20, por ejemplo, 0,1 - 10 por ciento en moles de la composición de polímero completa de las nanopartículas (es decir, polímero funcionalizado + no funcionalizado). También se desvelan en el presente
- 60

documento, en otra realización, nanopartículas que incluyen un polímero conjugado (por ejemplo, de manera covalente con (es decir, a través de un enlazador (por ejemplo, un enlazador de alquileo)) o un enlace) con uno o más ligandos de bajo peso molecular, en las que el porcentaje en peso del ligando de bajo peso molecular con respecto al polímero total es de entre aproximadamente 0,001 y 5, por ejemplo, entre aproximadamente 0,001 y 2, por ejemplo, entre aproximadamente 0,001 y 1.

En algunas realizaciones, las nanopartículas desveladas pueden ser capaces de enlazarse de manera eficaz a o asociarse de otro modo con una entidad biológica, por ejemplo, un componente de membrana particular o un receptor de superficie celular. La dirección de un agente terapéutico (por ejemplo, a un tipo de tejido o célula particular, a un tejido enfermo específico, pero no a un tejido normal, etc.) resulta deseable para el tratamiento de enfermedades específicas de tejidos, tales como cánceres de tumores sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata). Por ejemplo, en contraste con la administración sistémica de un agente anticancerígeno citotóxico, las nanopartículas desveladas en el presente documento pueden prevenir sustancialmente que el agente provoque la muerte de células sanas. De manera adicional, las nanopartículas desveladas pueden permitir la administración de una dosis más baja del agente (en comparación con una cantidad eficaz de agente administrada sin las nanopartículas o formulaciones desveladas), lo que puede reducir los efectos secundarios no deseables comúnmente asociados a la quimioterapia tradicional.

En general, una "nanopartícula" se refiere a cualquier partícula que tiene un diámetro de menos de 1.000 nm, por ejemplo, de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 200 nm. Las nanopartículas terapéuticas desveladas pueden incluir nanopartículas que tienen un diámetro de aproximadamente 60 a aproximadamente 120 nm, o de aproximadamente 70 a aproximadamente 120 nm, o de aproximadamente 80 a aproximadamente 120 nm, o de aproximadamente 90 a aproximadamente 120 nm, o de aproximadamente 100 a aproximadamente 120 nm, o de aproximadamente 60 a aproximadamente 130 nm, o de aproximadamente 70 a aproximadamente 130 nm, o de aproximadamente 80 a aproximadamente 130 nm, o de aproximadamente 90 a aproximadamente 130 nm, o de aproximadamente 100 a aproximadamente 130 nm, o de aproximadamente 110 a aproximadamente 130 nm, o de aproximadamente 60 a aproximadamente 140 nm, o de aproximadamente 70 a aproximadamente 140 nm, o de aproximadamente 80 a aproximadamente 140 nm, o de aproximadamente 90 a aproximadamente 140 nm, o de aproximadamente 100 a aproximadamente 140 nm, o de aproximadamente 110 a aproximadamente 140 nm, o de aproximadamente 60 a aproximadamente 150 nm, o de aproximadamente 70 a aproximadamente 150 nm, o de aproximadamente 80 a aproximadamente 150 nm, o de aproximadamente 90 a aproximadamente 150 nm, o de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 nm, o de aproximadamente 110 a aproximadamente 150 nm o de aproximadamente 120 a aproximadamente 150 nm.

Polímeros

Las nanopartículas comprenden una matriz de polímeros y un agente terapéutico. En algunas realizaciones, un agente terapéutico y/o resto de direccionamiento (es decir, un ligando de PSMA de bajo peso molecular) se puede asociar a al menos parte de la matriz polimérica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un resto de direccionamiento (por ejemplo, ligando) se puede asociar de manera covalente a la superficie de una matriz polimérica. En algunas realizaciones, la asociación covalente se media mediante un enlazador. El agente terapéutico puede asociarse a la superficie de, encapsularse dentro, rodearse mediante y/o dispersarse por toda la matriz polimérica.

Se conoce una amplia diversidad de polímeros y procedimientos para la formación de partículas a partir de los mismos en la técnica de la administración de fármacos. En algunas realizaciones, la divulgación se dirige a nanopartículas con al menos dos macromoléculas, en la que la primera macromolécula comprende un primer polímero enlazado a un ligando de bajo peso molecular (por ejemplo, resto de direccionamiento); y comprendiendo la segunda macromolécula un segundo polímero que no está enlazado a un resto de direccionamiento. Las nanopartículas pueden incluir, opcionalmente, uno o más polímeros no funcionalizados adicionales.

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

El término "polímero", tal como se usa en el presente documento, tiene su significado habitual, tal como se usa en la técnica, es decir, una estructura molecular que comprende una o más unidades de repetición (monómeros), conectadas mediante 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 restos adicionales en el polímero, por ejemplo, restos biológicos, tales como aquellos descritos más adelante. Si está presente más de un tipo de unidad de repetición dentro del polímero, entonces se dice que el polímero es un "copolímero". Se debe entender que en cualquier realización que emplee un polímero, el polímero que se emplee puede ser un copolímero en algunos casos. Las unidades de repetición que forman el copolímero se pueden disponer de cualquier manera. Por ejemplo, las unidades de repetición se pueden disponer en un orden aleatorio, en un orden alternativo o como un copolímero de bloques, es decir, que comprende una o más regiones, comprendiendo, cada una, una primera unidad de repetición (por ejemplo, un primer bloque) y una o más regiones, comprendiendo, cada una, una segunda unidad de repetición (por ejemplo, un segundo bloque),

etc. Los copolímeros de bloques pueden tener dos (un copolímero dibloque), tres (un copolímero tribloque) o más números de distintos bloques.

Las partículas desveladas pueden incluir copolímeros, que, en algunas realizaciones, describen dos o más polímeros (tales como aquellos descritos en el presente documento) que se han asociado entre sí, normalmente mediante el enlace covalente de los dos o más polímeros entre sí. Por tanto, un copolímero puede comprender un primer polímero y un segundo polímero, que se han conjugado entre sí para formar un copolímero de bloques en el que el primer polímero puede ser un primer bloque del copolímero de bloques y el segundo polímero puede ser un segundo bloque del copolímero de bloques. Por supuesto, aquellos expertos habituales en la materia comprenderán que un copolímero de bloques puede contener, en algunos casos, múltiples bloques de polímero y que un "copolímero de bloques", tal como se usa en el presente documento, no está limitado a solo copolímeros de bloques que tienen solo un único primer bloque y un único segundo bloque. Por ejemplo, un copolímero de bloques puede comprender un primer bloque que comprende un primer polímero, un segundo bloque que comprende un segundo polímero y un tercer bloque que comprende un tercer polímero o el primer polímero, etc. En algunos casos, los copolímeros de bloques pueden contener cualquier número de primeros bloques de un primer polímero y segundos bloques de un segundo polímero (y, en determinados casos, terceros bloques, cuartos bloques, etc.). Además, se debe indicar que los copolímeros de bloques también se pueden formar, en algunos casos, a partir de otros copolímeros de bloques. Por ejemplo, un primer copolímero de bloques se puede conjugar con otro polímero (que puede ser un homopolímero, un biopolímero, otro copolímero de bloques, etc.), para formar un nuevo copolímero de bloques que contiene múltiples tipos de bloques y/o con otros restos (por ejemplo, con restos no poliméricos).

En algunas realizaciones, el polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) puede ser anfífilo, es decir, que tiene una parte hidrófila y una parte hidrófoba o una parte relativamente hidrófila y una parte relativamente hidrófoba. Un polímero hidrófilo puede ser uno que atrae, en general, agua y un polímero hidrófobo puede ser uno que repele, en general, agua. Un polímero hidrófilo o hidrófobo se puede identificar, por ejemplo, mediante la preparación de una muestra del polímero y la medición de su ángulo de contacto con agua (típicamente, el polímero tendrá un ángulo de contacto de menos de 60°, mientras que un polímero hidrófobo tendrá un ángulo de contacto mayor de aproximadamente 60°). En algunos casos, la hidrofiliidad de dos o más polímeros se puede medir 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 inferior al del segundo polímero.

En un conjunto de realizaciones, un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) contemplado en el presente documento incluye un polímero biocompatible, es decir, el polímero que no induce típicamente una respuesta adversa cuando se inserta o inyecta en un sujeto vivo, por ejemplo, sin inflamación y/o rechazo agudo significativo del polímero por el sistema inmunitario, por ejemplo, mediante una respuesta de linfocitos T. Por consiguiente, las partículas terapéuticas contempladas en el presente documento pueden ser no inmunogénicas. El término no inmunogénico/a, 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 en circulación, linfocitos T o células inmunitarias reactivas y que normalmente no provoca en el individuo una respuesta inmunitaria contra sí mismo.

La biocompatibilidad se refiere típicamente al rechazo agudo de 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 de tal manera que el rechazo del material por el sistema inmunitario no puede controlarse de manera adecuada y, a menudo, es de tal grado que el material debe retirarse del sujeto. Un ensayo simple para determinar la biocompatibilidad puede ser exponer un polímero a células *in vitro*; los polímeros biocompatibles son polímeros que típicamente no darán como resultado una muerte celular significativa a concentraciones moderadas, por ejemplo, a concentraciones de 50 microgramos/ 10⁶ células. Por ejemplo, un polímero biocompatible puede provocar menos de aproximadamente el 20 % de muerte celular cuando se expone a células, tales como fibroblastos o células epiteliales, incluso si se somete a fagocitosis o se absorben, de otro modo, mediante tales células. Los ejemplos no limitantes de polímeros biocompatibles que pueden ser útiles en diversas realizaciones incluyen polidioxanona (PDO), polihidroxialcanoato, polihidroxibutirato, poli(sebacato de glicerol), poliglicólido (es decir, ácido poli(glicólico)) (PGA), poliláctido (es decir, ácido poli(láctico)) (PLA), ácido poli(láctico)-co-ácido poli(glicólico) (PLGA), policaprolactona o copolímeros o derivados que incluyen estos y/u otros polímeros.

En determinadas realizaciones, los polímeros biocompatibles contemplados pueden ser biodegradables, es decir, el polímero es capaz de degradarse, química y/o biológicamente, dentro de un entorno fisiológico, tal como dentro del organismo. Tal como se usa en el presente documento, los polímeros "biodegradables" son aquellos que, cuando se introducen en células, se descomponen mediante la maquinaria celular (biológicamente degradables) y/o mediante un procedimiento químico, tal como hidrólisis, (químicamente degradables) en componentes que las células pueden o bien reusar o bien eliminar sin un efecto tóxico significativo sobre las células. En una realización, el polímero biodegradable y sus subproductos de degradación pueden ser biocompatibles.

Las partículas desveladas en el presente documento pueden o no contener PEG. Además, determinadas realizaciones pueden dirigirse a copolímeros que contienen poli(éster-éter)es, por ejemplo, polímeros que tienen unidades de repetición unidas mediante enlaces de éster (por ejemplo, enlaces R-C(O)-O-R') y enlaces de éter (por ejemplo, enlaces R-O-R'). En algunas realizaciones, un polímero biodegradable, tal como un polímero hidrolizable, que contiene

grupos ácido carboxílico, se puede conjugar con unidades de repetición de poli(etilen glicol) para formar un poli(éster-éter). Un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) que contiene unidades de repetición de poli(etilen glicol) también se puede denominar como polímero "PEGilado".

5 Por ejemplo, un polímero contemplado puede ser uno que se hidroliza espontáneamente tras exponerse al agua (por ejemplo, dentro de un sujeto), el polímero se puede degradar tras la exposición al calor (por ejemplo, a temperaturas de aproximadamente 37 °C). La degradación de un polímero se puede producir a velocidades variables, dependiendo del polímero o copolímero usado. Por ejemplo, la semivida del polímero (el tiempo en el que el 50 % del polímero se puede degradar en monómeros y/u otros restos no poliméricos) puede ser del orden de días, semanas, meses o años, dependiendo del polímero. Los polímeros se pueden degradar biológicamente, por ejemplo, mediante actividad enzimática o maquinaria celular, en algunos casos, por ejemplo, a través de la exposición a una lisozima (por ejemplo, que tengan un pH relativamente bajo). En algunos casos, los polímeros se pueden descomponer en monómeros y/u otros restos no poliméricos que las células pueden o bien reusar o bien eliminar sin un efecto tóxico significativo sobre las células (por ejemplo, se puede hidrolizar poliláctido para formar ácido láctico, se puede hidrolizar poliglicólido para formar ácido glicólico, etc.).

15 En algunas realizaciones, 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(láctido-co-glicólico), colectivamente denominadas en el presente documento como "PLGA"; y homopolímeros que comprenden unidades de ácido glicólico, denominadas en el presente documento como "PGA", y unidades de ácido láctico, tales como ácido poli-L-láctico, ácido poli-D-láctico, ácido poli-D,L-láctico, poli-L-láctido, poli-D-láctido y poli-D,L-láctido, colectivamente denominadas en el presente documento como "PLA". En algunas realizaciones, los polímeros ejemplares incluyen, por ejemplo, polihidroxiácidos; polímeros PEGilados y copolímeros de láctido y glicólido (por ejemplo, PLA PEGilado, PGA PEGilado, PLGA PEGilado y derivados de los mismos). En algunas realizaciones, los poliésteres incluyen, por ejemplo, polianhídridos, poli(orto éster), poli(orto éster) PEGilado, poli(caprolactona), poli(caprolactona) PEGilada, polilisina, polilisina PEGilada, poli(etilen imina), poli(etilen imina) PEGilada, poli(L-láctido-co-L-lisina), poli(éster de serina), poli(éster de 4-hidroxi-L-prolina), poli[ácido α -(4-aminobutil)-L-glicólico] y derivados de los mismos.

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

30 En algunas realizaciones, los polímeros pueden ser uno o más polímeros acrílicos. En determinadas realizaciones, 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 amino alquil metacrilato, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamina y ácido metacrílico, poli(metacrilato de metilo), poli(acrilamida de poli(ácido metacrílico)), copolímero de amino alquil metacrilato, copolímeros de metacrilato de glicidilo, policianoacrilatos y combinaciones que comprenden uno o más de los anteriores polímeros. El polímero acrílico puede comprender copolímeros completamente polimerizados de ésteres de ácido acrílico y metacrílico con un bajo contenido de grupos amonio cuaternario.

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

50 En algunas realizaciones, los polímeros puede ser poliésteres degradables que portan cadenas laterales catiónicas. Los ejemplos de estos poliésteres incluyen poli(L-láctido-co-L-lisina), poli(éster de serina) y poli(éster de 4-hidroxi-L-prolina).

55 Se contempla que PEG puede terminarse e incluir un grupo terminal, por ejemplo, cuando PEG no está conjugado con un ligando. Por ejemplo, PEG puede terminar en un 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 guanidinio o un imidazol. Otros grupos terminales contemplados incluyen restos azida, alquina, maleimida, aldehído, hidrazida, hidroxil amina, alcoxi amina o tiol.

Aquellos expertos habituales en la materia conocerán procedimientos y técnicas para PEGilar un polímero, por ejemplo, mediante el uso de EDC (clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida) y NHS (N-hidroxisuccinimida) para hacer reaccionar un polímero con un grupo PEG que termina en una amina, mediante técnicas

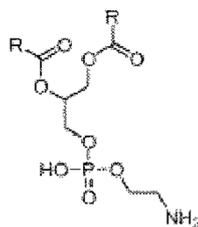
de polimerización de apertura de anillo (ROMP en inglés) o similares.

- En una realización, el peso molecular (o, por ejemplo, la relación de pesos moleculares de, por ejemplo, diferentes bloques de un copolímero) de los polímeros se puede optimizar para un tratamiento eficaz, tal como se desvela en el presente documento. Por ejemplo, el peso molecular de un polímero puede influir en la velocidad de degradación de las partículas (tal como cuando se puede ajustar el peso molecular de un polímero biodegradable), la solubilidad, la absorción de agua y la cinética de liberación del fármaco. Por ejemplo, el peso molecular del polímero (o, por ejemplo, la relación de pesos moleculares de, por ejemplo, diferentes bloques de un copolímero) se puede ajustar de tal manera que las partículas se biodegraden en el sujeto que está en tratamiento en un período de tiempo razonable (que varía de unas pocas horas a 1-2 semanas, 3-4 semanas, 5-6 semanas, 7-8 semanas, etc.). Una partícula desvelada puede comprender, por ejemplo, un copolímero dibloque de PEG y PL(G)A, en la que, por ejemplo, la parte de PEG puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 1.000-20.000, por ejemplo, aproximadamente 2.000-20.000, por ejemplo, de aproximadamente 2 a aproximadamente 10.000 y la parte de PL(G)A puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 20.000 o aproximadamente 5.000-100.000, por ejemplo, aproximadamente 20.000-70.000, por ejemplo, aproximadamente 15.000-50.000.
- Por ejemplo, en el presente documento se desvela una nanopartícula terapéutica ejemplar que incluye de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 99 por ciento en peso de copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) o copolímero de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico)-poli(etilenglicol) o de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 80 por ciento en peso, de aproximadamente el 40 a aproximadamente el 80 por ciento en peso, o de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 50 por ciento en peso o de aproximadamente el 70 a aproximadamente el 90 por ciento en peso de copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) o copolímero de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico)-poli(etilenglicol). Los copolímeros de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) pueden incluir un peso molecular promedio en número de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 kDa o de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 kDa de ácido poli(láctico) y un peso molecular promedio en número de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 o de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 10 kDa de poli(etilenglicol).
- En algunas realizaciones, el copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol) puede tener una fracción de peso molecular promedio en número de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,95, en algunas realizaciones, entre aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,9, en algunas realizaciones, entre aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,8, en algunas realizaciones, entre aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,8, en algunas realizaciones, entre aproximadamente 0,75 a aproximadamente 0,85, en algunas realizaciones, entre aproximadamente 0,8 a aproximadamente 0,9, y, en algunas realizaciones, entre aproximadamente 0,85 a aproximadamente 0,95. Se debe entender que la fracción de peso molecular promedio en número de ácido poli(láctico) se puede calcular mediante la división del peso molecular promedio en número del componente de ácido poli(láctico) del copolímero por la suma del peso molecular promedio en número del componente de ácido poli(láctico) y el peso molecular promedio en número del componente de poli(etilenglicol).
- Las nanopartículas desveladas pueden incluir, opcionalmente, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 50 por ciento en peso de ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico)-co-ácido poli(glicólico) (que no incluye PEG) o pueden incluir, opcionalmente, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 50 por ciento en peso, o de aproximadamente el 10 a aproximadamente 50 por ciento en peso o de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 50 por ciento en peso de ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico)-co-ácido poli(glicólico). Por ejemplo, el ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico) puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 kDa o de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 kDa. El PLA ejemplar puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 kDa. El PLGA ejemplar puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 kDa.
- Las nanopartículas terapéuticas pueden contener, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 20 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 15 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 15 a aproximadamente el 20 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 15 a aproximadamente el 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 30 por ciento en peso, o, en algunas realizaciones, de aproximadamente el 25 a aproximadamente el 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), en las que el poli(etilenglicol) puede estar presente como copolímero de ácido poli(láctico)-poli(etilenglicol), copolímero de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico)-poli(etilenglicol) u homopolímero de poli(etilenglicol).
- En determinadas realizaciones, los polímeros de las nanopartículas se pueden conjugar con un lípido. El polímero puede ser, por ejemplo, un PEG terminado en lípido. Tal como se describe más adelante, la parte de lípido del polímero se puede usar para el autoensamblaje con otro polímero, facilitando la formación de una nanopartícula. Por ejemplo, un polímero hidrófilo se podría conjugar con un lípido que se autoensamblará con un polímero hidrófobo.
- En algunas realizaciones, los lípidos son aceites. En general, se puede conjugar cualquier aceite conocido en la técnica con los polímeros usados en las nanopartículas. En algunas realizaciones, un aceite puede comprender uno o más

5 grupos ácido graso o sales de los mismos. En algunas realizaciones, un grupo ácido graso puede comprender hidrocarburos digeribles, de cadena larga (por ejemplo, C₈-C₅₀), sustituidos o no sustituidos. En algunas realizaciones, un grupo ácido graso puede ser un ácido graso C₁₀-C₂₀ o una sal del mismo. En algunas realizaciones, un grupo de ácido graso puede ser un ácido graso C₁₅-C₂₀ o una sal del mismo. En algunas realizaciones, el ácido graso puede ser insaturado. En algunas realizaciones, un grupo ácido graso puede ser monoinsaturado. En algunas realizaciones, un grupo ácido graso puede ser poliinsaturado. En algunas realizaciones, un enlace doble de un grupo ácido graso insaturado puede estar en la conformación *cis*. En algunas realizaciones, un enlace doble de un ácido graso insaturado puede estar en la conformación *trans*.

10 En algunas realizaciones, un grupo ácido graso puede ser uno o más de ácido butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, araquídico, behénico o lignocérico. En algunas realizaciones, un grupo ácido graso puede ser uno o más de ácido palmitoleico, oleico, vaccénico, linoleico, alfa-linoleico, gamma-linoleico, araquidónico, gadoleico, araquidónico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico o erúxico.

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



(V)

15 y sales del mismo, en el que cada R es, de manera independiente, alquilo C₁₋₃₀. En una realización de Fórmula V, el lípido es 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE) y sales de la misma, por ejemplo, la sal de sodio.

20 En una realización, los restos de direccionamiento de molécula pequeña opcionales están enlazados, por ejemplo, enlazados de manera covalente, al componente de lípido de la nanopartícula. Por ejemplo, en el presente documento se proporciona una nanopartícula que comprende un agente terapéutico, una matriz polimérica que comprende polímeros funcionalizados y no funcionalizados, opcionalmente, un lípido y, opcionalmente, un ligando de direccionamiento de PSMA de bajo peso molecular, en la que el ligando de direccionamiento está enlazado, por ejemplo, enlazado de manera covalente, al componente de lípido de la nanopartícula. En una realización, el componente de lípido que está enlazado al resto de direccionamiento de bajo peso molecular es de Fórmula V. En otra realización, se proporciona una nanopartícula específica para la diana que comprende un agente terapéutico, una matriz polimérica, DSPE y un ligando de direccionamiento de PSMA de bajo peso molecular, en la que el ligando está enlazado, por ejemplo, enlazado de manera covalente, a DSPE. Por ejemplo, las nanopartículas de la invención pueden comprender una matriz polimérica que comprende PLGA-DSPE-PEG-Ligando.

Restos de direccionamiento

30 En el presente documento se proporcionan nanopartículas que pueden incluir un resto de direccionamiento opcional, es decir, un resto capaz de enlazarse a, o de otro modo, asociarse a una entidad biológica, por ejemplo, un componente de membrana, un receptor de superficie celular, un antígeno de membrana específico de la próstata o similares. Un resto de direccionamiento presente sobre 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. Como tal, la nanopartícula puede ser entonces "específica para la diana". El fármaco u otra carga útil puede entonces, en algunos casos, liberarse desde la partícula y dejarse interactuar localmente con el sitio de direccionamiento particular.

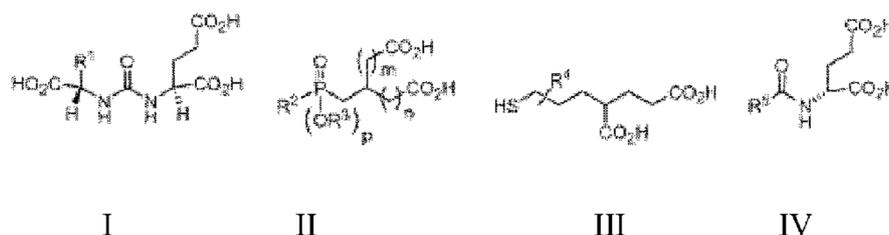
40 En una realización, una nanopartícula desvelada incluye un resto de direccionamiento que es un ligando de bajo peso molecular, por ejemplo, un ligando de PSMA de bajo peso molecular. El término "enlazar" o "enlace", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la interacción entre un par correspondiente de moléculas o partes de las mismas que presentan afinidad entre sí o capacidad de enlace, típicamente, debido al enlace o la interacción específica o no específica, que incluyen: pero sin limitación, interacciones bioquímicas, fisiológicas y/o químicas. La expresión "enlace biológico" define un tipo de interacción que se produce entre pares de moléculas que incluyen proteínas, ácidos nucleicos, glicoproteínas, carbohidratos, hormonas y similares. La expresión "pareja de enlace" se refiere a una molécula que puede someterse a enlace con una molécula particular. La expresión "enlace específico" se refiere a moléculas, tales como polinucleótidos, que son capaces de enlazarse a o reconocer una pareja de enlace (o un número limitado de parejas de enlace) a un grado sustancialmente superior que a otras entidades biológicas similares. En un conjunto de realizaciones, el resto de direccionamiento tiene una entidad (tal como se ha medido mediante una constante de disociación) de menos de aproximadamente 1 micromol, al menos aproximadamente 10 micromoles o al menos aproximadamente 100 micromoles.

Por ejemplo, una parte de direccionamiento puede hacer que las partículas se localicen en un tumor (por ejemplo, un tumor sólido), un sitio de enfermedad, un tejido, un órgano, un tipo de célula, etc. dentro del organismo de un sujeto, dependiendo del resto de direccionamiento usado. Por ejemplo, un ligando de PSMA de bajo peso molecular se puede localizar en un tumor sólido, por ejemplo, tumores o células cancerosas de mama o próstata. El sujeto puede ser un ser humano o un animal no humano. Los ejemplos de sujetos incluyen, pero sin limitación, un mamífero, tal como un perro, un gato, un caballo, un burro, un conejo, una vaca, un cerdo, una oveja, una cabra, una rata, un ratón, un conejillo de indias, un hámster, un primate, un ser humano o similares.

Los restos de direccionamiento contemplados pueden incluir moléculas pequeñas. En determinadas realizaciones, la expresión "molécula pequeña" se refiere a compuestos orgánicos, ya sea de producción 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 de carbono-carbono. En determinadas realizaciones, las moléculas pequeñas tienen un tamaño de menos de aproximadamente 2.000 g/mol. En algunas realizaciones, las moléculas pequeñas son de menos de aproximadamente 1.500 g/mol o menos de aproximadamente 1.000 g/mol. En algunas realizaciones, las moléculas pequeñas son de 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 resto de direccionamiento puede dirigirse a tumores cancerígenos de próstata, por ejemplo, un resto diana puede ser un inhibidor de la peptidasa PSMA. Estos restos también se denominan en el presente documento como "ligandos de PSMA de bajo peso molecular". Cuando se compara con la expresión en tejidos normales, la expresión de antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA en inglés) se sobreexpresa al menos 10 veces en la próstata maligna con respecto al tejido normal y el nivel de expresión de PSMA, además, se regula positivamente a medida que avanza la enfermedad en fases metastásicas (Silver y col. 1997, Clin. Cancer Res., 3:81).

En algunas realizaciones, el ligando de PSMA de bajo peso molecular es de Fórmulas I, II, III o IV:



y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos del mismo;

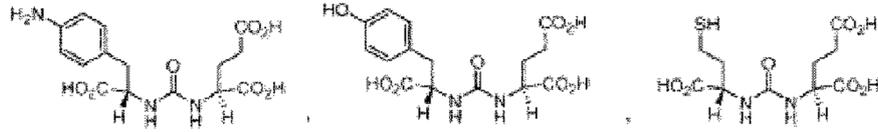
en el que m y n son, cada uno, de manera independiente, 0, 1, 2 o 3; p es 0 o 1;

R^1 , R^2 , R^4 y R^5 se seleccionan, cada uno, de manera independiente, del grupo que consiste en alquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, alquilo C_{1-10} , alquilo C_{1-6} o alquilo C_{1-4}), arilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, fenilo o piridinilo) y cualquier combinación de los mismos; y R^3 es H o alquilo C_{1-6} (por ejemplo, CH_3).

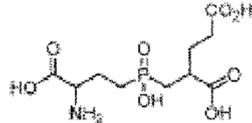
En los compuestos de Fórmulas I, II, III y IV, R^1 , R^2 , R^4 o R^5 comprenden puntos de unión a la nanopartícula, por ejemplo, un punto de unión a un polímero que forma parte de una nanopartícula desvelada, por ejemplo, PEG. El punto de unión puede estar formado por un enlace covalente, un enlace iónico, un enlace de hidrógeno, un enlace formado por adsorción, que incluye la adsorción química y la adsorción física, un enlace formado a partir de los enlaces de van der Waals o fuerzas de dispersión. Por ejemplo, si R^1 , R^2 , R^4 o R^5 se definen como un grupo anilina o alquil C_{1-6} - NH_2 , cualquier hidrógeno (por ejemplo, un amino hidrógeno) de estos grupos funcionales podría retirarse de tal manera que el ligando de PSMA de bajo peso molecular esté enlazado de manera covalente a la matriz polimérica (por ejemplo, el bloque de PEG de la matriz polimérica) de la nanopartícula. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "enlace covalente" se refiere a un enlace entre dos átomos formados al compartir al menos un par de electrones.

En realizaciones particulares de Fórmulas I, II, III o IV, R^1 , R^2 , R^4 y R^5 son, cada uno, de manera independiente, alquilo C_{1-6} o fenilo o cualquier combinación de alquilo C_{1-6} o fenilo, que están sustituidos, de manera independiente, una o más veces con OH, SH, NH_2 o CO_2H y en los que el grupo alquilo puede estar interrumpido por N(H), S u O. En otra realización, R^1 , R^2 , R^4 y R^5 son, cada uno, de manera independiente, CH_2 -Ph, $(CH_2)_2$ -SH, CH_2 -SH, $(CH_2)_2C(H)(NH_2)CO_2H$, $CH_2C(H)(NH_2)CO_2H$, $CH(NH_2)CH_2CO_2H$, $(CH_2)_2C(H)(SH)CO_2H$, $CH_2-N(H)$ -Ph, $O-CH_2$ -Ph u $O-(CH_2)_2$ -Ph, en los que cada Ph puede estar sustituido, de manera independiente, una o más veces con OH, NH_2 , CO_2H o SH. En estas fórmulas, los grupos NH_2 , OH o SH sirven como punto de unión covalente a la nanopartícula (por ejemplo, -N(H)-PEG, -O-PEG o -S-PEG).

En otra realización más, el ligando de PSMA de bajo peso molecular se selecciona del grupo que consiste en

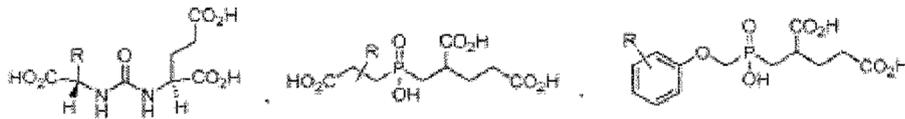


y

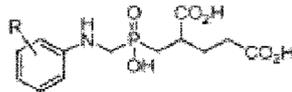


- 5 y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos del mismo y en los que los grupos NH₂, OH o SH sirven como punto de unión covalente a la nanopartícula (por ejemplo, -N(H)-PEG, -O-PEG o -S-PEG).

En otra realización, el ligando de PSMA de bajo peso molecular se selecciona del grupo que consiste en



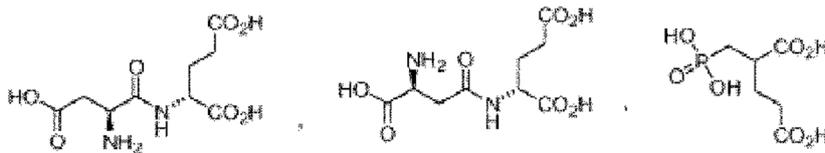
y



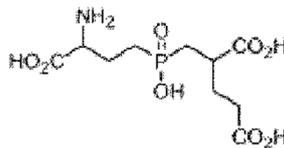
10

- y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos del mismo, en los que R se selecciona, de manera independiente, del grupo que consiste en NH₂, SH, OH, CO₂H, alquilo C₁₋₆, que está sustituido con NH₂, SH, OH o CO₂H, y fenilo, que está sustituido con NH₂, SH, OH o CO₂H, y en los que R sirve como punto de unión covalente a la nanopartícula (por ejemplo, -N(H)-PEG, -S-PEG, -O-PEG o CO₂-PEG).

- 15 En otra realización, el ligando de PSMA de bajo peso molecular se selecciona del grupo que consiste en



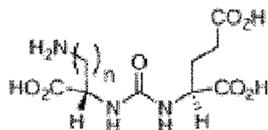
y



20

- y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos del mismo, en los que los grupos NH₂ o CO₂ sirven como punto de unión covalente a la nanopartícula (por ejemplo, -N(H)-PEG o CO₂-PEG). Estos compuestos pueden estar sustituidos, además, con NH₂, SH, OH, CO₂H, alquilo C₁₋₆, que está sustituido con NH₂, SH, OH o CO₂H, o fenilo, que está sustituido con NH₂, SH, OH o CO₂H, en los que estos grupos funcionales también pueden servir como punto de unión covalente a la nanopartícula.

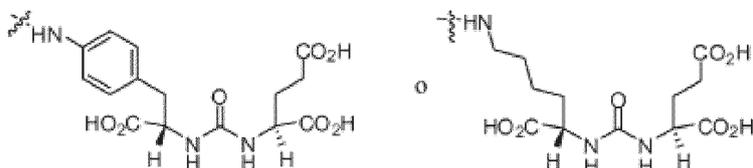
En otra realización, el ligando de PSMA de bajo peso molecular es



25

y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos del mismo, en los que n es 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En este ligando, el grupo NH₂ sirve como punto de unión covalente a la nanopartícula (por ejemplo, -N(H)-PEG).

En otra realización más, el ligando de PSMA de bajo peso molecular es



5

y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos del mismo. En particular, el compuesto de butil-amina tiene la ventaja de facilidad de síntesis, especialmente debido a su falta de anillo de benceno. Además, sin desear quedar ligados a teoría alguna, el compuesto de butil-amina probablemente se descompondrá en moléculas de producción natural (es decir, lisina y ácido glutámico), minimizando de este modo las preocupaciones de toxicidad.

10

En algunas realizaciones, los restos de direccionamiento de molécula pequeña que se pueden usar para dirigir células asociadas a tumores sólidos, tales como tumores de cáncer de próstata o de mama, incluyen inhibidores de la peptidasa PSMA, tales como 2-PMPA, GPI5232, VA-033, fenilalquilfosfonamidatos y/o análogos y derivados de los mismos. En algunas realizaciones, los restos de direccionamiento de molécula pequeña que se pueden dirigir células asociadas a tumores de cáncer de próstata incluyen derivados de tior e indol tior, tales como 2-MPPA y derivados de ácido 3-(2-mercaptoetil)-1H-indol-2-carboxílico. En algunas realizaciones, los restos de direccionamiento de molécula pequeña que se pueden usar para dirigir células asociadas a tumores de cáncer de próstata incluyen derivados de hidroxamato. En algunas realizaciones, los restos de direccionamiento de molécula pequeña que se pueden dirigir células asociadas a tumores de cáncer de próstata incluyen inhibidores basados en PBDA y urea, tales como ZJ 43, ZJ 11, ZJ 17, ZJ 38 y/o análogos y derivados de los mismos, agentes de direccionamiento del receptor de andrógenos (ARTA en inglés), poliaminas, tales como putrescina, espermina y espermidina, inhibidores de la enzima glutamato carboxilasa II (GCPII), también conocida como peptidasa NAAG o NAALADasa.

15

20

En otra realización, el resto de direccionamiento puede ser un ligando que se dirige a Her2, EGFR, receptor de folato o receptores toll. En otra realización, el resto de direccionamiento es folato, ácido fólico o una molécula de enlace a EGFR.

25

Por ejemplo, los restos de direccionamiento contemplados pueden incluir un ácido nucleico, un polipéptido, una glicoproteína, un carbohidrato o un lípido. Por ejemplo, un resto de direccionamiento puede ser un resto de direccionamiento de ácido nucleico (por ejemplo, un aptámero, por ejemplo, el aptámero A10) que se enlaza a un marcador específico de un tipo de célula. En general, un aptámero es un oligonucleótido (por ejemplo, ADN, ARN o un análogo o derivado del mismo) que se enlaza a una diana particular, tal como un polipéptido. En algunas realizaciones, un resto de direccionamiento puede ser un ligando de producción natural o sintético para un receptor de superficie celular, por ejemplo, un factor de crecimiento, una hormona, LDL, transferina, etc. Un resto de direccionamiento puede ser un anticuerpo, término que pretende incluir fragmentos de anticuerpo, partes características de anticuerpos, los restos de direccionamiento de cadena individual se pueden identificar, por ejemplo, usando procedimientos, tales como presentación en fago.

30

35

Los restos de direccionamiento que pueden ser un péptido de direccionamiento o un peptidomimético de direccionamiento tienen una longitud de hasta aproximadamente 50 residuos. Por ejemplo, los restos de direccionamiento pueden incluir la secuencia de aminoácidos AKERC, CREKA, ARYLQKLN o AXYLZZLN, en la que X y Z son aminoácidos variables o variantes conservadoras o peptidomiméticos de los mismos. En realizaciones particulares, el resto 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 del mismo o el octapéptido AXYLZZLN también se contemplan como restos de direccionamiento, así como los péptidos o las variantes conservadoras o los peptidomiméticos de los mismos, que se enlaza o forma un complejo con colágeno IV o la membrana basal del tejido diana (por ejemplo, la membrana basal de un vaso sanguíneo), se puede usar como grupo de direccionamiento. Los restos de direccionamiento ejemplares incluyen péptidos que se dirigen a ICAM (molécula de adhesión intercelular, por ejemplo, ICAM-1).

40

45

Los restos de direccionamiento desvelados en el presente documento se pueden conjugar, en algunas realizaciones, con un polímero o copolímero desvelado (por ejemplo, PLA-PEG) y tal conjugado de polímero puede formar parte de una nanopartícula desvelada.

50

En algunas realizaciones, una nanopartícula terapéutica puede incluir un conjugado de polímero-fármaco. Por ejemplo,

un fármaco se puede conjugar con un polímero o copolímero desvelado (por ejemplo, PLA-PEG) y tal conjugado de polímero-fármaco puede formar parte de una nanopartícula desvelada. Por ejemplo, una nanopartícula terapéutica desvelada puede incluir, opcionalmente, de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 30 por ciento en peso de un PLA-PEG o PLGA-PEG, en el que el PEG está funcionalizado con un fármaco (por ejemplo, PLA-PEG-Fármaco).

5 Un conjugado polimérico desvelado se puede formar usando cualquier técnica de conjugación adecuada. Por ejemplo, dos compuestos, tales como un resto o fármaco de direccionamiento y un polímero biocompatible (por ejemplo, un polímero biocompatible y un poli(etilen glicol)) se pueden conjugar usando técnicas, tales como la química de EDC-NHS (clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida y N-hidroxisuccinimida) o una reacción que implique una maleimida o un ácido carboxílico, que se pueden conjugar con un extremo de un tiol, una amina o un poliéter funcionalizado de manera similar. La conjugación de un resto o fármaco de direccionamiento y un polímero para formar un conjugado de polímero-resto de direccionamiento o un conjugado de polímero-fármaco se puede realizar en un disolvente orgánico, tal como, pero sin limitación, diclorometano, acetonitrilo, cloroformo, dimetilformamida, tetrahidrofurano, acetona o similares. Las condiciones de reacción específicas se pueden determinar por parte de aquellos expertos habituales en la materia usando no más que una experimentación de rutina. En otro conjunto de realizaciones, una reacción de conjugación se puede realizar mediante la reacción de un polímero que comprende un grupo funcional ácido carboxílico (por ejemplo, un compuesto de poli(éster-éter)) con un polímero u otro resto (tal como un resto o fármaco de direccionamiento) que comprende una amina. Por ejemplo, un resto de direccionamiento, tal como un ligando de PSMA de bajo peso molecular, o un fármaco, tal como dasatinib, se puede hacer reaccionar con una amina para formar un resto que contenga amina, que después se puede conjugar con el ácido carboxílico del polímero. Tal reacción se puede producir como una reacción de una etapa individual, es decir, la conjugación se realiza sin usar productos intermedios, tales como una N-hidroxisuccinimida o una maleimida. En algunas realizaciones, un fármaco se puede hacer reaccionar con un enlazador que contenga amina para formar un fármaco que contiene amina, que después se puede conjugar con el ácido carboxílico del polímero, tal como se ha descrito anteriormente. La reacción de conjugación entre el resto que contiene amina y el polímero terminado en ácido carboxílico (tal como un compuesto de poli(éster-éter)) se puede lograr, en un conjunto de realizaciones, mediante la adición del resto que contiene amina, solubilizado en un disolvente orgánico, tal como (pero sin limitación) diclorometano, acetonitrilo, cloroformo, tetrahidrofurano, acetona, formamida, dimetilformamida, piridinas, dioxano o dimetilsulfóxido, a una solución que contiene el polímero terminado en ácido carboxílico. El polímero terminado en ácido carboxílico puede estar contenido dentro de un disolvente orgánico, tal como, pero sin limitación, diclorometano, acetonitrilo, cloroformo, dimetilformamida, tetrahidrofurano o acetona. La reacción entre el resto que contiene amina y el polímero terminado en ácido carboxílico se puede producir de manera espontánea, en algunos casos. Los reactivos no conjugados se pueden retirar por lavado después de tales reacciones y el polímero puede precipitarse en disolventes, tales como, por ejemplo, éter de etilo, hexano, metanol o etanol. En determinadas realizaciones, se puede formar un conjugado entre un resto que contiene alcohol y un grupo funcional ácido carboxílico de un polímero, que se puede lograr de manera similar a lo descrito anteriormente para conjugados de aminas y ácidos carboxílicos.

Como ejemplo específico, un ligando de PSMA de bajo peso molecular se puede preparar como resto de direccionamiento en una partícula de la siguiente manera. El poli(láctido-co-glicólido) (PLGA-COOH) modificado con ácido carboxílico se puede conjugar con un poli (etilen glicol) heterobifuncional (NH₂-PEG-COOH) modificado con amina para formar un copolímero de PLGA-PEG-COOH. Mediante el uso de un ligando de PSMA de bajo peso molecular modificado con amina (NH₂-Lig), se puede formar un polímero tribloque de PLGA-PEG-Lig mediante la conjugación del extremo de ácido carboxílico del PEG con el grupo funcional amina en el ligando. El polímero multibloque se puede usar después, por ejemplo, tal como se analiza más adelante, por ejemplo, para aplicaciones terapéuticas.

Nanopartículas

45 Las nanopartículas desveladas pueden ser estables (por ejemplo, retener sustancialmente todo el agente terapéutico), por ejemplo, en una solución que puede contener un sacárido, durante al menos aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días o al menos aproximadamente 5 días a temperatura ambiente o a 25 °C.

En algunas realizaciones, las nanopartículas desveladas también pueden incluir un alcohol graso, lo que puede aumentar la velocidad de liberación de los fármacos. Por ejemplo, las nanopartículas desveladas pueden incluir un alcohol C₈-C₃₀, tal como alcohol de cetilo, octanol, alcohol de estearilo, alcohol de araquidilo, docosonal u octosonal.

Las nanopartículas pueden tener propiedades de liberación controlada, por ejemplo, pueden ser capaces de administrar una cantidad de un agente terapéutico 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.

55 En algunas realizaciones, después de la administración a un sujeto o paciente de una nanopartícula desvelada o una composición que incluya una nanopartícula desvelada, la concentración en plasma máxima (C_{máx}) del agente terapéutico en el paciente es sustancialmente mayor en comparación con la C_{máx} del agente terapéutico si se administra solo (por ejemplo, no como parte de una nanopartícula).

En otra realización, una nanopartícula desvelada que incluye un agente terapéutico, cuando se administra a un sujeto, puede tener un t_{máx} del agente terapéutico sustancialmente más prolongado en comparación con el t_{máx} del agente

terapéutico administrado solo.

También se pueden formar bibliotecas de tales partículas. Por ejemplo, mediante la variación de las relaciones de los dos (o más) polímeros dentro de la partícula, estas bibliotecas pueden resultar útiles en ensayos de exploración, ensayos de alto rendimiento o similares. Las entidades dentro de la biblioteca pueden variar en propiedades, tales como aquellas descritas anteriormente, y, en algunos casos, más de una propiedad de las partículas puede variar dentro de la biblioteca. Por consiguiente, una realización está dirigida a una biblioteca de nanopartículas que tiene diferentes relaciones de polímeros con diferentes propiedades. La biblioteca puede incluir cualquier relación adecuada de los polímeros.

En algunas realizaciones, el polímero biocompatible es un polímero hidrófobo. Los ejemplos no limitantes de polímeros biocompatibles incluyen poliláctido, poliglicólido y/o poli(láctido-co-glicólido).

En una realización diferente, la presente divulgación proporciona una nanopartícula que comprende 1) una matriz polimérica; 2) opcionalmente, un compuesto o una capa anfífila que rodea o se dispersa dentro de la matriz polimérica formando una cubierta continua o discontinua para la partícula; 3) un polímero no funcionalizado que puede formar parte de la matriz polimérica y 4) opcionalmente, un ligando de bajo peso molecular que se enlaza a un conjugado de proteína diana, tal como PSMA, unido de manera covalente a un polímero, que puede formar parte de la matriz polimérica. Por ejemplo, una capa anfífila puede reducir la penetración de agua en la nanopartícula, potenciando de este modo la eficacia de encapsulación de fármacos y retardando la liberación de fármacos.

Tal como se usa en el presente documento, el término "anfífilo/a" se refiere a una propiedad en la que una molécula tiene tanto una parte polar como una parte no polar. A menudo, un compuesto anfífilo tiene una cabeza polar unida a una cola hidrófoba larga. En algunas realizaciones, la parte polar es soluble en agua, mientras que la parte no polar es insoluble en agua. Además, la parte polar puede tener una carga positiva formal o una carga negativa formal. Como alternativa, la parte polar puede tener tanto una carga positiva formal como una carga negativa formal y ser un zwitterión o una sal interna. En algunas realizaciones, el compuesto anfífilo puede ser, pero sin limitación, uno o una pluralidad de los siguientes: lípidos derivados de manera natural, tensioactivos o compuestos sintetizados tanto con restos hidrófilos como hidrófobos.

Los ejemplos específicos de compuestos anfífilos incluyen, pero sin limitación, fosfolípidos, tales 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 relación de entre 0,01-60 (peso de lípido/peso de polímero), lo más preferentemente entre 0,1-30 (peso de lípido/peso de polímero). Los fosfolípidos que se pueden usar incluyen, pero sin limitación, ácidos fosfatídicos, fosfatidilcolinas tanto con lípidos saturados como insaturados, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilgliceroles, fosfatidilserinas, fosfatidilinositoles, derivados de lisofosfatidilo, cardiolipina y β -acil-y-alkuil fosfolípidos. Los ejemplos de fosfolípidos incluyen, pero sin limitación, fosfatidilcolinas, tales como dioleoilfosfatidilcolina, dimiristoilfosfatidilcolina, dipentadecanoilfosfatidilcolina, dilauoilfosfatidilcolina, 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 anfífilo que se puede usar para formar una capa anfífila es la lecitina y, en particular, la fosfatidilcolina. La lecitina es un lípido anfífilo y, como tal, forma una bicapa de fosfolípido que tiene las cabezas hidrófilas (polares) orientadas hacia sus alrededores, que a menudo son acuosos, y las colas hidrófobas orientadas entre sí. La lecitina tiene la ventaja de ser un lípido natural que está disponible, por ejemplo, en la soja y ya tiene la aprobación de la FDA para su uso en otros dispositivos de administración. Además, una mezcla de lípidos, tales como la lecitina, resulta más ventajosa que un solo lípido puro.

En determinadas realizaciones, una nanopartícula desvelada tiene una monocapa anfífila, lo que significa que la capa no es una bicapa de fosfolípido, sino que existe como una única capa continua o discontinua alrededor, o dentro, de la nanopartícula. La capa anfífila está "asociada a" la nanopartícula, lo que significa que se coloca en alguna proximidad de la matriz polimérica, tal como rodeando el exterior de la cubierta polimérica o dispersa dentro de los polímeros que constituyen la nanopartícula.

Preparación de las nanopartículas

En algunas realizaciones, mediante el uso de dos o más polímeros diferentes (por ejemplo, copolímeros, por ejemplo, copolímeros de bloques) en diferentes relaciones y la producción de partículas a partir de los polímeros (por ejemplo, copolímeros, por ejemplo, copolímeros de bloques), se pueden controlar las propiedades de las partículas. Por ejemplo, un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) incluye un ligando de PSMA de bajo peso molecular, mientras que otro polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) se puede elegir según su biocompatibilidad y/o capacidad para controlar la inmunogenia de la partícula resultante.

El disolvente usado en el procedimiento de preparación de nanopartículas (por ejemplo, un procedimiento de

nanoprecipitación o un procedimiento de nanoemulsión, tal como se describe más adelante) incluye un ácido, que puede conferir propiedades ventajosas a las nanopartículas preparadas usando el procedimiento. Tal como se ha analizado anteriormente, en algunos casos, el ácido puede mejorar la carga de fármaco de las nanopartículas desveladas. Además, en algunos casos, las propiedades de liberación controlada de las nanopartículas desveladas se pueden mejorar mediante el uso del ácido. El fármaco (es decir, el agente terapéutico) se combina con una solución orgánica y el ácido y uno o más polímeros. La concentración de ácido en una solución usada para disolver el fármaco puede ser, por ejemplo, entre aproximadamente el 0,5 por ciento en peso y aproximadamente el 10 por ciento en peso, entre aproximadamente el 2 por ciento en peso y aproximadamente el 10 por ciento en peso, entre aproximadamente el 5 por ciento en peso y aproximadamente el 10 por ciento en peso, entre aproximadamente el 1,5 por ciento en peso y aproximadamente el 5 por ciento en peso, entre aproximadamente el 2 por ciento en peso y aproximadamente el 5 por ciento en peso o entre aproximadamente el 2,5 por ciento en peso y aproximadamente el 3,5 por ciento en peso. En una realización, la concentración de ácido en la solución orgánica puede ser de al menos aproximadamente el 3 por ciento en peso. En determinadas realizaciones, la concentración de ácido en una solución de fármaco puede ser de al menos aproximadamente el 1 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de al menos aproximadamente el 2 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de al menos aproximadamente el 3 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de al menos aproximadamente el 10 por ciento en peso.

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

Las propiedades, tales como la funcionalidad de superficie, la carga de superficie, el tamaño, el potencial zeta (ζ), la hidrofobicidad, la capacidad de controlar la inmunogenia y similares, se pueden controlar altamente usando un procedimiento desvelado. Por ejemplo, se puede sintetizar una biblioteca de partículas y explorarla para identificar las partículas que tienen una relación particular de polímeros que permita que las partículas tengan una densidad específica de restos (por ejemplo, ligandos de PSMA de bajo peso molecular) presentes sobre la superficie de la partícula. Esto permite que se preparen partículas que tengan una o más propiedades específicas, por ejemplo, un tamaño específico y una densidad de superficie específica de restos, sin un grado indebido de esfuerzo. Por consiguiente, determinadas realizaciones están dirigidas a técnicas de exploración que usan tales bibliotecas, así como cualquier partícula identificada usando tales bibliotecas. Además, la identificación se puede producir mediante cualquier procedimiento adecuado. Por ejemplo, la identificación puede ser directa o indirecta o proceder cuantitativa o cualitativamente.

En algunas realizaciones, las nanopartículas ya formadas se funcionalizan con un resto de direccionamiento usando procedimientos análogos a los descritos para la producción de conjugados poliméricos funcionalizados con ligando. Por ejemplo, un primer copolímero (PLGA-PEG, poli(láctido-co-glicólido) y poli(etilen glicol)) se mezcla con el agente terapéutico para formar partículas. Las partículas se asocian después a un ligando de bajo peso molecular para formar nanopartículas que se pueden usar para el tratamiento del cáncer. Las partículas se pueden asociar a cantidades variables de ligandos de bajo peso molecular para controlar la densidad de superficie de ligando de la nanopartícula, alterando de este modo las características terapéuticas de la nanopartícula. Además, por ejemplo, mediante el control de los parámetros, tales como el peso molecular, el peso molecular del PEG y la carga de superficie de las nanopartículas, se pueden obtener partículas controladas con mucha precisión.

En otra realización, se proporciona un procedimiento de nanoemulsión, tal como el procedimiento representado en las Figuras 2, 3A y 3B. Por ejemplo, un agente terapéutico, un ácido, un primer polímero (por ejemplo, un copolímero dibloque, tal como PLA-PEG o PLGA-PEG, cualquiera de los mismos puede enlazarse, opcionalmente, a un ligando) y un segundo polímero opcional (por ejemplo, (PL(G)A-PEG o PLA), se pueden combinar con una solución orgánica para formar una primera fase orgánica. Tal primera fase puede incluir de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 50 % en peso de sólidos, de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 50 % en peso de sólidos, de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 40 % en peso de sólidos, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 15 % en peso de sólidos o de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30 % en peso 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, tolueno, metil etil cetona, acetonitrilo, tetrahidrofurano, acetato de etilo, alcohol de isopropilo, acetato de isopropilo, dimetilformamida, cloruro de metileno, diclorometano, cloroformo, acetona, alcohol de bencilo, Tween 80, Span 80 y similares y combinaciones de los mismos. En una realización, la fase orgánica puede incluir alcohol de bencilo, acetato de etilo y combinaciones de los mismos. La segunda fase puede ser de entre aproximadamente el 0,1 y el 50 % en peso, entre aproximadamente el 1 y el 50 % en peso, entre aproximadamente el 5 y el 40 % en peso o entre aproximadamente el 1 y el 15 % en peso, de sólidos. La solución acuosa puede ser agua, opcionalmente, en combinación con uno o más de colato de sodio, acetato de etilo, acetato de polivinilo y alcohol de bencilo.

Por ejemplo, la fase oleosa u orgánica puede usar un disolvente que solo es parcialmente miscible con el no disolvente (agua). Por lo tanto, cuando se mezcla a una relación suficientemente baja y/o cuando se usa agua saturada previamente con los disolventes orgánicos, la fase oleosa permanece líquida. La fase oleosa puede emulsionarse en una solución acuosa y, tal como gotitas líquidas, cizallarse en las nanopartículas usando, por ejemplo, sistemas de dispersión de alta energía, tales como homogeneizadores o sonicadores. La parte acuosa de la emulsión, conocida de otro modo como la "fase de agua", puede ser una solución de tensioactivo que consiste en colato de sodio y saturada previamente con acetato de etilo y alcohol de bencilo.

La emulsión de la segunda fase para formar una fase de emulsión se puede realizar, por ejemplo, en una o dos etapas de emulsión. Por ejemplo, una emulsión primaria puede prepararse y, a continuación, emulsionarse para formar una emulsión fina. La emulsión primaria se puede formar, por ejemplo, usando un mezclado simple, un homogeneizador de alta presión, un sonicador de sondas, una barra de agitación o un homogeneizador de rotor y estator. La emulsión primaria se puede formar en una emulsión fina mediante el uso de, por ejemplo, un sonicador de sondas o un homogeneizador de alta presión, por ejemplo, mediante el uso de 1, 2, 3 o más pasadas a través de un homogeneizador. Por ejemplo, cuando se usa un homogeneizador de alta presión, la presión usada puede ser de aproximadamente 6.895 kPa (1.000 psi) a aproximadamente 55.158 kPa (8.000 psi), de aproximadamente 13.790 kPa (2.000 psi) a aproximadamente 27.579 kPa (4.000 psi), de aproximadamente 27.579 kPa (4.000 psi) a aproximadamente 55.158 kPa (8.000 psi), de o aproximadamente 27.579 kPa (4.000 psi) a aproximadamente 34.474 kPa (5.000 psi), por ejemplo, de aproximadamente 13.790 kPa (2.000 psi), 17.212 kPa (2.500 psi), 27.579 kPa (4.000 psi) o 34.474 kPa (5.000 psi).

Se puede necesitar o bien la evaporación o bien la dilución de disolvente para completar la extracción del disolvente y solidificar las partículas. Para un mejor control de la cinética de extracción y un procedimiento más escalable, se puede usar una dilución de disolvente mediante 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. En algunas realizaciones, la inactivación se puede realizar al menos parcialmente a una temperatura de aproximadamente 5 °C o menos. Por ejemplo, el agua usada en la inactivación puede estar a una temperatura que es menor que la temperatura ambiente (por ejemplo, de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 °C o de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 °C).

En algunas realizaciones, no todo el agente terapéutico se encapsula en las partículas en esta fase y se añade un solubilizante de fármaco a la fase inactivada para formar una fase solubilizada. El solubilizante de fármaco puede ser, por ejemplo, Tween 80, Tween 20, polivinil pirrolidona, ciclodextrano, dodecil sulfato de sodio, colato de sodio, dietilnitrosamina, acetato de sodio, urea, glicerina, propilen glicol, glicofurool, poli(etilen)glicol, bis(polioxietilenglicol)dodecil éter, benzoato de sodio, salicilato de sodio o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, se puede añadir Tween 80 a la suspensión de nanopartículas inactivada para solubilizar el fármaco libre y evitar la formación de cristales de fármaco. En algunas realizaciones, una relación de solubilizante de fármaco respecto a agente terapéutico es de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 10:1 o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 100:1 a aproximadamente 10:1.

La fase solubilizada se puede filtrar para recuperar las nanopartículas. Por ejemplo, se pueden usar membranas de ultrafiltración para concentrar la suspensión de nanopartículas y eliminar sustancialmente el disolvente orgánico, el fármaco libre (es decir, el agente terapéutico no encapsulado), el solubilizante de fármaco y otros adyuvantes de procesamiento (tensioactivos). Se puede realizar la filtración ejemplar usando un sistema de filtración de flujo tangencial. Por ejemplo, mediante el uso de una membrana con un tamaño de poros adecuado para retener nanopartículas, al tiempo que se permite el paso de solutos, micelas y disolvente orgánico, las nanopartículas se pueden separar selectivamente. Se pueden usar membranas ejemplares con puntos de corte de peso molecular de aproximadamente 300-500 kDa (aproximadamente 5-25 nm).

La diafiltración se puede realizar usando un procedimiento de volumen constante, lo que significa que el diafiltrado (agua desionizada fría, por ejemplo, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 °C o de 0 a aproximadamente 10 °C) se puede añadir a la suspensión de alimentación a la misma velocidad que se retira el filtrado de la suspensión. En algunas realizaciones, el filtrado puede incluir un primer filtrado usando una primera temperatura de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 °C o de 0 a aproximadamente 10 °C y una segunda temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 °C o de 15 a aproximadamente 35 °C. Por ejemplo, el filtrado puede incluir el procesamiento de aproximadamente 1 a aproximadamente 30, en algunos casos, de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 o, en algunos casos, de 1 a aproximadamente 6 diavolumenes. Por ejemplo, el filtrado puede incluir el procesamiento de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 o, en algunos casos, de aproximadamente 1

a aproximadamente 6 diavolumenes, entre aproximadamente 0 a aproximadamente 5 °C, y el procesamiento de al menos un diavolumen (por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 15, de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 o de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 diavolumenes) entre aproximadamente 20 a aproximadamente 30 °C. En algunas realizaciones, el filtrado comprende procesar diferentes diavolumenes a diferentes temperaturas distintas.

Después de la purificación y la concentración de la suspensión de nanopartículas, las partículas se pueden hacer pasar a través de uno, dos o más filtros de esterilización y/o de profundidad, por ejemplo, usando un filtro previo de profundidad de ~0,2 µm. Por ejemplo, una etapa de filtración estéril puede implicar el filtrado de las nanopartículas terapéuticas usando un tren de filtración a una velocidad controlada. En algunas realizaciones, el tren de filtración puede incluir un filtro de profundidad y un filtro estéril.

En otra realización de preparación de nanopartículas, se forma una fase orgánica compuesta de una mezcla de un agente terapéutico, un ácido y un polímero (homopolímero, copolímero y copolímero con ligando). La fase orgánica se mezcla con una fase acuosa a aproximadamente una relación de 1:5 (fase oleosa:fase acuosa) en la que la fase acuosa está compuesta de un tensioactivo y algún disolvente disuelto. La emulsión primaria se forma mediante la combinación de las dos fases con simple mezclado o mediante el uso de un homogeneizador de rotor y estator. La emulsión primaria se forma, a continuación, en una emulsión fina mediante el uso de un homogeneizador de alta presión. La emulsión fina, a continuación, se inactiva mediante la adición de agua desionizada con mezclado. En algunas realizaciones, la relación de inactivación:emulsión puede ser de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 40:1 o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 15:1. En algunas realizaciones, la relación de inactivación:emulsión es de aproximadamente 8,5:1. A continuación, se añade una solución de Tween (por ejemplo, Tween 80) a la inactivación para conseguir aproximadamente el 2 % de Tween en total. Esto sirve para disolver el agente terapéutico libre no encapsulado. Las nanopartículas se aíslan después mediante ultrafiltración/diafiltración.

Se apreciará que las cantidades de polímero, agente terapéutico y ácido que se usan en la preparación de la formulación pueden diferir de la formulación final. Por ejemplo, algo del agente terapéutico puede no incorporarse por completo en una nanopartícula y tal agente terapéutico libre puede, por ejemplo, retirarse por filtración. Por ejemplo, en una realización, se puede usar aproximadamente el 30 por ciento en peso de agente terapéutico y aproximadamente el 70 por ciento en peso de polímero (por ejemplo, el polímero puede incluir aproximadamente el 2,5 por ciento en moles de un resto de direccionamiento conjugado con un polímero y aproximadamente el 97,5 por ciento en moles de PLA-PEG) en una solución orgánica que contiene aproximadamente el 1 % de ácido en la preparación de una formulación que da como resultado, por ejemplo, una nanopartícula final que comprende aproximadamente el 2,5 por ciento en peso de agente terapéutico, aproximadamente el 97,5 por ciento en peso de polímero (en el que el polímero puede incluir aproximadamente el 1,25 por ciento en moles de un resto de direccionamiento conjugado con un polímero y aproximadamente el 98,75 por ciento en moles de PLA-PEG) y menos de aproximadamente el 0,5 % de ácido. Tales procedimientos pueden proporcionar nanopartículas finales adecuadas para su administración a un paciente que incluyan de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 20 por ciento en peso de agente terapéutico, por ejemplo, aproximadamente el 1, aproximadamente el 2, aproximadamente el 3, aproximadamente el 4, aproximadamente el 5, aproximadamente el 8, aproximadamente el 10 o aproximadamente el 15 por ciento de agente terapéutico en peso.

Agentes terapéuticos

Tal como se ha analizado anteriormente, los procesos desvelados se pueden usar para formular cualquier agente terapéutico adecuado en nanopartículas. Tales partículas pueden resultar útiles, por ejemplo, en realizaciones en las que se puede usar un resto de direccionamiento para dirigir una partícula que contiene un fármaco a una localización localizada particular dentro de un sujeto, por ejemplo, para permitir que se produzca la administración localizada del fármaco. En un conjunto de realizaciones, se puede usar una combinación de más de un agente terapéutico. Los agentes terapéuticos ejemplares incluyen agentes quimioterapéuticos, tales como inhibidores de la tirosina quinasa Bcr-Abl (por ejemplo, imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib y bafetinib), doxorubicina (adriamicina), gemcitabina (gemzar), daunorrubicina, procarbazona, mitomicina, citarabina, etopósido, metotrexato, venorelbina, 5-fluorouracilo (5-FU), alcaloides de la vinca, tales como vinblastina o vincristina; bleomicina, paclitaxel (taxol), docetaxel (taxotere), cabazitaxel, aldesleucina, asparaginasa, busulfán, carboplatino, cladribina, camptotecina, CPT-11, 10-hidroxi-7-etilcamptotecina (SN38), dacarbazina, S-I capecitabina, florafur, 5'desoxiflurouridina, UFT, eniluracilo, desoxicidina, 5-azacitosina, 5-azadesoxicitosina, alopurinol, 2-cloroadenosina, trimetrexato, aminopterina, metileno-10-deazaaminopterina (MDAM), oxaplatino, picoplatino, tetraplatino, satraplatino, platino-DACH, ormaplatino, CI-973, JM-216 y análogos de los mismos, epirubicina, fosfato de etopósido, 9-aminocamptotecina, 10,11-metilenodioxycamptotecina, carenitecina, 9-nitrocamptotecina, TAS 103, vindesina, mostaza de L-fenilalanina, ifosfamidamefosfamida, perfosfamida, trofosfamida, carmustina, semustina, eptilonos A-E, tomudex, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, amsacrina, fosfato de etopósido, carenitecina, aciclovir, valaciclovir, ganciclovir, amantadina, rimantadina, lamivudina, zidovudina, bevacizumab, trastuzumab, rituximab, 5-fluorouracilo y combinaciones de los mismos.

Los ejemplos no limitantes de fármacos de combinación potencialmente adecuados incluyen agentes antineoplásicos, que incluyen: por ejemplo, cabazitaxel, mitoxantrona y clorhidrato de mitoxantrona. En otra realización, la carga útil

puede ser un fármaco antineoplásicos, tal como 20-epi-1,25 dihidroxivitamina D3, 4-ipomeanol, 5-etniluracilo, 9-
 dihidrotaxol, abiraterona, acivicina, aclarrubicina, clorhidrato de acodazol, acronina, acilfilveno, adecipenol,
 adozelesina, aldesleucina, todos los antagonistas de tk, altretamina, ambamustina, ambomicina, acetato de
 5 ametantrona, amidox, amifostina, aminoglutatimida, ácido aminolevulínico, amrrubicina, amsacrina, anagrelida,
 anastrozol, andrografólido, inhibidores de la angiogénesis, antagonista D, antagonista G, antarelix, antramicona,
 proteína morfogenética-1 antidorsalización, antiestrógeno, antineoplastón, oligonucleótidos antisentido, glicinato de
 afidicolina, moduladores del gen de la apoptosis, reguladores de la apoptosis, ácido apurínico, ARA-CDP-DL-PTBA,
 10 arginina desaminasa, asparaginasa, asperlina, asulacrina, atamestano, atrimustina, axinastatina 1, axinastatina 2,
 axinastatina 3, azacitidina, azasetrón, azatoxina, azatirosina, azetepa, azotomicina, derivados de bacatina III, balanol,
 batimastat, benzoclorinas, benzodepa, benzoilestaurosporina, derivados de beta lactama, beta-aletina, betaclamina
 B, ácido betulínico, inhibidor de BFGF, bicalutamida, bisantreno, clorhidrato de bisantreno, bisazudinilespermina,
 bisnafida, dimesilato de bisnafida, bistrateno A, bizelesina, bleomicina, sulfato de bleomicina, antagonistas de
 15 BRC/ABL, breflato, brequinar sódico, bropirimina, budotitano, busulfán, butionina sulfoximina, cactinomicina,
 calciprotirol, calfofostina C, calusterona, derivados de camptotecina, canaripox IL-2, capecitabina, caraceraida,
 cabazitaxel, carbetímero, carboplatino, carboxamida-amino-triazol, carboxiamidotriazol, carest M3, carmustina, eam
 700, inhibidor derivado del cartílago, clorhidrato de carrubicina, carzelesina, inhibidores de la caseína cinasa,
 castanoespermina, cecropina B, cedefingol, cetorelix, clorambucilo, clorinas, cloroquinoxalina sulfonamida, cicaprost,
 cirolemicina, cisplatino, cis-porfirina, cladribina, análogos de clomifeno, clotrimazol, colismicina A, colismicina B,
 20 combretastatina A4, análogos de combretastatina, conagenina, crambescidina 816, crisnatol, mesilato de crisnatol,
 criptoficina 8, derivados de criptoficina A, curacina A, ciclopentaantraquinonas, ciclofosfamida, cicloplatam, cipemicina,
 citarabina, ocfosfato de citarabina, factor citolítico, citostatina, dacarbazina, dacliximab, dactinomicina, clorhidrato de
 daunorrubicina, decitabina, deshidrodidemina B, deslorelina, dexifosfamida, dexormaplatino, dexrazoxano,
 dexverapamilo, dezaguanina, mesilato de dezaguanina, diaziquona, didemina B, didox, dietihorspermina, dihidro-5-
 25 azacitidina, dioxamicina, difenil espiromustina, docetaxel, docosanol, dolasetrón, doxilfludina, doxorubicina,
 clorhidrato de doxorubicina, droloxifeno, citrato de droloxifeno, propionato de dromostanolona, dronabinol,
 duazomicina, duocanicina SA, ebseleno, ecomustina, edatrexato, edelfosina, edrecolomab, eflomitina, clorhidrato de
 eflomitina, elemeno, elsamitrucina, emitefur, enloplatino, enpromato, epipropidina, epirubicina, clorhidrato de
 epirubicina, episterida, erbulozol, sistema de vectores de terapia génica de eritrocitos, clorhidrato de esorubicina,
 estramustina, análogos de estramustina, fosfato sódico de estramustina, agonistas de estrógenos, antagonistas de
 30 estrógenos, etanidazol, etopósido, fosfato de etopósido, etoprina, exemestano, fadrozol, clorhidrato de fadrozol,
 fazarabina, fenretinida, filgrastim, finasterida, flavopiridol, flezelastina, floxuridina, fluasterona, fludarabina, fosfato de
 fludarabina, clorhidrato de fluorodaunorrubicina, fluorouracilo, flurocitabina, forfenimex, formestano, fosquidona,
 fostriecina, fostriecina sódica, fotemustina, texafrina de gadolinio, nitrato de galio, galocitabina, ganirelix, inhibidores
 de la gelatinasa, gemcitabina, clorhidrato de gemcitabina, inhibidores del glutatión, hepsulfam, heregulina,
 35 bisacetamida de hexametileno, hidroxiourea, hipericina, ácido ibandrónico, idarrubicina, clorhidrato de idarrubicina,
 idoxifeno, idramantona, ifosfamida, ihnofosina, ilomastat, imidazoacridonas, imiquimod, péptidos inmunoestimulantes,
 inhibidor del receptor de factor de crecimiento-1 similar a la insulina, agonistas del interferón, interferón alfa-2A,
 interferón alfa-2B, interferón alfa-NI, interferón alfa-N3, interferón beta-IA, interferón gamma-IB, interferones,
 interleucinas, iobenguano, yododoxorrubicina, iroplactm, irinotecano, clorhidrato de irinotecano, iroplact, irsogladina,
 40 isobengazol, isohomohalicondrina B, itasetrón, jasplakinolida, cahalalida F, triacetato de lamelarina-N lanreotida,
 acetato de lanreotida, leinamicina, lenograstim, sulfato de lentinano, leptolestatina, letrozol, factor de inhibición de la
 leucemia, interferón alfa de leucocitos, acetato de leuprolida, leuprolida/estrógeno/progesterona, leuprorelina,
 levamisol, liarozol, clorhidrato de liarozol, análogos de poliamina lineal, péptido disacárido lipófilo, compuestos lipófilos
 de platino, lisoclinamida, lobaplatino, lombricina, lometrexol, lometrexol sódico, lomustina, lonidamina, losoxantrona,
 45 clorhidrato de losoxantrona, lovastatina, loxoribina, lurtotecano, texafrina de lutecio, lisofilina, péptidos líticos,
 maitansina, manostatina A, marimastat, masoprocol, maspina, inhibidores de la matrilisina, inhibidores de la
 metaloproteinasas de matriz, maitansina, clorhidrato de mecloretamina, acetato de megestrol, acetato de melengestrol,
 melfalán, menogaril, merbarona, mercaptopurina, meterelina, metioninasa, metotrexato, metotrexato sódico,
 metoclopramida, metoprina, meturedpa, inhibidores de la proteína cinasa C microalgal, inhibidor de MIF, mifepriestona,
 50 miltefosina, mirimostim, ARN bicatenario mal apareado, mitindomida, mitocarcina, mitocromina, mitogilina,
 mitoguazona, mitolactol, mitomalcina, mitomicina, análogos de mitomicina, mitonafida, mitosper, mitotano, mitoxina,
 factor de crecimiento de fibroplastos-saporina, mitoxantrona, clorhidrato de mitoxantrona, mofaroteno, molgramostim,
 anticuerpos monoclonales, gonadotrofina coriónica humana, monofosforil lípido del esqueleto de la pared celular de
 miobacteria, mopidamol, inhibidor del gen de resistencia a múltiples fármacos, terapia basada en supresor de tumores
 55 múltiples 1, agente antineoplásico de mostaza, micaperoxida B, extracto de pared celular micobacteriana, ácido
 micofenólico, miriaporona, n-acetildinalina, nafarelina, nagrestip, naloxona/pentazocina, napavina, nafterpina,
 nartogastim, nedaplatino, nemorrubicina, ácido neridrónico, endopeptidasa neutra, nilutamida, nisamicina,
 moduladores del óxido nítrico, antioxidante de nítrógeno, nitrulina, nocodazol, nogalamina, benzamidas n-sustituídas,
 06-bencilguanina, octreotida, oquicenona, oligonucleótidos, onapristona, ondansetrón, oracina, inductor de citocina
 oral, ormaplatino, osaterona, oxaliplatino, oxaunomicina, oxisurano, paclitaxel, análogos de paclitaxel, derivados del
 60 paclitaxel, palauamina, palmitoilirizoxina, ácido pamidrónico, panaxitriol, panomifeno, parabactina, pazeliptina,
 pegaspargasa, peldesina, peliomicina, pentamustina, polisulfato sódico de pentosano, pentostatina, pentrozol, sulfato
 de peplomicina, perflubrón, perfosfamida, alcohol perillílico, fenazinomicina, fenilacetato, inhibidores de la fosfatasa,
 picibanilo, clorhidrato de pilocarpina, pipobromano, pipsulfano, pirarrubicina, piritrexim, clorhidrato de piroxantrona,
 65 plactina A, plactina B, inhibidor del activador de plasminógeno, complejo de platino, compuestos de platino, complejo
 de platino-triamina, plicamicina, plomestano, porfímero sódico, porfiromicina, prednimustina, clorhidrato de

procarbazona, propil bis-acridona, prostaglandina J2, antiandrógeno de carcinoma prostático, inhibidores del proteasoma, modulador inmunitario basado en proteína A, inhibidor de la proteína cinasa C, inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa, inhibidores de la purina nucleósido fosforilasa, puromicina, clorhidrato de puromicina, purpurinas, pirazorurina, pirazoloacridina, conjugado de hemoglobina piridoxilada-polioxi-etileno, antagonistas de RAF, raltitrexed, ramosetrón, inhibidores de la proteína farnesil transferasa RAS, inhibidores de RAS, inhibidor de RAS-GAP, reteliptina desmetilada, etidronato de renio RE 186, rizoxina, riboprina, ribozimas, RH retinarnida, ARNi, rogletimida, rohituquina, romurtida, roquinimex, rubiginona BI, ruboxilo, safingol, clorhidrato de safingol, saintopina, sarcnu, sarcofitol A, sargramostim, miméticos de SDI1, semustina, inhibidor 1 derivado de la senescencia, oligonucleótidos sentido, inhibidores de la transducción de señales, moduladores de la transducción de señales, simtrazeno, proteína de enlace al antígeno monocatenaria, sizofirano, sobuzoxano, borocaptato de sodio, fenilacetato de sodio, solverol, proteína de enlace a somatomedina, sonermina, esparfosato sódico, ácido esparfósico, esparsomicina, espicamicina D, clorhidrato de espirogermanio, espiromustina, espiroplatino, esplenopentina, espongistatina 1, escualamina, inhibidor de células madre, inhibidores de la división de células madre, estipiarnida, estreptonigrina, estreptozocina, inhibidores de la estromelina, sulfinosina, sulofenur, antagonista del péptido intestinal vasoactivo superactivo, suradista, suramina, swainsonina, glicosaminoglicanos sintéticos, talisomicina, talimustina, metyoduro de tamoxifeno, taumustina, tazaroteno, tecogalán sódico, tegafur, telurapirilio, inhibidores de la telomerasa, clorhidrato de teloxantrona, temoporfin, temozolomida, tenipósido, teroxirona, testolactona, tetraclorodecaóxido, tetrazomina, taliblastina, talidomida, tiamiprina, tiocoralina, tioguanina, tiotepa, trombopoyetina, miméticos de trombopoyetina, timalfasina, agonista del receptor de timopoyetina, timotrinano, hormona estimulante de la tiroides, tiazofurina, etiopurpurina de etilo de estaño, tirapazamina, dicloruro de titanoceno, clorhidrato de topotecano, topsentina, toremifeno, citrato de toremifeno, factor de células madre totipotentes, inhibidores de la traducción, acetato de trestolona, tretinoína, triacetiluridina, tricribina, fosfato de tricribina, trimetrexato, glucuronato de trimetrexato, triptorelina, tropisetron, clorhidrato de tubulozol, turosterida, inhibidores de la tirosina cinasa, tirfostinas, inhibidores de UBC, ubenimex, mostaza de uracilo, uredepa, factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital, antagonistas del receptor de urocinasa, vapreotida, variolina B, velaresol, veramina, verdinas, verteporfina, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, vindesina, sulfato de vindesina, sulfato de vinepidina, sulfato de vinglicinato, sulfato de vinleurosina, vinorelbina o tartrato de vinorelbina, sulfato de vinrosidina, vinxaltina, sulfato de vinzolidina, vitaxina, vorozol, zanoterona, zeniplatino, zilascorb, zinostatina, estimalámero de zinostatina o clorhidrato de zorrubicina.

Formulaciones farmacéuticas

Las nanopartículas desveladas en el presente documento se pueden combinar con vehículos farmacéuticamente aceptables para formar una composición farmacéutica, de acuerdo con otro aspecto. Tal como apreciará un experto habitual en esta materia, los vehículos se pueden elegir basándose en la vía de administración, tal como se describe más adelante, la localización del tejido diana, el fármaco que se está administrando, el transcurso de tiempo de administración del fármaco, etc.

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un paciente mediante cualquier medio conocido en la técnica, incluyendo vías orales y parenterales. El término "paciente", tal como se usa en el presente documento, se refiere a seres humanos, así como no humanos, que incluyen: 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 determinadas realizaciones, resultan deseables las vías parenterales, puesto que evitan el contacto con enzimas digestivas que se encuentran en el canal alimenticio. De acuerdo con tales realizaciones, las composiciones se pueden administrar mediante inyección (por ejemplo, inyección intravenosa, subcutánea o intramuscular, intraperitoneal), por vía rectal, por vía vaginal, por vía tópica (tal como mediante polvos, cremas, pomadas o gotas) o mediante inhalación (tal como mediante pulverizadores).

En una realización particular, las nanopartículas se administran a un sujeto que lo necesita sistémicamente, por ejemplo, mediante infusión o inyección IV.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles, se pueden formular de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, tal como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes adecuados que se pueden emplear están el agua, la solución de Ringer, U.S.P. y la solución isotónica de cloruro sódico. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como disolvente o medio de suspensión.

Para este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos, tales como ácido oleico, en la preparación de inyectables. En una realización, el conjugado se suspende en un líquido de vehículo que comprende el 1 % (p/v) de carboximetilcelulosa sódica y el 0,1 % (v/v) de TWEEN™ 80. Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar 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 vehículo inerte farmacéuticamente aceptable, tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o (a) cargas o expansores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, (b) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidina, sacarosa y acacia, (c) humectantes, tales como glicerol, (d) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio, (e) agentes retardantes de la solución, tales como parafina, (f) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario, (g) agentes de humectación, tales como, por ejemplo, alcohol de cetilo 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, polietilén glicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

Se apreciará que el médico individual elige la dosificación exacta de una nanopartícula que contiene un agente terapéutico en vista del paciente que se va a someter a tratamiento, en general, la dosificación y la administración se ajustan para proporcionar una cantidad eficaz de la nanopartícula de agente terapéutico al paciente que está siendo sometido a tratamiento. Tal como se usa en el presente documento, la "cantidad eficaz" de una nanopartícula que contiene un agente terapéutico se refiere a la cantidad necesaria para provocar la respuesta biológica deseada. Tal como apreciarán aquellos expertos habituales en esta materia, la cantidad eficaz de una nanopartícula que contiene un agente terapéutico puede variar dependiendo de factores, tales como el criterio de valoración biológico deseado, el fármaco a administrar, el tejido diana, la vía de administración, etc. Por ejemplo, la cantidad eficaz de una nanopartícula que contiene un agente terapéutico podría ser la cantidad que da como resultado una reducción en el tamaño del tumor en una cantidad deseada durante un período de tiempo deseado. Los factores adicionales que pueden tenerse en cuenta incluyen la gravedad del estado de la enfermedad; la edad, el peso y el sexo del paciente que está siendo sometido a tratamiento; la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración; las combinaciones de fármacos; las sensibilidades de reacción; y la tolerancia/respuesta a la terapia.

Las nanopartículas se pueden formular en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma de unidad de dosificación", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una unidad físicamente separada de nanopartículas adecuada para el paciente a someter a tratamiento. Se entenderá, sin embargo, que el médico asistente decidirá el uso diario total de las composiciones dentro del alcance del buen criterio médico. En cualquier nanopartícula, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente ya sea en ensayos de cultivo celular o en modelos animales, normalmente ratones, conejos, perros o cerdos. El modelo animal también se usa para lograr un intervalo de concentración y una vía de administración deseables. Tal información se puede usar después para determinar las dosis y las vías de administración útiles en los seres humanos. La eficacia terapéutica y la toxicidad de las nanopartículas se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, ED₅₀ (la dosis es terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población) y LD₅₀ (la dosis es mortal para el 50 % de la población). La relación de dosis de efectos tóxicos respecto a terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la relación, LD₅₀/ED₅₀. Las composiciones farmacéuticas que presentan grandes índices terapéuticos pueden resultar útiles en algunas realizaciones. Los datos obtenidos a partir de ensayos de cultivos celulares y estudios en animales se pueden usar en la formulación de un intervalo de dosificación para uso humano.

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

En algunas realizaciones, se contempla una composición adecuada para su congelación, incluyendo las nanopartículas desveladas en el presente documento y una solución adecuada para su congelación, por ejemplo, un azúcar, tal como un mono, di o polisacárido, por ejemplo, se añade sacarosa y/o trehalosa, y/o una solución de sal y/o ciclodextrina a la suspensión de nanopartículas. El azúcar (por ejemplo, sacarosa o trehalosa) puede actuar, por ejemplo, como crioprotector para evitar que las partículas se agreguen tras la congelación. Por ejemplo, en el presente documento se proporciona una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de las nanopartículas desveladas, sacarosa, un haluro iónico y agua; en la que la relación nanopartículas/sacarosa/agua/haluro iónico es de aproximadamente el 3-40 %/10-40 %/20-95 %/0,1-10 % (p/p/p/p) o aproximadamente el 5-10 %/10-15 %/80-90 %/1-10 % (p/p/p/p). Por ejemplo, tal solución puede incluir nanopartículas, tal como se desvela en el presente documento, de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 20 % en peso de sacarosa y un haluro iónico, tal como cloruro de sodio, en una concentración de aproximadamente 10-100 mM. En otro ejemplo, en el presente documento se proporciona una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de las nanopartículas desveladas, trehalosa, ciclodextrina y agua; en la que la relación nanopartículas/trehalosa/agua/ciclodextrina es de aproximadamente el 3-40 %/1-25 %/20-95 %/1-25 % (p/p/p/p) o aproximadamente el 5-10 %/1-25 %/80-90 %/10-15 % (p/p/p/p).

Por ejemplo, una solución contemplada puede incluir nanopartículas, tal como se desvela en el presente documento, de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 25 % en peso de un disacárido, tal como trehalosa o sacarosa (por ejemplo, de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 25 % de trehalosa o sacarosa, por ejemplo, aproximadamente el 10 % de trehalosa o sacarosa o aproximadamente el 15 % de trehalosa o sacarosa, por ejemplo, aproximadamente el 5 % de sacarosa en peso) y una ciclodextrina, tal como β-ciclodextrina, en una concentración de

aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 25 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 20 %, por ejemplo, el 10 % o aproximadamente el 20 % en peso o de aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 20 % en peso de ciclodextrina). Las formulaciones contempladas pueden incluir una pluralidad de las nanopartículas desveladas (por ejemplo, nanopartículas que tienen PLA-PEG y un agente activo) y de aproximadamente el 2 % a aproximadamente el 15 % en peso (o de aproximadamente el 4 % a aproximadamente el 6 % en peso, por ejemplo, aproximadamente el 5 % en peso) de sacarosa y de aproximadamente el 5 % en peso a aproximadamente el 20 % (por ejemplo, de aproximadamente el 7 % en peso a aproximadamente el 12 % en peso, por ejemplo, aproximadamente el 10 % en peso) de una ciclodextrina, por ejemplo, HPbCD).

La presente divulgación se refiere, en parte, a composiciones farmacéuticas liofilizadas que, cuando se reconstituyen, tienen una cantidad mínima de grandes agregados. Tales grandes agregados pueden tener un tamaño superior a aproximadamente 0,5 μm , superior a aproximadamente 1 μm o superior a aproximadamente 10 μm y puede resultar no deseable en una solución reconstituida. Los tamaños de agregados se pueden medir usando una diversidad de técnicas, incluyendo aquellas que se indican en la Farmacopea de los EE.UU. en 32 <788>, incorporada en el presente documento a modo de referencia. Los ensayos destacados en USP 32 <788> incluyen un ensayo de recuento de partículas por oscurecimiento claro, un ensayo de recuento de partículas microscópicas, una difracción láser y un sensor óptico de partículas individuales. En una realización, el tamaño de partícula en una muestra dada se mide usando la difracción láser y/o el sensor óptico de partículas individuales.

El USP 32 <788> mediante el ensayo de recuento de partículas por oscurecimiento claro expone directrices para muestrear tamaños de partículas en una suspensión. En soluciones con menos de o igual a 100 ml, la preparación cumple con el ensayo si el número promedio de partículas presentes no supera las 6.000 por recipiente, que son >10 μm , y 600 por recipiente, que son >25 μm .

Tal como destaca USP 32 <788>, el ensayo de recuento de partículas microscópicas expone directrices para determinar los recuentos de partículas usando un microscopio binocular ajustado a una ampliación de 100 ± 10 veces que tiene un micrómetro ocular. Un micrómetro ocular es una grátula de diámetro circular que consiste en un círculo dividido en cuadrantes con círculos de referencia en negro que denotan 10 μm y 25 μm cuando se observa a una ampliación de 100 veces. Se proporciona una escala lineal por debajo de la grátula. El número de partículas con referencia a 10 μm y 25 μm se corresponden visualmente. En soluciones con menos de o igual a 100 ml, la preparación cumple con el ensayo si el número promedio de partículas presentes no supera las 3.000 por recipiente, que son >10 μm , y 300 por recipiente, que son >25 μm .

En algunas realizaciones, una muestra acuosa de 10 ml de una composición desvelada después de su reconstitución comprende menos de 600 partículas por ml que tienen un tamaño superior a o igual a 10 micrómetros; y/o menos de 60 partículas por ml que tienen un tamaño superior a o igual a 25 micrómetros.

Se puede usar la dispersión de luz dinámica (DLS en inglés) para medir el tamaño de partícula, pero se basa en el movimiento browniano, por lo que la técnica puede que no detecte algunas partículas más grandes. La difracción láser se basa en las diferencias en el índice de refracción entre las partículas y los medios de suspensión. La técnica es capaz de detectar partículas en el intervalo submicrométrico a milimétrico. Se pueden determinar cantidades relativamente pequeñas (por ejemplo, de aproximadamente el 1-5 % en peso) de partículas más grandes en las suspensiones de nanopartículas. El sensor óptico de partículas individuales (SPOS en inglés) usa oscurecimiento claro de suspensiones de diluidos para el recuento de las partículas individuales de aproximadamente 0,5 μm . Conociendo la concentración de partículas de la muestra medida, se puede calcular el porcentaje en peso de los agregados o la concentración de los agregados (partículas/ml).

La formación de agregados se puede producir durante la liofilización debido a la deshidratación de la superficie de las partículas. Esta deshidratación se puede evitar mediante el uso de lioprotectores, tales como disacáridos, en la suspensión antes de su liofilización. Los disacáridos adecuados incluyen sacarosa, lactulosa, lactosa, maltosa, trehalosa o celobiosa y/o mezclas de las mismas. Otros disacáridos contemplados incluyen kojibiosa, nigerosa, isomaltosa, β,β -trehalosa, α,β -trehalosa, soforosa, laminaribiosa, gentiobiosa, turanosa, maltulosa, palatinosa, gentiobiulosa, manobiasa, melibiosa, melibiulosa, rutinosa, rutinulosa y xilobiosa. La reconstitución muestra distribuciones de tamaño de DLS equivalentes cuando se comparan con la suspensión de partida. Sin embargo, la difracción láser puede detectar partículas de >10 μm de tamaño en algunas soluciones reconstituidas. Además, el SPOS también puede detectar partículas de >10 μm de tamaño a una concentración por encima de la de las directrices de la FDA (10^4 - 10^5 partículas/ml para partículas de >10 μm).

En algunas realizaciones, se pueden usar una o más sales de haluros iónicos como un lioprotector adicional a un azúcar, tal como sacarosa, trehalosa o mezclas de las mismas. Los azúcares pueden incluir disacáridos, monosacáridos, trisacáridos y/o polisacáridos y pueden incluir otros excipientes, por ejemplo, glicerol y/o tensioactivos. Opcionalmente, se puede incluir una ciclodextrina como lioprotector adicional. La ciclodextrina se puede añadir en lugar de la sal de haluro iónico. Como alternativa, se puede añadir la ciclodextrina además de la sal de haluro iónico.

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

5 yodo de sodio, yodo de calcio, yodo de zinc, yodo de potasio, yodo de magnesio o yodo de amonio y/o mezclas de los mismos. En una realización, se puede usar de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 15 por ciento en peso de sacarosa con una sal de haluro iónico. En una realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mM de cloruro de sodio. En otra realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de aproximadamente 100 a aproximadamente 500 mM de sal de cloruro iónico divalente, tal como cloruro de calcio o cloruro de zinc. En otra realización más, la suspensión a liofilizar puede comprender, además, una ciclodextrina, por ejemplo, se puede usar de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de ciclodextrina.

10 Una ciclodextrina adecuada puede incluir α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina o mezclas de las mismas. Las ciclodextrinas ejemplares contempladas para su uso en las composiciones desveladas en el presente documento incluyen hidroxipropil- β -ciclodextrina (HPbCD), hidroxietil- β -ciclodextrina, sulfobutiléter- β -ciclodextrina, metil- β -ciclodextrina, dimetil- β -ciclodextrina, carboximetil- β -ciclodextrina, carboximetil etil- β -ciclodextrina, dietil- β -ciclodextrina, tri-O-alquil- β -ciclodextrina, glucosil- β -ciclodextrina y maltosil- β -ciclodextrina. En una realización, se puede usar de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 15 %, por ejemplo, del 5 a aproximadamente el 20 % en peso) con ciclodextrina. En una realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de β -ciclodextrina. Una composición ejemplar puede comprender nanopartículas que comprenden PLA-PEG, un agente activo/terapéutico, de aproximadamente el 4 % a aproximadamente el 6 % (por ejemplo, aproximadamente el 5 % en peso) de sacarosa y de aproximadamente el 8 a aproximadamente el 12 por ciento en peso (por ejemplo, aproximadamente el 10 % en peso) de HPbCD.

20 Se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende las nanopartículas desveladas, en la que, tras la reconstitución de la composición farmacéutica liofilizada a una concentración de nanopartículas de aproximadamente 50 mg/ml, en menos de o aproximadamente 100 ml de un medio acuoso, la composición reconstituida adecuada para administración parenteral comprende menos de 6.000, tal como menos de 3.000, micropartículas mayores o iguales a 10 micrómetros; y/o menos de 600, tal como menos de 300, micropartículas mayores o iguales a 25 micrómetros.

25 El número de micropartículas se puede determinar por medios, tales como el USP 32 <788> mediante ensayo de recuento de partículas por oscurecimiento de luz, el USP 32 <788> mediante ensayo de recuento de partículas microscópicas, una difracción láser y un sensor óptico de partículas individuales.

30 Se proporciona una composición farmacéutica adecuada para uso parenteral tras la reconstitución que comprende una pluralidad de partículas terapéuticas que comprenden, cada una, un copolímero que tiene un segmento de polímero hidrófobo y un segmento de polímero hidrófilo; un agente activo; un azúcar, y una ciclodextrina.

35 Por ejemplo, el copolímero puede ser copolímero de ácido poli(láctico)-bloque-poli(etileno) glicol. Tras la reconstitución, una muestra acuosa de 100 ml puede comprender menos de 6.000 partículas que tienen un tamaño mayor o igual a 10 micrómetros; y/o menos de 600 partículas por ml que tienen un tamaño mayor o igual a 25 micrómetros.

40 La etapa de añadir un disacárido y una sal de haluro iónico puede comprender añadir de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 15 por ciento en peso de sacarosa o de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 20 por ciento en peso de trehalosa) y de aproximadamente 10 a aproximadamente 500 mM de sal de haluro iónico. La sal de haluro iónico se puede seleccionar de cloruro de sodio, cloruro de calcio y cloruro de zinc o mezclas de los mismos. En una realización, también se añade de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de ciclodextrina.

45 En otra realización, la etapa de añadir un disacárido y una ciclodextrina puede comprender añadir de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 15 por ciento en peso de sacarosa o de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 20 por ciento en peso de trehalosa) y de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 25 por ciento en peso de ciclodextrina. En una realización, se añade de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 15 por ciento en peso de ciclodextrina. La ciclodextrina se puede seleccionar de α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina o mezclas de las mismas.

50 Se proporciona un procedimiento para la prevención de la agregación sustancial de partículas en una composición farmacéutica de nanopartículas que comprende añadir un azúcar y una sal a la formulación liofilizada para evitar la agregación de las nanopartículas tras la reconstitución. En una realización, también se añade una ciclodextrina a la formulación liofilizada. Se proporciona un procedimiento para la prevención de la agregación sustancial de partículas en una composición farmacéutica de nanopartículas que comprende añadir un azúcar y una ciclodextrina a la formulación liofilizada para evitar la agregación de las nanopartículas tras la reconstitución.

55 La composición liofilizada contemplada puede tener una concentración de partículas terapéuticas superior a aproximadamente 40 mg/ml. La formulación adecuada para administración por vía parenteral puede tener menos de aproximadamente 600 partículas que tienen un tamaño superior a 10 micrómetros en una dosis de 10 ml. La liofilización puede comprender congelar la composición a una temperatura superior a aproximadamente -40 °C o, por ejemplo, inferior a -30 °C, que forma una composición congelada; y secar la composición congelada para formar la

composición liofilizada. La etapa de secado se puede producir a aproximadamente 0,006 kPa (50 mTorr) a una temperatura de aproximadamente -25 a aproximadamente -34 °C o de aproximadamente -30 a aproximadamente -34 °C.

Procedimientos de tratamiento

5 Las nanopartículas dirigidas se pueden usar para someter a tratamiento, aliviar, mejorar, mitigar, retrasar la aparición de, inhibir el avance de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o signos de una enfermedad, un trastorno y/o una afección. Se pueden usar nanopartículas dirigidas para someter a tratamiento tumores sólidos, por ejemplo, cáncer y/o células cancerígenas. Las nanopartículas dirigidas se pueden usar para someter a tratamiento cualquier cáncer en el que el PSMA se exprese sobre la superficie de las células cancerígenas o en la neovascularización tumoral en un sujeto que lo necesite, incluyendo la neovascularización de próstata o tumores no prostáticos sólidos. Los ejemplos de la indicación relacionada con PSMA incluyen, pero sin limitación, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón de células no microcíticas, carcinoma colorrectal y glioblastoma.

10 El término "cáncer" incluye cánceres premalignos, así como malignos. Los cánceres incluyen, pero sin limitación, sangre (por ejemplo, leucemia mielógena crónica, leucemia mielomonocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda con cromosoma Filadelfia positivo, linfoma de células del manto), próstata, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, cáncer de piel, por ejemplo, melanomas o carcinomas de células basales, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no microcíticas), cáncer de mama, cánceres de cabeza y cuello, cáncer de bronquios, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga urinaria, cáncer cerebral o del sistema nervioso central, cáncer del sistema nervioso periférico, cáncer de esófago, cáncer de la cavidad oral o faringe, cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), cáncer de riñón (por ejemplo, carcinoma de células renales), cáncer testicular, cáncer del tracto biliar, cáncer de intestino delgado o apéndice, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de glándula salival, cáncer de glándula tiroides, cáncer de glándula suprarrenal, osteosarcoma, condrosarcoma, cáncer de tejidos hematológicos y similares. Las "células cancerígenas" pueden estar en forma de un tumor (es decir, un tumor sólido), existir solo dentro de un sujeto (por ejemplo, células leucémicas) o ser líneas celulares derivadas de un cáncer.

25 El cáncer puede estar asociado a una diversidad de síntomas físicos. Los síntomas del cáncer dependen, en general, del tipo y la localización del tumor. Por ejemplo, el cáncer de pulmón puede causar tos, dificultad para respirar y dolor en el pecho, mientras que el cáncer de colon a menudo causa diarrea, estreñimiento y sangre en las heces. Sin embargo, a fin de dar solo algunos ejemplos, los siguientes síntomas se asocian a menudo, en general, con muchos tipos de cáncer: fiebre, resfriado, sudores nocturnos, tos, disnea, pérdida de peso, pérdida de apetito, anorexia, náuseas, vómitos, diarrea, anemia, ictericia, hepatomegalia, hemoptisis, astenia, malestar, disfunción cognitiva, depresión, trastornos hormonales, neutropenia, dolor, llagas no curativas, ganglios linfáticos agrandados, neuropatía periférica y disfunción sexual.

35 Se proporciona un procedimiento para el tratamiento del cáncer (por ejemplo, leucemia). El tratamiento del cáncer comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de partículas dirigidas de la invención a un sujeto que lo necesite, en tales cantidades y durante tal tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de una partícula dirigida es aquella cantidad eficaz para someter a tratamiento, aliviar, mejorar, mitigar, retrasar el inicio de, inhibir el avance de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o signos de un cáncer.

40 Se proporciona un procedimiento para administrar composiciones de la invención a un sujeto que padece cáncer (por ejemplo, leucemia). Se pueden administrar partículas a un sujeto en tales cantidades y durante tal tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado (es decir, el tratamiento del cáncer). Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de una partícula dirigida de la invención es aquella cantidad eficaz para someter a tratamiento, aliviar, mejorar, mitigar, retrasar el inicio de, inhibir el avance de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o signos de un cáncer.

45 Los protocolos terapéuticos implican administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una partícula dirigida de la invención 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 estar "inmunizados" con una partícula dirigida de la invención antes del desarrollo del cáncer y/o la aparición de los síntomas del cáncer; los individuos con riesgo (por ejemplo, pacientes que tienen antecedentes familiares de cáncer; pacientes portadores de una o más mutaciones genéticas asociadas al desarrollo de cáncer; pacientes que tienen un polimorfismo genético asociado al desarrollo de cáncer; pacientes infectados por un virus asociado al desarrollo de cáncer; pacientes con hábitos y/o estilos de vida asociados al desarrollo de cáncer; etc.) se pueden someter a tratamiento de manera sustancialmente contemporánea con (por ejemplo, dentro de las 48 horas, dentro de las 24 horas o dentro de las 12 horas de) la aparición de los síntomas del cáncer. Por supuesto, los individuos que se sabe que tienen cáncer pueden recibir un tratamiento de la invención en cualquier momento.

55 Se pueden usar las nanopartículas desveladas para inhibir el crecimiento de las células cancerígenas, por ejemplo, las células de cáncer de próstata. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "inhibe el crecimiento de células cancerígenas" o "inhibir el crecimiento de células cancerígenas" se refiere a cualquier disminución de la velocidad de proliferación y/o migración de células cancerígenas, detención de la proliferación y/o migración de células

5 cancerígenas o muerte de células cancerígenas, de tal manera que la velocidad de crecimiento de células cancerígenas se reduce en comparación con la velocidad de crecimiento observada o predicha de una célula cancerígena de control no sometida a tratamiento. La expresión "inhibe el crecimiento" también puede referirse a una reducción en el tamaño o la desaparición de una célula cancerígena o un tumor, así como a una reducción de su potencial metastásico. Preferentemente, tal inhibición a nivel celular puede reducir el tamaño, detener el crecimiento, reducir la agresividad o prevenir o inhibir la metástasis de un cáncer en un paciente. Aquellos expertos en la materia pueden determinar fácilmente, mediante cualquiera de una diversidad de indicios adecuados, si se inhibe el crecimiento de células cancerígenas.

10 La inhibición del crecimiento de células cancerígenas se puede evidenciar, por ejemplo, mediante la detención de células cancerígenas en una fase particular del ciclo celular, por ejemplo, la detención en la fase G2/M del ciclo celular. La inhibición del crecimiento de células cancerígenas también se puede evidenciar mediante la medición directa o indirecta del tamaño de las células cancerígenas o el tumor. En pacientes humanos con cáncer, tales mediciones, en general, se hacen usando procedimientos de diagnóstico por imagen bien conocidos, tales como diagnóstico por imagen de resonancia magnética, tomografía axial computerizada y rayos X. El crecimiento de las células cancerígenas también se puede determinar de manera indirecta, tal como mediante la determinación de los niveles de antígeno carcinoembrionario en circulación, antígeno prostático específico u otros antígenos específicos del cáncer que se correlacionan con el crecimiento de las células cancerígenas. La inhibición del crecimiento del cáncer también se correlaciona, en general, con la supervivencia prolongada y/o la mejora de la salud y el bienestar del sujeto.

20 En el presente documento, también se proporcionan procedimientos para la administración a un paciente de una nanopartícula desvelada en el presente documento que incluye un agente terapéutico, en los que, tras la administración a un paciente, tales nanopartículas reducen sustancialmente el volumen de distribución y/o reducen sustancialmente la $C_{m\acute{a}x}$ libre, en comparación con la administración del agente solo (es decir, no tal como una nanopartícula desvelada).

Ejemplos

25 La invención, que se está describiendo ahora en general, se comprenderá más fácilmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos que se incluyen meramente para fines de ilustración de determinados aspectos y realizaciones y no pretenden limitar la invención de ninguna manera.

Referencia

Ejemplo 1: Preparación de nanopartículas ejemplares - Procedimiento de emulsión 1

30 Preparación de la fase orgánica. En un vial de vidrio de 20 ml se añaden copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen glicol) (PLA-PEG) (950 mg) y alcohol de bencilo (9 g). La mezcla se agita con vórtice durante una noche para dar una fase orgánica de polímero-BA. Antes de la formulación de las nanopartículas, se disuelven 50 mg de fármaco en la fase orgánica mediante agitación con vórtice.

35 Preparación de la fase acuosa. En una botella de 1 litro se añaden colato de sodio (SC) (4,75 g) y agua DI (955,25 g). La mezcla se agita sobre una placa de agitación hasta que se disuelve. Al colato de sodio/agua se añadió alcohol de bencilo (40 g) y la mezcla se agitó en una placa de agitación hasta que se disolvió.

40 Formación de la emulsión. La relación de fase acuosa respecto a fase orgánica es de 5:1. La fase orgánica se vierte en la fase acuosa y la mezcla se homogeneiza usando un homogeneizador manual durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión de curso. La emulsión de curso se alimenta a través de un homogeneizador de alta presión (110S) con una presión ajustada a 317 kPa (46 psi) en el medidor durante 2 pasadas separadas para formar una nanoemulsión (emulsión fina). (Nota: después de la 1ª pasada, se dopó el 5 % de SC en la nanoemulsión para lograr el 0,5 % de SC final).

45 Formación de nanopartículas. La nanoemulsión se vierte en un inactivador (agua DI) a menos de 5 °C, al tiempo que se agita en una placa de agitación para formar una fase inactivada. La relación de inactivación respecto a emulsión es de 10:1. En la fase inactivada se añade Tween 80 en agua (35 % (p/p)) en una relación de 100:1 de Tween 80 respecto a fármaco.

50 Concentración de nanopartículas a través de filtración de flujo tangencial (TFF en inglés). La fase inactivada se concentra usando la TFF con un casete Pall de 300 kDa (membrana 2) para formar un concentrado de nanopartículas de ~200 ml. El concentrado de nanopartículas se somete a diafiltración con ~20 diavolumenes (4 l) de agua fría DI. El volumen del concentrado de nanopartículas diafiltrado se reduce a un volumen mínimo. Se añade agua fría (100 ml) al recipiente y se bombea a través de la membrana para aclarar y formar una suspensión. La suspensión (~100 ml) se recoge en un vial de vidrio.

55 Determinación de la concentración de sólidos de la suspensión final no filtrada. En un vial de centelleo de 20 ml tarado se añade un volumen de suspensión final, que se seca al vacío en un liofilizador/horno. Se determina el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión secada. En la suspensión final se añade sacarosa concentrada (0,666 g/g) para obtener el 10 % de sacarosa.

Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final filtrada de 0,45 µm. Una parte de la muestra de suspensión final se filtra a través de un filtro de jeringa de 0,45 µm antes de la adición de sacarosa. En un vial de centelleo de 20 ml tarado se añade un volumen de muestra filtrada, que se seca al vacío usando un liofilizador/horno. La muestra restante de suspensión final no filtrada con sacarosa se congela.

5 **Ejemplo 2: Preparación de nanopartículas ejemplares - Procedimiento de emulsión 2**

Preparación de la fase orgánica. En un vial de vidrio de 20 ml se añaden copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilen glicol) (PLA-PEG) (700 mg) y acetato de etilo (16,22 g). La mezcla se agita con vórtice durante una noche para dar una solución de polímero-EA. En un segundo vial de vidrio de 20 ml se añaden 300 mg de dasatinib y aproximadamente 5 g de ácido trifluoroacético (TFA) al 3 % recién preparado en alcohol de bencilo (BA) y la mezcla se agita con vórtice durante una noche para dar una solución de fármaco-ácido-BA. Antes de la formulación de las nanopartículas, se añade la solución de polímero-EA a la solución de fármaco-ácido-BA y la mezcla se agita con vórtice para formar la fase orgánica.

Preparación de la fase acuosa. En una botella de 1 litro se añaden colato de sodio (SC) (5 g) y agua DI (955 g). La mezcla se agita sobre una placa de agitación hasta que se disuelve. Al colato de sodio/agua se añadió alcohol de bencilo (40 g) y la mezcla se agitó en una placa de agitación hasta que se disolvió.

Formación de la emulsión. La relación de fase acuosa respecto a fase orgánica es de 5:1. La fase orgánica se vierte en la fase acuosa y la mezcla se homogeneiza usando un homogeneizador manual durante 10 segundos a temperatura ambiente para formar una emulsión de curso. La emulsión de curso se alimenta a través de un homogeneizador de alta presión (110S) con una presión ajustada a 310 kPa (45 psi) en el medidor durante 1 pasada para formar una nanoemulsión (emulsión fina).

Formación de nanopartículas. La nanoemulsión se vierte en un inactivador (agua DI) a menos de 5 °C, al tiempo que se agita en una placa de agitación para formar una fase inactivada. La relación de inactivación respecto a emulsión es de 10:1. En la fase inactivada se añade Tween 80 en agua (35 % (p/p)) en una relación de 100:1 de Tween 80 respecto a fármaco.

Concentración de nanopartículas a través de filtración de flujo tangencial (TFF en inglés). La fase inactivada se concentra usando la TFF con un casete Pall de 300 kDa (membrana 2) para formar un concentrado de nanopartículas de ~200 ml. El concentrado de nanopartículas se somete a diafiltración con ~20 diavolumenes (4 l) de agua fría DI. El volumen del concentrado de nanopartículas diafiltrado se reduce a un volumen mínimo. Se añade agua fría (100 ml) al recipiente y se bombea a través de la membrana para aclarar y formar una suspensión. La suspensión (~100 ml) se recoge en un vial de vidrio. Determinación de la concentración de sólidos de la suspensión final no filtrada. En un vial de centelleo de 20 ml tarado se añade un volumen de suspensión final, que se seca al vacío en un liofilizador/horno. Se determina el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión secada. En la suspensión final se añade sacarosa concentrada (0,666 g/g) para obtener el 10 % de sacarosa.

Determinación de la concentración de sólidos de suspensión final filtrada de 0,45 µm. Una parte de la muestra de suspensión final se filtra a través de un filtro de jeringa de 0,45 µm antes de la adición de sacarosa. En un vial de centelleo de 20 ml tarado se añade un volumen de muestra filtrada, que se seca al vacío usando un liofilizador/horno. La muestra restante de suspensión final no filtrada con sacarosa se congela.

Ejemplo 3: Formulaciones

Se fabricaron seis formulaciones de dasatinib, con o sin dopaje de ácido. La carga teórica y la concentración de sólidos se enumeran en la Tabla 1:

Tabla 1. Formulaciones.

| N.º de lote | Descripción | Carga teórica de dasatinib | Concentración de sólidos |
|-------------|--|----------------------------|--------------------------|
| 1 | Surmodics 16-5 PLA-PEG crudo, solo BA | 5 % | 10 % |
| 2 | Surmodics 16-5 PLA-PEG fino, solo BA | 5 % | 10 % |
| 3 | 47-5 PLA-PEG, solo BA | 5 % | 10 % |
| 4 | Surmodics 16-5 PLA-PEG crudo, 1 % de TFA, 20/80 de BA/EA | 20 % | 4,70 % |
| 5 | Surmodics 16-5 PLA-PEG crudo, 3 % de TFA, 20/80 de BA/EA | 30 % | 4,70 % |
| 6 | Surmodics 16-5 PLA-PEG crudo, 6 % de ácido oleico, 20/80 | 7,5 % | 4,70 % |

Los lotes n.º 1-3 y 6 son ejemplos de referencia.

Sin dopaje de ácido, se usan el 5 % de carga teórica de fármacos y el 10 % de sólidos debido a la baja solubilidad del fármaco en BA (9,45 mg/ml). Con dopaje de ácido, la solubilidad del fármaco en la fase orgánica (BA que contiene TFA o ácido oleico) es mucho mayor, tal como se muestra en la Tabla 2, se podrían usar mayores cargas de fármaco. Todos los porcentajes de sólidos de las formulaciones dopadas con ácido se mantienen al 4,7 % para simular las

formulaciones dopadas con ácido de los inhibidores de la cinasa. Además, cuando la mezcla de ácido-BA se usó como disolvente de fármaco, la mezcla 20/80 de BA/EA se usó como disolvente de fase orgánica final al 80 % (peso) mediante la adición de polímero-EA a la solución de fármaco-BA justo antes de las formulaciones.

Tabla 2. Solubilidad de dasatinib en disolventes seleccionados con o sin dopaje de ácido.

| Disolventes con o sin dopaje de ácido | Solubilidad de dasatinib (mg/ml, mediante HPLC) |
|---------------------------------------|---|
| BA | 9,45 |
| EA | 0,32 |
| 7,5 % de agua en BA | 32,76 |
| 1 % de TFA en BA | 56,49 |
| 2 % de TFA en BA | 102,87 |
| 3 % de TFA en BA | 140,92 |
| 3 % de TFA en el 7,5 % de agua en BA | 157,16 |
| 3 % de ácido oleico en BA | 16,82 |
| 6 % de ácido oleico en BA | 25,18 |
| 9 % de ácido oleico en BA | 29,84 |

- 5 Los datos de caracterización están compilados en la Tabla 3. Los tamaños de partícula de las formulaciones estaban dentro del intervalo de aproximadamente 100-150 nm. Cuatro lotes tenían un tamaño de partícula de 110±10 nm, dos lotes dieron tamaños un poco más grandes, de 137,2 nm y 143,1 nm, respectivamente.

10 Dos lotes 16/5 (1 y 2) y un lote 47/5 (3), sin dopaje de ácido, dieron una carga de fármaco del <1 %. El uso de TFA al 1 % o ácido oleico al 6 % en BA (4 y 6) también dio una carga de fármaco del <1 %. Dasatinib tuvo la solubilidad más alta en el 3 % de TFA, lo que permitió una carga teórica de fármaco mucho mayor del 30 % (5). La carga de fármaco se mejoró hasta el 2,54 % para el 3 % de TFA.

Tabla 3. Caracterizaciones de formulaciones.

| N.º de lote | Formulación | % de carga | tamaño (nm) | Notas |
|-------------|--|---------------|-------------|--|
| 1 | 16-5 PLA-PEG crudo, solo BA, 10 % de sólidos, 5 % de carga diana | 0,87 % | 113,3 | 0,475 % de SC, 1 a 46 psi, dopado con 0,35 g del 5 % de SC al ~ 0,50 %, 1 a 46 psi |
| 2 | 16-5 PLA-PEG fino, solo BA, 10 % de sólidos, 5 % de carga diana | 0,98 % | 106,4 | 0,475 % de SC, 1 a 45 psi, dopado con 0,37 g del 5 % de SC al ~ 0,50 %, 1 a 45 psi |
| 3 | 47-5 PLA-PEG, solo BA, 10 % de sólidos, 5 % de carga diana | 0,46 % | 112,9 | 1,2 % de SC, 1 a 45 psi, dopado con 3,73 g del 5 % de SC al ~ 1,4 %, 1 a 45 psi |
| 4 | 16-5 PLA-PEG crudo, 4,7 % de sólidos, 30 % de carga diana, 1 % de TFA, 20/80 de BA/EA | 0,34 % | 137,2 | 0,30 % de SC, 1 a 45 psi, |
| 5 | 16-5 PLA-PEG crudo, 4,7 % de sólidos, 30 % de carga diana, 3 % de TFA, 20/80 de BA/EA | 2,54 % | 143,1 | 0,50 % de SC, 1 a 45 psi, |
| 6 | 16-5 PLA-PEG crudo, 4,7 % de sólidos, 10 % de carga diana, 6 % de ácido oleico, 20/80 de BA/EA | 0,54 % | 113,6 | 0,125 % de SC, 1 a 45 psi, |

Los datos *in vitro* se muestran en la Figura 4 y la Tabla 3. Tres lotes sin ácido y un lote de ácido oleico dieron una liberación por estallido similar de aproximadamente el 10 % del fármaco. La liberación de fármaco en dos lotes sin ácido de 16/5 fue la más rápida con una liberación de 4 horas de aproximadamente el 60 % del fármaco. El lote de ácido oleico y el lote sin ácido de 47/5 mostraron una liberación de 4 horas de aproximadamente el 50 %.

El lote del 1 % de TFA (4) mostró la liberación por estallido más alta, con aproximadamente el 25,44 % del fármaco liberado. La liberación del fármaco del lote (4) se produjo casi tan rápido como los lotes sin ácido de 16/5 con una liberación de 4 horas del 59,22 % del fármaco.

Entre todas las formulaciones, el lote del 3 % de TFA (5) dio la liberación por estallido más baja, del 3,4 %. Además, la liberación fue significativamente más lenta en comparación con los dos lotes sin ácido de 16/5, con una liberación de 4 horas del 17,06 % del fármaco.

Los datos de liberación de 24 horas y 48 horas, en la Tabla 4, están subrayados porque el fármaco recuperado en estos dos puntos temporales muestra una degradación significativa (los datos se muestran en la parte inferior de la Tabla en la sección de Recuperación de fármaco). Después de 4 horas de incubación a 37 °C, se observa la degradación de dasatinib.

Tabla 4. Resultados y recuperación de fármaco durante los experimentos *in vitro*.

| Tiempo (horas) | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 | Lote 4 | Lote 5 | Lote 6 |
|----------------|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 11,62 | 10,92 | 14,28 | 25,44 | 3,40 | 10,50 |
| 1 | 31,22 | 37,22 | 35,42 | 46,44 | 6,79 | 27,84 |
| 2 | 41,52 | 59,05 | 39,71 | 50,48 | 9,58 | 37,27 |
| 4 | 60,99 | 67,90 | 46,51 | 59,22 | 17,06 | 51,71 |
| 24 | <u>90,89</u> | <u>88,27</u> | <u>53,11</u> | <u>86,13</u> | <u>47,72</u> | <u>84,67</u> |
| 48 | <u>83,80</u> | <u>87,14</u> | <u>37,09</u> | <u>85,14</u> | <u>55,56</u> | <u>82,00</u> |
| Tiempo (horas) | Recuperación de fármaco (%) | | | | | |
| 1 | 99,6 % | 98,5 % | 99,1 % | 99,1 % | 100,6 % | 99,5 % |
| 4 | 93,2 % | 88,9 % | 92,3 % | 89,7 % | 96,3 % | 94,0 % |
| 24 | <u>45,90 %</u> | <u>42,94 %</u> | <u>56,16 %</u> | <u>43,77 %</u> | <u>64,92 %</u> | <u>44,27 %</u> |
| 48 | <u>14,19 %</u> | <u>12,07 %</u> | <u>29,65 %</u> | <u>13,53 %</u> | <u>30,60 %</u> | <u>13,26 %</u> |

Las formulaciones anteriores demuestran la capacidad de la adición del 3 % de TFA a BA tanto para mejorar la carga de fármaco como para disminuir la velocidad de liberación del fármaco, tal como se observa en las formulaciones de inhibidores de la cinasa.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de una pluralidad de nanopartículas terapéuticas, que comprende:
- 5 combinar un agente terapéutico, un primer polímero y un ácido carboxílico halogenado, que es un ácido carboxílico alifático, con un disolvente orgánico para formar una primera fase orgánica, que es una solución, en el que los sólidos usados para formar la primera fase orgánica comprenden del 1 al 50 % en peso de la primera fase orgánica; combinar la primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar la pluralidad de nanopartículas terapéuticas; y recuperar las nanopartículas terapéuticas mediante filtración.
- 10 2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el ácido carboxílico halogenado tiene un pK_a de menos de 2,0 a 25 °C.
3. El procedimiento de la reivindicación 2, en el que el ácido carboxílico halogenado tiene un pK_a de menos de 1,0 a 25 °C.
4. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que las nanopartículas terapéuticas comprenden del 1 al 10 por ciento en peso del agente terapéutico.
- 15 5. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que las nanopartículas terapéuticas preparadas mediante el procedimiento tienen una carga de agente terapéutico al menos 2 veces más alta en comparación con las nanopartículas terapéuticas preparadas mediante otro procedimiento, en el que el otro procedimiento es idéntico al procedimiento, excepto que el otro procedimiento no incluye el ácido carboxílico halogenado.
- 20 6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el agente terapéutico tiene una solubilidad en una primera solución que consiste en el agente terapéutico, el disolvente orgánico y el ácido carboxílico halogenado que es al menos 5 veces más alta en comparación con una segunda solución que consiste en el agente terapéutico y el disolvente orgánico.
7. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el ácido carboxílico halogenado es ácido trifluoroacético.
- 25 8. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que las nanopartículas terapéuticas liberan del 0,01 al 25 % del agente terapéutico durante 1 hora cuando se colocan en una solución de tampón de fosfato a 37 °C.
9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que las nanopartículas terapéuticas tienen un diámetro de 60 nm a 150 nm.
- 30 10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que la combinación de la primera fase orgánica con la primera solución acuosa comprende la emulsión de una segunda fase, formada a partir de la combinación de la primera fase orgánica con la primera solución acuosa, para formar una fase de emulsión.
11. El procedimiento de la reivindicación 10, que comprende, además, la inactivación de la fase de emulsión para formar una fase inactivada.
- 35 12. El procedimiento de la reivindicación 11, que comprende, además, la adición de un solubilizante de fármaco a la fase inactivada para formar una fase solubilizada de agente terapéutico no encapsulado.
13. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la solución acuosa comprende un reactivo seleccionado del grupo que consiste en colato de sodio, acetato de etilo, alcohol de bencilo o combinaciones de los mismos.
- 40 14. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 11-13, en el que la inactivación se realiza entre 0 °C y 5 °C y en el que la relación de inactivación:emulsión es de 2:1 a 40:1.
15. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 12-14, en el que el solubilizante de fármaco se selecciona del grupo que consiste en polivinil pirrolidona, ciclodextrano, dodecil sulfato de sodio y colato de sodio.
- 45 16. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en el que el primer polímero es un copolímero dibloque de ácido poli(láctico)-poli(etilén)glicol.

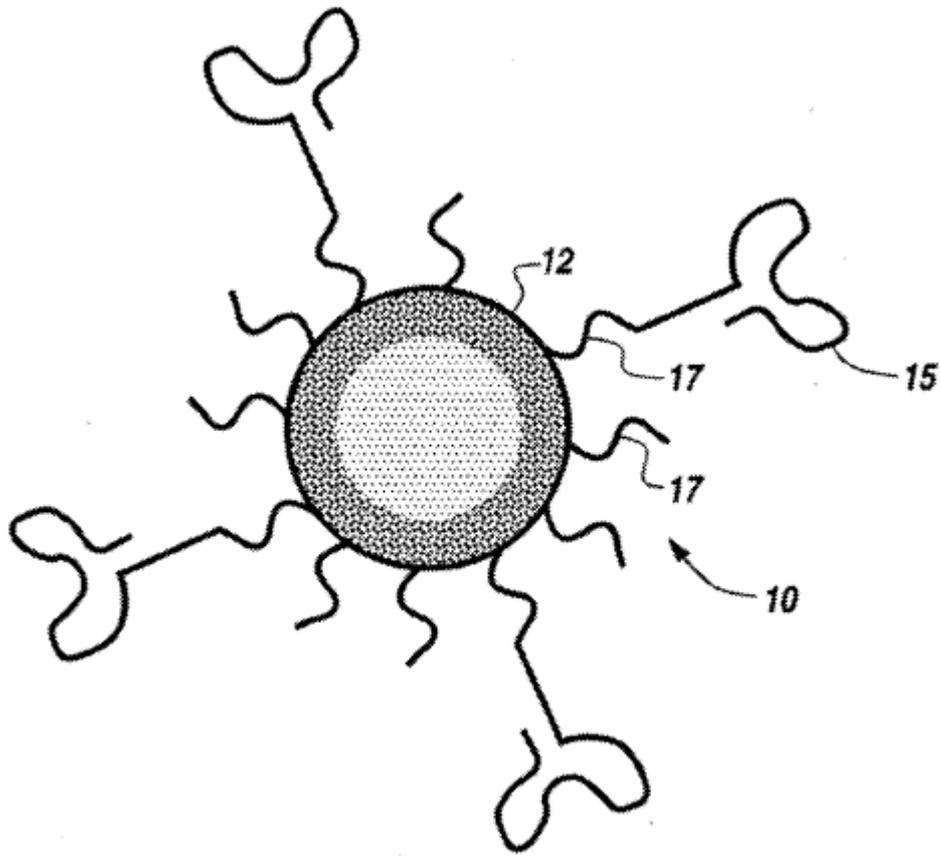


Figura 1

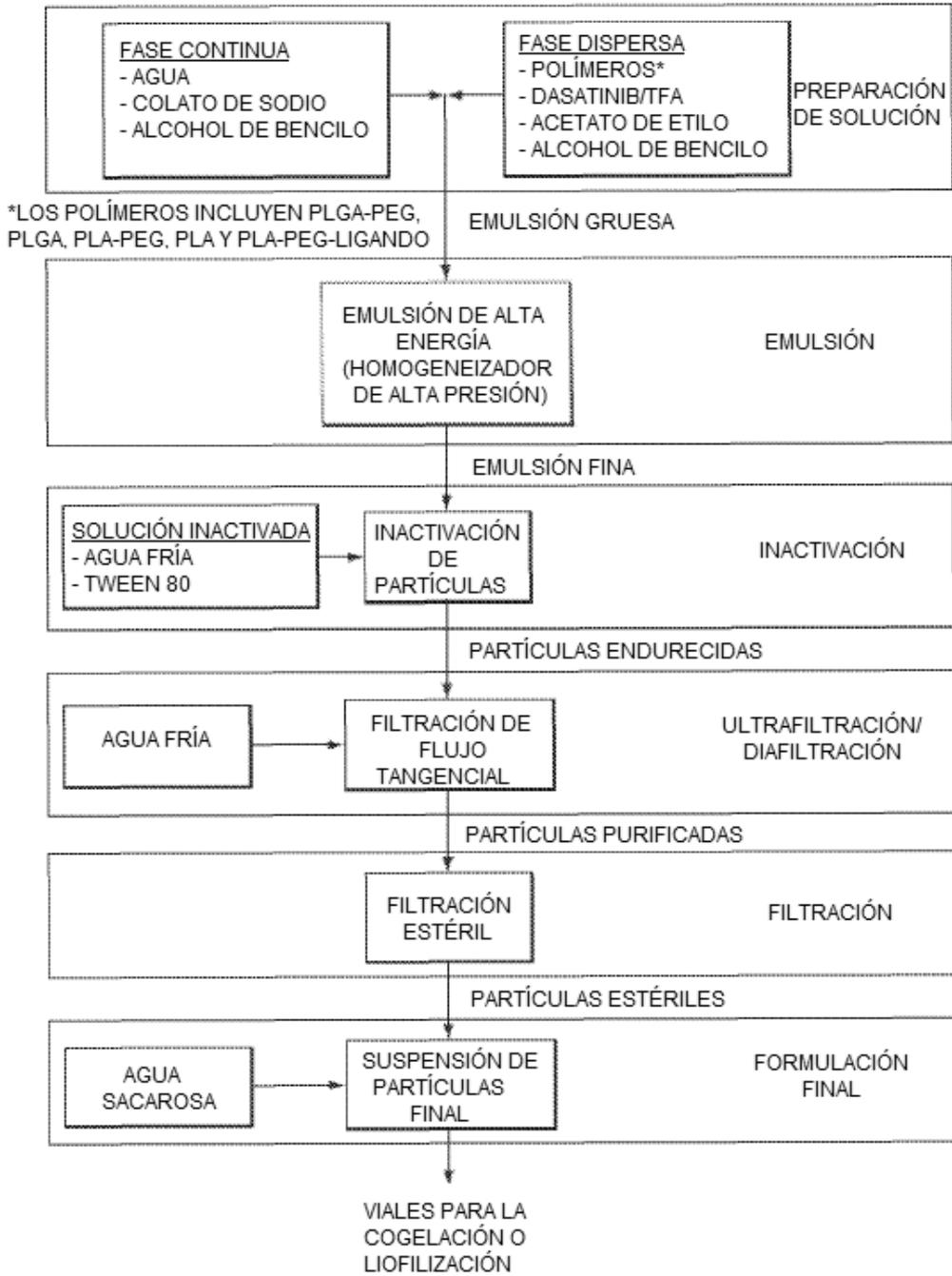


Figura 2

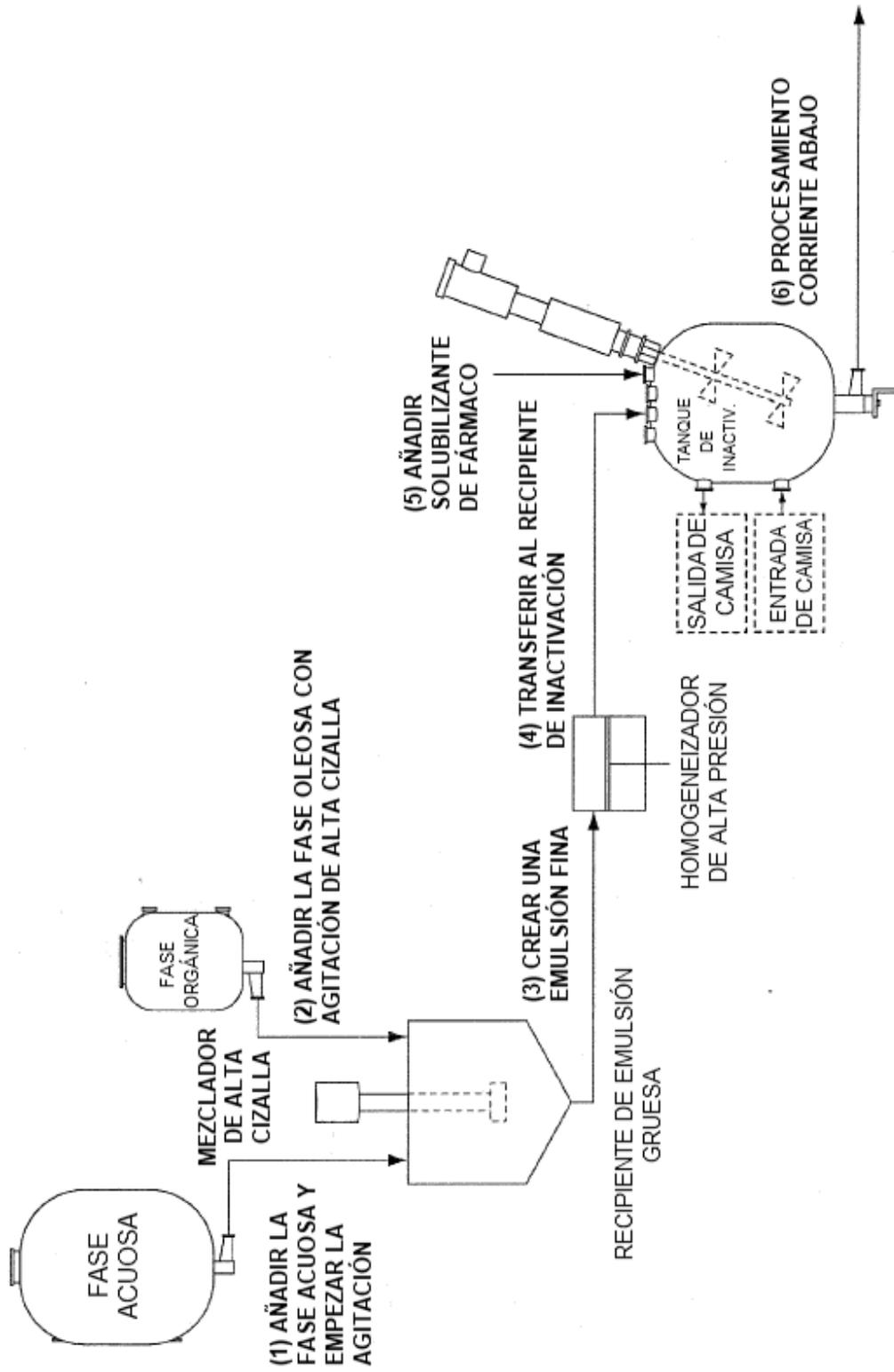


Figura 3A

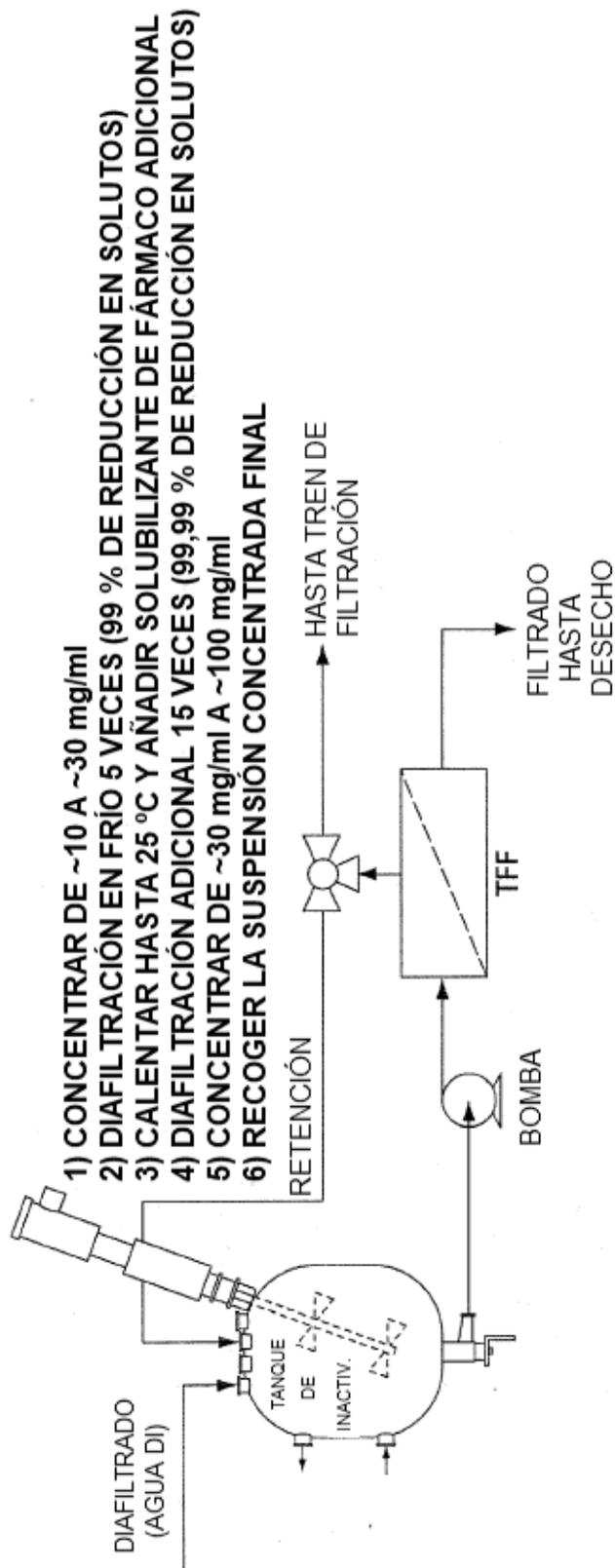


Figura 3B

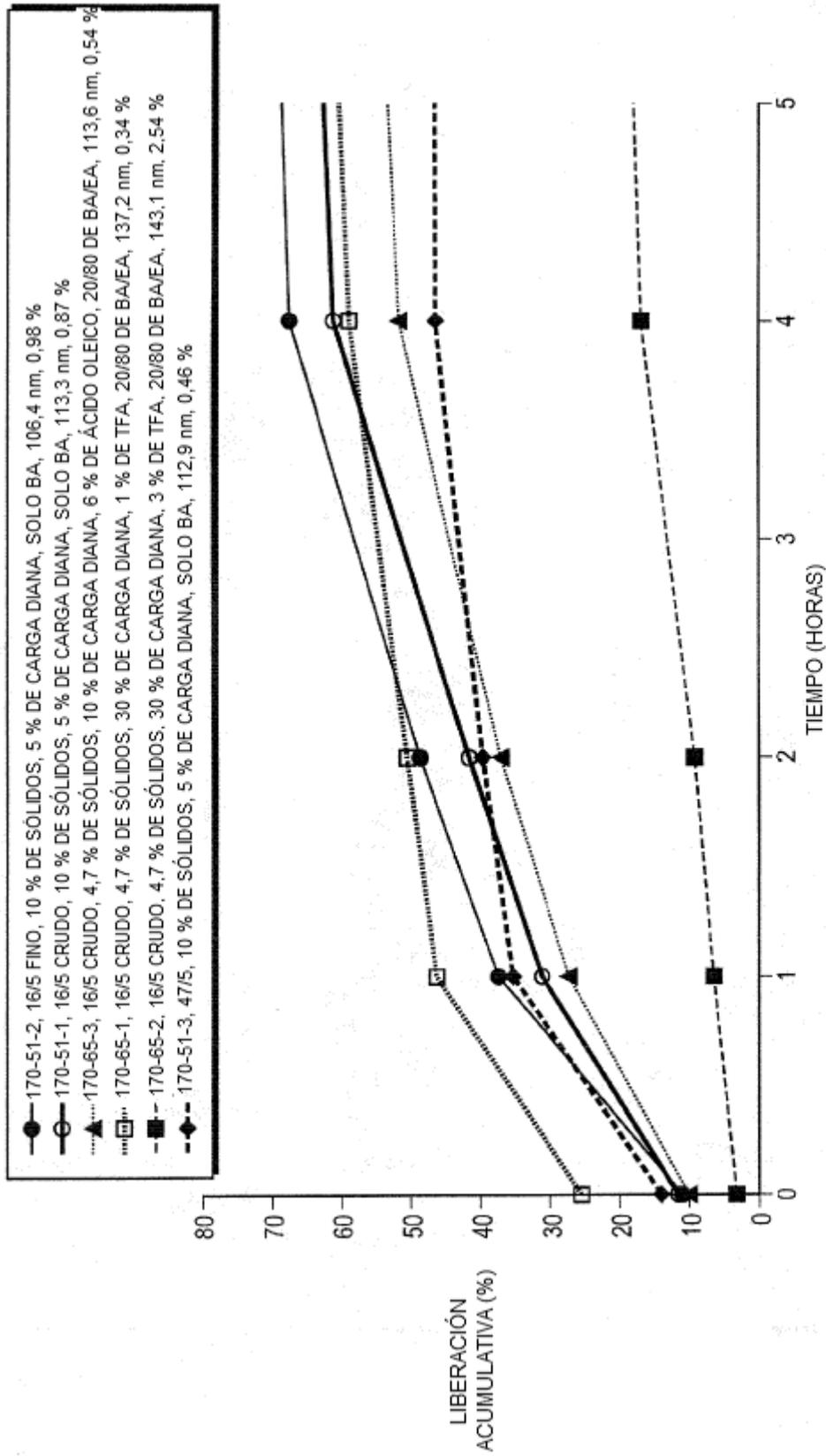


Figura 4