

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 737 692**

51 Int. Cl.:

A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/28 (2006.01)
A61K 47/34 (2007.01)
A61K 9/107 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2015 PCT/US2015/020343**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.09.2015 WO15138835**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2015 E 15713285 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2019 EP 3116547**

54 Título: **Nanopartículas terapéuticas que comprenden un agente terapéutico y procedimientos de fabricación y uso de las mismas**

30 Prioridad:

14.03.2014 US 201461953628 P

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

15.01.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**BAGRODIA, SHUBHA;
LAFONTAINE, JENNIFER;
LOVATT, ZACH;
SHIN, EYOUNG;
SONG, YOUNG, HO;
TROIANO, GREG y
WANG, HONG**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

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

ES 2 737 692 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nanopartículas terapéuticas que comprenden un agente terapéutico y procedimientos de fabricación y uso de las mismas

Antecedentes

5 Los sistemas que administran determinados fármacos a un paciente (por ejemplo, dirigidos a un tejido particular o tipo celular o dirigidos a un tejido enfermo específico pero no a un tejido normal) o que controlan la liberación de fármacos se han reconocido durante mucho tiempo como beneficiosos.

10 Por ejemplo, las sustancias terapéuticas que incluyen un fármaco activo y que, por ejemplo, se dirigen a un tejido particular o tipo celular o que se dirigen a un tejido enfermo específico pero no a un tejido normal, pueden reducir la cantidad de fármaco en los tejidos del cuerpo que no actúan como diana. Esto resulta particularmente importante cuando se trata una afección tal como cáncer en la que resulta deseable administrar una dosis citotóxica del fármaco a las células cancerígenas sin matar el tejido no cancerígeno circundante. La dirección efectiva del fármaco puede reducir los efectos secundarios no deseados y, en ocasiones, amenazadores para la vida, comunes en terapia anti-cáncer. Además, dichas sustancias terapéuticas pueden permitir que los fármacos alcancen determinados tejidos que, de lo contrario, resultarían imposibles de alcanzar.

15 Las sustancias terapéuticas que ofrecen liberación controlada y/o terapia dirigida también deben ser capaces de administrar una cantidad efectiva del fármaco, que es una limitación conocida en otros sistemas de administración de nanopartículas. Por ejemplo, puede ser un reto preparar sistemas de nanopartículas que tengan una cantidad apropiada de fármaco asociada con cada nanopartícula, al tiempo que se mantiene el tamaño de las nanopartículas suficientemente pequeño para presentar propiedades de administración ventajosas.

20 Los agentes terapéuticos que contienen al menos un átomo de nitrógeno básico (es decir, agentes terapéuticos que contienen nitrógeno protonable) representan un grupo importante de agentes terapéuticos. No obstante, las formulaciones terapéuticas de esta clase de fármacos, con frecuencia, se ve impedidas por propiedades no deseadas, por ejemplo, perfiles de liberación por estallido desfavorables y escasa carga de fármaco.

25 Por consiguiente, existe una demanda de sustancias terapéuticas en forma de nanopartículas y procedimientos de preparación de dichas nanopartículas que sean capaces de administrar niveles terapéuticos de agentes terapéuticos que contienen nitrógeno protonable para tratar enfermedades tales como cáncer, al tiempo que también reducen los efectos secundarios.

Sumario

30 La presente invención hace referencia a una nanopartícula terapéutica del fármaco terapéutico, 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o sales farmacéuticamente aceptables de la misma. Más específicamente, la presente invención hace referencia a una nanopartícula terapéutica que comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o sales farmacéuticamente aceptables de la misma y que además comprenden un ácido sustancialmente hidrófobo. Además, la presente invención hace referencia a una nanopartícula terapéutica que comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o sales farmacéuticamente aceptables de la misma, un ácido sustancialmente hidrófobo y un polímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) y una combinación de los mismos, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol). La presente invención también hace referencia a una composición farmacéutica que comprende dichas nanopartículas, incluyendo una pluralidad de dichas nanopartículas, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Además, la presente invención hace referencia a una nanopartícula terapéutica que comprende de aproximadamente 0,05 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 25 en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un copolímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) y una combinación de los mismos, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), así como también una composición farmacéutica que comprende la nanopartícula terapéutica y un excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención también hace referencia a una nanopartícula terapéutica que comprende de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un copolímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) y una combinación de los mismos, en la que la nanopartícula

terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, así como también una composición farmacéutica que comprende la nanopartícula terapéutica y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 En la presente memoria se describen nanopartículas poliméricas que incluyen el agente terapéutico, 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. El presente compuesto es básico y es un agente terapéutico que contiene nitrógeno protonable, como se define a continuación en la presente memoria. También se describen en la presente memoria procedimientos de preparación y uso de dichas nanopartículas terapéuticas.

10 En un aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica. En este aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que el pK_a de la forma protonada del agente terapéutico es al menos de aproximadamente 1,0 unidad pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo, y de aproximadamente un 50 a
15 aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un copolímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y una combinación de los mismos, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En una realización, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que el pK_a de la forma protonada del agente terapéutico es al menos de aproximadamente 1,0 unidad pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo, y de aproximadamente un 50 a
20 aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un copolímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y una combinación de los mismos, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una
30 relación en peso de aproximadamente 1:7 (agente terapéutico:PLA-PEG). En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:5 (agente terapéutico:PLA-PEG). En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una
35 relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:4 (agente terapéutico: PLA-PEG). En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:14 (agente terapéutico:PLA-PEG). En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:3 (agente terapéutico:PLA-PEG).

En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende un ácido sustancialmente hidrófobo, en la que la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico anteriormente mencionado varía de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 25 por ciento
45 en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado, en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es al menos de aproximadamente 1,0 unidad pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo, y de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un polímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y una combinación de los mismos, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En una realización, la nanopartícula terapéutica comprende un ácido sustancialmente hidrófobo, en la que la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico anteriormente mencionado varía de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado, en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es al menos de
50 aproximadamente 1,0 unidad pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo, y de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un polímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y una combinación de los mismos, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

55 En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende un ácido sustancialmente hidrófobo y el agente terapéutico anteriormente mencionado, en la que el pK_a del agente terapéutico es de al menos aproximadamente 1,0 unidad pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo, y un polímero seleccionado entre un

copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y una combinación de los mismos.

5 En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico anteriormente mencionado, un ácido sustancialmente hidrófobo, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico varía de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1 y en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es de al menos aproximadamente 1,0 unidad pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo, y un polímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol y un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol.

10 En algunas realizaciones, la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico anteriormente mencionado varía de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 1,5:1. En determinadas realizaciones, la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico anteriormente mencionado varía de aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1,25:1. En determinadas realizaciones, la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico anteriormente mencionado varía de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 1:1. En determinadas realizaciones, el pK_a de la forma protonada del agente terapéutico anteriormente mencionado es de al menos aproximadamente 2,0 unidades pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo. En otras realizaciones, el pK_a de la forma protonada del agente terapéutico anteriormente mencionado es de al menos aproximadamente 4,0 pK_a unidades mayor que el pK_a del ácido hidrófobo.

20 En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica comprende un ion hidrófobo-par que comprende un ácido hidrófobo y el agente terapéutico anteriormente mencionado; en la que la diferencia entre el pK_a de la forma protonada del agente terapéutico anteriormente mencionado es de al menos aproximadamente 1,0 unidad pK_a , y de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un copolímero de dibloques de un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, en la que el copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilen)glicol. En determinadas realizaciones del presente aspecto de la invención, la diferencia entre el pK_a de la forma protonada del agente terapéutico anteriormente mencionado y el ácido hidrófobo es de al menos aproximadamente 2,0 unidades pK_a . En otras realizaciones, la diferencia entre el pK_a de la forma protonada del agente terapéutico anteriormente mencionado y el ácido hidrófobo es de al menos aproximadamente 4,0 pK_a unidades.

30 En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 20 por ciento en peso de un ácido hidrófobo.

35 En algunas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un log P de aproximadamente 2 a aproximadamente 8, en el que P es el coeficiente de reparto octanol/agua del ácido hidrófobo. En algunas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un log P de aproximadamente 4 a aproximadamente 8. En algunas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un log P de aproximadamente 2 a aproximadamente 7.

40 En algunas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un pK_a en agua de aproximadamente -1,0 a aproximadamente 5,0. En otras realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un pK_a en agua de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 5,0.

En determinadas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo y el agente terapéutico anteriormente mencionado forman un par iónico hidrófobo en la nanopartícula terapéutica.

45 En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo es un ácido graso. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el ácido graso es un ácido graso saturado, que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirfístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido nonadecílico, ácido araquídico, ácido heneicosílico, ácido behénico, ácido tricosisílico, ácido lignocérico, ácido pentacosílico, ácido cerótico, ácido heptacosílico, ácido montánico, ácido nonacosílico, ácido melísico, ácido hentriacontílico, ácido lacéroico, ácido psílico, ácido gédico, ácido ceroplástico, ácido hexatriacontílico o combinaciones de los mismos. En otras realizaciones, el ácido graso es un ácido graso de omega-3, que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido hexadecatrienoico, ácido alfa-linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosatrienoico, ácido eicosatetraenoico, ácido eicosapentanoico, ácido heneicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido tetracosapentaenoico, ácido tetracosahexaenoico o combinaciones de los mismos. En otras realizaciones más, el ácido graso es un ácido graso de omega-6, que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido linoleico, ácido gamma-lineolénico, ácido eicosadienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido araquidónico, ácido docosadienoico, ácido adrénico, ácido docosapentaenoico, ácido tetracosatetraenoico, ácido tetracosapentaenoico o combinaciones de los mismos. En algunas otras realizaciones, el ácido graso es un ácido graso de omega-9, que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido oleico, ácido icosenoico, ácido meádico, ácido erúcico, ácido nervónico o combinaciones de los mismos. En otras realizaciones, el ácido graso es un ácido graso poliinsaturado, que incluye, no de forma

limitativa, ácido ruménico, ácido α -caléndico, ácido β -caléndico, ácido jacárico, ácido α -eleosteárico, ácido β -eleosteárico, ácido catálpico, ácido punícico, ácido rumelénico, ácido α -parinárico, ácido β -parinárico, ácido boseopentaenoico, ácido pinolénico, ácido podocárpico o combinaciones de los mismos.

5 En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo es un ácido biliar. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el ácido biliar incluye pero no de forma limitativa, ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido hicolico, ácido beta-muricónico, ácido cólico, ácido litocólico, ácido biliar conjugado con amino ácido o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el ácido biliar es ácido cólico. En otras realizaciones, el ácido biliar conjugado con amino ácido es un ácido biliar conjugado con glicina o un ácido biliar conjugado con taurina.

10 En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo incluye pero no de forma limitativa, ácido dioctil sulfosuccínico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido dodecilsulfúrico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido pamoico, ácido undecanoico o combinaciones de los mismos.

En otras realizaciones, el ácido hidrófobo tiene un peso molecular de entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 800 Da.

15 En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo es ácido pamoico. En otras realizaciones, el ácido hidrófobo es ácido oleico. En algunas realizaciones, la relación en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea con respecto a ácido oleico es de aproximadamente 6:1. En algunas realizaciones, la relación en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea con respecto a ácido pamoico es de aproximadamente 1,8:1.

20 En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 15 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 2 a aproximadamente un 15 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado. En otras realizaciones más, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 4 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado. En otras realizaciones más, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 4 a aproximadamente un 15 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado. En algunas otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado. En algunas otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 10 por ciento en peso del agente terapéutico anteriormente mencionado.

35 En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica conserva sustancialmente el agente terapéutico durante al menos 1 minuto cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica libera de forma sustancialmente inmediata menos de aproximadamente un 30 % del agente terapéutico cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 45 % del agente terapéutico durante aproximadamente 1 hora cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 % del agente terapéutico durante aproximadamente 4 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 % del agente terapéutico durante aproximadamente 10 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 25 % del agente terapéutico durante aproximadamente 20 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 40 % del agente terapéutico durante aproximadamente 40 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C. En algunas realizaciones, la nanopartícula tiene un perfil de liberación que es sustancialmente el mismo que el perfil de liberación para una nanopartícula de control que es sustancialmente la misma que la nanopartícula terapéutica exceptuando que no contiene un ácido graso o un ácido biliar.

55 En determinadas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente un 0,6 a aproximadamente un 0,95. En algunas otras realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente un 0,6 a aproximadamente un 0,8. En otras realizaciones más, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente un 0,75 a aproximadamente un 0,85. En otras realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente un 0,7 a aproximadamente un 0,9.

- En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En algunas otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 20 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En otras realizaciones más, en las que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 15 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En otras realizaciones, en las que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
- En determinadas realizaciones, en las que el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilen)glicol.
- En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica además comprende de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol funcionalizado con un ligando de dirección. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica además comprende de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido coglicólico)-poli(etilen)glicol funcionalizado con un ligando de dirección. En determinadas realizaciones, el ligando de dirección está unido covalentemente al poli(etilen)glicol.
- En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo es un polielectrolito. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polielectrolito incluye pero sin limitación poli(ácido estiren sulfónico), poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico) o combinaciones de los mismos.
- En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica contemplada comprende además una mezcla de dos o más ácidos sustancialmente hidrófobos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica contemplada comprende además una mezcla de dos o más ácidos sustancialmente hidrófobos, una mezcla de tres ácidos sustancialmente hidrófobos, una mezcla de cuatro ácidos sustancialmente hidrófobos o una mezcla de cinco ácidos sustancialmente hidrófobos. En algunas realizaciones, la mezcla de ácidos sustancialmente hidrófobos comprende ácido oleico y ácido cólico. En otras realizaciones, la mezcla de dos ácidos sustancialmente hidrófobos son ácido oleico y ácido cólico.
- En otro aspecto, la nanopartícula terapéutica se prepara por medio de emulsión de una primera fase orgánica que comprende un primer polímero, el agente terapéutico anteriormente mencionado y un ácido sustancialmente hidrófobo, formándose de este modo una fase de emulsión; inactivando la fase de emulsión, formando de este modo una fase inactivada y finalmente filtrando la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas.
- En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un ácido graso. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el ácido graso usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un ácido graso saturado que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido nonadecílico, ácido araquídico, ácido heneicosílico, ácido behénico, ácido tricosílico, ácido lignocérico, ácido pentacosílico, ácido cerótico, ácido heptacosílico, ácido montánico, ácido nonacosílico, ácido melísico, ácido hentriacontílico, ácido lacéico, ácido psílico, ácido gédico, ácido ceroplástico, ácido hexatriacontílico o combinaciones de los mismos. En otras realizaciones, el ácido graso usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un ácido graso omega-3 que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido hexadecatrienoico, ácido alfa-linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosatrienoico, ácido eicosatetraenoico, ácido eicosapentanoico, ácido heneicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido tetracosapentaenoico, ácido tetracosahexaenoico o combinaciones de los mismos. En otras realizaciones más, el ácido graso usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un ácido graso omega-6 que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido linoleico, ácido gamma-linolénico, ácido eicosadienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido araquidónico, ácido docosadienoico, ácido adrénico, ácido docosapentaenoico, ácido tetracosatetraenoico, ácido tetracosapentaenoico o combinaciones de los mismos. En algunas otras realizaciones, el ácido graso usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un ácido graso omega-9 que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido oleico, ácido icosenoico, ácido meádico, ácido erúxico, ácido nervónico o combinaciones de los mismos. En otras realizaciones, el ácido graso usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un ácido graso poliinsaturado que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido ruménico, ácido α -caléndico, ácido β -caléndico, ácido jacárico, ácido α -eleosteárico, ácido β -eleosteárico, ácido catálico, ácido punícico, ácido rumelénico, ácido α -parinárico, ácido β -parinárico, ácido boseo-pentanoico, ácido pinolénico, ácido podocárpico o combinaciones de los mismos.
- En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un ácido biliar que incluye, aunque no de forma limitativa, ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido hicolico, ácido beta-muricónico, ácido cólico, ácido litocólico, ácido biliar conjugado con amino ácido o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el ácido biliar es ácido cólico. En otras realizaciones, el ácido biliar conjugado con amino ácido es un ácido biliar conjugado con glicina o un ácido biliar conjugado con taurina.

En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica incluye, pero sin limitación, ácido dioctil sulfosuccínico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido dodecilsulfúrico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido pamoico, ácido undecanoico o combinaciones de los mismos.

5 En otras realizaciones, el ácido hidrófobo usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica tiene un peso molecular de entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 800 Da.

En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es ácido pamoico. En otras realizaciones, el ácido hidrófobo usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es ácido oleico. En algunas realizaciones, la relación en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea con respecto a ácido oleico usada en la preparación de la nanopartícula terapéutica es de aproximadamente 6:1. En algunas realizaciones, la relación en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea con respecto a ácido pamoico usada en la preparación de la nanopartícula terapéutica es de aproximadamente 1,8:1. En algunas realizaciones, la relación en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea con respecto a ácido oleico usada en la preparación de la nanopartícula terapéutica es 6:1. En algunas realizaciones, la relación en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea con respecto a ácido pamoico usada en la preparación de la nanopartícula terapéutica es 1,8:1.

En determinadas realizaciones, el primer polímero usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol. En otras realizaciones, el primer polímero es un copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol. En determinadas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente un 0,6 a aproximadamente un 0,95. En algunas otras realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente un 0,6 a aproximadamente un 0,8. En otras realizaciones más, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente un 0,75 a aproximadamente un 0,85. En otras realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente un 0,7 a aproximadamente un 0,9.

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica se prepara usando de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En algunas otras realizaciones, se usa de aproximadamente un 10 a un 20 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En otras realizaciones más, se usa de aproximadamente un 15 a un 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol. En otras realizaciones, se usa de aproximadamente un 20 a un 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

En determinadas realizaciones, en las que el copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica tiene un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilen)glicol.

En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica se prepara sometiendo a funcionalización de manera adicional de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol con un ligando de dirección. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica se prepara sometiendo a funcionalización adicional de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)(etilen)glicol con un ligando de dirección. En determinadas realizaciones, el ligando de dirección está unido covalentemente al poli(etilen)glicol.

En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo usado en la preparación de la nanopartícula terapéutica es un polielectrolito. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polielectrolito incluye, pero sin limitación, un poli(ácido estiren sulfónico), poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico) o combinaciones de los mismos.

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica se prepara usando una mezcla de dos o más ácidos sustancialmente hidrófobos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se puede usar una mezcla de dos ácidos sustancialmente hidrófobos, una mezcla de tres ácidos sustancialmente hidrófobos, una mezcla de cuatro ácidos sustancialmente hidrófobos o una mezcla de cinco ácidos sustancialmente hidrófobos para preparar una nanopartícula terapéutica. En algunas realizaciones, la mezcla de ácidos sustancialmente hidrófobos comprende ácido oleico y ácido cólico. En otras realizaciones, la mezcla de dos ácidos sustancialmente hidrófobos son ácido oleico y ácido cólico.

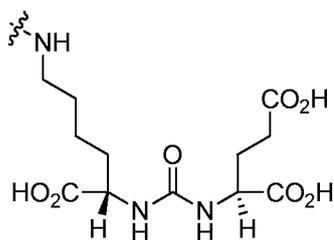
En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el polímero PLA-PEG y la relación molar de PLA-PEG es de aproximadamente 5:1.

En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica se prepara por medio del proceso de combinación de una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en la que la fase de emulsión comprende un primer polímero, el agente

terapéutico y un ácido sustancialmente hidrófobo; inactivar la fase de emulsión formando de este modo una fase inactivada; y filtrar la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas, en la que el agente terapéutico es 1-(4-{{4-(dimetilamino)piperidin-1-il}carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, la primera fase orgánica comprende el agente terapéutico y ácido pamoico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido pamoico de aproximadamente 11:1 y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 1:3 en un disolvente orgánico que comprende alcohol bencílico y acetato de etilo en una relación en peso de alcohol bencílico con respecto a acetato de etilo de aproximadamente 1,25 y la primera solución acuosa comprende un éter de polioxietilen estearílico (100) disuelto en alcohol bencílico en una relación en peso de 0,005:1 y combinar la primera fase orgánica y la primera fase acuosa en una relación en peso de aproximadamente 1:5 para formar una segunda fase y emulsionar la segunda fase formada a partir de la misma e inactivar la fase de emulsión con ácido cítrico 0,1 M en solución acuosa a pH 4,5 y concentrar el producto resultante.

En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico anteriormente mencionado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un polímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y una combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica tiene un ligando diana adicionalmente presente y el ligando es PLA-PEG-GL, en la que GL tiene la siguiente estructura:



En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende además un agente de solubilidad. En determinadas realizaciones, el agente de solubilidad es polisorbato 80. En otras realizaciones, el agente de solubilidad es éter polioxietilen estearílico (100).

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-{{4-(dimetilamino)piperidin-1-il}carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, ácido pamoico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido pamoico de aproximadamente 1,8:1, PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 1:3, y PLA-PEG-GL en una relación en peso de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de aproximadamente 44:1. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente un agente de solubilidad. En determinadas realizaciones, el agente de solubilidad es éter polioxietilen estearílico (100).

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-{{4-(dimetilamino)piperidin-1-il}carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, ácido oleico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido oleico de aproximadamente 6:1, PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 1:7, y PLA-PEG-GL en una relación en peso de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de aproximadamente 46:1. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente ácido cólico. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente un agente de solubilidad. En determinadas realizaciones, el agente de solubilidad es polisorbato 80.

En otro aspecto más, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la nanopartícula terapéutica descrita en la presente memoria y un excipiente farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender una pluralidad de nanopartículas terapéuticas contempladas.

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un sacárido. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el sacárido es un disacárido seleccionado entre el grupo que consiste en sacarosa o trehalosa, o una mezcla de las mismas.

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además una ciclodextrina. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la ciclodextrina incluye, pero sin limitación, α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina, heptaquis-(2,3,6-tri-O-bencil)- β -ciclodextrina, heptaquis-(2,3,6-tri-O-benzoil)- β -ciclodextrina o mezclas de las mismas.

En otro aspecto, se proporciona un procedimiento de tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita. El procedimiento comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición

- 5 farmacéutica tal y como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el cáncer es leucemia mielógena crónica. En determinadas realizaciones, el cáncer incluye, pero sin limitarse a, leucemia mielomonocítica crónica, síndrome hipersinófilo, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, leucemia linfoblástica aguda positiva de cromosoma de Filadelfia, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de páncreas, cáncer de mama, un tumor sólido, un linfoma de células de corteza cerebral, tumor estromal gastrointestinal o cáncer de cuello o cerebral. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de mama.
- En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento de tratamiento de un tumor estromal gastrointestinal en un sujeto que lo necesita, por medio de la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica descrita en la presente memoria.
- 10 En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento de preparación de una nanopartícula terapéutica. El procedimiento comprende combinar una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en la que la fase de emulsión comprende un primer polímero, el agente terapéutico anteriormente mencionado y un ácido sustancialmente hidrófobo; seguido de la inactivación de la fase de emulsión, formando de este modo una fase inactivada y finalmente filtrando la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas.
- 15 En algunas realizaciones, el procedimiento comprende además combinar el agente terapéutico anteriormente mencionado y el ácido sustancialmente hidrófobo en la segunda fase antes de emulsionar la segunda fase. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico anteriormente mencionado y el ácido sustancialmente hidrófobo forman un par iónico hidrófobo para emulsionar la segunda fase. En algunas otras realizaciones, el agente terapéutico anteriormente mencionado y el ácido sustancialmente hidrófobo forman un par iónico hidrófobo durante el emulsionado de la segunda fase. En determinadas realizaciones, el procedimiento comprende además combinar el agente terapéutico anteriormente mencionado y el ácido sustancialmente hidrófobo en la segunda fase de forma sustancialmente concurrente con el emulsionado de la segunda fase. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la primera fase orgánica comprende el agente terapéutico anteriormente mencionado y la primera solución acuosa comprende el ácido sustancialmente hidrófobo.
- 20 En algunas realizaciones, el agente terapéutico anteriormente mencionado, cuando se protona, tiene un primer pK_a , el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un segundo pK_a , y la fase de emulsión se inactiva con una solución acuosa que tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la fase inactivada tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . En otras realizaciones, el agente terapéutico anteriormente mencionado, cuando se protona, tiene un primer pK_a , el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un segundo pK_a , y la primera fase acuosa tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . En algunas otras realizaciones, el pH es igual a una unidad pK_a que es aproximadamente equidistante entre el primer pK_a y el segundo pK_a .
- 30 En algunas realizaciones, el agente terapéutico anteriormente mencionado, cuando se protona, tiene un primer pK_a , el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un segundo pK_a , y la fase de emulsión se inactiva con una solución acuosa que tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la fase inactivada tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . En otras realizaciones, el agente terapéutico anteriormente mencionado, cuando se protona, tiene un primer pK_a , el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un segundo pK_a , y la primera fase acuosa tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . En algunas otras realizaciones, el pH es igual a una unidad pK_a que es equidistante entre el primer pK_a y el segundo pK_a .
- 35 En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria para su uso como medicamento en un sujeto.
- 40 En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula tal y como se describe en la presente memoria para su uso en la producción de un efecto anti-proliferación en un sujeto.
- En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria para su uso en un sujeto como agente anti-invasión en la contención y/o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido.
- 50 En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria en la prevención o tratamiento de cáncer en un sujeto.
- En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria para su uso en la prevención o tratamiento de cáncer en un sujeto.
- 55 En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria en la preparación de un medicamento para la prevención o tratamiento de cáncer en un sujeto.
- En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria para la producción de un efecto anti-proliferativo en un sujeto.

En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria en la preparación de un medicamento para su uso en la producción de un efecto anti-proliferativo en un sujeto.

5 En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria en la preparación de un medicamento para su uso en un sujeto como agente anti-invasor en la contención y/o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido.

En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento para producir un efecto anti-proliferativo en un sujeto que necesita dicho tratamiento que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria.

10 En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento para producir un efecto anti-invasor por medio de la contención y/o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un sujeto que necesita dicho tratamiento que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria.

15 En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria para su uso en la prevención o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un sujeto.

En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria en la preparación de un medicamento para su uso en la prevención o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un sujeto.

20 En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento para la prevención o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un sujeto que necesita dicho tratamiento que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama de flujo de un procedimiento de emulsión para la formación de una nanopartícula divulgada.

25 Las Figuras 2A y 2B muestran diagramas de flujo para una procedimiento de emulsión divulgado.

La Figura 3 muestra los perfiles de liberación *in vitro* de nanopartículas de tres formulaciones descritas en la presente memoria a continuación identificadas como Formulaciones A, B y C, respectivamente, que comprenden cada una 1-(4-{{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea. Las barras de error indican la desviación típica. Temperatura del baño de agua = 37 °C.

30 La Figura 4 muestra los parámetros farmacocinéticos de las nanopartículas de tres formulaciones descritas en la presente memoria e identificadas como Formulaciones A, B y C, respectivamente, que comprenden cada una 1-(4-{{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, en Wistar Han Rats; (a) muestra los parámetros farmacocinéticos de la nanopartícula con respecto al agente terapéutico libre, mientras que (b) muestra los mismos datos con el agente terapéutico omitido.

35 La Figura 5 muestra los perfiles de liberación *in vitro* del fármaco 1-(4-{{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea. Las barras de error indican la desviación típica. Temperatura del baño de agua = 37 °C.

La Figura 6 muestra los perfiles de liberación *in vitro* de la Formulación C del fármaco 1-(4-{{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea usando agente de inactivación tamponado con ácido cítrico de pH 4,5.

40 La Figura 7 muestra un estudio de programación de xenoinjerto DAMB361 en ratones hembra SCID/bg sometidos a dosificación con nanopartículas de la Formulación B o 1-(4-{{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (API desnuda) una vez cada 8 días frente a una vez cada 4 días.

45 Las Figuras 8A, 8B y 8C muestran un estudio de programación de xenoinjerto MDAMB361 en ratones hembra SCID/bg sometidos a dosificación con nanopartículas de la Formulación A, B o C o API desnuda una vez cada 8 días frente a una vez cada 4 días, y estudios de modulación pS6 *in vivo* con nanopartículas de la Formulación A, B o C o 1-(4-{{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (API desnuda). TA = agente terapéutico.

50 La Figura 9 muestra un estudio de inhibición de la proliferación tumoral WM266-4 con ratones hembra nu/nu tratados con la nanopartículas de la Formulación B o C o 1-(4-{{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (API desnuda). TA = agente terapéutico.

55 La Figura 10 muestra un análisis de los niveles de glucosa e insulina en ratones o ratas tras el tratamiento con nanopartículas de la Formulación B o C o 1-(4-{{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (API desnuda).

Descripción detallada

Definiciones

Se pretende que las definiciones explicadas en la presente solicitud aclaren los términos usados en toda la presente solicitud.

La expresión "presente memoria" hace referencia a toda la solicitud.

5 A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que comprende comúnmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque cualquiera de los procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento se puedan utilizar en la práctica o en el ensayo de la presente invención, los procedimientos y materiales apropiados se describen a continuación. Los materiales, procedimientos y ejemplos son únicamente ilustrativos, y no se pretende que sean limitantes. Todas las publicaciones, patentes y otros documentos mencionados en la presente memoria se incorporan por referencia en su totalidad.

Cada realización de las invenciones descritas en la presente memoria puede tomarse de forma individual o en combinación con una o más de otras realizaciones de las invenciones.

A lo largo de esta solicitud, se comprende que el término "un" o "una" implica la inclusión de uno o más de los números enteros modificados por el artículo "un" o "una".

15 A lo largo de esta solicitud, se comprende que el término "comprender" o variaciones tales como "comprende" o "que comprende" implican la inclusión del número entero o grupos de números enteros comentados, pero no la exclusión de ningún otro número entero o grupo de números enteros.

20 Durante toda la solicitud, en la que se describen composiciones que tienen, incluyen, o comprende, componentes específicos, se contempla que las composiciones pueden también consistir esencialmente, o consistir en, los componentes citados. De forma similar, cuando se describe que los procedimientos tienen, incluyen o comprenden etapas de procedimiento específicas, los procedimientos también pueden consistir esencialmente en, o consistir en, las etapas de procesado citadas. Además, se debería comprender que el orden de las etapas o el orden de la realización de determinadas acciones es inmaterial, con tal de que las composiciones y los procedimientos descritos en la presente memoria permanezcan operativos. Además, se pueden llevar a cabo dos o más etapas o acciones de forma simultánea.

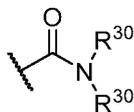
Se comprende que el término "o", tal y como se usa en la presente memoria, significa "y/o", salvo que el contexto indique claramente lo contrario.

El término "alcoxi" hace referencia a un grupo alquilo, preferentemente un grupo alquilo inferior, que tiene un oxígeno ligado al mismo. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, terc-butoxi y similares.

30 Además, se pretende que el término "alquilo" (o "alquilo inferior") tal y como se usa en la presente memoria, incluya tanto "alquilos no sustituidos" como "alquilos sustituidos", el último de los cuales se refiere a restos de alquilo que tienen uno o más sustituyentes que sustituyen un hidrógeno en uno o más carbonos de la estructura principal del hidrocarburo. Dichos sustituyentes, si no se especifica lo contrario, pueden incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como carboxilo, un alcocicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato, o un tioformiato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo o un resto aromático. Se comprenderá por parte de los expertos en la técnica, que los restos sustituidos sobre la cadena principal de hidrocarburo pueden estar sustituidos por sí mismos, si es adecuado. Por ejemplo, los sustituyentes de un alquilo sustituido pueden incluir formas sustituidas y no sustituidas de amino, azido, imino, amido, fosforilo (incluyendo fosfonato y fosfinato), sulfonilo (incluyendo sulfato, sulfonamido, sulfamoilo y sulfonato) y grupos sililo, así como también éteres, alquiltioles, carbonilos (incluyendo cetonas, aldehídos, carboxilatos y ésteres), $-CF_3$, $-CN$ y similares.

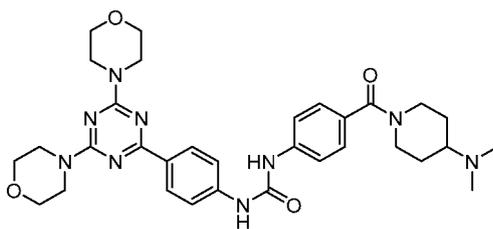
45 Se entiende que el término " C_{x-y} " cuando se usa junto con un resto químico, tales como, acilo, aciloxi, alquilo, alquenilo, alcanilo o alcoxi incluye grupos que contienen de x a y carbonos en la cadena. Por ejemplo, el término "alquilo C_{x-y} " hace referencia a grupos hidrocarburo saturados sustituidos o no sustituidos, que incluyen grupos alquilo de cadena ramificada y alquilo de cadena lineal que contienen de x a y carbonos en la cadena, incluyendo grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. Alquilo C_0 indica un hidrógeno en el que el grupo está en posición terminal, un enlace es interno.

El término "amida", tal como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo



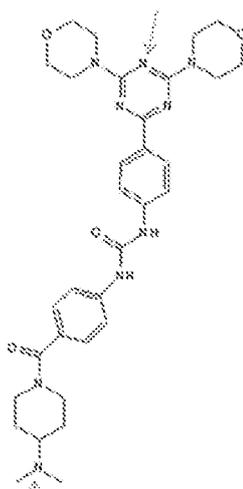
50 en el que cada R^{30} independientemente representa un hidrógeno o grupo hidrocarbilo, o dos R^{30} se toman junto con el átomo de N al cual están unidos y completan un heterociclo que tiene de 4 a 12 átomos en la estructura de anillo.

- El término "arilo", tal y como se usa en la presente memoria, incluye grupos aromáticos sustituidos y no sustituidos en los cuales cada átomo del anillo es carbono. Preferentemente, el anillo es un anillo de 5 a 7 miembros, más preferentemente un anillo de 6 miembros. El término "arilo" también incluye sistemas de anillo policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los cuales dos o más carbonos o heteroátomos son comunes a dos anillos adjuntos en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos y/o heterocíclicos.
- Los términos "aralquilo" o "aralquilo", tal como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo alquilo sustituido con un grupo arilo.
- El término "azido" se reconoce en la técnica y hace referencia al grupo $-N=N^+=N^-$.
- El término "carboxi", tal como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo representado por la fórmula $-CO_2H$.
- Los términos "halo" y "halógeno", tal y como se usan en la presente memoria, significan halógeno e incluyen cloro, fluoro, bromo y yodo.
- El término "hidrocarbilo", tal como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo que está ligado a través de un átomo de carbono que no tiene un sustituyente $=O$ o $=S$, y típicamente tiene al menos un enlace de carbonohidrógeno y principalmente una cadena principal carbonada, pero puede opcionalmente incluir heteroátomos. Por consiguiente, se considera que los grupos tales como metilo, etoxietilo, 2-piridilo y trifluorometilo son hidrocarbilo para los fines de la presente solicitud, pero los sustituyentes tales como acetilo (que tiene un sustituyente $=O$ sobre el carbono de engarce) y etoxi (que está ligado a través de oxígeno, no carbono) no se consideran igual. Los grupos hidrocarbilo incluyen, pero sin limitación, arilo, carbociclo, heterocíclico, alquilo, alqueno, alquino y combinaciones de los mismos.
- El término "hidroxi", tal como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo $-OH$.
- El término "sustituido" hace referencia a restos que tienen sustituyentes que reemplazan hidrógeno en uno o más carbonos de la cadena principal. Se entiende que "sustitución" o "sustituido por" incluye la condición implícita de que dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución tenga como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no experimente de forma no espontánea transformación tal como por medio de re-configuración, ciclación, eliminación, etc. Tal y como se usa en la presente memoria, se contempla que el término "sustituido" incluye todos los sustituyentes permitidos de compuestos orgánicos. En un amplio aspecto, los sustituyentes permitidos incluyen los sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permitidos pueden ser uno o más y el mismo o diferente para los compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de la presente solicitud, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualesquiera sustituyentes permitidos de compuestos orgánicos descritos en la presente memoria que satisfagan las valencias de los heteroátomos.
- Los sustituyentes pueden incluir cualesquiera sustituyentes descritos en la presente memoria, por ejemplo, aunque no de forma limitativa, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como carboxilo, un alcoxicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato, o un tioformiato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterocíclico, un aralquilo o un resto aromático. Se comprende por parte de los expertos en la técnica que los sustituyentes pueden estar a sí mismos sustituidos, si es adecuado. A menos que se afirme específicamente como "no sustituido", se comprende que las referencias a restos químicos en la presente memoria incluyen variantes sustituidas. Por ejemplo, la referencia a un grupo o resto "arilo" implícitamente incluye variantes tanto sustituidas como no sustituidas.
- "Opcional" u "opcionalmente" significa que la circunstancia descrita a continuación puede o no tener lugar, de forma que la solicitud incluye ejemplos en los que la circunstancia tiene lugar y ejemplos en los que no. Por ejemplo, la frase "opcionalmente sustituido" significa que un sustituyente que no es hidrógeno puede o no estar presente en un átomo concreto, y, por lo tanto, la solicitud incluye estructuras en las que un sustituyente que no es hidrógeno está presente y estructuras en las que un sustituyente que no es hidrógeno no está presente.
- Los términos "sano" y "normal" se usan de manera intercambiable en la presente memoria para hacer referencia a un sujeto o célula particular o tejido que está desprovisto (al menos hasta el límite de detección) de una afección de enfermedad.
- A menos que se indique lo contrario, la expresión "agente terapéutico básico" o "agente terapéutico" hacen referencia al agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. Tiene la estructura mostrada a continuación:



Se describe en la patente de Estados Unidos N.º 8.039.469, cuyos contenidos se incorporan por referencia. El log calculado del coeficiente de reparto octanol:disolución salina (clogP) = 1,24 (coeficiente de reparto calculado). El logD, la constante de distribución, a pH 6,5= 0,212, mientras que logD a pH 7,4 = 1,08. Como se ha indicado anteriormente, es una base. Es un agente terapéutico que contiene nitrógeno protonable. Tal como se utiliza en la presente memoria, un "agente terapéutico que contiene nitrógeno protonable" incluye cualquier agente farmacéuticamente activo que contenga al menos un grupo funcional que contiene nitrógeno que sea susceptible de protonación. En otras palabras, el agente terapéutico tiene un átomo de nitrógeno sobre el mismo que tiene un par de electrones solitario que podría potencialmente aceptar un protón. El pKa hace referencia a la constante de disociación de ácido en escala logarítmica de la forma protonada correspondiente del agente terapéutico. En otras palabras, si un protón (H⁺) estuviera presente en los átomos de nitrógeno en los que existe una flecha indicada, el agente terapéutico tendría el pKa indicado a continuación:

ACD- 5.85



ACD- 9.06

La información de pKa para el nitrógeno más básico (inferior) y un nitrógeno menos básico pero aún susceptible de protonación (superior) se muestran en la parte superior. ACD es un número calculado usando técnicas convencionales conocidas en la técnica, tal como se describe en Liao CZ, Nicklaus MC. Comparación de nueve programas que predicen valores de pK(a) de las sustancias farmacéuticas. J. Chem. Inform. Modelo 49(12):2801-2812, 2009. Se tiene que comprender que el pKa del agente terapéutico hace referencia a la forma protonada del mismo.

El agente terapéutico de la presente invención posee uno o más centros quirales y la presente invención incluye cada enantiómero por separado de dichos compuestos así como también mezclas de los enantiómeros. Cuando existan centros quirales múltiples, la invención incluye cada combinación así como también mezclas de los mismos. Se pretenden todas las formas racémicas y diastereoméricas de una estructura, a menos que se indique específicamente la forma isomérica o estereoquímica específica. Se sabe bien en la técnica el modo de preparación de forma ópticamente activas tal como por medio de resolución de formas racémicas o por medio de síntesis de materiales de partida ópticamente activos.

El término "sustancialmente" cuando se usa en referencia a un compuesto tal como "ácido hidrófobo" hace referencia al compuesto que está presente en al menos un 1 % en peso o hace referencia a un ácido hidrófobo con un logP por encima de 2. Un ácido hidrófobo con un logP por encima de 2 tiene mayor tendencia al reparto en la fase orgánica.

La expresión "ácido hidrófobo" hace referencia a un ácido lipófilo que tiene un log de -7 o mayor, es decir, -6, -5, -4, -3, -2, -1, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16.

Las nanopartículas descritas en la presente memoria también pueden contener sales farmacéuticamente aceptables del agente terapéutico. "Sales farmacéuticamente aceptables" representativas incluyen pero sin limitación, por ejemplo, sales solubles en agua e insolubles en agua, tales como acetato, aluminio, amsonato (4,4-diaminoestilbenzoato-2,2-disulfonato), benzatina (N,N'-dibenciletilendiamina), bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bismuto, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, butirato, calcio, edetato de calcio, camsilato (alcanforsulfonato), carbonato, cloruro, colina, citrato, clavulariato, dietanolamina, diclorhidrato, difosfato, edetato, edisilato (alcanforsulfonato), esilato (etanosulfonato), etilendiamina, fumarato, gluceptato (glucoheptonato), gluconato, glucuronato, glutamato, hexafluorofosfato, hexilresorcinato, hidrabamina (N,N'-bis(deshidroabietil)etilendiamina), bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, 1-hidroxi-2-naftoato, 3-hidroxi-2-naftoato, yoduro, isotionato (2-hidroxietanosulfonato), lactato, lactobionato, laurato, sulfato de laurilo, litio, magnesio, malato, maleato, mandelato, meglumina (1-desoxi-1-(metilamino)-D-glucitol), mesilato, bromuro de metilo, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, sal de amonio de N-metilglucamina, oleato, oxalato, palmitato, pamoato (4,4'-metilenbis-3-hidroxi-2-naftoato o embonato), pantotenato, fosfato, picrato, poligalacturonato, potasio, propionato, p-toluenosulfonato, salicilato, sodio, estearato, subacetato, succinato, sulfato, sulfosalicilato, suramato, tanato, tartrato, teoclato (8-cloro-3,7-dihidro-1,3-dimetil-1H-purin-2,6-diona), trietiodida, trometamina (2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol), valerato y sales de cinc.

Cuando se usa en la presente memoria a continuación, a menos que se indique lo contrario, % es % en peso.

En la presente memoria se describen nanopartículas poliméricas que incluye el agente terapéutico básico y procedimientos de preparación y uso de dichas nanopartículas terapéuticas.

En algunas realizaciones, la inclusión (por ejemplo, impurificación) de un ácido sustancialmente hidrófobo (por ejemplo, un ácido graso y/o un ácido biliar) en una nanopartícula divulgada y/o incluida en un procedimiento de preparación de nanopartículas puede tener como resultado nanopartículas que incluyen una carga de fármaco mejorada. Además, en determinadas realizaciones, las nanopartículas que incluye y/o se preparan en presencia del ácido hidrófobo pueden exhibir mejores propiedades de liberación controlada. Por ejemplo, las nanopartículas divulgadas pueden liberar más lentamente el agente terapéutico, en comparación con las nanopartículas preparadas en ausencia del ácido hidrófobo.

Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se piensa que las formulaciones de nanopartículas divulgadas que incluyen un ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido graso y/o un ácido biliar) tienen propiedades de formulación significativamente mejoradas (por ejemplo, carga de fármaco y/o perfil de liberación) a través de la formación de un par-iónico hidrófobo (HIP), entre el agente terapéutico sobre el par de electrones solitario en uno o más átomos de nitrógeno del agente terapéutico indicado anteriormente, por ejemplo, sobre el resto de amina y un ácido. Tal como se utiliza en la presente memoria, un HIP es un par de iones opuestamente cargados que se mantienen juntos por medio de atracción de Coulomb. Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, en algunas realizaciones, HIP se puede usar para aumentar la naturaleza hidrófoba del agente terapéutico que contiene grupos ionizables (por ejemplo, aminas). Cuando el agente terapéutico tiene mayor naturaleza hidrófoba, resulta beneficioso para las formulaciones de nanopartículas, ya que tiene como resultado la formación de HIP que puede proporcionar mayor solubilidad del agente terapéutico en disolventes orgánicos. La formación de HIP, tal y como se contempla en la presente memoria, puede tener como resultado nanopartículas que tiene, por ejemplo, mayor carga de fármaco. La liberación más lenta del agente terapéutico a partir de las nanopartículas puede también tener lugar, por ejemplo en algunas realizaciones, debido a una disminución de la solubilidad del agente terapéutico en solución acuosa. Además, la formación de complejos del agente terapéutico con contra iones hidrófobos grandes puede ralentizar la difusión del agente terapéutico dentro de la matriz polimérica. Ventajosamente, la formación de HIP tiene lugar sin necesidad de conjugación covalente del grupo hidrófobo al agente terapéutico.

Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se piensa que la fuerza del HIP afecta a la carga de fármaco y la tasa de liberación de las nanopartículas contempladas. Por ejemplo, la fuerza de HIP puede aumentar mediante el incremento de la magnitud de la diferencia entre el pK_a de la forma protonada del agente terapéutico y el pK_a del ácido hidrófobo, tal como se comenta con más detalle a continuación. Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se piensa que las condiciones para la formación del par iónico afectan a la carga de fármaco y la tasa de liberación de las nanopartículas contempladas.

Las nanopartículas divulgadas en la presente memoria incluyen uno, dos, tres o más polímeros biocompatibles y/o biodegradables. Por ejemplo, una nanopartícula contemplada puede incluir de aproximadamente un 35 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso en algunas realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso, en algunas otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,5 por ciento en peso, en algunas otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99 por ciento en peso en otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 98 por ciento en peso en otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 97 por ciento en peso en otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 96 por ciento en peso en otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 95 por ciento en peso en otras realizaciones, de

aproximadamente un 50 a aproximadamente un 94 por ciento en peso en otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 93 por ciento en peso en otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 92 por ciento en peso en otras realizaciones; de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 91 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 90 por ciento en peso; en algunas realizaciones, de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 85 por ciento en peso; en algunas realizaciones de aproximadamente un 60 a aproximadamente un 85 por ciento en peso; en algunas realizaciones, de aproximadamente un 65 a aproximadamente un 85 por ciento en peso; y en algunas realizaciones, de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 80 por ciento de uno o más copolímeros de bloques que incluyen un polímero biodegradable y poli(etilen glicol) (PEG), y de aproximadamente un 0 a aproximadamente un 50 por ciento en peso de un homopolímero biodegradable.

En algunas realizaciones, una nanopartícula contemplada puede incluir de un 35 a un 99,75 por ciento en peso en algunas realizaciones; de un 50 a un 99,75 por ciento en peso, en algunas otras realizaciones; de un 50 a un 99,5 por ciento en peso, en algunas realizaciones; de un 50 a un 99 por ciento en peso en otras realizaciones; de un 50 a un 98 por ciento en peso en otras realizaciones; de un 50 a un 97 por ciento en peso en otras realizaciones; de un 50 a un 96 por ciento en peso en otras realizaciones; de un 50 a un 95 por ciento en peso en otras realizaciones, de un 50 a un 94 por ciento en peso en otras realizaciones; de un 50 a un 93 por ciento en peso en otras realizaciones; de un 50 a un 92 por ciento en peso en otras realizaciones; de un 50 a un 91 por ciento en peso, en algunas realizaciones de un 50 a un 90 por ciento en peso; en algunas realizaciones, de un 50 a un 85 por ciento en peso; en algunas realizaciones de un 60 a un 85 por ciento en peso; en algunas realizaciones, de un 65 a un 85 por ciento en peso; y en algunas realizaciones, de un 50 a un 80 por ciento de uno o más copolímeros de bloques que incluyen un polímero biodegradable y poli(etilen glicol) (PEG), y de un 0 a un 50 por ciento en peso de un homopolímero biodegradable.

En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas pueden incluir de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 35 por ciento en peso, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 25 por ciento en peso, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 10 por ciento en peso, de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 5 por ciento en peso, de aproximadamente un 0,5 a aproximadamente un 5 por ciento en peso, de aproximadamente un 0,75 a aproximadamente un 5 por ciento en peso, de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 5 por ciento en peso, de aproximadamente un 2 a aproximadamente un 5 por ciento en peso, de aproximadamente un 3 a aproximadamente un 5 por ciento en peso, de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 20 por ciento en peso, de aproximadamente un 2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso, de aproximadamente un 3 a aproximadamente un 20 por ciento en peso, de aproximadamente un 4 a aproximadamente un 20 por ciento en peso, de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 20 por ciento en peso, de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 15 por ciento en peso, de aproximadamente un 2 a aproximadamente un 15 por ciento en peso, de aproximadamente un 3 a aproximadamente un 15 por ciento en peso, de aproximadamente un 4 a aproximadamente un 15 por ciento en peso, de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 15 por ciento en peso, de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 10 por ciento en peso, de aproximadamente un 2 a aproximadamente un 10 por ciento en peso, de aproximadamente un 3 a aproximadamente un 10 por ciento en peso, de aproximadamente un 4 a aproximadamente un 10 por ciento en peso, de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 10 por ciento en peso, de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 30 por ciento en peso, o de aproximadamente un 15 a aproximadamente un 25 por ciento en peso del agente terapéutico. En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas incluyen aproximadamente un 0,2, aproximadamente un 0,3, aproximadamente un 0,4, aproximadamente un 0,5, aproximadamente un 0,6, aproximadamente un 0,7, aproximadamente un 0,8, aproximadamente un 0,9, aproximadamente un 1, aproximadamente un 2, aproximadamente un 3, aproximadamente un 4, aproximadamente un 5, aproximadamente un 6, aproximadamente un 7, aproximadamente un 8, aproximadamente un 9, aproximadamente un 10, aproximadamente un 11, aproximadamente un 12, aproximadamente un 13, aproximadamente un 14, aproximadamente un 15, aproximadamente un 16, aproximadamente un 17, aproximadamente un 18, aproximadamente un 19, aproximadamente un 20, aproximadamente un 21, aproximadamente un 22, aproximadamente un 23, aproximadamente un 24, aproximadamente un 25, aproximadamente un 26, aproximadamente un 27, aproximadamente un 28, de aproximadamente un 29 a aproximadamente un 30 por ciento en peso del agente terapéutico.

En determinadas realizaciones, las nanopartículas divulgadas pueden incluir de un 0,2 a un 35 por ciento en peso, de un 0,2 a un 25 por ciento en peso, de un 0,2 a un 20 por ciento en peso, de un 0,2 a un 10 por ciento en peso, de un 0,2 a un 5 por ciento en peso, de un 0,5 a un 5 por ciento en peso, de un 0,75 a un 5 por ciento en peso, de un 1 a un 5 por ciento en peso, de un 2 a un 5 por ciento en peso, de un 3 a un 5 por ciento en peso, de un 1 a un 20 por ciento en peso, de un 2 a un 20 por ciento en peso, de un 3 a un 20 por ciento en peso, de un 4 a un 20 por ciento en peso, de un 5 a un 20 por ciento en peso, de un 1 a un 15 por ciento en peso, de un 2 a un 15 por ciento en peso, de un 3 a un 15 por ciento en peso, de un 4 a un 15 por ciento en peso, de un 5 a un 15 por ciento en peso, de un 1 a un 10 por ciento en peso, de un 2 a un 10 por ciento en peso, de un 3 a un 10 por ciento en peso, de un 4 a un 10 por ciento en peso, de un 5 a un 10 por ciento en peso, de un 10 a un 30 por ciento en peso, o de un 15 a un 25 por ciento en peso del agente terapéutico. En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas incluyen un 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27,

28, 29 o un 30 por ciento en peso del agente terapéutico.

5 En determinadas realizaciones, las nanopartículas divulgadas comprenden un ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido graso y/o un ácido biliar) y/o se preparan por medio de un procedimiento que incluye un ácido hidrófobo. Dichas nanopartículas pueden tener una carga de fármaco más elevada que las nanopartículas preparadas por medio de un proceso sin un ácido hidrófobo. Por ejemplo, la carga de fármaco (por ejemplo, en peso) de las nanopartículas divulgadas preparadas por medio de un procedimiento que comprende el ácido hidrófobo puede estar entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 10 veces mayor, o incluso más, que las nanopartículas divulgadas preparadas por medio de un proceso sin el ácido hidrófobo. En algunas realizaciones, la carga de fármaco (en peso) de las nanopartículas divulgadas preparadas por medio de un primer proceso que comprende ácido hidrófobo puede ser de 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 divulgadas preparadas por medio de un segundo proceso, en el que el segundo proceso es idéntico al primer proceso exceptuando que el segundo proceso no incluye el ácido hidrófobo.

15 En determinadas realizaciones, la carga de fármaco (por ejemplo, en peso) de las nanopartículas divulgadas preparadas por medio de un procedimiento que comprende el ácido hidrófobo puede estar entre 2 veces y 10 veces mayor, o incluso más, que las nanopartículas divulgadas preparadas por medio de un proceso sin el ácido hidrófobo. En algunas realizaciones, la carga de fármaco (en peso) de las nanopartículas divulgadas preparadas por medio de un primer procedimiento que comprende ácido hidrófobo puede ser de al menos aproximadamente 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor, o al menos 10 veces mayor, que las nanopartículas divulgadas preparadas por medio de un segundo proceso, en el que el segundo proceso es idéntico al primer proceso exceptuando que el segundo proceso no incluye el ácido hidrófobo.

25 Se contempla cualquier ácido hidrófobo apropiado. En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede ser un ácido carboxílico (por ejemplo, un ácido monocarboxílico, un ácido dicarboxílico, un ácido tricarboxílico o similares), un ácido sulfínico, un ácido sulfénico o un ácido sulfónico. En algunos casos, un ácido hidrófobo contemplado puede incluir una mezcla de dos o más ácidos. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo puede comprender una mezcla de dos ácidos sustancialmente hidrófobos, en algunas realizaciones una mezcla de tres ácidos sustancialmente hidrófobos, en algunas realizaciones una mezcla de cuatro ácidos sustancialmente hidrófobos, o en algunas realizaciones cinco ácidos sustancialmente hidrófobos. En algunas realizaciones, la mezcla de ácidos sustancialmente hidrófobos comprende ácido oleico y ácido cólico. En otras realizaciones, la mezcla de dos ácidos hidrófobos son ácido oleico y ácido cólico.

En algunos casos, una sal de ácido hidrófobo se puede usar en una formulación.

35 Por ejemplo, un ácido carboxílico divulgado puede ser un ácido carboxílico alifático (por ejemplo, un ácido carboxílico que tiene una cadena de hidrocarburo cíclica o acíclica, ramificada o no ramificada). Los ácidos carboxílicos divulgados pueden, en algunas realizaciones, estar sustituidos con uno o más grupos funcionales que incluyen, aunque no de forma limitativa, halógeno (es decir, F, Cl, Br y I), sulfonilo, nitro y oxo. En determinadas realizaciones, el ácido carboxílico divulgado puede estar no sustituido.

40 Los ácidos carboxílicos a modo de ejemplo pueden incluir un ácido graso sustituido o no sustituido (por ejemplo, un ácido graso C₆-C₅₀). En algunos ejemplos, 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, en algunos casos, ser saturado. En otras realizaciones, el ácido graso puede ser insaturado. Por ejemplo, el ácido graso puede ser un ácido graso monoinsaturado o un ácido graso poliinsaturado. En algunas realizaciones, un doble enlace de un grupo de ácido graso insaturado puede estar en conformación *cis*. En algunas realizaciones, un doble enlace de un grupo de ácido graso insaturado puede estar en conformación *trans*. Los ácidos grasos insaturados incluyen, aunque no de forma limitativa, ácidos grasos omega-3, omega-6 u omega-9.

45 Ejemplos no limitantes de ácidos grasos saturados incluyen ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecanoico, ácido mirístico, ácido pentadecanoico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido nonadecanoico, ácido araquídico, ácido heneicosanoico, ácido behénico, ácido tricosanoico, ácido lignocérico, ácido pentacosanoico, ácido cerótico, ácido heptacosanoico, ácido montánico, ácido nonacosanoico, ácido melísico, ácido henatriacontanoico, ácido laceroico, ácido psílico, ácido gédico, ácido ceroplástico, ácido hexatriacontanoico o combinaciones de los mismos.

55 Ejemplos no limitantes de ácidos grasos insaturados incluyen ácido hexadecatrienoico, ácido alfa-linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosatriénico, ácido eicosatetranoico, ácido eicosapentanoico, ácido heneicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido tetracosapentaenoico, ácido tetracosahexanoico, ácido linoleico, ácido gamma-lineolénico, ácido eicosadienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido araquidónico, ácido docosadienoico, ácido adrénico, ácido docosapentaenoico, ácido tetracosatetraenoico, ácido tetracosapentaenoico, ácido oleico (pK_a = ~4-5; logP = 6,78), ácido eicosenoico, ácido meádico, ácido erúxico, ácido nervónico, ácido ruménico, ácido α-caléndico, ácido β-caléndico, ácido jacárico, ácido α-eleosteárico, ácido β-eleo-esteárico, ácido catálpico, ácido punícico, ácido rumelénico, ácido α-parinárico, ácido β-parinárico, ácido boseopentaenoico, ácido pinolénico, ácido podocárpico, ácido palmitoleico, ácido vacénico, ácido godoleico, ácido erúxico o combinaciones de

los mismos.

Otros ejemplos no limitantes de ácidos hidrófobos incluyen ácidos aromáticos, tales como ácido 1-hidroxi-2-naftoico (es decir, ácido xinafoico) ($pK_a = \sim 2-3$; $\log P = 2,97$), ácido naftalen-1,5-disulfónico ($pK_a = -2$; $\log P = 1,3$), ácido naftalen-2-sulfónico ($pK_a = -1,8$; $\log P = 2,1$), ácido pamoico ($pK_a = 2,4$; $\log P = 6,17$), ácido cinámico, ácido fenilacético, ácido alcanfor (\pm)-10-sulfónico, ácido dodecibencenosulfónico ($pK_a = -1,8$; $\log P = 6,6$) o combinaciones del mismo. Otros ejemplos no limitantes de ácidos hidrófobos incluyen ácido dodecilsulfúrico ($pK_a = -0,09$; $\log P = 4,5$), ácido dioctil sulfosuccínico (es decir, ácido docusato) ($pK_a = -0,8$; $\log P = 5,2$), ácido dioleoil fosfatídico ($pK_a = \sim 2$), o Vitamina D₃-sulfato ($pK_a = -1,5$).

En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede ser un ácido biliar. Los ejemplos no limitantes de los ácidos biliares incluyen ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico ($pK_a = 4,65$; $\log P = 3,79$), ácido hístico, ácido beta-muricónico, ácido cólico ($pK_a = \sim 4,5$; $\log P = 2,48$), ácido taurocólico, sulfato de colesterilo ($pK_a = -1,4$), ácido litocólico, ácido biliar conjugado con amino ácido o combinaciones de los mismos. Un ácido biliar conjugado con amino ácido puede estar conjugado a cualquier amino ácido apropiado. En algunas realizaciones, el ácido biliar conjugado con amino ácido es un ácido biliar conjugado con glicina o un ácido biliar conjugado con taurina.

En ciertos ejemplos, el ácido hidrófobo puede ser un polielectrolito. Por ejemplo, el polielectrolito puede ser un ácido poli sulfónico (por ejemplo, un ácido poli(estiren) sulfónico) o sulfato de dextrano) o un poli(ácido carboxílico) (por ejemplo, un poli(ácido acrílico) o un poli(ácido metacrílico)).

En algunos ejemplos, un ácido hidrófobo contemplado puede tener un peso molecular de menos de aproximadamente 1000 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 500 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 400 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 300 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 250 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 200 Da, y en algunas realizaciones menos de aproximadamente 150 Da. En algunos casos, el ácido hidrófobo tiene un peso molecular de entre aproximadamente 100 Da y aproximadamente 1000 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 800 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 600 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 100 Da y aproximadamente 300 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 400 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 300 Da y aproximadamente 500 Da, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 300 Da y aproximadamente 1000 Da. En determinadas realizaciones, un ácido hidrófobo contemplado puede tener un peso molecular mayor que aproximadamente 200 Da, en algunas realizaciones mayor que aproximadamente 300 Da, en algunas realizaciones mayor que aproximadamente 400 Da, y en algunas realizaciones mayor que aproximadamente 500 Da. En determinadas realizaciones, la tasa de liberación de un agente terapéutico a partir de la nanopartícula puede ralentizarse aumentando el peso molecular del ácido hidrófobo usado en la formulación de nanopartícula.

En algunos ejemplos, un ácido hidrófobo contemplado puede tener un peso molecular de menos de 1000 Da, en algunas realizaciones menos de 500 Da, en algunas realizaciones menos de 400 Da, en algunas realizaciones menos de 300 Da, en algunas realizaciones menos de 250 Da, en algunas realizaciones menos de 200 Da, y en algunas realizaciones menos de 150 Da. En algunos casos, el ácido hidrófobo tiene un peso molecular de entre 100 Da y 1000 Da, en algunas realizaciones entre 200 Da y 800 Da, en algunas realizaciones entre 200 Da y 600 Da, en algunas realizaciones entre 100 Da y 300 Da, en algunas realizaciones entre 200 Da y 400 Da, en algunas realizaciones entre 300 Da y 500 Da, y en algunas realizaciones entre 300 Da y 1000 Da. En determinadas realizaciones, un ácido hidrófobo contemplado puede tener un peso molecular mayor que 200 Da, en algunas realizaciones mayor que 300 Da, en algunas realizaciones mayor que 400 Da, y en algunas realizaciones mayor que 500 Da.

En algunas realizaciones, un ácido hidrófobo se puede escoger, al menos en parte, sobre la base de la fuerza del ácido. Por ejemplo, el ácido hidrófobo puede tener una constante de disociación del ácido en agua (pK_a) de aproximadamente -5 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 -1,0 a aproximadamente 5,0, 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 2,0 a aproximadamente 5,0, 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 menor que aproximadamente 7, menor que aproximadamente 5, menor que aproximadamente 3,5, menor que aproximadamente 3, menor que aproximadamente 2, menor que aproximadamente 1 o menor que aproximadamente 0, determinado a 25 °C.

- En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener una constante de disociación del ácido en agua (pK_a) de -5 a 7, en algunas realizaciones de -3 a 5, en algunas realizaciones de -3 a 4, en algunas realizaciones de -3 a 3,5, en algunas realizaciones de -3 a 3, en algunas realizaciones de -3 a 2, en algunas realizaciones de -3 a 1, en algunas realizaciones de -3 a 0,5, en algunas realizaciones, de -1,0 a 5,0, en algunas realizaciones de -0,5 a 0,5, en algunas realizaciones de 1 a 7, en algunas realizaciones de 2 a 7, en algunas realizaciones de 2,0 a 5,0, en algunas realizaciones de 3 a 7, en algunas realizaciones de 4 a 6, en algunas realizaciones de 4 a 5,5, en algunas realizaciones de 4 a 5, y en algunas realizaciones de 4,5 a 5, determinado a 25 °C. En algunas realizaciones, el ácido puede tener un pK_a menor que 7, menor que 5, menor que 3,5, menor que 3, menor que 2, menor que 1, o menor que 0, determinado a 25 °C.
- En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo se puede escoger, al menos en parte, sobre la base de la diferencia entre el pK_a del ácido hidrófobo y el pK_a del agente terapéutico protonado. Por ejemplo, en algunos casos, la diferencia entre el pK_a del ácido hidrófobo y el pK_a del agente terapéutico protonado puede estar entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 5 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 3 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 2 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 unidades de pK_a y aproximadamente 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 unidades de pK_a y aproximadamente 5 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 unidades de pK_a y aproximadamente 3 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 unidades de pK_a y aproximadamente 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 unidades de pK_a y aproximadamente 5 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 unidades de pK_a y aproximadamente 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 unidades de pK_a y aproximadamente 6 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 unidades de pK_a y aproximadamente 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 unidades de pK_a y aproximadamente 7 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 unidades de pK_a y aproximadamente 9 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 9 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 9 unidades de pK_a y aproximadamente 11 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre aproximadamente 11 unidades pK_a y aproximadamente 13 unidades pK_a , y en algunas realizaciones entre aproximadamente 13 unidades pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a , determinado a 25 °C.

- En determinadas realizaciones, la diferencia entre el pK_a del ácido hidrófobo y el pK_a del agente terapéutico protonado puede estar entre 1 unidad de pK_a y 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 1 unidad de pK_a y aproximadamente 10 pK_a , en algunas realizaciones entre 1 unidad de pK_a y 5 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 1 unidad de pK_a y aproximadamente 3 pK_a , en algunas realizaciones entre 1 unidad de pK_a y 2 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 2 unidades de pK_a y 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 2 unidades de pK_a y 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 2 unidades de pK_a y 5 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 2 unidades de pK_a y 3 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 3 unidades de pK_a y 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 3 unidades de pK_a y 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 3 unidades de pK_a y 5 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 4 unidades de pK_a y 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 4 unidades de pK_a y 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 4 unidades de pK_a y 6 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 5 unidades de pK_a y 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 5 unidades de pK_a y 10 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 5 unidades de pK_a y 7 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 7 unidades de pK_a y 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 7 unidades de pK_a y 9 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 9 unidades de pK_a y 15 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 9 unidades de pK_a y 11 unidades pK_a , en algunas realizaciones entre 11 unidades pK_a y 13 unidades pK_a , y en algunas realizaciones entre 13 unidades pK_a y 15 unidades pK_a , determinado a 25 °C.

- En algunos ejemplos, la diferencia entre el pK_a del ácido hidrófobo y el pK_a del agente terapéutico protonado puede ser de al menos aproximadamente 1 unidad pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 2 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 3 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 4 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 5 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 6 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 7 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 8 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 9 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos aproximadamente 10 unidades pK_a , y en algunas realizaciones al menos aproximadamente 15 unidades pK_a , determinado a 25 °C.

En algunas realizaciones, la diferencia entre el pK_a del ácido hidrófobo y el pK_a del agente terapéutico protonado puede ser de al menos 1 unidad pK_a , en algunas realizaciones al menos 2 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos 3 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos 4 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos 5

unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos 6 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos 7 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos 8 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos 9 unidades pK_a , en algunas realizaciones al menos 10 unidades pK_a , y en algunas realizaciones al menos aproximadamente 15 unidades pK_a , determinado a 25 °C.

- 5 En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener un logP de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 15, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 y aproximadamente 15, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 y aproximadamente 7, o en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7.
- 10 7. En algunos ejemplos, el ácido hidrófobo puede tener un logP mayor que aproximadamente 2, mayor que aproximadamente 4, mayor que aproximadamente 5 o mayor que aproximadamente 6.

- En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener un logP de entre 2 y 15, en algunas realizaciones entre 5 y 15, en algunas realizaciones entre 5 y 10, en algunas realizaciones entre 2 y 8, en algunas realizaciones entre 4 y 8, en algunas realizaciones entre 2 y 7, o en algunas realizaciones entre 4 y 7. En algunos ejemplos, el ácido hidrófobo puede tener un logP mayor que 2, mayor que 4, mayor que 5 o mayor que 6.
- 15

- En algunas realizaciones, un ácido hidrófobo contemplado puede tener una temperatura de transición de fase que resulte ventajosa, por ejemplo, para mejorar las propiedades de las nanopartículas terapéuticas. Por ejemplo, el ácido hidrófobo puede tener un punto de fusión menor que aproximadamente 350 °C, en algunos casos menor que aproximadamente 300 °C, en algunos casos menor que aproximadamente 100 °C, y en algunos casos menor que aproximadamente 50 °C. En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener un punto de fusión de entre aproximadamente 5 °C y aproximadamente 25 °C, en algunos casos entre aproximadamente 15 °C y aproximadamente 50 °C, en algunos casos entre aproximadamente 30 °C y aproximadamente 100 °C, en algunos casos entre aproximadamente 75 °C y aproximadamente 150 °C, en algunos casos entre aproximadamente 125 °C y aproximadamente 200 °C, en algunos casos entre aproximadamente 150 °C y aproximadamente 250 °C, en algunos casos entre aproximadamente 200 °C y aproximadamente 300 °C, y en algunos casos entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 350 °C. En algunos casos, el ácido hidrófobo puede tener un punto de fusión menor que aproximadamente 15 °C, en algunos casos menor que aproximadamente 10 °C, y en algunos casos menor que aproximadamente 0 °C. En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener un punto de fusión de entre aproximadamente -30 °C y aproximadamente 0 °C, o en algunos casos entre aproximadamente -20 °C y aproximadamente -10 °C.
- 20
- 25
- 30

- En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener un punto de fusión menor que 350 °C, en algunos casos menor que 300 °C, en algunos casos menor que 100 °C, y en algunos casos menor que 50 °C. En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener un punto de fusión de entre 5 °C y 25 °C, en algunos casos entre 15 °C y 50 °C, en algunos casos entre 30 °C y 100 °C, en algunos casos entre 75 °C y 150 °C, en algunos casos entre 125 °C y 200 °C, en algunos casos entre 150 °C y 250 °C, en algunos casos entre 200 °C y 300 °C, y en algunos casos entre 250 °C y 350 °C. En algunos casos, el ácido hidrófobo puede tener un punto de fusión menor que 15 °C, en algunos casos menor que 10 °C, y en algunos casos menor que 0 °C. En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener un punto de fusión de entre -30 °C y 0 °C, o en algunos casos entre -20 °C y -10 °C.
- 35

- Por ejemplo, el ácido hidrófobo para su uso en los métodos y nanopartículas divulgadas en la presente memoria se puede escoger, 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, dependiendo del disolvente, el 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 y aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 25 mg/ml y aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 50 mg/ml y aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 75 mg/ml y aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 100 mg/ml y aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 125 mg/ml y aproximadamente 175 mg/ml, entre aproximadamente 15 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml, entre aproximadamente 25 mg/ml y aproximadamente 75 mg/ml. En algunas realizaciones, el agente terapéutico disuelto en un disolvente que contiene el ácido hidrófobo puede tener una solubilidad mayor que aproximadamente 10 mg/ml, mayor que aproximadamente 50 mg/ml o mayor que aproximadamente 100 mg/ml. En algunas realizaciones, el agente terapéutico disuelto en un disolvente que contiene el ácido hidrófobo (por ejemplo, una primera solución que contiene el agente terapéutico, el disolvente y el ácido hidrófobo) 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 aproximadamente de 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 hidrófobo (por ejemplo, una segunda solución que consiste en el agente terapéutico y el disolvente).
- 40
- 45
- 50
- 55

- En algunas realizaciones, dependiendo del disolvente, el agente terapéutico disuelto en un disolvente que comprende el ácido puede tener una solubilidad de entre 15 mg/ml y 200 mg/ml, entre 20 mg/ml y 200 mg/ml, entre 25 mg/ml y 200 mg/ml, entre 50 mg/ml y 200 mg/ml, entre 75 mg/ml y 200 mg/ml, entre 100 mg/ml y 200 mg/ml,
- 60

- entre 125 mg/ml y 175 mg/ml, entre 15 mg/ml y 50 mg/ml, entre 25 mg/ml y 75 mg/ml. En algunas realizaciones, el agente terapéutico disuelto en un disolvente que contiene el ácido hidrófobo puede tener una solubilidad mayor que 10 mg/ml, mayor que 50 mg/ml o mayor que 100 mg/ml. En algunas realizaciones, el agente terapéutico disuelto en un disolvente que contiene el ácido hidrófobo (por ejemplo, una primera solución que contiene el agente terapéutico, el disolvente y el ácido hidrófobo) puede tener una solubilidad de al menos 2 veces mayor, en algunas realizaciones al menos 5 veces mayor, en algunas realizaciones al menos 10 veces mayor, en algunas realizaciones al menos 20 veces mayor, en algunas realizaciones de 2 veces a 20 veces mayor o en algunas realizaciones de 10 veces a 20 veces mayor que cuando el agente terapéutico se disuelve en un disolvente que no contiene el ácido hidrófobo (por ejemplo, una segunda solución que consiste en el agente terapéutico y el disolvente).
- 5 En algunos ejemplos, la concentración de ácido hidrófobo en la solución de fármaco (es decir, la solución de agente terapéutico) puede variar de aproximadamente un 1 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 2 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 3 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 4 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 5 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 6 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 8 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 10 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 12 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 14 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 16 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 1 por ciento en peso a aproximadamente un 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 3 por ciento en peso a aproximadamente un 9 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 6 por ciento en peso a aproximadamente un 12 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 9 por ciento en peso a aproximadamente un 15 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 12 por ciento en peso a aproximadamente un 18 por ciento en peso, and en algunas realizaciones, de aproximadamente un 15 por ciento en peso a aproximadamente un 21 por ciento en peso. En determinadas realizaciones, la concentración del ácido hidrófobo en la solución de fármaco puede ser de aproximadamente un 1 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de aproximadamente un 2 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de aproximadamente un 3 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de aproximadamente un 5 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de aproximadamente un 15 por ciento en peso o más, y en algunas realizaciones de aproximadamente un 20 por ciento en peso o más.
- 10 En algunos ejemplos, la concentración del ácido hidrófobo en la solución de fármaco (es decir, la solución de agente terapéutico) puede variar de un 1 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 2 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 3 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 4 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 5 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 6 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 8 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 10 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 12 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 14 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 16 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 1 por ciento en peso a un 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 3 por ciento en peso a un 9 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 6 por ciento en peso a un 12 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 9 por ciento en peso a un 15 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 12 por ciento en peso a un 18 por ciento en peso, y en algunas realizaciones, de un 15 por ciento en peso a un 21 por ciento en peso. En determinadas realizaciones, la concentración de ácido hidrófobo en la solución de fármaco puede ser un 1 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de un 2 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de un 3 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones, de un 5 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de un 10 por ciento en peso o más, en algunas realizaciones de un 15 por ciento en peso o más y en algunas realizaciones de un 20 por ciento en peso o más.
- 15 En determinadas realizaciones, la relación molar de ácido hidrófobo con respecto a agente terapéutico (por ejemplo, inicialmente durante la formulación de las nanopartículas y/o en las nanopartículas) puede variar de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 0,5:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 2:1, en

5 algunas realizaciones de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 0,75:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1,25:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,9:1 a aproximadamente 1,1:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,95:1 a aproximadamente 1,05:1, en algunas realizaciones, aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones, de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 5:1, y en algunas realizaciones, de aproximadamente 4:1 a aproximadamente 6:1.

20 En determinadas realizaciones, la relación molar de ácido hidrófobo con respecto a agente terapéutico (por ejemplo, inicialmente durante la formulación de las nanopartículas y/o en las nanopartículas) puede variar de 0,25:1 a 6:1, en algunas realizaciones de 0,25:1 a 5:1, en algunas realizaciones de 0,25:1 a 4:1, en algunas realizaciones, de 0,25:1 a 3:1, en algunas realizaciones de 0,25:1 a 2:1, en algunas realizaciones, de 0,25:1 a 1,5:1, en algunas realizaciones, de 0,25:1 a 1:1, en algunas realizaciones, de 0,25:1 a 0,5:1, en algunas realizaciones de 0,5:1 a 6:1, en algunas realizaciones, de 0,5:1 a 5:1, en algunas realizaciones, de 0,5:1 a 4:1, en algunas realizaciones de 0,5:1 a 3:1, en algunas realizaciones de 0,5:1 a 2:1, en algunas realizaciones de 0,5:1 a 1,5:1, en algunas realizaciones de 0,5:1 a 1:1, en algunas realizaciones, de 0,5:1 a 0,75:1, en algunas realizaciones, de 0,75:1 a 2:1, en algunas realizaciones de 0,75:1 a 1,5:1, en algunas realizaciones, de 0,75:1 a 1,25:1, en algunas realizaciones, de 0,9:1 a 1,1:1, en algunas realizaciones, de 0,95:1 a 1,05:1, en algunas realizaciones, 1:1, en algunas realizaciones de 0,75:1 a 1:1, en algunas realizaciones de 1:1 a 6:1, en algunas realizaciones, de 1:1 a 5:1, en algunas realizaciones de 1:1 a 4:1, en algunas realizaciones, de 1:1 a 3:1, en algunas realizaciones, de 1:1 a 2:1, en algunas realizaciones de 1:1 a 1,5:1, en algunas realizaciones, de 1,5:1 a 6:1, en algunas realizaciones, de 1,5:1 a 5:1, en algunas realizaciones de 1,5:1 a 4:1, en algunas realizaciones de 1,5:1 a 3:1, en algunas realizaciones de 2:1 a 6:1, en algunas realizaciones de 2:1 a 4:1, en algunas realizaciones, de 3:1 a 6:1, en algunas realizaciones, de 3:1 a 5:1, y en algunas realizaciones, de 4:1 a 6:1.

35 En algunos ejemplos, la relación molar inicial de ácido hidrófobo con respecto a agente terapéutico (es decir, durante la formulación de las nanopartículas) puede ser diferente de la relación molar de ácido hidrófobo con respecto a agente terapéutico en las nanopartículas (es decir, tras la retirada del ácido hidrófobo no encapsulado y el agente terapéutico). En otros ejemplos, la relación molar inicial de ácido hidrófobo con respecto a agente terapéutico, (es decir, durante la formulación de las nanopartículas) puede ser esencialmente la misma que la relación molar de ácido hidrófobo con respecto al agente terapéutico en las nanopartículas. (es decir, tras la retirada del ácido hidrófobo no encapsulado y el agente terapéutico).

45 En una realización, cuando la nanopartícula contiene el ácido hidrófobo, la nanopartícula que comprende el agente terapéutico, 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea puede formar una sal con el ácido hidrófobo. En otras palabras, el ácido hidrófobo asociado con el agente terapéutico es la sal farmacéuticamente aceptable. Por consiguiente, en una realización, la presente invención hace referencia a una nanopartícula terapéutica que comprende un agente terapéutico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un polímero seleccionado entre copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o un copolímeros de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y una combinación de los mismos, en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea.

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

60 En algunas realizaciones, el par iónico hidrófobo se puede formar antes de la formulación de las nanopartículas. Por ejemplo, se puede preparar una solución que contiene el par iónico hidrófobo antes de la formulación de las nanopartículas contempladas (por ejemplo, por medio de la preparación de una solución que contiene cantidades apropiadas del agente terapéutico y el ácido hidrófobo). En otras realizaciones, el par iónico hidrófobo se puede

formar durante la formulación de las nanopartículas. Por ejemplo, se puede combinar una primera solución que contiene el agente terapéutico y una segunda solución que contiene el ácido hidrófobo durante una etapa de procedimiento para preparar las nanopartículas (por ejemplo, antes de la formulación de la emulsión y/o durante la formación de la emulsión). En determinadas realizaciones, el par iónico hidrófobo se puede formar antes del encapsulado del agente terapéutico y el ácido hidrófobo en una nanopartícula contemplada. En otras realizaciones, el par iónico hidrófobo se puede formar en la nanopartícula, por ejemplo, tras el encapsulado del agente terapéutico y el ácido hidrófobo.

En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener una solubilidad menor que aproximadamente 2 g por cada 100 ml de agua o menos, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 g por cada 100 ml de agua o menos; en algunas realizaciones, aproximadamente 100 mg por cada 100 ml de agua o menos, en algunas realizaciones, aproximadamente 10 mg por cada 100 ml de agua o menos, y en algunas realizaciones aproximadamente 1 mg por cada 100 ml de agua o menos, determinado a 25 °C. En otras realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener una solubilidad que varía de aproximadamente 1 mg por cada 100 ml de agua a aproximadamente 2 g por cada 100 ml de agua; en algunas realizaciones de aproximadamente 1 mg por cada 100 ml de agua a aproximadamente 1 g por cada 100 ml de agua, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1 mg por cada 100 ml de agua a aproximadamente 500 mg por cada 100 ml de agua, y en algunas realizaciones de aproximadamente 1 mg por cada 100 ml de agua a aproximadamente 100 mg por cada 100 ml de agua, determinado a 25 °C. En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede ser esencialmente insoluble en agua a 25 °C.

En determinadas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener una solubilidad menor que 2 g por cada 100 ml de agua o menos, en algunas realizaciones de 1 g por cada 100 ml de agua o menos; en algunas realizaciones, 100 mg por cada 100 ml de agua o menos, en algunas realizaciones, 10 mg por cada 100 ml de agua o menos, y en algunas realizaciones, 1 mg por cada 100 ml de agua o menos, determinado a 25 °C. En otras realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener una solubilidad que varía de 1 mg por cada 100 ml de agua a 2 g por cada 100 ml de agua; en algunas realizaciones de 1 mg por cada 100 ml de agua a 1 g por cada 100 ml de agua, en algunas realizaciones, de 1 mg por cada 100 ml de agua a 500 mg por cada 100 ml de agua, y en algunas realizaciones de 1 mg por cada 100 ml de agua a 100 mg por cada 100 ml de agua, determinado a 25 °C. En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede ser esencialmente insoluble en agua a 25 °C.

En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas pueden estar esencialmente libres del ácido hidrófobo durante la preparación de las nanopartículas. En otras realizaciones, las nanopartículas divulgadas pueden comprender el ácido hidrófobo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el contenido de ácido de las nanopartículas divulgadas puede variar de aproximadamente un 0,05 en peso a aproximadamente un 35 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,05 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,05 por ciento en peso a aproximadamente un 20 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,5 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente un 2 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente un 3 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 5 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 7 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 15 por ciento en peso a aproximadamente un 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 15 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 20 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,05 por ciento en peso a aproximadamente un 0,5 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,05 por ciento en peso a aproximadamente un 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 por ciento en peso a aproximadamente un 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente un 3 por ciento en peso a aproximadamente un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 por ciento en peso a aproximadamente un 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 5 por ciento en peso a aproximadamente un 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de aproximadamente un 5 por ciento en peso a aproximadamente un 15 por ciento en peso, y en algunas realizaciones, de aproximadamente un 10 por ciento en peso a aproximadamente un 20 por ciento en peso.

En algunas realizaciones, el contenido de ácido de las nanopartículas divulgadas puede variar de un 0,05 en peso a un 35 por ciento en peso, en algunas realizaciones de un 0,05 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de un 0,05 por ciento en peso a un 20 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 0,5 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de un 1 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de un 2 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de un 3 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 5 por ciento en

5 peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 7 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 10 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 15 por ciento en peso a un 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 15 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 20 por ciento en peso a un 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 0,05 por ciento en peso a un 0,5 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 0,05 por ciento en peso a un 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 1 por ciento en peso a un 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones de un 3 por ciento en peso a un 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 por ciento en peso a aproximadamente un 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones, en algunas realizaciones de aproximadamente un 5 por ciento en peso a aproximadamente un 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones, de un 5 por ciento en peso a un 15 por ciento en peso, y en algunas realizaciones, de un 10 por ciento en peso a un 20 por ciento en peso.

15 En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas liberan de manera sustancialmente inmediata (por ejemplo, de 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). En otros casos, el perfil de liberación es más lento: se libera de aproximadamente un 2 % o menos; de aproximadamente un 5 % o menos; de aproximadamente un 10 % o menos; de aproximadamente un 15 % o menos; de aproximadamente un 20 % o menos; aproximadamente un 25 % o, aproximadamente un 30 % o menos, aproximadamente un 40 % o menos del agente terapéutico, en peso por ejemplo, cuando se coloca en una solución tampón de fosfato, por ejemplo un tampón que comprende un tampón de fosfato monobásico y dibásico (tal como cloruro de sodio 0,138 M, cloruro de potasio 0,0027 M, fosfato de potasio o sodio monobásico aproximadamente 0,02 M y tampón de fosfato dibásico de potasio o sodio aproximadamente 0,01 M disuelto en 1 litro de agua, por ejemplo, agua RODI), a temperatura ambiente (por ejemplo, 25 °C) y/o a 37 °C. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se describe en la presente memoria con anterioridad), por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde a aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 25 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 10 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 40 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 40 %, y en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 40 % del agente terapéutico liberado en peso durante aproximadamente 1 hora. En algunas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 45 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente 35 %, o en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 25 %, agente terapéutico, liberado en peso durante aproximadamente 4 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde a aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 25 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 10 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 5 %, y en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 3 % del agente terapéutico liberado en peso durante aproximadamente 4 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde a aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 60 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 25 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 10 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 5 %, y en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 3 % del agente terapéutico liberado en peso durante aproximadamente 10 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde a aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 25 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 10 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 5 %, y en algunas realizaciones de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 3 % del agente terapéutico liberado en peso durante aproximadamente 20 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o

37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 80 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 30 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 25 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 15 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 10 %, y en algunas realizaciones de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 5 % del agente terapéutico liberado en peso durante aproximadamente 40 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 100 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 80 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 60 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 40 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 30 %, en algunas realizaciones de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 20 % del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 100 horas.

En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas se liberan de manera sustancialmente inmediata (por ejemplo, de 1 minuto a 30 minutos, de 1 minuto a 25 minutos, de 5 minutos a 30 minutos, de 5 minutos a 1 hora, 1 hora o 24 horas). En otros casos, el perfil de liberación es más lento: 2 % o menos; 5 % o menos; 10 % o menos; 15 % o menos; 20 % o menos; 25 % o menos; 30 % o menos; 40 % o menos del agente terapéutico, en peso por ejemplo, cuando se coloca en una solución tampón de fosfato, por ejemplo un tampón que comprende un tampón de fosfato monobásico y dibásico (tal como cloruro de sodio 0,138 M, cloruro de potasio 0,0027 M, fosfato de potasio o sodio monobásico aproximadamente 0,02 M y tampón de fosfato dibásico de potasio o sodio aproximadamente 0,01 M disuelto en 1 litro de agua, por ejemplo, agua RODI), a temperatura ambiente (por ejemplo, 25 °C) y/o a 37 °C. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de un 0,01 a un 50 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 25 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 15 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 10 %, en algunas realizaciones de un 1 a un 40 %, en algunas realizaciones de un 5 a un 40 %, y en algunas realizaciones de un 10 a un 40 % del agente terapéutico liberado en peso durante 1 hora. En algunas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de un 10 a un 70 %, en algunas realizaciones de un 10 a un 45 %, en algunas realizaciones de un 10 a un 35 % o en algunas realizaciones de un 10 a un 25 %, agente terapéutico, liberado en peso durante 4 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de un 0,01 a un 50 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 25 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 15 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 10 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 5 %, y en algunas realizaciones de un 0,01 a un 3 % del agente terapéutico liberado en peso durante 4 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de un 0,01 a un 60 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 25 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 15 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 10 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 5 %, y en algunas realizaciones de un 0,01 a un 3 % del agente terapéutico liberado en peso durante 10 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de un 0,01 a un 70 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 50 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 25 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 15 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 10 %, en algunas realizaciones de un 0,01 a un 5 %, y en algunas realizaciones de un 0,01 a un 3 % del agente terapéutico liberado en peso durante 20 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de un 1 a un 80 %, en algunas realizaciones de un 1 a un 50 %, en algunas realizaciones de un 1 a un 30 %, en algunas realizaciones de un 1 a un 25 %, en algunas realizaciones de un 1 a un 15 %, en algunas realizaciones de un 1 a un 10 %, y en algunas realizaciones de un 1 a un 5 % del agente terapéutico liberado en peso durante 40 horas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) por ejemplo, a 25 °C y/o 37 °C, a una tasa que sustancialmente corresponde de un 10 a un 100 %, en algunas realizaciones de un 10 a un 80 %, en algunas realizaciones de un 10 a un 70 %, en algunas realizaciones de un 10 a un 60 %, en algunas realizaciones de un 10 a un 50 %, en algunas realizaciones de un 10 a un 40 %, en algunas realizaciones de un 10 a

un 30 %, en algunas realizaciones de un 10 a un 20 % del agente terapéutico liberado durante 100 horas.

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

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

10 En una realización, las nanopartículas divulgadas pueden incluir un ligando de dirección, por ejemplo, un ligando de bajo peso molecular. En determinadas realizaciones, el ligando de bajo peso molecular se conjuga con un polímero, y la nanopartícula comprende una determinada relación de polímero conjugado con ligando (por ejemplo, un PLA-PEG-ligando) con un polímero no funcionalizado (por ejemplo, PLA-PEG o PLGA-PEG). La nanopartícula puede tener una relación efectiva de estos dos polímeros de manera tal que la cantidad efectiva del ligando se asocia a la nanopartícula para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, tal como cáncer. Por ejemplo, una mayor densidad de ligando puede aumentar la unión a diana (captación de diana/unión celular), haciendo que la nanopartícula sea "específica de 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 naturaleza inmunogénica (es decir, la capacidad de provocar una respuesta inmunológica) y permitir que la nanopartícula tenga una semivida en circulación que resulte apropiada para el tratamiento de la enfermedad o trastorno. Por ejemplo, en una realización, la relación molar de polímero no funcionalizado con respecto a polímero conjugado con ligando varía de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 y en otra realización, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05, tal como, por ejemplo, aproximadamente 0,025. Además, el polímero no funcionalizado puede, en algunas realizaciones, rebajar la tasa de eliminación del sistema circulatorio por medio del sistema reticuloendotelial (RES). Por consiguiente, el polímero no funcionalizado puede proporcionar a la nanopartícula características que pueden permitir que ésta viaje a través del cuerpo tras la administración. En algunas realizaciones, un polímero funcionalizado puede equilibrar una concentración de ligandos elevada, lo que puede acelerar la eliminación por parte del sujeto, dando como resultado menos administración de los dianocitos.

En otra realización, la relación molar de polímero no funcionalizado con respecto a polímero conjugado con ligando varía de 0,01 a 0,1 y en otra realización, de 0,01 a 0,05, tal como, por ejemplo, de 0,025.

30 En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas en la presente memoria pueden incluir polímeros funcionalizados conjugados con un ligando que constituye un intervalo de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 50, por ejemplo, de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 30, por ejemplo, de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 20, por ejemplo, de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 10 por ciento en moles de toda la composición polimérica de la nanopartícula (es decir, polímero funcionalizado + no funcionalizado). También se divulga en la presente memoria, en otra realización, nanopartículas que incluyen un polímero conjugado (por ejemplo, covalentemente con (es decir) a través de un engarce (por ejemplo, un engarce de alquileo)) o un enlace) con uno o más ligandos de bajo peso molecular, en el que el ligando de bajo peso molecular en porcentaje en peso con respecto al polímero total varía de aproximadamente un 0,001 a aproximadamente un 5, por ejemplo, de aproximadamente un 0,001 a aproximadamente un 2, por ejemplo, de aproximadamente un 0,001 a aproximadamente un 1.

40 En algunas realizaciones, las nanopartículas divulgadas en la presente memoria pueden incluir polímeros funcionalizados conjugados con un ligando que constituyen un intervalo de un 0,1 a un 50, por ejemplo, un 0,1 - 30, por ejemplo, un 0,1 - 20, por ejemplo, un 0,1-10 por ciento en moles de la composición polimérica completa de la nanopartícula (es decir, polímero funcionalizado + no funcionalizado). De igual manera, en la presente memoria, se divulgan nanopartículas que incluyen un polímero conjugado con uno o más ligando de bajo peso molecular, en las que el ligando de bajo peso molecular en porcentaje en peso con respecto al polímero total varía de 0,001 a 5, por ejemplo, de 0,001 a 2, por ejemplo, de 0,001 a 1.

50 En general, una "nanopartícula" hace referencia a cualquier partícula que tenga un diámetro menor de 1000 nm, por ejemplo, de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 200 nm. Las nanopartículas terapéuticas divulgadas pueden incluir nanopartículas que tienen un diámetro que varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 120 nm, o de aproximadamente un 70 a aproximadamente 120 nm, o de aproximadamente 80 a aproximadamente 120 nm, o de aproximadamente 90 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.

5 Las nanopartículas terapéuticas divulgadas pueden incluir nanopartículas que tengan un diámetro que varía de 60 a 120 nm, o de 70 a 120 nm, o de 80 a 120 nm, o de 90 a 120 nm, o de 100 a 120 nm, o de 60 a 130 nm, o de 70 a 130 nm, o de 80 a 130 nm, o de 90 a 130 nm, o de 100 a 130 nm, o de 110 a 130 nm, o de 60 a 140 nm, o de 70 a 140 nm, o de 80 a 140 nm, o de 90 a 140 nm, o de 100 a 140 nm, o de 110 a 140 nm, o de 60 a 150 nm, o de 70 a 150 nm, o de 80 a 150 nm, o de 90 a 150 nm, o de 100 a 150 nm, o de 110 a 150 nm, o de 120 a 150 nm.

Polímeros

10 En algunas realizaciones, las nanopartículas pueden comprender una matriz de polímeros y el agente terapéutico. En algunas realizaciones, el agente terapéutico y/o resto de dirección (es decir, un ligando de bajo peso molecular) se pueden asociar con al menos parte de la matriz polimérica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un resto de dirección (por ejemplo, un ligando) se puede asociar covalentemente con la superficie de una matriz polimérica. En algunas realizaciones, la asociación covalente está mediada por un engarce. El agente terapéutico puede estar asociado a la superficie de, estar encapsulado dentro de, rodeado por y/o dispersado en toda la matriz polimérica.

15 Se conoce una amplia diversidad de polímeros y procedimientos para la formación de partículas a partir de los mismos en la técnica de administración de fármacos. En algunas realizaciones, la divulgación va destinada a nanopartículas con al menos dos macromoléculas, en las que la primera macromolécula comprende un primer polímero ligado a un ligando de bajo peso molecular (por ejemplo, un resto de dirección); y la segunda macromolécula que comprende un segundo polímero que no está ligado a un resto de dirección. Opcionalmente, la nanopartícula puede incluir uno o más polímeros adicionales, no funcionalizados.

20 Se puede usar cualquier polímero apropiados en las nanopartículas divulgadas. 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 comprender una combinación de secuencias aleatorias y de bloques. Típicamente, los polímeros son polímeros orgánicos.

25 El término "polímero", tal como se usa en la presente memoria, incluye su significado común tal y como se usa en la técnica, es decir, una estructura molecular que comprende una o más unidades repetidas (monómeros), conectados por medio de enlaces covalentes. Las unidades repetidas pueden ser todas idénticas, o en algunos casos, pueden ser más de un tipo de unidades de repetición presentes en el polímero. En algunos casos, el polímero puede tener procedencia biológica, es decir, un biopolímero. Los ejemplos no limitantes incluyen péptidos o proteínas. En algunos casos, los restos adicionales también pueden estar presentes en el polímero, por ejemplo, restos biológicos tales como los descritos a continuación. Si está presente más de un tipo de unidad de repetición en el polímero, entonces se dice que el polímero es un "copolímero". Se comprende que en cualquier realización que emplea un polímero, el polímero a emplear puede ser un copolímero en algunos casos. Las unidades de repetición que forman el copolímero pueden estar dispuestas de cualquier forma. Por ejemplo, las unidades de repetición pueden estar dispuestas en un orden aleatorio, en un orden alternante o como copolímero de bloques, es decir, comprendiendo una o más regiones que comprenden cada una primera unidad de repetición (por ejemplo, un primer bloque) y uno o más regiones que comprenden cada una de ellas una segunda unidad de repetición (por ejemplo, un segundo bloque), etc. Los copolímeros de bloques pueden tener dos (un copolímero de dibloque), tres (un copolímero de tribloque) o más números de bloques distintos.

40 Las partículas divulgadas pueden incluir copolímeros, que, en algunas realizaciones, describen dos o más polímeros (tales como los descritos en la presente memoria) que están asociadas unas a otras, normalmente por medio de enlace covalente de los dos o más polímeros de forma conjunta. Por consiguiente, un copolímero puede comprender un primer polímero y un segundo polímero, que se han conjugado de forma conjunta 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 polímero del copolímero de bloques. Por supuesto, los expertos en la técnica comprenderán que un copolímero de bloques puede, en algunos casos, contener bloques múltiples de polímero, y que un "copolímero de bloques", tal como se usa en la presente memoria, no se limita únicamente a copolímeros de bloques que tienen únicamente un primer bloque y un segundo bloque individual. 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, debería apreciarse que los copolímeros de bloques también se pueden formar, en algunos casos, a partir de otros copolímeros de bloques. Por ejemplo, se puede conjugar un primer copolímero de bloques a 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 a otros restos (por ejemplo, a restos no poliméricos).

55 En algunas realizaciones, el polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, un 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 generalmente atrae agua y un polímero hidrófobo

puede ser uno que generalmente repele el agua. Un polímero hidrófilo o hidrófobo se puede identificar, por ejemplo, mediante la preparación de una muestra del polímero y midiendo su ángulo de contacto con agua (típicamente, el polímero tiene un ángulo de contacto menor de 60°, mientras que un polímero hidrófobo tiene un ángulo de contacto mayor de aproximadamente 60°). En algunos casos, la naturaleza hidrófila de dos o más polímeros se puede medir uno con respecto a otro, es decir, un primer polímero puede ser más hidrófilo que el segundo polímero. Por ejemplo, el primer polímero puede tener un ángulo de contacto menor que el segundo polímero.

En un conjunto de realizaciones, un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) contemplado en la presente memoria incluye un polímero biocompatible, es decir, el polímero no induce típicamente una respuesta adversa cuando se inserta o inyecta en un organismo vivo, por ejemplo, sin inflamación significativa y/o rechazo agudo del polímero por parte del sistema inmunológico, por ejemplo, por medio de respuesta de célula-T. Por consiguiente, las partículas terapéuticas contempladas en la presente memoria pueden ser no inmunogénicas. La expresión no inmunogénicas, tal y como se usa en la presente memoria, hace referencia a un factor de crecimiento endógeno en su estado nativo que normalmente no induce, o induce únicamente niveles mínimos, de anticuerpos en circulación, células-T, o células inmunológicas reactivas, y que normalmente no induce en el individuo una respuesta inmunológica contra sí mismo.

Típicamente, la biocompatibilidad hace referencia al rechazo agudo de material por al menos una parte del sistema inmunológico, es decir, un material no biocompatible implantado en un sujeto provoca una respuesta inmunológica en el sujeto que puede ser suficientemente grave, de manera que el rechazo del material por parte del sistema inmunológico no se pueda controlar de manera apropiada, y con frecuencia es un grado tal que el material se debe retirar del sujeto. Un ensayo simple para determinar la biocompatibilidad puede consistir en exponer un polímero a células *in vitro*; polímeros biocompatibles con polímeros que típicamente no tienen 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 un 20 % de muerte celular cuando se expone a células tales como fibroblastos o células epiteliales, incluso si es fagocitado o captado por dichas células. Los ejemplos no limitantes de polímeros biocompatibles que pueden resultar útiles en diversas realizaciones incluyen polidioxanona (PDO), polihidroxicanoato, polihidroxibutirato, poli(sebacato de glicerol), poliglicolide (es decir, poli(ácido glicólico)) (PGA), polilactida, (es decir, poli(ácido láctico)) (PLA), poli(ácido láctico)-poli(ácido co-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 susceptible de degradación, química y/o biológicamente, en un entorno fisiológico, tal como dentro del cuerpo. Tal como se usa en la presente memoria, polímeros "biodegradables" son los que, cuando se introducen en las células, se rompen por medio la maquinaria celular (degradable biológicamente) y/o mediante procedimientos químicos, tales como hidrólisis, (degradable químicamente) para dar lugar a componentes que las células pueden reutilizar o eliminar sin efecto tóxico significativo sobre las células. En una realización, el polímero biodegradable y sus subproductos de degradación pueden ser biocompatibles.

Las partículas divulgadas en la presente memoria pueden contener o no PEG. Además, determinadas realizaciones pueden estar relacionadas con copolímeros que contienen poli(éster-éteres), por ejemplo, polímeros que tienen unidades repetidas unidas por medio de enlaces de éster (por ejemplo, enlaces $R^{100}-C(O)-O-R^1$) y enlaces de éter (por ejemplo, enlaces R^1-O-R^1 en los que R^{100} y R^1 son independientemente restos de hidrocarbilo que pueden estar opcionalmente sustituidos y que pueden ser iguales o diferentes). En algunas realizaciones, un polímero biodegradable, tal como un polímero hidrolizable, que contiene grupos de ácido carboxílico, puede estar conjugado con unidades de repetición de poli(etilén glicol) para formar un poli(éster-éter). Un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloques) que contiene unidades de repetición de poli(etilén glicol) también se puede denominar como "polímero PEGilado".

Por ejemplo, un polímero contemplado puede ser uno que hidroliza espontáneamente tras exposición al agua (por ejemplo, en un sujeto) o el polímero puede experimentar degradación tras exposición al calor (por ejemplo, a temperaturas de aproximadamente 37 °C). La degradación de un polímero puede tener lugar a varias tasas, dependiendo del polímero o copolímero usado. Por ejemplo, la semivida del polímero (el tiempo en el cual el 50 % del polímero se puede degradar para dar lugar a 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, por medio de actividad enzimática o maquinaria celular, en algunos casos, por ejemplo, a través de la exposición a una lisozima (por ejemplo, que tiene un pH relativamente bajo). En algunos casos, los polímeros se pueden romper para dar lugar a monómeros y/u otros restos no poliméricos que las células pueden reutilizar o eliminar sin efecto tóxico significativo sobre las mismas (por ejemplo, la polilactida se puede hidrolizar para formar ácido láctico, poliglicólido se puede hidrolizar para formar ácido glicólico, etc.).

En algunas realizaciones, los polímeros pueden ser poliésteres, incluyendo copolímeros que comprenden unidades de ácido láctico y ácido glicólico, tales como poli(ácido láctico-poli(ácido co-glicólico)) y poli(lactida-co-glicólido), denominados colectivamente en la presente memoria "PLGA"; y homopolímeros que comprenden unidades de ácido glicólico, denominados en la presente memoria "PGA", y unidades de ácido láctico, tales como poli(ácido L-láctico) poli(ácido D-láctico), poli(ácido D,L-láctico), poli-L-lactida, poli-D-lactida y poli-D,L-lactida, denominados colectivamente en la presente memoria "PLA". En algunas realizaciones, los poliésteres a modo de ejemplo incluyen,

por ejemplo, polihidroxiácidos; polímeros PEGilados y copolímeros de lactida 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) PEGilado (orto éster), poli(caprolactona), poli(caprolactona) PEGilada, polilisina, polilisina PEGilada, poli(etilen imina), poli(etilen imina) PEGilada, poli(L-lactida-co-L-lisina), poli(éster de serina), poli(4-hidroxi-éster de L-prolina), poli[α -(4-aminobutil)-ácido L-glicólico] y derivados del mismo.

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

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 metacrilato de amino alquilo, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamida de ácido metacrílico, poli(metacrilato de metilo), poli(poliacrilamida de ácido metacrílico), copolímero de metacrilato de amino alquilo, copolímeros de metacrilato de glicidilo, policianoacrilatos y combinaciones que comprenden uno o más de los polímeros anteriores. El polímero acrílico puede comprender copolímeros completamente polimerizados de ésteres de ácido acrílico o metacrílico con un bajo contenido de grupos amonio cuaternarios.

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

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

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

Los expertos en la técnica conocerán los métodos y técnicas de PEGilación de 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 con apertura de anillo (ROMP) o similares.

En una realización, el peso molecular (o por ejemplo, la relación de pesos moleculares de, por ejemplo, bloques diferentes de un copolímero) de los polímeros se puede optimizar para el tratamiento efectivo tal y como se divulga en la presente memoria. Por ejemplo, el peso molecular de un polímero puede afectar a la tasa de degradación de partículas (tal como cuando el peso molecular de un polímero biodegradable se puede ajustar), solubilidad, captación de agua y parámetros cinéticos de liberación de fármaco. Por ejemplo, el peso molecular del polímero (o por ejemplo, la relación de pesos moleculares de, por ejemplo, bloques diferentes de un copolímero) se puede ajustar de manera que la partícula experimente biodegradación en el sujeto que se trata 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.).

Por ejemplo, una partícula divulgada puede comprender un copolímero de dibloques de PEG y PL(G)A, en el que por ejemplo, la parte PEG puede tener un peso molecular promedio expresado 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 expresado en número de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 20.000 o de aproximadamente 5.000-100.000, por ejemplo, aproximadamente 20.000-70.000, por ejemplo, aproximadamente 15.000-50.000.

Por ejemplo, en la presente memoria se divulga una nanopartícula terapéutica a modo de ejemplo que incluye de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 99 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol, o de aproximadamente un

50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso, de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 80 por ciento en peso, de aproximadamente un 40 a aproximadamente un 80 por ciento en peso, o de aproximadamente un 30 a aproximadamente un 50 por ciento en peso, o de aproximadamente un 70 a aproximadamente un 90 por ciento en peso, de aproximadamente un 70 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso, de aproximadamente un 80 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso, de aproximadamente un 70 a aproximadamente un 80 por ciento en peso, o de aproximadamente un 85 a aproximadamente un 95 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende aproximadamente un 50 por ciento en peso, aproximadamente un 55 por ciento en peso, aproximadamente un 60 por ciento en peso, aproximadamente un 65 por ciento en peso, aproximadamente un 70 por ciento en peso, aproximadamente un 75 por ciento en peso, aproximadamente un 80 por ciento en peso, aproximadamente un 85 por ciento en peso, aproximadamente un 90 por ciento en peso o aproximadamente un 95 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol. Los copolímeros de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol a modo de ejemplo puede incluir un peso molecular promedio expresado en número que varía de 15 a aproximadamente 20 kDa, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa, de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 10 kD, de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 10 kDa, o de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 10 kDa de poli(etilen)glicol.

En otro ejemplo, en la presente memoria se divulga una nanopartícula terapéutica a modo de ejemplo que incluye de un 10 a un 99 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol, o de un 50 a un 99,75 por ciento en peso, de un 20 a un 80 por ciento en peso, de un 40 a un 80 por ciento en peso, o de un 30 a un 50 por ciento en peso, o de un 70 a un 90 por ciento en peso, de un 70 a un 99,75 por ciento en peso, de un 80 a un 99,75 por ciento en peso, de un 70 a un 80 por ciento en peso, o de un 85 a un 95 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende un 50 por ciento en peso, un 55 por ciento en peso, un 60 por ciento en peso, un 65 por ciento en peso, un 70 por ciento en peso, un 75 por ciento en peso, un 80 por ciento en peso, un 85 por ciento en peso, un 90 por ciento en peso o un 95 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol. Los copolímeros de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol a modo de ejemplo puede incluir un peso molecular promedio expresado en número que varía de 15 a 20 kDa, o de 10 a 25 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio expresado en número de 4 kDa a 6 kDa, de 4 kDa a 10kD, de 6 kDa a 10 kDa, o de 2 kDa a 10 kDa de poli(etilen)glicol.

En algunas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol puede tener una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,95, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,9, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,8, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,8, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 0,85, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 0,9 y en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,85 a aproximadamente 0,95. Debería comprenderse que la fracción de peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) se puede calcular dividiendo el peso molecular por medio expresado en número del componente de poli(ácido láctico) del copolímero entre la suma del peso molecular promedio expresado en número del componente de poli(ácido láctico) y el peso molecular promedio expresado en número del componente de poli(etilen)glicol.

En algunas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol puede tener una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de 0,6 a 0,95, en algunas realizaciones, de 0,7 a 0,9, en algunas realizaciones, de 0,6 a 0,8, en algunas realizaciones, de 0,7 a 0,8, en algunas realizaciones, de 0,75 a 0,85, en algunas realizaciones de 0,8 a 0,9 y en algunas realizaciones, de 0,85 a 0,95.

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:7. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:4. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:14. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:3.

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de 1:7. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de 1:4. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica

comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de 1:14. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de 1:3.

- 5 Opcionalmente, las nanopartículas divulgadas incluyen de aproximadamente 1 a aproximadamente un 50 por ciento en peso de poli(ácido láctico) o poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico) (que no incluye PEG), u opcionalmente puede incluir de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 50 por ciento en peso, o de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 50 por ciento en peso o de aproximadamente un 30 a aproximadamente un 50 por ciento en peso de poli(ácido láctico) o poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico). Por ejemplo, el poli(ácido láctico) o poli(ácido co-glicólico) pueden tener un peso molecular promedio expresado en número que varía de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 kDa o de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 kDa. PLA a modo de ejemplo puede tener un peso molecular promedio expresado en número que varía de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 kDa. PLA a modo de ejemplo puede tener un peso molecular promedio expresado en número que varía de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 kDa.
- 10
- 15 Opcionalmente, las nanopartículas divulgadas incluyen de un 1 a un 50 por ciento en peso de poli(ácido láctico) o poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico) (que no incluye PEG), u opcionalmente puede incluir de un 1 a un 50 por ciento en peso, o de un 10 a un 50 por ciento en peso o de un 30 a un 50 por ciento en peso de poli(ácido láctico) o poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico). Por ejemplo, el poli(ácido láctico) o poli(ácido co-glicólico) pueden tener un peso molecular promedio expresado en número que varía de 5 a 15 kDa o de 5 a 12 kDa. PLA a modo de ejemplo puede tener un peso molecular promedio expresado en número que varía de 5 a 10 kDa. PLA a modo de ejemplo puede tener un peso molecular promedio expresado en número que varía de 8 a 12 kDa.
- 20

Una nanopartícula terapéutica puede, en algunas realizaciones, contener de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 30 por ciento en peso, de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 25 por ciento en peso, de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 20 por ciento en peso, de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 15 por ciento en peso, de aproximadamente un 15 a aproximadamente un 20 por ciento en peso, de aproximadamente un 15 a aproximadamente un 25 por ciento en peso, de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 25 por ciento en peso, de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 30 por ciento en peso, o de aproximadamente un 25 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), en la que el poli(etilenglicol) puede estar presente como copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) o un homopolímero de poli(etilenglicol). En determinadas realizaciones, los polímeros de las nanopartículas se puede conjugar a un lípido. El polímero puede ser, por ejemplo, un PEG con terminación de lípido.

25

30

Una nanopartícula terapéutica puede, en algunas realizaciones, contener de un 10 a un 30 por ciento en peso, de un 10 a un 25 por ciento en peso, de un 10 a un 20 por ciento en peso, de un 10 a un 15 por ciento en peso, de un 15 a un 20 por ciento en peso, de un 15 a un 25 por ciento en peso, de un 20 a un 25 por ciento en peso, de un 20 a un 30 por ciento en peso, o de un 25 a un 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), en la que el poli(etilenglicol) puede estar presente como copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), un copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) o un homopolímero de poli(etilenglicol).

35

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el polímero PLA-PEG y la relación molar de PLA-PEG es de aproximadamente 5:1. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el polímero PLA-PEG y la relación molar de PLA-PEG es de 5:1.

40

Restos de dirección

En la presente memoria, en algunas realizaciones, se proporcionan nanopartículas que pueden incluir un resto de dirección opcional, es decir, un resto capaz de unirse o asociarse a una entidad biológica, por ejemplo, un componente de membrana, un receptor de superficie celular, un antígeno o similar. Un resto de dirección presente sobre la superficie de la partícula puede permitir que la partícula se localice en un sitio de dirección particular, por ejemplo, un tumor, un punto concreto de enfermedad, un tejido, un órgano, un tipo de célula, etc. Como tal, la nanopartícula puede entonces ser "específica de diana". El fármaco o la carga útil puede por tanto, en algunos casos, liberarse de la partícula y permitir la interacción local con el sitio diana particular.

45

En una realización, la nanopartícula divulgada incluye un resto de dirección que es un ligando de bajo peso molecular. El término "unir" o "unión", tal como se usa en la presente memoria, hace referencia a la interacción entre un par correspondiente de moléculas o partes de las mismas que exhiben afinidad mutua o capacidad de unión, típicamente debido a interacción o unión específica o no específica, que incluye, aunque no de forma limitativa, interacciones bioquímicas, fisiológicas y/o químicas. La "unión química" define un tipo de interacción que tiene lugar entre pares de moléculas que incluyen proteínas, ácidos nucleicos, glicoproteínas, carbohidratos, hormonas o similares. La expresión "miembro de unión" hace referencia a una molécula que puede experimentar unión con una molécula particular. "Unión específica" hace referencia a moléculas, tales como polinucleótidos, que son capaces de unirse o reconocer un miembro de unión (o un número limitado de miembros de unión) a un grado sustancialmente mayor que otros, entes biológicos similares. En un conjunto de realizaciones, el resto de dirección tiene afinidad (tal

50

55

y como se mide por medio de una constante de disociación) menor de aproximadamente 1 micromolar, al menos aproximadamente 10 micromolar o al menos aproximadamente 100 micromolar.

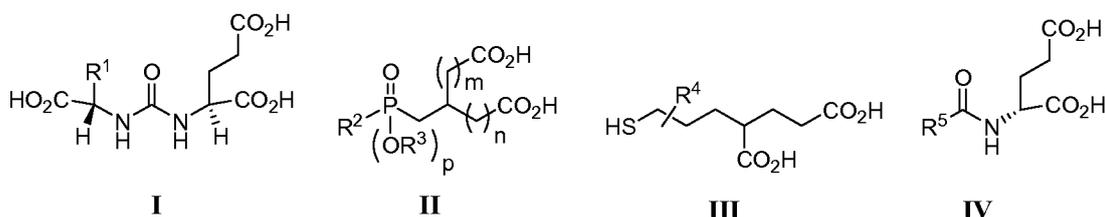
En algunas realizaciones, el resto de dirección tiene afinidad (tal y como se mide por medio de una constante de disociación) menor de 1 micromolar, al menos 10 micromolar o al menos 100 micromolar.

- 5 Por ejemplo, una parte de dirección puede provocar que las partículas se localicen en un tumor (por ejemplo, un tumor sólido), un punto concreto de enfermedad, un tejido, un órgano, un tipo de célula, etc. dentro del cuerpo del sujeto, dependiendo del resto de dirección usado. Por ejemplo, el ligando de bajo peso molecular puede estar localizado en un tumor sólido, por ejemplo, tumores de mama o próstata o células cancerígenas. El sujeto puede ser un ser humano o un animal no humano. Los ejemplos de sujetos incluyen, aunque no de forma limitativa, un mamífero tal como un perro, un gato, un caballo, un mono, 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 similar.

- 15 Los restos de dirección contemplados pueden incluir moléculas pequeñas. En determinadas realizaciones, la expresión "molécula pequeña" hace referencia a compuestos orgánicos, ya sean de procedencia natural o creados artificialmente (por ejemplo, por medio de síntesis química) que tienen un peso molecular relativamente bajo y que no son proteínas, polipéptidos o ácidos nucleicos. Típicamente, las moléculas pequeñas tienen enlaces múltiples carbono-carbono. En determinadas realizaciones, las moléculas pequeñas tienen un tamaño de aproximadamente 2000 g/mol. En algunas realizaciones, las moléculas pequeñas son de 1500 g/mol o menos o de aproximadamente 1000 g/mol o menos. En algunas realizaciones, las moléculas son de aproximadamente 800 g/mol o menos, 500 g/mol o menos, por ejemplo de aproximadamente 100 g/mol a aproximadamente 600 g/mol o de aproximadamente 200 g/mol a aproximadamente 500 g/mol.

En determinadas realizaciones, las moléculas pequeñas tienen un tamaño de 2000 g/mol. En algunas realizaciones, las moléculas pequeñas son de 1500 g/mol o menos o de 1000 g/mol o menos. En algunas realizaciones, las moléculas son de 800 g/mol o menos, 500 g/mol o menos, por ejemplo de 100 g/mol a 600 g/mol o de 200 g/mol a 500 g/mol.

- 25 En algunas realizaciones, el ligando de bajo peso molecular es de Fórmula I, II, III o IV:

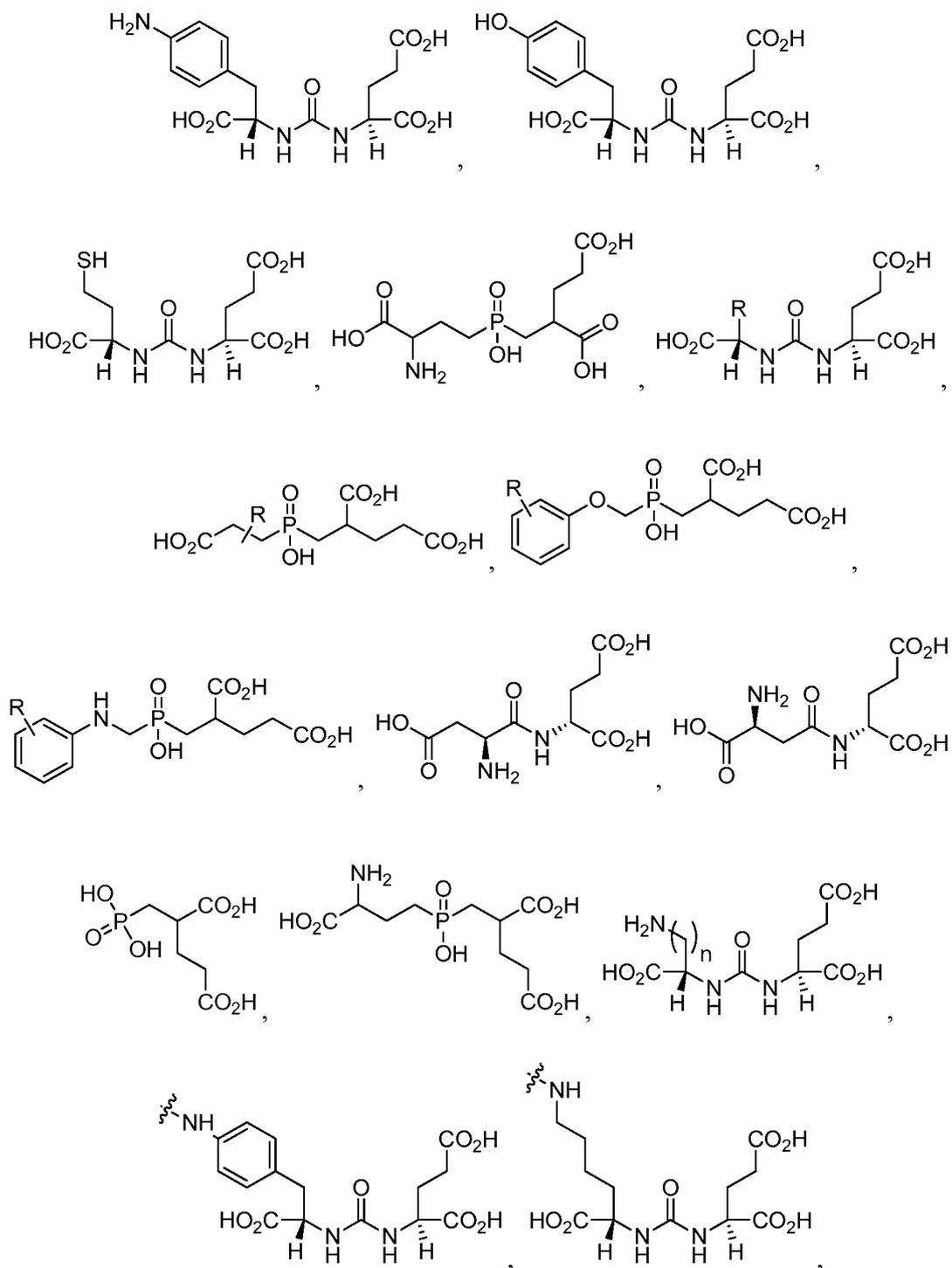


y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereoisómeros o racematos del mismo; en la que cada m y n son, independientemente, 0, 1, 2 o 3; p es 0 o 1;

- 30 R¹, R², R⁴ y R⁵ están cada uno, independientemente, seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, alquilo-C₁₋₁₀, alquilo-C₁₋₆ o alquilo-C₁₋₄), arilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, fenilo o piridinilo) y cualquier combinación de los mismos. y R³ es H o alquilo-C₁₋₆ (por ejemplo, CH₃).

- 35 Para los compuestos de Fórmula I, II, III y IV, R¹, R², R⁴ o R⁵ comprenden puntos de unión de la nanopartícula, por ejemplo, un punto de unión a un polímero que forma parte de una nanopartícula divulgada, por ejemplo, PEG. El punto de unión se puede formar por medio de un enlace covalente, un enlace iónico, un enlace de hidrógeno, un enlace formado por medio de adsorción que incluye adsorción química y adsorción física, un enlace formado a partir de enlaces de van der Waals, o fuerzas de dispersión. Por ejemplo, si se definen R¹, R², R⁴ o R⁵ como anilina o un grupo alquilo-C₁₋₆-NH₂, se podría retirar cualquier hidrógeno (por ejemplo, un hidrógeno de amino) de estos grupos funcionales de manera que el ligando de bajo peso molecular se una covalentemente a la matriz polimérica (por ejemplo, el bloque-PEG de la matriz polimérica) de la nanopartícula. Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "enlace covalente" hace referencia a un enlace entre dos átomos formados compartiendo al menos un par de electrones. En realizaciones particulares de Fórmula I, II, III o IV, R¹, R², R⁴ y R⁵ están cada uno, independientemente, alquilo-C₁₋₆ o fenilo o cualquier combinación de alquilo-C₁₋₆ fenilo, que estén sustituidos independientemente una o más veces con OH, SH, NH₂ o CO₂H, y en la que el grupo alquilo puede estar interrumpido por N(H), S u O. En otra realización, R¹, R², R⁴ y R⁵ están cada uno, independientemente, CH₂-Ph, (CH₂)₂-SH, CH₂-SH, (CH₂)₂C(H)(NH₂)CO₂H, CH₂C(H)(NH₂)CO₂H, CH(NH₂)CH₂CO₂H, (CH₂)₂C(H)(SH)CO₂H, CH₂-N(H)-Ph, O-CH₂-Ph o O-(CH₂)₂-Ph, en la que Ph es fenilo, y en la que cada Ph puede estar sustituido independientemente una o más veces con OH, NH₂, CO₂H o SH. Para estas fórmulas, 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).

Los ligandos a modo de ejemplo incluyen:



5

10

15

y enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereoisómeros o racematos del mismo, en la 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) o \curvearrowright indica el punto de unión a la nanopartícula, en la que n es 1, 2, 3, 4, 5 o 6, y en la que R está seleccionado de forma independiente entre el 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 la que R sirve como punto de unión covalente a la nanopartícula (por ejemplo, -N(H)-PEG, -S-PEG, -O-PEG o CO₂-PEG). Estos compuestos pueden estar sustituido de forma adicional con 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, en la que estos grupos funcionales también pueden servir como punto de unión covalente a la nanopartícula.

En algunas realizaciones, los restos de dirección de molécula pequeña que se pueden usar para los dianocitos

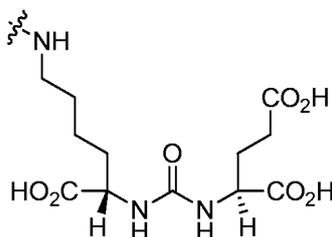
asociados a tumores sólidos tales como cáncer de próstata o mama incluyen inhibidores de PSMA peptidasa tal como 2-PMPA, GPI5232, VA-033, fenilalquilfosfonoamidatos y/o análogos y derivados de los mismos. En algunas realizaciones, los restos de dirección de molécula pequeña que se pueden usar para dianocitos asociados a tumores de cáncer de próstata incluyen tiol y derivados de tiol de indol, tales como 2-MPPA y derivados de ácido 3-(2-mercaptoetil)-1*H*-indol-2-carboxílico. En algunas realizaciones, los restos de dirección de molécula pequeña que se pueden usar para dianocitos asociados a tumores de cáncer de próstata incluyen derivados de hidroxamato. En algunas realizaciones, los restos de dirección de molécula pequeña que se pueden usar para dianocitos asociados 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 dirección de receptor de andrógeno (ARTAs), poliaminas, tales como putrescina, espermina y espermidina, inhibidores de la enzima glutamato carboxilasa II (GCPII), también conocidos como NAAG Peptidasa o NAALADasa.

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

Por ejemplo, los restos de dirección contemplados pueden incluir un ácido nucleico, polipéptido, glucoproteína, carbohidrato o lípido. Por ejemplo, un resto de dirección puede ser un resto de dirección de ácido nucleico (por ejemplo, un aptámero, por ejemplo, el aptámero A10) que se une a un marcador específico de tipo celular. En general, un aptámero es un oligonucleótido (por ejemplo, ADN, ARN o un análogo y derivado del mismo) que se une a una diana particular, tal como un polipéptido. En algunas realizaciones, un resto de dirección puede ser un ligando sintético o de origen natural para un receptor de superficie celular, por ejemplo, un factor de crecimiento, hormona, LDL, transferrina, etc. Un resto de dirección puede ser un anticuerpo, cuyo término se pretende que incluya fragmentos de anticuerpo. Se pueden identificar las partes características de los anticuerpos, restos de dirección de cadena individuales, por ejemplo, usando procedimientos tales como presentación en fagos.

Los restos de dirección divulgados en la presente memoria pueden ser, en algunas realizaciones, conjugados a un polímero o copolímero divulgado (por ejemplo, PLA-PEG) y dicho conjugado polimérico puede formar parte de una nanopartícula divulgada.

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica tiene un ligando diana adicionalmente presente y el ligando es PLA-PEG-GL, en el que GL tiene la siguiente estructura:



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

En otro ejemplo, opcionalmente, una nanopartícula terapéutica divulgada puede incluir de un 0,2 a un 30 por ciento en peso de PLA-PEG o PLGA-PEG, en las que el PEG está funcionalizado con un fármaco (por ejemplo, un PLA-PEG-Fármaco).

Se puede formar un conjugado polimérico divulgado (por ejemplo, un conjugado polímero-ligando) usando cualquier técnica de conjugación apropiada. Por ejemplo, dos compuestos tales como un resto de dirección o fármaco y un polímero biocompatible (por ejemplo, un polímero biocompatible y un poli(etilen glicol)) se pueden formar de manera conjunta usando técnicas tales como química de EDC-NHS clorhidrato de (1-etil-3-(3-dimetilaminopropilo) carbodiimida y N-hidroxisuccinimida) o una reacción que implica una maleimida o un ácido carboxílico, que se pueden conjugar en un extremo de un tiol, una amina, o un poliéter funcionalizado de forma similar. La conjugación de un resto de dirección o fármaco y un polímero para formar un conjugado polímero-resto de dirección o un conjugado polímero-fármaco puede llevarse a cabo en un disolvente orgánico, tales como, aunque no de forma limitativa, diclorometano, acetonitrilo, cloroformo, dimetilformamida, tetrahidrofurano, acetona o similar. Las condiciones de reacción específicas pueden determinarse por los expertos en la materia usando no más que una experimentación de rutina.

En otro conjunto de realizaciones, se puede llevar a cabo una reacción de conjugación haciendo reaccionar un polímero que comprende un grupo funcional de ácido carboxílico (por ejemplo, un compuesto de poli(éster-éter)) con un polímero u otro resto (tal como un resto de dirección o fármaco terapéutico) que tiene una funcionalidad de amina

sobre el mismo. Por ejemplo, se puede hacer reaccionar un resto de dirección, tal como un ligando de bajo peso molecular, o un agente terapéutico con una amina para formar un resto que contiene amina, que posteriormente se puede conjugar con el ácido carboxílico del polímero. Dicha reacción puede tener lugar como reacción de etapa individual, es decir, la conjugación se lleva a cabo sin usar intermedios tales como N-hidroxisuccinimida o una maleimida. En algunas realizaciones, el agente terapéutico se puede hacer reaccionar con un engarce que contiene amina para formar un fármaco que contiene amina, que posteriormente se puede conjugar con el ácido carboxílico del polímero como se ha descrito con anterioridad. Se puede lograr la reacción de conjugación entre el resto que contiene amina y el polímero con terminación de ácido carboxílico (tal como un compuesto de poli(éster-éter)), en un conjunto de realizaciones, mediante adición de un resto que contiene amina, solubilizado en un disolvente orgánico tal como (pero sin limitarse a) diclorometano, acetonitrilo, cloroformo, tetrahidrofurano, acetona, formamida, dimetilformamida, piridinas, dioxano o dimetilsulfóxido, a una solución que contiene el polímero con terminación de ácido carboxílico. El polímero con terminación de ácido carboxílico puede estar presente en un disolvente orgánico tal como, aunque no de forma limitativa, diclorometano, acetonitrilo, cloroformo, dimetilformamida, tetrahidrofurano o acetona. La reacción entre el resto que contiene amina y el polímero con terminación de ácido carboxílico puede tener lugar de forma espontánea, en algunos casos. Los reaccionantes no conjugados se pueden lavar tras dichas reacciones, y el polímero se puede precipitar en disolventes tales como, por ejemplo, éter etílico, hexano, metanol o etanol. En determinadas realizaciones, se puede formar un conjugado entre un resto que contiene alcohol y un grupo funcional de ácido carboxílico de un polímero, lo cual se puede conseguir similarmente a como se ha descrito para los conjugados de aminas y ácidos carboxílicos.

20 Preparación de Nanopartículas

Otro aspecto de la presente divulgación está destinado a sistemas y métodos de preparación de las nanopartículas divulgadas. En algunas realizaciones, usando dos o más polímeros diferentes (por ejemplo, copolímeros, por ejemplo, copolímeros de bloques) en diferentes relaciones y produciendo partículas a partir de los polímeros (por ejemplo, copolímeros, por ejemplo, copolímeros de bloques), es posible controlar las propiedades de las partículas. Por ejemplo, un polímero (por ejemplo, un copolímero, por ejemplo, un copolímero de bloques) puede incluir un ligando de bajo peso molecular, aunque se puede escoger otro polímero (por ejemplo, un copolímero, por ejemplo, un copolímero de bloques) por su biocompatibilidad y/o su capacidad de controlar la naturaleza inmunogénica de la partícula resultante.

En algunas realizaciones, un disolvente usado en un procedimiento de preparación de nanopartículas (por ejemplo, un procedimiento de nanoprecipitación o un procedimiento de nanoemulsión como se comenta a continuación) puede incluir un ácido hidrófobo, que puede conferir propiedades ventajosas a las nanopartículas preparadas usando el proceso. Como se ha analizado anteriormente, en algunos casos, el ácido hidrófobo puede mejorar la carga de fármaco de las nanopartículas divulgadas. Además, en algunos casos, las propiedades de liberación controlada de las nanopartículas divulgadas se pueden mejorar por medio del uso del ácido hidrófobo. En algunos casos, el ácido hidrófobo se puede incluir en, por ejemplo, una solución orgánica o una solución acuosa usada en el proceso. En una realización, el agente terapéutico se combina con una solución orgánica y el ácido hidrófobo y opcionalmente uno o más polímeros. La concentración de ácido hidrófobo en solución usado para disolver el agente terapéutico se ha comentado anteriormente y puede, por ejemplo, variar de aproximadamente un 1 por ciento en peso y aproximadamente un 30 por ciento en peso o de un 1 por ciento en peso y un 30 por ciento en peso, etc.

En un conjunto de realizaciones, las partículas se forman proporcionando una solución que comprende uno o más polímeros, y poniendo en contacto la solución con una sustancia polimérica que no es disolvente para producir la partícula. La solución puede ser miscible o inmiscible con la sustancia polimérica que no es disolvente. Por ejemplo, un líquido miscible con agua, tal como acetonitrilo puede contener los polímeros, y las partículas se forman a medida que el acetonitrilo entra en contacto con el agua, una sustancia polimérica que no es disolvente, por ejemplo, vertiendo el acetonitrilo en el agua a velocidad controlada. El polímero presente en la solución, tras el contacto con la sustancia polimérica que no es disolvente, puede precipitar para formar partículas tales como nanopartículas. Se dice que dos líquidos son "inmiscibles" o no miscibles, uno con el otro cuando uno no es soluble en el otro en una cantidad de al menos un 10 % en peso a temperatura y presión ambientales. 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 agua que contiene sales disueltas u otras especies, células o medios biológicos, etanol, etc.) son inmiscibles uno con respecto al otro. Por ejemplo, la primera solución se puede verter en la segunda solución (a una tasa o velocidad controlada). En algunos casos, se pueden formar partículas tales como nanopartículas a medida que la primera solución entra en contacto con el segundo líquido inmiscible, por ejemplo, la precipitación del polímero tras el contacto provoca que el polímero forme nanopartículas al tiempo que se vierte la primera solución en el segundo líquido, y en algunos casos, por ejemplo, cuando la tasa de introducción de controla con precaución y se mantiene en una tasa relativamente lenta, se pueden formar nanopartículas. El control de dicha formación de partículas se puede optimizar fácilmente por parte de un experto en la técnica usando únicamente experimentación común.

Se pueden controlar en gran medida las propiedades tales como funcionalidad superficial, carga superficial, tamaño, potencial zeta (ζ), naturaleza hidrófoba, capacidad para controlar la naturaleza inmunogénica y similares, usando el procedimiento divulgado. Por ejemplo, se puede sintetizar una biblioteca de partículas, y se puede controlar para identificar las partículas que tengan una relación particular de polímeros que permita que las partículas tengan una

densidad específica de restos (por ejemplo, ligandos de peso molecular bajo) presentes sobre la superficie de la partícula. Esto permite la preparación de partículas que tengan una o más propiedades específicas, por ejemplo, tamaño específico y densidad superficial específica de restos, sin un grado de esfuerzo indeseado. Por consiguiente, se destinadas determinadas realizaciones a técnicas de control que usan dichas bibliotecas, así como también a cualesquiera partículas identificadas usando dichas bibliotecas. Además, la identificación puede tener lugar por medio de cualquier procedimiento apropiado. Por ejemplo, la identificación puede ser directa o indirecta, o transcurrir de forma cuantitativa o cualitativa.

En algunas realizaciones, las nanopartículas ya formadas se someten a funcionalización con un resto de dirección usando procedimientos análogos a los descritos para producir conjugados poliméricos funcionalizados con ligando. Por ejemplo, se mezcla un primer copolímero (PLGA-PEG, poli(lactida-co-glicólido) y poli(etilen glicol)) con el agente terapéutico que contiene nitrógeno protonable para formar partículas. Posteriormente, las partículas se asocian con un ligando de peso molecular bajo para formar nanopartículas que se pueden usar para el tratamiento de cáncer. Las partículas se pueden asociar con cantidades variables de ligandos de bajo peso molecular con el fin de controlar la densidad superficial 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 peso molecular, es posible obtener partículas con peso molecular de PEG y carga superficial de nanopartícula, controlados de forma muy precisa.

En otra realización, se proporcionar un procedimiento de nanoemulsión, tal como el procedimiento representado en las Figuras 1, 2A y 2B. Por ejemplo, se puede combinar un agente terapéutico, un ácido hidrófobo, un primer polímero (por ejemplo, un co-polímero de dibloques tal como un PLA-PEG o un PLGA-PEG, cualquiera de los cuales puede estar ligado opcionalmente a un ligando) y un segundo polímero opcional (por ejemplo, (PL(G)A)-PEG o PLA), con una solución orgánica para formar una primera fase orgánica. Dicha primera fase puede incluir de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 50 % en peso de sólidos, de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 50 % en peso de sólidos, de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 40 % en peso de sólidos, de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 15 % en peso de sólidos, o de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 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, etil metil cetona, acetonitrilo, tetrahidrofurano, acetato de etilo, alcohol isopropílico, acetato de isopropilo, dimetilformamida, cloruro de metileno, diclorometano, cloroformo, acetona, alcohol bencílico, Tween™ 80, Span 80 o similares, y combinaciones de los mismos. En una realización, la fase orgánica puede incluir alcohol bencílico, acetato de etilo y combinaciones de los mismos. La segunda fase puede variar de aproximadamente un 0,1 a un 50 % en peso, o de aproximadamente un 1 a un 50 % en peso, o de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 40 % en peso, o de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 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, poli(acetato de vinilo) y alcohol bencílico. En algunas realizaciones, el pH de la fase acuosa puede estar seleccionado en base al pK_a del agente terapéutico básico protonado y/o el pK_a del ácido hidrófobo. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el agente terapéutico, cuando se protona, puede tener un primer pK_a , el ácido hidrófobo puede tener un segundo pK_a , y la fase acuosa puede tener un pH igual a una unidad de pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . En una realización particular, el pH de la fase acuosa puede ser igual a una unidad pK_a que es aproximadamente equidistante entre el primer pK_a y el segundo pK_a .

En otra realización, la primera fase puede incluir de un 1 a un 50 % en peso de sólidos, de un 5 a un 50 % en peso de sólidos, de un 5 a un 40 % en peso de sólidos, de un 1 a un 15 % en peso de sólidos, o de un 10 a un 30 % en peso de sólidos. En una realización, la segunda fase puede variar de un 0,1 a un 50 % en peso, o de un 1 a un 50 % en peso, o de un 5 a un 40 % en peso, o de un 1 a un 15 % en peso, de sólidos. En una realización particular, el pH de la fase acuosa puede ser igual a una unidad pK_a que es equidistante entre el primer pK_a y el segundo pK_a .

Por ejemplo, la fase oleosa u orgánica puede usar un disolvente que solo sea parcialmente miscible con la sustancia que no es disolvente (agua). Por tanto, cuando se mezcla a una relación suficientemente baja y/o cuando se usa agua pre-saturada con disolventes orgánicos, la fase oleosa permanece líquida. La fase oleosa se puede emulsionar en una disolución acuosa y, en forma de gotas de líquido, repartir para dar lugar a nanopartículas usando, por ejemplo, sistemas de dispersión de alta energía, tales como homogeneizadores o dispositivos de ultrasonido. La parte acuosa de la emulsión, conocida también como "fase acuosa", puede ser una solución de tensioactivo que consiste en colato de sodio y puede estar pre-saturada con acetato de etilo y alcohol bencílico. En algunos ejemplos, la fase orgánica (por ejemplo, la fase orgánica) puede incluir el agente terapéutico básico. Adicionalmente, en determinadas realizaciones, la solución acuosa (por ejemplo, la primera solución acuosa) puede incluir el ácido sustancialmente hidrófobo. En otras realizaciones, tanto el agente terapéutico básico como el ácido sustancialmente hidrófobo se pueden disolver en la fase orgánica.

Se puede llevar a cabo el emulsionado de la segunda fase para formar una fase de emulsión, por ejemplo, en una o dos etapas de emulsionado. Por ejemplo, se puede preparar una emulsión primaria, y posteriormente se puede emulsionar para formar una emulsión fina. La emulsión primaria se puede formar, por ejemplo, usando mezcla simple, un homogeneizador de alta presión, un dispositivo de ultrasonidos con sonda, una barra de agitación o un homogeneizador de estator con rotor. La emulsión primaria se puede formar para dar lugar a una emulsión fina a través del uso de, por ejemplo, un dispositivo de ultrasonidos con sonda o un homogeneizador de alta presión, por

- ejemplo, mediante el uso de 1, 2, 3 o más pases a través del homogeneizador. Por ejemplo, cuando se usa un homogeneizador de alta presión, la presión usada puede ser de aproximadamente 0,21 MPa a aproximadamente 0,41 MPa, de aproximadamente 0,28 MPa a aproximadamente 0,34 MPa, de aproximadamente 6,89 MPa a aproximadamente 55,14 MPa, de aproximadamente 13,79 MPa a aproximadamente 27,57 MPa, de aproximadamente 27,57 MPa a aproximadamente 55,14 MPa o de aproximadamente 27,57 MPa a aproximadamente 34,46 MPa, por ejemplo, aproximadamente 13,79 MPa, 17,23 MPa, 27,57 MPa o 34,46 MPa.
- En otro ejemplo, cuando se usa un homogeneizador de alta presión, la presión usada puede ser de 0,21 MPa a 0,41 MPa, de 0,28 MPa a 0,34 MPa, de 6,89 MPa a 55,14 MPa, de 13,79 MPa a 27,57 MPa, de 27,57 MPa a 55,14 MPa, o de 27,57 MPa a 34,46 MPa, por ejemplo, 13,79 MPa, 17,23 MPa, 27,57 MPa 34,46 MPa.
- En algunos casos, se pueden escoger las condiciones de emulsión fina, que se pueden caracterizar por una relación muy elevada de superficie con respecto a volumen de las gotas de la emulsión, con el fin de maximizar la solubilidad del agente terapéutico y el ácido hidrófobo y formar el HIP deseado. En determinadas realizaciones, bajo determinadas condiciones de emulsión fina, puede tener lugar el equilibrado de los componentes disueltos de manera muy rápida, es decir, más rápido que la solidificación de las nanopartículas. Por consiguiente, la elección del HIP basándose en, por ejemplo, la diferencia de pK_a entre la forma protonada del agente terapéutico y el ácido hidrófobo, o ajustando otros parámetros tales como el pH de la emulsión fina y/o el pH de la solución de inactivación, puede tener un impacto significativo en la carga de fármaco y las propiedades de liberación de las nanopartículas mediante la imposición, por ejemplo, de la formación de un HIP en la nanopartícula, al contrario que la difusión del agente terapéutico y/o el ácido hidrófobo fuera de la nanopartícula.
- En algunas realizaciones, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo se pueden combinar en la segunda fase antes del emulsionado de la segunda fase. En algunos ejemplos, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden formar un par iónico hidrófobo antes del emulsionado de la segunda fase. En otras realizaciones, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden formar un par iónico hidrófobo durante el emulsionado de la segunda fase. Por ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo se pueden combinar en la segunda fase de manera sustancialmente concurrente con el emulsionado de la segunda fase, por ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo se pueden disolver en soluciones separadas (por ejemplo, dos soluciones sustancialmente inmiscibles), que posteriormente se combinan durante el emulsionado. En otro ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo se pueden disolver en soluciones miscibles por separado que posteriormente se alimentan en una segunda fase durante el emulsionado.
- Cualquier dilución o evaporación de disolvente puede resultar necesaria para completar la extracción del disolvente y solidificar las partículas. Para un mejor control de los parámetros cinéticos de extracción y un procedimiento más apto para escalado, se puede usar dilución de disolvente por medio de inactivación acuosa. Por ejemplo, la emulsión se puede diluir en agua fría hasta una concentración suficiente para disolver todo el disolvente orgánico con el fin de formar una fase inactivada. En algunas realizaciones, la inactivación se puede llevar a cabo 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 temperatura ambiente (por ejemplo, de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 °C, o de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 °C). En determinadas realizaciones, la inactivación se puede escoger para que tenga un pH que resulte ventajoso para la inactivación de la fase de emulsión, por ejemplo, mejorando las propiedades de las nanopartículas, tal como el perfil de liberación, o mejorando el parámetro de nanopartícula, tal como la carga de fármaco. El pH de la inactivación se puede ajustar por medio de valoración con ácido o base, por ejemplo, o mediante la elección apropiada de un tampón. En algunas realizaciones, el pH de la inactivación puede estar seleccionado en base al pK_a del agente terapéutico básico protonado y/o el pK_a del ácido hidrófobo. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el agente terapéutico básico, cuando se protona, puede tener un primer pK_a , el ácido hidrófobo puede tener un segundo pK_a , y la fase de emulsión se inactiva con una solución acuosa que tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . En algunas realizaciones, la fase inactivada resultante puede tener un pH igual a una unidad de pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a . En una realización particular, el pH puede ser igual a una unidad pK_a que es aproximadamente equidistante entre el primer pK_a y el segundo pK_a .
- En determinadas realizaciones, la formación de HIP puede tener lugar durante o tras el emulsionado, por ejemplo, como resultado de las condiciones de equilibrio en la emulsión fina. Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se piensa que los contra iones solubles en sustancia orgánica (es decir, el ácido hidrófobo) pueden facilitar la difusión del agente terapéutico en la nanopartícula de una emulsión como resultado de la formación de HIP. Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, el HIP puede permanecer en la nanopartícula antes de la solidificación de la nanopartícula, ya que la solubilidad del HIP en la nanopartícula es mayor que la solubilidad del HIP en la fase acuosa de la emulsión y/o en la inactivación. Por ejemplo, escogiendo el pH de la inactivación de forma que esté entre el pK_a del agente terapéutico básico y el pK_a del ácido hidrófobo, se puede optimizar la formación del agente terapéutico ionizado y el ácido hidrófobo. Sin embargo, la elección de un pH que sea demasiado elevado puede tender a provocar la difusión del ácido hidrófobo fuera de la nanopartícula, mientras que la elección de un pH que sea demasiado bajo puede tender a provocar la difusión del ácido hidrófobo fuera de la nanopartícula.
- En algunas realizaciones, el pH de la disolución acuosa usada en un procedimiento de formulación de nanopartículas (por ejemplo, que incluye, aunque no de forma limitativa, la fase acuosa, la fase de emulsión, la

5 inactivación y la fase inactivada) se puede escoger independientemente y puede variar de aproximadamente 1 a aproximadamente 3, en algunas realizaciones de aproximadamente 2 a aproximadamente 4, en algunas realizaciones, de aproximadamente 3 a aproximadamente 5, en algunas realizaciones, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6, en algunas realizaciones, de aproximadamente 5 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones, de aproximadamente 6 a aproximadamente 8, en algunas realizaciones, de aproximadamente 7 a aproximadamente 9, y en algunas realizaciones, de aproximadamente 8 a aproximadamente 10. En determinadas realizaciones, el pH de la solución acuosa usada en el procedimiento de formulación de nanopartículas puede variar de aproximadamente 3 a aproximadamente 4, en algunas realizaciones de aproximadamente 4 a aproximadamente 5, en algunas realizaciones, de aproximadamente 5 a aproximadamente 6, en algunas realizaciones de aproximadamente 6 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones de aproximadamente 7 a aproximadamente 8 y en algunas realizaciones de aproximadamente 8 a aproximadamente 9.

15 En algunas realizaciones, el pH de la disolución acuosa usada en un procedimiento de formulación de nanopartículas (por ejemplo, que incluye, aunque no de forma limitativa, la fase acuosa, la fase de emulsión, la inactivación y la fase inactivada) se puede escoger independientemente y puede variar de 1 a 3, en algunas realizaciones de 2 a 4, en algunas realizaciones, de 3 a 5, en algunas realizaciones, de 4 a 6, en algunas realizaciones, de 5 a 7, en algunas realizaciones, de 6 a 8, en algunas realizaciones, de 7 a 9, y en algunas realizaciones, de 8 a 10. En determinadas realizaciones, el pH de la solución acuosa usada en el procedimiento de formulación de nanopartículas puede variar de 3 a 4, en algunas realizaciones de 4 a 5, en algunas realizaciones, de 5 a 6, en algunas realizaciones de 6 a 7, en algunas realizaciones de 7 a 8 y en algunas realizaciones de 8 a 9.

20 En algunas realizaciones, no todo el agente terapéutico está encapsulado en las partículas en esta etapa, y se añade un agente de solubilización de fármaco a la fase inactivada para formar una fase solubilizada. El agente de solubilización de fármaco puede ser, por ejemplo, polisorbato 80 (Tween™ 80), Tween™ 20, polivinil pirrolidona, ciclodextrano, dodecil sulfato de sodio, colato de sodio, dietilnitrosamina, acetato sódico, urea, glicerina, propilenglicol, glicofulol, poli(etilenglicol), éter bis(polioxietilenglicol)dodecílico, benzoato sódico, salicilato de sodio, éter polioxietileno (100) estearílico o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, se puede añadir Tween™ 80 a la suspensión de nanopartículas inactivadas para solubilizar el fármaco libre y evitar la formación de los cristales de fármaco. En algunas realizaciones, la relación de agente de solubilización de fármaco con respecto a agente terapéutico que contiene nitrógeno protonable es de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 10:1 o en algunas realizaciones de aproximadamente 100:1 a aproximadamente 10:1.

30 En algunas realizaciones, la relación de agente de solubilización de fármaco con respecto a agente terapéutico que contiene nitrógeno protonable es de 200:1 a 10:1 o en algunas realizaciones de 100:1 a 10:1.

35 La fase solubilizada se puede filtrar para recuperar las nanopartículas. Por ejemplo, las membranas de ultrafiltración se pueden usar para concentrar la suspensión de nanopartículas y eliminar sustancialmente el disolvente orgánico, el fármaco libre (es decir, el agente terapéutico no encapsulado), el agente de solubilización de fármaco y otros coadyuvantes de procesado (tensioactivos). La filtración a modo de ejemplo se puede llevar a cabo usando un sistema de filtración de flujo tangencial. Por ejemplo, mediante el uso de una membrana con un tamaño de poro apropiado para retener nanopartículas al tiempo que permite el paso de solutos, micelas y disolvente orgánico, es posible separar selectivamente las nanopartículas. Se pueden usar membranas a modo de ejemplo con valores límite de peso molecular que varían de aproximadamente 300 a aproximadamente 500 kDa (~ de aproximadamente 40 5 a aproximadamente 25 nm). Se pueden usar membranas a modo de ejemplo con valores límite de peso molecular que varían de 300 a 500 kDa (~ de 5 a 25 nm).

45 Se puede llevar a cabo la diafiltración usando un enfoque de volumen constante, lo que significa que se puede añadir el diafiltrado (agua desionizada fría, por ejemplo, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 °C, o de 0 a aproximadamente 10 °C) a la suspensión de alimentación a la misma velocidad que se retira el filtrado de la suspensión. En algunas realizaciones, la filtración puede incluir un primer filtrado que usa 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. En algunas realizaciones, la filtración puede incluir un procesado 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, la filtración puede incluir el procesado de aproximadamente 1 a aproximadamente 30, o en algunos casos de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 diavolumenes, a una temperatura de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 °C, y el procesado 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) a una temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 °C. En algunas realizaciones, la filtración comprende el procesado de diferentes diavolumenes a diferentes temperaturas.

60 En algunas realizaciones, la filtración puede incluir una primera filtración que usa una primera temperatura de 0 a 5 °C, o de 0 a 10 °C, y una segunda temperatura de 20 a 30 °C, o de 15 a 35 °C. En algunas realizaciones, la filtración puede incluir el procesado de 1 a 30, en algunos casos de 1 a 15, o en algunos casos de 1 a 6 diavolumenes. Por ejemplo, la filtración puede incluir el procesado de 1 a 30 o en algunos casos de 1 a 6 diavolumenes, a una temperatura de 0 a 5 °C, y el procesado de al menos un diavolumen (por ejemplo, de 1 a 15, de 1 a 3, o de 1 a 2 diavolumenes) a una temperatura de 20 a 30 °C.

Tras la purificación y concentración de la suspensión de nanopartículas, las partículas se pueden hacer pasar a través de uno, dos o más filtros de lecho profundo y/o esterilización, por ejemplo, usando un pre-filtro de lecho profundo de $-0,2 \mu\text{m}$. Por ejemplo, una etapa de filtración estéril puede implicar la filtración 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 lecho profundo y un filtro estéril.

En otra realización de la preparación de nanopartículas, se forma una fase orgánica compuesta por una mezcla del agente terapéutico y un polímero (homopolímero, co-polímero y co-polímero con ligando). Se mezcla la fase orgánica con una fase acuosa a una relación de aproximadamente 1:5 (fase oleosa:fase acuosa), en la que la fase acuosa está compuesta por un tensioactivo y cierto disolvente disuelto. Se forma la emulsión primaria por medio de la combinación de las dos fases, bajo mezcla simple o a través del uso de un homogeneizador con estator y rotor. A continuación, la emulsión primaria se forma para dar lugar a una emulsión fina a través del uso de un homogeneizador de alta presión. A continuación, la emulsión final se inactiva mediante adición de agua desionizada bajo condiciones de mezcla. 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. En algunas realizaciones, la relación de inactivación:emulsión puede ser de 2:1 a 40:1, o en algunas realizaciones de 5:1 a 15:1. En algunas realizaciones, la relación de inactivación:emulsión es de 8,5:1. A continuación, se añade una solución de Tween™ (por ejemplo, Tween™ 80) a la inactivación para lograr un total de aproximadamente 2 % de Tween™. Esto sirve para disolver el agente terapéutico no encapsulado y libre. Posteriormente, las nanopartículas se aíslan a través de centrifugación o ultrafiltración/diafiltración.

Se aprecia que las cantidades de polímero, agente terapéutico y ácido hidrófobo que se usan en la preparación de la formulación pueden diferir de una formulación final. Por ejemplo, puede suceder que parte del agente terapéutico no se incorpore totalmente en la nanopartícula y dicho agente terapéutico libre, por ejemplo, se puede filtrar. Por ejemplo, en una realización, se puede usar una primera solución orgánica que contiene aproximadamente un 11 por ciento en peso de carga teórica de agente terapéutico en una primera solución orgánica que contiene aproximadamente un 9 % de un primer ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido graso), una segunda solución que contiene aproximadamente un 89 por ciento en peso de polímero (por ejemplo, el polímero puede incluir aproximadamente un 2,5 por ciento en moles de un resto de dirección conjugado con un polímero y aproximadamente un 97,5 por ciento en moles de PLA-PEG), y una solución acuosa que contiene aproximadamente un 0,12 % de un segundo ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido biliar) en la preparación de la formulación que tiene como resultado, por ejemplo, una nanopartícula final que comprende aproximadamente un 2 por ciento en peso de agente terapéutico, aproximadamente un 97,5 por ciento en peso de polímero (en la que el polímero puede incluir aproximadamente un 1,25 por ciento en moles de un resto de dirección conjugado con un polímero y aproximadamente un 98,75 por ciento en moles de PLA-PEG) y aproximadamente un 0,5 % de ácido hidrófobo total. Dichos procedimientos pueden proporcionar nanopartículas finales apropiadas para administración a un sujeto que incluyen de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 por ciento en peso de agente terapéutico, por ejemplo, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 8, aproximadamente 10 o aproximadamente 15 por ciento en peso de agente terapéutico.

En otra realización, se puede usar una primera solución orgánica que contiene un 11 por ciento en peso de carga teórica de agente terapéutico en una primera solución orgánica que contiene un 9 % de un primer ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido graso), una segunda solución que contiene un 89 por ciento en peso de polímero (por ejemplo, el polímero puede incluir un 2,5 por ciento en moles de un resto de dirección conjugado con un polímero y un 97,5 por ciento en moles de PLA-PEG), y una solución acuosa que contiene un 0,12 % de un segundo ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido biliar) en la preparación de la formulación que tiene como resultado, por ejemplo, una nanopartícula final que comprende un 2 por ciento en peso de agente terapéutico, un 97,5 por ciento en peso de polímero (en la que el polímero puede incluir aproximadamente un 1,25 por ciento en moles de un resto de dirección conjugado con un polímero y un 98,75 por ciento en moles de PLA-PEG) y un 0,5 % de ácido hidrófobo total. Dichos procedimientos pueden proporcionar nanopartículas finales apropiadas para administración a un sujeto que incluyen de 1 a 20 por ciento en peso de agente terapéutico, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, o 15 por ciento en peso de agente terapéutico.

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y ácido pamoico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido pamoico de 0,1:1, aproximadamente 0,5:1, aproximadamente 1:1, aproximadamente 1,1:1, aproximadamente 1,2:1, aproximadamente 1,3:1, aproximadamente 1,4:1, aproximadamente 1,5:1, aproximadamente 1,6:1, aproximadamente 1,7:1, aproximadamente 1,8:1, aproximadamente 1,9:1, aproximadamente 2:1, aproximadamente 2,5:1, aproximadamente 3:1, aproximadamente 3,5:1, aproximadamente 4:1, aproximadamente 4,5:1, aproximadamente 5:1, aproximadamente 5,5:1, aproximadamente 6:1, aproximadamente 6,5:1, aproximadamente 7:1, aproximadamente 7,5:1, aproximadamente 8:1, aproximadamente 8,5:1, aproximadamente 9:1, aproximadamente 9,5:1 o aproximadamente 10:1. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 0,5:1, aproximadamente 1:1, aproximadamente 1:2, aproximadamente 1:3, aproximadamente 1:4, aproximadamente 1:5, aproximadamente 1:6, aproximadamente 1:7, aproximadamente 1:8, aproximadamente 1:9, aproximadamente 1:10, aproximadamente 1:15

o aproximadamente 1:20. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, ácido pamoico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido pamoico de aproximadamente 1,8:1, PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 1:3, y PLA-PEG-GL en una relación en peso de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de aproximadamente 44:1. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente un agente de solubilidad. En determinadas realizaciones, el agente de solubilidad es éter polioxietileno estearílico (100). En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y ácido pamoico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido pamoico de 0,1:1, 0,5:1, 1:1, 1,1:1, 1,2:1, 1,3:1, 1,4:1, 1,5:1, 1,6:1, 1,7:1, 1,8:1, 1,9:1, 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 4,5:1, 5:1, 5,5:1, 6:1, 6,5:1, 7:1, 7,5:1, 8:1, 8,5:1, 9:1, 9,5:1 o 10:1. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende PLA-PEG (en una relación molar 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de 0,5:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:15 o 1:20. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, ácido pamoico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido pamoico de 1,8:1, PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de 1:3, y PLA-PEG-GL en una relación en peso de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de 44:1. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente un agente de solubilidad. En determinadas realizaciones, el agente de solubilidad es éter polioxietileno estearílico (100).

En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y ácido oleico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido oleico de 0,1:1, aproximadamente 0,5:1, aproximadamente 1:1, aproximadamente 1,1:1, aproximadamente 1,2:1, aproximadamente 1,3:1, aproximadamente 1,4:1, aproximadamente 1,5:1, aproximadamente 1,6:1, aproximadamente 1,7:1, aproximadamente 1,8:1, aproximadamente 1,9:1, aproximadamente 2:1, aproximadamente 2,5:1, aproximadamente 3:1, aproximadamente 3,5:1, aproximadamente 4:1, aproximadamente 4,5:1, aproximadamente 5:1, aproximadamente 5,5:1, aproximadamente 6:1, aproximadamente 6,5:1, aproximadamente 7:1, aproximadamente 7,5:1, aproximadamente 8:1, aproximadamente 8,5:1, aproximadamente 9:1, aproximadamente 9,5:1 o aproximadamente 10:1. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 0,5:1, aproximadamente 1:1, aproximadamente 1:2, aproximadamente 1:3, aproximadamente 1:4, aproximadamente 1:5, aproximadamente 1:6, aproximadamente 1:7, aproximadamente 1:8, aproximadamente 1:9, aproximadamente 1:10, aproximadamente 1:11, aproximadamente 1:12, aproximadamente 1:13, aproximadamente 1:14, aproximadamente 1:15, aproximadamente 1:20, aproximadamente 1:25 o aproximadamente 1:30. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, ácido oleico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido oleico de aproximadamente 6:1, PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 1:7, y PLA-PEG-GL en una relación en peso de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de aproximadamente 46:1. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente ácido cítrico. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente un agente de solubilidad. En determinadas realizaciones, el agente de solubilidad es polisorbato 80. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y ácido oleico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido oleico de 0,1:1, 0,5:1, 1:1, 1,1:1, 1,2:1, 1,3:1, 1,4:1, 1,5:1, 1,6:1, 1,7:1, 1,8:1, 1,9:1, 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 4,5:1, 5:1, 5,5:1, 6:1, 6,5:1, 7:1, 7,5:1, 8:1, 8,5:1, 9:1, 9,5:1 o 10:1. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende PLA-PEG (en una relación molar 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de 0,5:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15, 1:20, 1:25, o 1:30. En determinadas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende el agente terapéutico 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, ácido oleico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido oleico de 6:1, PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de 1:7, y PLA-PEG-GL en una relación en peso de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de 46:1. En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente ácido cítrico. En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica comprende adicionalmente un agente de solubilidad. En determinadas realizaciones, el agente de solubilidad es polisorbato 80.

En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica es una nanopartícula que se prepara por medio de emulsión de una primera fase orgánica que comprende un primer polímero, el agente terapéutico y un ácido sustancialmente hidrófobo, formándose de este modo una fase de emulsión; inactivación de la fase de emulsión formando de este modo una fase inactivada; y filtración de la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas, en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En otras realizaciones, la nanopartícula terapéutica se prepara por medio del procedimiento de combinación de una

primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en el que la fase de emulsión comprende un primer polímero, el agente terapéutico y un ácido sustancialmente hidrófobo; inactivar la fase de emulsión formando de este modo una fase inactivada; y filtrar la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas, en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, la primera fase orgánica comprende el agente terapéutico y ácido pamoico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido pamoico de aproximadamente 11:1 y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 1:3 en un disolvente orgánico que comprende alcohol bencílico y acetato de etilo en una relación en peso de alcohol bencílico con respecto a acetato de etilo de aproximadamente 1,25 y la primera solución acuosa comprende un éter de polioxi-etileno estearílico (100) disuelto en alcohol bencílico en una relación en peso de 0,005:1 y combinar la primera fase orgánica y la primera fase acuosa en una relación en peso de aproximadamente 1:5 para formar una segunda fase y emulsionar la segunda fase formada a partir de la misma e inactivar la fase de emulsión con ácido cítrico 0,1 M en solución acuosa a pH 4,5 y concentrar el producto resultante.

El agente terapéutico puede incluir formas alternativas tales como formas de sal farmacéuticamente aceptable, formas de base libre, hidratos, isómeros y profármacos del mismo.

Una "cantidad efectiva" cuando se usa en conexión con un compuesto de la presente invención es una cantidad efectiva para inhibir mTOR o PI3K en un sujeto.

El agente terapéutico de la presente invención exhibe una actividad inhibitoria de mTOR y por tanto, la nanopartícula terapéutica preparada a partir del agente terapéutico se puede utilizar para inhibir la proliferación celular anormal en la cual mTOR desempeña un papel. Por consiguiente, la nanopartícula terapéutica de la presente invención es efectiva en el tratamiento de trastornos con los cuales se asocian acciones de crecimiento de mTOR, tales como restenosis, aterosclerosis, trastornos óseos, artritis, retinopatía diabética, psoriasis, hipertrofia prostática benigna, aterosclerosis, inflamación, angiogénesis, trastornos inmunológicos, pancreatitis, enfermedad renal, cáncer, etc. En particular, los compuestos de la presente invención poseen excelentes efectos de inhibición de la proliferación de células cancerígenas y son efectivos en el tratamiento de cáncer, preferentemente todos los tipos de cáncer sólido y linfomas malignos y especialmente, leucemia, cáncer de piel, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer broncopulmonar, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer renal, cáncer gástrico, tumor cerebral, carcinoma avanzado de células renales, leucemia linfoblástica aguda, melanoma maligno, sarcoma óseo o de tejido blando, etc.

El agente terapéutico de la presente invención exhibe actividad inhibitoria de PI3 quinasa y, por lo tanto, la nanopartícula terapéutica preparada a partir del agente terapéutico se puede utilizar para inhibir la proliferación celular anormal en la cual PI3 desempeña un papel. Por consiguiente, el agente terapéutico de la presente invención es efectivo en el tratamiento de trastornos con los cuales se asocian acciones de proliferación celular anormal de PI3 quinasa, tales como restenosis, aterosclerosis, trastornos óseos, artritis, retinopatía diabética, psoriasis, hipertrofia prostática benigna, aterosclerosis, inflamación, angiogénesis, trastornos inmunológicos, pancreatitis, enfermedad renal, cáncer, etc. En particular, la nanopartícula terapéutica de la presente invención posee excelentes efectos de inhibición de la proliferación de células cancerígenas y son efectivos en el tratamiento de cáncer, preferentemente todos los tipos de cáncer sólido y linfomas malignos y especialmente, leucemia, cáncer de piel, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer broncopulmonar, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer renal, cáncer gástrico, tumor cerebral, cáncer de cabeza y cuello por ejemplo, cáncer de las siguientes zonas: cavidad oral, faringe, laringe, sinus paranasal y cavidad nasal, o glándulas salivares), carcinoma avanzado de células renales, leucemia linfoblástica aguda, melanoma maligno, sarcoma óseo o de tejido blando, etc.

El agente terapéutico también resulta útil en el tratamiento de un cáncer asociado a deficiencia de PTEN. La fosfatasa y homólogo de tensina al que se ha eliminado el cromosoma 10 (PTEN) es un lípido y proteína fosfatasa y funciona como proteína fosfatasa por medio de desfosforilación de sustratos de proteína sobre residuos de serina, treonina y tirosina. PTEN también funciona como un lípido fosfatasa por medio de desfosforilación de 3,4,5-trifosfato de fosfoinositol (PIP3), un componente de señalización clave de la fosfoinositol-3-quinasa (PI3-quinasa). PTEN es un supresor tumoral conocido que se ha implicado en procedimientos celulares que incluyen la mediación de mecanismo de señalización de MAP quinasa, mantenimiento centromérico y está implicado en los mecanismos de reparación de ADN a través de la mediación de la expresión génica Rad51. Los supresores tumorales desempeñan papeles en el mantenimiento de la estabilidad del genoma, y se sabe que la pérdida de función de estos supresores tumorales tiene como resultado la inestabilidad genómica. La inestabilidad genómica representa una consecuencia inevitable de la pérdida de los supresores tumorales. De hecho, la aparición frecuente de mutación PTEN e inestabilidad genética se encuentra en una amplia gama de cáncer con deficiencia de PTEN. Asimismo, se sabe que diversas estirpes celulares tumorales presentan deficiencia de PTEN. Asimismo, se sabe que diversas estirpes celulares tumorales presentan deficiencia de PTEN. Se comprobó que los hemocitoblastos embrionarios de PTEN-nulo exhibían defectos de control de reparación de ADN en respuesta a radiación ionizante, lo cual tiene como resultado la acumulación de cromosomas no reparados con rupturas y huecos de hebra dobles de ADN. Un estudio mecánico adicional reveló que los defectos de control G2 observados pueden ser el resultado del impedimento funcional de la proteína de control, CHK1, debido a la falta de PTEN. La deficiencia de PTEN eleva directamente la

actividad de AKT quinasa, lo cual desencadena la fosforilación de CHK1. CHK1 fosforilado experimenta reacción con ubiquitina, lo cual evita su entrada en el núcleo. El secuestro de CHK1 en el citoplasma impide su función normal en el inicio del control de reparación de ADN. Además, la inactivación de CHK1 en células con deficiencia de PTEN conduce a la acumulación de rupturas de hebra-doble de ADN. El examen de la localización de CHK1 en un gran panel de carcinomas de mama humano primario indica un mayor nivel citoplásmico de CHK1 en células tumorales con menor expresión de PTEN y elevada fosforilación de AKT. Además, se observó con frecuencia aneuploidía tanto en carcinomas de mama humano con baja expresión de PTEN como en neoplasia epitelial prostática en ratones Pten. sup +/- . Dichas observaciones in vitro e in vivo indican que las deficiencias de PTEN están implicadas en el inicio de un proceso de señalización oncogénico provocando una alteración de las proteínas de control importantes. Se ha considerado el citoplasma como el sitio primario para que PTEN obtenga su función supresora tumoral, y se ha hecho referencia a la capacidad de PTEN para bloquear el mecanismo de PI3-quinasa a través de su actividad de fosfatasa como el mecanismo clave por medio del cual PTEN evita la carcinogénesis. Aunque la distribución celular de PTEN varía en los diferentes tejidos, se encuentra PTEN endógeno en neuronas, gliomas y células del tiroides, páncreas de forma mayoritaria en el compartimiento nuclear. Resulta cada vez más evidente que el cáncer puede venir acompañado de traslocación de PTEN procedente del núcleo hasta el citoplasma. La inactivación de PTEN, ya sea por medio de mutaciones, eliminaciones o hipermetilación del promotor, se ha identificado en una amplia diversidad de tumores. El agente terapéutico de la presente invención es un procedimiento de tratamiento de un cáncer asociado a deficiencia de PTEN tal como carcinoma de endometrio, glioblastoma (glioblastoma multiforme/astrocitoma anaplásico), cáncer de próstata, cáncer renal, carcinoma de pulmón de células pequeñas, meningioma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer de mama, melanoma.

Formulaciones farmacéuticas

Las nanopartículas divulgadas en la presente memoria se pueden combinar con vehículos farmacéuticamente aceptables para formar una composición farmacéutica, de acuerdo con otro aspecto. Como se aprecia por parte del experto en la presente técnica, los vehículos se pueden escoger en base a la ruta de administración como se describe a continuación, la ubicación del tejido diana, el fármaco objeto de administración, la duración del curso de administración del fármaco, etc.

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un paciente o sujeto por cualquier medio conocido en la técnica, incluyendo rutas oral y parenteral. El término "paciente" o "sujeto", tal y como se usa en la presente memoria son intercambiables y hacen referencia a seres humanos así como a no humanos, que incluye, 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, las rutas parenterales resultan deseables ya que evitan el contacto con las enzimas digestivas que se encuentran en el tracto alimenticio. De acuerdo con dichas realizaciones, las composiciones de la invención se pueden administrar por medio de inyección (por ejemplo, intravenosa, subcutánea o intramuscular, inyección intraperitoneal), rectal, vaginal, tópica (en forma de polvos, cremas, pomadas o gotas) o mediante inhalación (aerosoles).

En una realización particular, las nanopartículas se administran a un sujeto que lo precisa de forma sistémica, por ejemplo, mediante infusión intravenosa o inyección.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles puede formularse 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 inyectable estéril, suspensión o emulsión en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable y no tóxico, por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes adecuados que se pueden emplear están agua, solución de Ringer, U.S.P. y solución isotónica de cloruro sódico. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos y estériles 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 soluciones inyectables. En una realización, el conjugado de la invención se suspende en un fluido de vehículo que comprende un 1 % (p/v) de carboximetil celulosa de sodio y un 0,1 % (v/v) de Tween™ 80. Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, por medio de filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o mediante incorporación de agentes de esterilización en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de uso.

Las formas de dosificación sólida para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos, y gránulos. En dichas formas de dosificación sólidas, el conjugado encapsulado o no encapsulado se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptables 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, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábica, (c) humectantes tales como glicerol, (d) agentes desintegrantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, patata y almidón de tapioca, ácido alginico, determinados silicatos y carbonato de sodio, (e) agentes de retardo de disolución tales como parafina, (f) aceleradores de absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, (g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, (h) absorbentes tales

como caolín y arcilla de bentonita y (i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilén glicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tampón.

5 Se aprecia que la dosificación exacta de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico se escoge por parte del médico a la vista del paciente objeto de tratamiento, en general, la dosificación y la administración se ajustan para proporcionar una cantidad efectiva de la nanopartícula de agente terapéutico al paciente objeto de tratamiento. Tal como se usa en la presente memoria, la "cantidad efectiva" de una nanopartícula que contiene un agente terapéutico que contiene nitrógeno protonable hace referencia a la cantidad necesaria para proporcionar la respuesta biológica deseada. Como se aprecia por parte del experto común en la presente técnica, la cantidad efectiva de nanopartícula que contiene el agente terapéutico puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, el fármaco objeto de administración, el tejido diana, la ruta de administración, etc. Por ejemplo, la cantidad efectiva de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico podría ser la cantidad que tiene como resultado una reducción del tamaño tumoral en una cantidad deseada durante un período de tiempo deseado. Factores adicionales que se pueden tener en cuenta incluyen la gravedad del estado de la enfermedad; la edad, el peso y sexo del paciente objeto de tratamiento; la dieta, el tiempo y frecuencia de administración; la combinación de fármacos; la sensibilidad de reacción; y la tolerancia/respuesta a la terapia.

Las nanopartículas se pueden formular en una forma unitaria de dosificación en cuanto a facilidad de administración e uniformidad de dosificación. La expresión "forma unitaria de dosificación", tal y como se usa en la presente memoria hace referencia a una unidad físicamente discreta de nanopartícula apropiada para el paciente objeto de tratamiento. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de las composiciones se decide por parte del médico que presta la atención, dentro del alcance del juicio médico experto. Para cualquier nanopartícula, la dosis terapéuticamente efectiva se puede estimar inicialmente ya ese por medio de ensayos de cultivo celular o por medio de modelos en animales, normalmente ratones, conejos, perros o cerdos. El modelo de animal también se usa para lograr un intervalo de concentración deseado y una ruta de administración. Dicha información se puede usar posteriormente para determinar dosis útiles y rutas de administración en humanos. La eficacia terapéutica y toxicidad de las nanopartículas se puede determinar por medio de procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, ED₅₀ (la dosis es terapéuticamente efectiva en un 50 % de la población) y LD₅₀ (la dosis es letal en un 50 % de la población). La relación de dosis de efectos tóxicos con respecto a terapéuticos es el índice terapéutico, y se puede expresar como la relación, LD₅₀/ED₅₀. Las composiciones farmacéuticas que exhiben índices terapéuticos grandes 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 una gama de dosificaciones para uso humano.

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

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

En algunas realizaciones, se contempla una composición apropiada para congelación, que incluye nanopartículas divulgadas en la presente memoria y una solución apropiada para congelación, por ejemplo, se añade un azúcar tal como un mono, di o poli sacárido, por ejemplo, sacarosa y/o una trehalosa, y/o una sal y/o una solución de 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 la presente memoria se proporciona una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas divulgadas, sacarosa, un haluro iónico y agua; en la que las nanopartículas/sacarosa/agua/haluro iónico es de aproximadamente un 3-40 %/10-40 %/20-95 %/0,1-10 % (p/p/p/p) o aproximadamente un 5-10 %/10-15 %/80-90 %/1-10 % (p/p/p/p). Por ejemplo, dicha solución puede incluir nanopartículas tal y como se divulga en la presente memoria, aproximadamente de un 5 % a aproximadamente un 20 % en peso de sacarosa y un haluro iónico tal como cloruro sódico, en una concentración de aproximadamente 10-100 mM. En otro ejemplo, en la presente memoria se proporciona una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas divulgadas, trehalosa, ciclodextrina y agua; en la que las nanopartículas/trehalosa/agua/haluro iónico es de aproximadamente un 3-40 %/1-25 %/20-95 %/1-25 % (p/p/p/p) o aproximadamente un 5-10 %/1-25 %/80-90 %/10-15 % (p/p/p/p).

En otro ejemplo, en la presente memoria se proporciona una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas divulgadas, sacarosa, un haluro iónico y agua; en la que las nanopartículas/sacarosa/agua/haluro iónico es de un 3-40 %/10-40 %/20-95 %/0,1-10 % (p/p/p/p) o un 5-10 %/10-15 %/80-90 %/1-10 % (p/p/p/p). Por ejemplo, dicha solución puede incluir nanopartículas tal y como se divulga en la presente memoria, de un 5 % a un 20 % en peso de sacarosa y un haluro iónico tal como cloruro sódico, en una concentración de 10-100 mM. En otro ejemplo, en la presente memoria se proporciona una formulación de

nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas divulgadas, trehalosa, ciclodextrina y agua; en la que las nanopartículas/trehalosa/agua/haluro iónico es de un 3-40 %/1-25 %/20-95 %/1-25 % (p/p/p/p) o un 5-10 %/1-25 %/80-90 %/10-15 % (p/p/p/p).

5 Por ejemplo, la solución contemplada puede incluir nanopartículas tal como se divulgan en la presente memoria, de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 25 % en peso de un disacárido tal como trehalosa o sacarosa (por ejemplo, de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 25 % de trehalosa o sacarosa, por ejemplo, de aproximadamente un 10 % de trehalosa o sacarosa, o de aproximadamente un 15 % de trehalosa o sacarosa, por ejemplo, aproximadamente un 5 % de sacarosa) y una ciclodextrina tal como β -ciclodextrina, en una concentración de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 25 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 20 %, por ejemplo, de un 10 % o aproximadamente un 20 % en peso, o de aproximadamente un 15 % a aproximadamente un 20 % en peso de ciclodextrina). Las formulaciones contempladas pueden incluir una pluralidad de nanopartículas divulgadas (por ejemplo, nanopartículas que tienen un PLA-PEG y un agente activo) y de aproximadamente un 2 % a aproximadamente un 15 % en peso (o de aproximadamente un 4 % a aproximadamente un 6 %, por ejemplo, aproximadamente un 5 % en peso) de sacarosa y de aproximadamente un 5 % en peso a aproximadamente un 20 % (por ejemplo, aproximadamente de un 7 % en peso a aproximadamente un 12 % en peso, por ejemplo, aproximadamente un 10 % en peso) de una ciclodextrina, por ejemplo, HPbCD).

En otro ejemplo, la solución contemplada puede incluir nanopartículas tal como se divulgan en la presente memoria, de un 1 % a un 25 % en peso de un disacárido tal como trehalosa o sacarosa (por ejemplo, de un 5 % a un 25 % de trehalosa o sacarosa, por ejemplo, un 10 % de trehalosa o sacarosa, o un 15 % de trehalosa o sacarosa, por ejemplo, un 5 % de sacarosa) y una ciclodextrina tal como β -ciclodextrina, en una concentración de un 1 % a un 25 % en peso (por ejemplo, de un 5 % a un 20 %, por ejemplo, un 10 % o un 20 % en peso, o de un 15 % a un 20 % en peso de ciclodextrina). Las formulaciones contempladas pueden incluir una pluralidad de nanopartículas divulgadas (por ejemplo, nanopartículas que tienen un PLA-PEG y un agente activo) y de un 2 % a un 15 % en peso (o de un 4 % a un 6 % en peso, por ejemplo, un 5 % en peso) de sacarosa y de un 5 % en peso a un 20 % (por ejemplo, de un 7 % en peso a un 12 % en peso, por ejemplo, un 10 % en peso) de una ciclodextrina, por ejemplo, HPbCD).

La presente divulgación hace referencia, en parte, a composiciones farmacéuticas liofilizadas que, cuando se reconstituyen, tienen una cantidad mínima de agregados de gran tamaño. Dichos agregados de gran tamaño pueden tener un tamaño de aproximadamente 0,5 μm o más, aproximadamente 1 μm o más, aproximadamente 10 μm o más, y puede resultar indeseables en una solución reconstituida. El tamaño del agregado se puede medir usando una diversidad de técnicas que incluyen las indicadas en U.S. Pharmacopeia ("USP") at <788>, incorporado en la presente memoria por referencia. Los ensayos comentados en USP <788> incluyen un ensayo de conteo de partículas por oscurecimiento, ensayo de conteo de partículas microscópicas, difracción de láser y detección óptica de partículas individuales. En una realización, el tamaño de partícula en una muestra concreta se mide usando difracción de láser y/o detección óptica de partículas individuales.

35 El documento UPS <788> por medio de ensayo de conteo de partículas por oscurecimiento de luz explica las recomendaciones para los tamaños de partícula de muestra en una suspensión. Para soluciones con igual o menos de 100 ml, la preparación cumple con el ensayo si el número promedio de partículas presentes no supera 6000 por recipiente que son $\geq 10 \mu\text{m}$ y 600 por recipiente que son $\geq 25 \mu\text{m}$.

40 Como se resalta en USP <788>, el ensayo de conteo de partículas microscópicas explica las recomendaciones para determinar las cantidades de partícula usando un microscopio binocular ajustado a un aumento de $100 \pm 10\times$ 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 negros que indica 10 μm y 25 μm cuando se observa bajo 100 aumentos. Se proporciona una escala lineal bajo la grátula. Se cuenta visualmente el número de partículas con referencia a 10 μm y 25 μm . Para soluciones con igual o menos de 100 ml, la preparación cumple con el ensayo si el número promedio de partículas presentes no supera 3000 por recipiente que son $\geq 10 \mu\text{m}$ y 300 por recipiente que son $\geq 25 \mu\text{m}$.

En algunas realizaciones, una muestra acuosa de 10 ml de una composición divulgada tras reconstitución comprende menos de 600 partículas por ml que tienen un tamaño igual o mayor que 10 micrómetros; y/o menos de 60 partículas por ml que tienen un tamaño igual o mayor que 25 micrómetros.

50 Se puede usar dispersión de luz dinámica (DLS) para medir el tamaño de partícula, pero se basa en el movimiento Browniano, de forma que la técnica no detecta partículas bastante grandes. La difracción de láser se basa en las diferencias en el índice de refracción entre la partícula y el medio de suspensión. La técnica es capaz de detectar partículas en el intervalo sub-micrónico a milimétrico. Se pueden determinar cantidades relativamente pequeñas (por ejemplo, aproximadamente 1-5 % en peso) de partículas grandes en suspensiones de nanopartículas. La detección óptica de partículas individuales (SPOS) usa oscurecimiento de luz de suspensiones diluidas para contar partículas individuales de aproximadamente 0,5 μm . Conociendo la concentración de partículas de la muestra medida, es posible calcular el porcentaje en peso de agregados o la concentración de agregados (partículas/ml).

La formación de agregados puede tener lugar 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

5 suspensión antes de la liofilización. Los disacáridos apropiados incluyen sacarosa, lactulosa, lactosa, maltosa, trehalosa o celobiosa y/o mezclas de los mismos. 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 las distribuciones de tamaño DLS equivalentes cuando se compara con la suspensión de partida. Sin embargo, la difracción de láser puede detectar partículas de $< 10 \mu\text{m}$ de tamaño en algunas soluciones reconstituidas. Además, SPOS también puede detectar partículas de tamaño $>10 \mu\text{m}$ a una concentración por encima de las recomendaciones FDA (10^4 - 10^5 partículas/ml para partículas $>10 \mu\text{m}$).

10 En algunas realizaciones, se pueden usar una o más sales de haluro iónico como lioprotector adicional para un azúcar, tal como la sacarosa, trehalosa o mezclas de los mismos. 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, la ciclodextrina se puede añadir además de la sal de haluro iónico.

15 Sales de haluro iónico apropiadas pueden incluir cloruro sódico, cloruro de calcio, cloruro de cinc o mezclas de los mismos. Sales de haluro iónico apropiadas adicionales incluyen cloruro potásico, cloruro de magnesio, cloruro de amonio, bromuro de sodio, bromuro de calcio, bromuro de cinc, bromuro de potasio, bromuro de magnesio, bromuro de amonio, yoduro de sodio, yoduro de calcio, yoduro de cinc, yoduro de potasio, yoduro de magnesio o yoduro de amonio y/o mezclas de los mismos. En una realización, se puede usar de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 15 por ciento en peso de sacarosa con una sal de haluro iónico. En una realización, se puede usar de un 1 a un 15 por ciento en peso de sacarosa con una sal de haluro iónico. En una realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender cloruro sódico de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mM. En una realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender cloruro sódico de 10 a 100 mM. En otra realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de aproximadamente 100 a aproximadamente 500 mM de una sal de cloruro iónico divalente, tal como cloruro de calcio o cloruro de cinc. En otra realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de 100 a 500 mM de una sal de cloruro iónico divalente, tal como cloruro de calcio o cloruro de cinc. En otra realización más, la suspensión objeto de liofilización puede además comprender una ciclodextrina, por ejemplo, se puede usar de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de ciclodextrina. En otra realización más, la suspensión objeto de liofilización puede además comprender una ciclodextrina, por ejemplo, se puede usar de un 1 a un 25 por ciento en peso de ciclodextrina.

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

50 En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende las nanopartículas divulgadas, en la que tras reconstitución de la composición farmacéutica liofilizada a una concentración de nanopartículas de aproximadamente 50 mg/ml, en menos que o aproximadamente 100 ml de un medio acuoso, la composición reconstituida apropiada para administración parenteral comprende menos de 6000, tal como menos de 3000, micropartículas de igual o más de 10 micrómetros; y/o menos de 600, tal como menos de 300, micropartículas de igual o más de 25 micrómetros.

Se puede determinar el número de micropartículas por medios conocidos por el experto en la técnica, tal como se describe en USP<788>; por medio de ensayo de conteo de partículas con oscurecimiento de luz, tal como se describe en USP<788>; por medio de ensayo de conteo de partículas microscópicas, difracción de láser y detección óptica de partículas individuales.

60 En un aspecto, se proporcionar una composición farmacéutica apropiada para uso parenteral tras reconstitución que comprende una pluralidad de partículas terapéuticas que comprenden cada una de ellas un copolímero que tiene un

segmento polimérico hidrófobo y un segmento polimérico hidrófilo; un agente activo; un azúcar; y una ciclodextrina.

Por ejemplo, el copolímero puede ser un copolímero de poli(ácido láctico)-bloques-poli(etilen)glicol. Tras reconstitución, una muestra acuosa de 100 ml puede comprender menos de 6000 partículas que tienen un tamaño igual o mayor que 10 micrómetros; y menos de 600 partículas por ml que tienen un tamaño igual o mayor que 25 micrómetros.

La etapa de adición de un disacárido y una sal de haluro iónico puede comprender la adición de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 15 por ciento de sacarosa o de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, de aproximadamente 10 a aproximadamente 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 puede estar seleccionada entre cloruro sódico, cloruro de calcio y cloruro de cinc o mezclas de los mismos. En una realización, también se añade de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de ciclodextrina.

En otra realización, la etapa de adición de un disacárido y una sal de haluro iónico puede comprender la adición de un 5 a un 15 por ciento de sacarosa o de un 5 a un 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, de 10 a 20 por ciento en peso de trehalosa) y de 10 a 500 mM de sal de haluro iónico. En una realización, también se añade de un 1 a un 25 por ciento en peso de ciclodextrina.

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

En otra realización, la etapa de adición de un disacárido y una ciclodextrina puede comprender la adición de un 5 a un 15 por ciento de sacarosa o de un 5 a un 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, de 10 a 20 por ciento en peso de trehalosa) y de 1 a 25 por ciento en peso de ciclodextrina. En una realización, también se añade de un 10 a un 15 por ciento en peso de ciclodextrina.

En otro aspecto, se proporciona un método para evitar 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. En otro aspecto más, se proporciona un método para evitar 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.

La composición liofilizada contemplada puede tener una concentración de partículas terapéuticas de más de aproximadamente 40 mg/ml. La formulación apropiada para administración parenteral puede tener menos de aproximadamente 600 partículas que tienen un tamaño mayor que 10 micrómetros en una dosis de 10 ml. La liofilización puede comprender la congelación de la composición a una temperatura mayor que aproximadamente -40 °C o, por ejemplo, menor que aproximadamente -30 °C, formando una composición congelada; y secar la composición congelada para formar la composición liofilizada. La etapa de secado puede tener lugar a aproximadamente 50 mTorr a una temperatura de aproximadamente -25 a aproximadamente -34 °C, o de aproximadamente -30 a aproximadamente -34 °C.

La composición liofilizada contemplada puede tener una concentración de partículas terapéuticas de más de 40 mg/ml. La formulación apropiada para administración parenteral puede tener menos de 600 partículas que tienen un tamaño mayor que 10 micrómetros en una dosis de 10 ml. La liofilización puede comprender la congelación de la composición a una temperatura mayor que -40 °C o, por ejemplo, menor que -30 °C, formando una composición congelada; y secar la composición congelada para formar la composición liofilizada. La etapa de secado puede tener lugar a 50 mTorr a una temperatura de -25 a -34 °C, o de -30 a -34 °C.

Procedimientos de tratamiento

En algunas realizaciones, se pueden usar las nanopartículas dirigidas para los fines de tratamiento. Tal y como se usa en la presente memoria "tratar", "tratamiento" significan aliviar, mejorar, mitigar, retardar la aparición, inhibir la progresión, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, se pueden usar las nanopartículas dirigidas para tratar tumores sólidos, por ejemplo, cáncer y/o células cancerígenas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas dirigidas o las composiciones farmacéuticas que comprenden las nanopartículas se pueden usar para tratar cualquier cáncer en el que el antígeno de membrana específica de próstata (PSMA) se expresa sobre la superficie de las células cancerígenas o en la neovasculatura tumoral en un sujeto que lo necesita, incluyendo la neovasculatura de tumores sólidos prostáticos o no prostáticos. Los ejemplos de indicación relacionada con PSMA incluyen, aunque no de forma limitativa, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón de células no

pequeñas, carcinoma color-rectal y glioblastoma.

En algunas realizaciones, las nanopartículas dirigidas o las composiciones farmacéuticas que comprenden las nanopartículas se pueden usar para la preparación de un medicamento para aliviar, mejorar, mitigar, retardar la aparición, inhibir la progresión, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, las nanopartículas dirigidas o las composiciones farmacéuticas que comprenden las nanopartículas se pueden usar para la preparación de un medicamento para tratar cualquier cáncer en la que el antígeno de membrana específica de próstata (PSMA) se expresa sobre la superficie de las células cancerígenas o en la neovascularización tumoral en un sujeto que lo necesita, incluyendo la neovascularización de tumores sólidos prostáticos o no prostáticos.

El término "cáncer" incluye cáncer maligno y pre-maligno. El cáncer incluye, aunque no de forma limitativa, cáncer de la sangre (por ejemplo, leucemia mielógena crónica, leucemia mielomonocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda positiva de cromosoma de Filadelfia, linfoma de células de corteza cerebral), 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 pequeñas), cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de los bronquios, cáncer de páncreas, cáncer de la vejiga urinaria, cáncer de cerebro o cáncer de sistema nervioso central, cáncer del sistema nervioso periférico, cáncer de esófago, cáncer de la cavidad oral o faringe, cáncer hepático (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales), cáncer testicular, cáncer del conducto biliar, cáncer de apéndice o de intestino delgado, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de glándula salival, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula suprarrenal, osteosarcoma, condrosarcoma, cáncer de tejidos hematológicos, cáncer de cabeza o cuello y similares. Las "células cancerígenas" pueden estar en forma de tumor (es decir, un tumor sólido), existen solas en un sujeto (por ejemplo, células de leucemia) o pueden ser estirpes celulares procedente de un cáncer.

El cáncer se puede asociar con una diversidad de síntomas físicos. Generalmente, los síntomas del cáncer dependen del tipo y ubicación del tumor. Por ejemplo, el cáncer de pulmón provoca tos, insuficiencia respiratoria y dolor en el pecho, mientras que el cáncer de colon provoca diarrea, estreñimiento y sangre en las deposiciones. Sin embargo, para proporcionar algunos ejemplos, con frecuencia, generalmente los siguientes síntomas se asocian a muchos tipos de cáncer: fiebre, resfriado, sudoración nocturna, tos, disnea, pérdida de peso, pérdida de apetito, anorexia, náuseas, vómitos, diarrea, anemia, ictericia, hepatomegalia, hemoptisis, fatiga, malestar, alteraciones cognitivas, depresión, molestias hormonales, neutrofilia, dolor, llagas no cicatrizantes, inflamación de ganglios linfáticos, neuropatía periférica y alteraciones sexuales.

En un aspecto, se proporciona un procedimiento para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, leucemia). En algunas realizaciones, el tratamiento de cáncer comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de partículas dirigidas de la invención a un sujeto que lo necesita, en cantidades y durante un tiempo según sea necesario para lograr el resultado deseado. En determinadas realizaciones, una "cantidad terapéuticamente efectiva" de una partícula dirigida de la invención es que la cantidad efectiva para el tratar, aliviar, mejorar, mitigar, retardar la aparición, inhibir la progresión, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de un cáncer.

En un aspecto, se proporciona un procedimiento de administración de las composiciones de la invención a un sujeto que padece cáncer (por ejemplo, leucemia). En algunas realizaciones, se pueden administrar las partículas a un sujeto en cantidades y durante un tiempo según sea necesario para lograr el resultado deseado (es decir, el tratamiento del cáncer). En determinadas realizaciones, una "cantidad terapéuticamente efectiva" de una partícula dirigida de la invención es que la cantidad efectiva para el tratar, aliviar, mejora, mitigar, retardar la aparición, inhibir la progresión, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de un cáncer.

Los protocolos terapéuticos de la invención implicar administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una partícula dirigida de la invención a un individuo sano (es decir, un sujeto que no muestra ningún síntoma de cáncer y/o al que no se ha diagnosticado cáncer). Por ejemplo, es posible "inmunizar" a individuos sanos con una partícula dirigida de la invención antes del desarrollo de cáncer y/o la aparición de los síntomas de cáncer; en individuos de riesgo (por ejemplo, pacientes que tienen una historial familiar de cáncer; pacientes que portan 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 tratar de forma sustancial y contemporánea con (por ejemplo, en 48 horas, en 24 horas o en 12 horas) la aparición de los síntomas del cáncer. Por supuesto, los individuos que se sabe que tienen cáncer pueden recibir el tratamiento de la invención en cualquier momento.

En otras realizaciones, se pueden usar las nanopartículas divulgadas para inhibir la proliferación de células cancerígenas, por ejemplo, células cancerígenas de leucemia mielógena. Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "inhibe la proliferación de células cancerígenas" o "inhibir la proliferación de células cancerígenas" hace referencia a cualquiera ralentización de la tasa de proliferación y/o migración de células cancerígenas, detención de la proliferación y/o migración de células cancerígenas o muerte de las células cancerígenas, de manera que la tasa de proliferación de células cancerígenas se reduce, en comparación con la tasa de proliferación predicha u observada de una célula cancerígena de control no tratada. La expresión "inhibe la proliferación" también puede

- 5 hacer referencia a la reducción de tamaño o desaparición de un tumor o célula cancerígena, así como también a la reducción de su potencial metastásico. Preferentemente, dicha inhibición en nivel celular puede reducir el tamaño, disuadir la proliferación, reducir la agresividad o evitar o inhibir las metástasis de un cáncer en un paciente. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente, por medio de una diversidad de indicios apropiados, si se inhibe la proliferación de células cancerígenas.
- 10 La inhibición de la proliferación de células cancerígenas queda evidenciada, por ejemplo, por la detención de las células cancerígenas en una fase particular del ciclo celular, por ejemplo, la detención en la fase G2/M del ciclo celular. La inhibición de la proliferación de células cancerígenas también queda evidenciada por la medición directa o indirecta de las células cancerígenas o tamaño tumoral. En pacientes humanos con cáncer, generalmente dichas mediciones se realizan usando procedimientos conocidos de formación de imágenes tales como formación de imágenes por resonancia magnética, tomografía axial computerizada y rayos-X. La proliferación de células cancerígenas también se puede determinar indirectamente, tal como por medio de la determinación de los niveles de antígeno carcinoembrionario en circulación, antígeno específico de próstata u otros antígenos específicos de cáncer que están correlacionados con la proliferación de células cancerígenas. La inhibición de la proliferación del cáncer también está correlacionada generalmente con supervivencia prolongada y/o mayor salud y bienestar del sujeto.
- 15 También se proporcionan en la presente memoria procedimientos de administración a un paciente de una nanopartícula divulgada en la presente memoria que incluye un agente activo, en el que, tras la administración a un paciente, dichas nanopartículas reducen sustancialmente el volumen de distribución y/o reducen sustancialmente C_{max} libre, en comparación con la administración del agente solo (es decir, no como nanopartícula divulgada).
- 20 En algunas realizaciones, la nanopartícula terapéutica se administra con un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en inhibidor de topoisomerasa I, un inhibidor de MEK 1/2, un inhibidor de HSP90, procarbazona, dacarbazina, gemcitabina, capecitabina, metotrexato, taxol, taxotere, mercaptopurina, tioguanina, hidroxiaurea, citarabina, ciclofosfamida, ifosfamida, nitrosoureas, cisplatino, carboplatino, mitomicina, dacarbazina, procarbazona, etopósido, tenipósido, campatecinas, bleomicina, doxorubicina, idarrubicina, daunorubicina, dactinomicina, plicamicina, mitoxantrona, L-asparaginasa, doxorubicina, epirubicina, 5-fluorouracilo, docetaxel, paclitaxel, leucovorina, levamisol, irinotecano, estramustina, etopósido, mostazas de nitrógeno, BCNU, carmustina, lomustina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, oxaliplatino, mesilato de imatinib, bevacizumab, hexametilmelamina, topotecano, inhibidores de tirosina quinasa, tirfostinas, herbimicina A, genisteina, erbatatina, hidroxizina, acetato de glatiramero, interferón beta-1a, interferón beta-1b, natalizumab y lavendustina A; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 25 En otro aspecto, se proporciona una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria para su uso como medicamento en un sujeto.
- 30 En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula tal y como se describe en la presente memoria para su uso en la producción de un efecto anti-proliferación en un sujeto.
- 35 En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria para su uso en un sujeto como agente anti-invasión en la contención y/o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido.
- En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria en la prevención o tratamiento de cáncer en un sujeto.
- 40 En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria para su uso en la prevención o tratamiento de cáncer en un sujeto.
- En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria en la preparación de un medicamento para la prevención o tratamiento de cáncer en un sujeto.
- 45 En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria para la producción de un efecto anti-proliferativo en un sujeto.
- En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria en la preparación de un medicamento para su uso en un sujeto como agente anti-invasor en la contención y/o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido.
- 50 En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento para producir un efecto anti-proliferativo en un sujeto que necesita dicho tratamiento que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria.
- En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento para producir un efecto anti-invasor por medio de la

contención y/o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un sujeto que necesita dicho tratamiento que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria.

5 En otro aspecto más, se proporciona una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria para su uso en la prevención o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un sujeto.

En otro aspecto más, se proporciona el uso de una nanopartícula terapéutica como se describe en la presente memoria en la preparación de un medicamento para su uso en la prevención o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un sujeto.

10 En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento para la prevención o tratamiento de una enfermedad de tumor sólido en un sujeto que necesita dicho tratamiento que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de una nanopartícula terapéutica tal y como se describe en la presente memoria.

Patente de los Estados Unidos n.º 8.206.747, expedida el martes 26 de junio de 2012, titulado "Drug Loaded Polymeric Nanoparticles and Methods of Making and Using Same" se incorpora por referencia en su totalidad en la presente memoria.

15 REALIZACIONES

Algunas realizaciones de la presente invención son las siguientes:

1. Una nanopartícula terapéutica que comprende:

de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de un ácido sustancialmente hidrófobo;
 20 de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de un agente terapéutico; en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es de al menos aproximadamente 1,0 unidad de pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo; y
 de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un polímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) y combinación, en la que la nanopartícula terapéutica
 25 comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

30 2. La nanopartícula terapéutica de la realización 1 en la que la cantidad del agente terapéutico es de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso.

3. La nanopartícula terapéutica de acuerdo con la realización 1 o 2 que comprende:

1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea; y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:7 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea:PLA-PEG.

35 4. La nanopartícula terapéutica de acuerdo con la realización 1 o 2 que comprende:

1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea; y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:14 de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea:PLA-PEG.

5. La nanopartícula terapéutica de acuerdo con la realización 1 o 2 que comprende:

40 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea; y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de aproximadamente 1:5 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea:PLA-PEG.

6. Una nanopartícula terapéutica que comprende:

de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de un agente terapéutico;
 45 un ácido sustancialmente hidrófobo, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico varía de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1 y en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es de al menos aproximadamente 1,0 unidades de pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo; y
 de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso de un polímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) y combinación, en la que la nanopartícula terapéutica
 50 comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilenglicol), en la que

el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

7. La nanopartícula terapéutica de la realización 6, en la que la cantidad del agente terapéutico es de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso.

5 8. Una nanopartícula terapéutica que comprende:

un ácido sustancialmente hidrófobo;

un agente terapéutico,; en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es de al menos aproximadamente 1,0 unidad de pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo; y

10 un polímero seleccionado entre copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) y combinaciones de los mismos, en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

9. Una nanopartícula terapéutica que comprende:

un agente terapéutico,;

15 un ácido sustancialmente hidrófobo, en la que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico varía de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1 y en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es de al menos aproximadamente 1,0 unidades de pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo; y

20 un polímero seleccionado entre copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) y combinaciones de los mismos, y, en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

10. La nanopartícula terapéutica de la realización 6 o 9, en la que la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico es de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 1,5:1.

25 11. La nanopartícula terapéutica de la realización 6 o 9, en la que la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico es de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 1:1.

12. La nanopartícula terapéutica de la realización 6 o 9, en la que la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico es de aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1,25:1.

30 13. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es de al menos aproximadamente 2,0 unidades pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo.

14. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que el pK_a del agente terapéutico protonado es de al menos aproximadamente 4,0 unidades pK_a mayor que el pK_a del ácido hidrófobo.

15. Una nanopartícula terapéutica que comprende:

35 un par iónico hidrófobo que comprende un ácido hidrófobo y un agente terapéutico; en la que la diferencia entre el pK_a del agente terapéutico protonado y el ácido hidrófobo es de al menos aproximadamente 1,0 unidades de pK_a o mayor; y aproximadamente de un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso del copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol), en la que el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) tiene un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilenglicol), en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

16. La nanopartícula terapéutica de la realización 15, en la que la diferencia entre el pK_a del agente terapéutico protonado y el ácido hidrófobo es de al menos aproximadamente 2,0 unidades de pK_a .

45 17. La nanopartícula terapéutica de la realización 15, en la que la diferencia entre el pK_a del agente terapéutico protonado y el ácido hidrófobo es de al menos aproximadamente 4,0 unidades de pK_a .

18. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, 8 o 13-17, que comprende de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del ácido hidrófobo.

50 19. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-18, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un logP que varía de aproximadamente 2 a aproximadamente 7.

20. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-18, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un logP que varía de aproximadamente 4 a aproximadamente 8.

21. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un pK_a en agua de aproximadamente -1,0 a aproximadamente 5,0.
22. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un pK_a en agua de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 5,0.
- 5 23. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo y el agente terapéutico forman un par iónico hidrófobo en la nanopartícula terapéutica.
24. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en la que el ácido hidrófobo es un ácido graso.
- 10 25. La nanopartícula terapéutica de la realización 24, en la que el ácido graso es un ácido graso saturado seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido nonadecílico, ácido araquídico, ácido heneicosílico, ácido behénico, ácido tricosílico, ácido lignocérico, ácido pentacosílico, ácido cerótico, ácido heptacosílico, ácido montánico, ácido nonacosílico, ácido melísico, ácido hentriacontílico, ácido lacéico, ácido psílico, ácido gédico, ácido ceroplástico, ácido hexatriacontílico y combinaciones de los mismos.
- 15 26. La nanopartícula terapéutica de la realización 24, en la que el ácido graso es un ácido graso omega-3 seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido hexadecatrienoico, ácido alfa-linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosatrienoico, ácido eicosatetranoico, ácido eicosapentanoico, ácido heneicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido tetracosapentaenoico, ácido tetracosahexaenoico, y combinaciones de los mismos.
- 20 27. La nanopartícula terapéutica de la realización 24, en la que el ácido graso es un ácido graso omega-6 seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido linoleico, ácido gamma-lineolénico, ácido eicosadienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido araquidónico, ácido docosadienoico, ácido adrénico, ácido docosapentaenoico, ácido tetracosatetraenoico, ácido tetracosapentanoico y combinaciones de los mismos.
- 25 28. La nanopartícula terapéutica de la realización 24, en la que el ácido graso es un ácido graso omega-9 seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido oleico, ácido icosenoico, ácido meádico, ácido erúxico, ácido nervónico y combinaciones de los mismos.
29. La nanopartícula terapéutica de la realización 28, en la que el ácido graso es ácido oleico.
- 30 30. El agente terapéutico de la realización 29, en la que la relación en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea con respecto a ácido oleico es de aproximadamente 6:1.
- 35 31. La nanopartícula terapéutica de la realización 24, en la que el ácido graso es un ácido graso poliinsaturado seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido ruménico, ácido α -caléndico, ácido β -caléndico, ácido jacárico, ácido α -eleosteárico, ácido β -eleosteárico, ácido catálpico, ácido punícico, ácido rumelénico, ácido α -parinárico, ácido β -parinárico, ácido boseopentaenoico, ácido pinolénico, ácido podocárpico y combinaciones de los mismos.
32. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en la que el ácido hidrófobo es un ácido biliar.
- 40 33. La nanopartícula terapéutica de la realización 32, en la que el ácido biliar está seleccionado entre el grupo que consiste en ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido hicólico, ácido beta-muricónico, ácido cólico, ácido litocólico, un ácido biliar conjugado con amino ácido y combinaciones de los mismos.
34. La nanopartícula terapéutica de la realización 33, en la que el ácido biliar es ácido cólico.
- 45 35. La nanopartícula terapéutica de la realización 33, en la que el ácido biliar conjugado con amino ácido es un ácido biliar conjugado con glicina o un ácido biliar conjugado con taurina.
36. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en la que el ácido biliar está seleccionado entre el grupo que consiste en ácido dioctil sulfosuccínico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido dodecilsulfúrico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido pamoico, ácido undecanoico y combinaciones de los mismos.
- 50 37. La nanopartícula terapéutica de la realización 36, en la que el ácido hidrófobo es ácido pamoico.
38. El agente terapéutico de la realización 37, en la que la relación en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea con respecto a ácido pamoico es de

aproximadamente 1,8:1.

39. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-38, que comprende de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico.
- 5 40. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-38, que comprende de aproximadamente un 2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico.
41. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-38, que comprende de aproximadamente un 4 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico.
42. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-38, que comprende de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico.
- 10 43. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-38, en la que el ácido hidrófobo tiene un peso molecular de entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 800 Da.
44. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la nanopartícula terapéutica conserva sustancialmente el agente terapéutico durante al menos 1 minuto cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.
- 15 45. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la nanopartícula terapéutica libera de forma sustancialmente inmediata menos de aproximadamente un 30 % del agente terapéutico cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.
- 20 46. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 45 % del agente terapéutico durante aproximadamente 1 hora cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.
47. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 % del agente terapéutico durante aproximadamente 4 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.
- 25 48. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 % del agente terapéutico durante aproximadamente 10 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.
49. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 25 % del agente terapéutico durante aproximadamente 20 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.
- 30 50. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 40 % del agente terapéutico durante aproximadamente 40 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.
- 35 51. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la nanopartícula tiene un perfil de liberación que es sustancialmente el mismo que el perfil de liberación para una nanopartícula de control que es sustancialmente la misma que la nanopartícula terapéutica exceptuando que no contiene un ácido graso o un ácido biliar.
52. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-51, en la que el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,95.
- 40 53. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-51, en la que el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,8.
- 45 54. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-51, en la que el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 0,85.
55. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-51, en la que el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) tiene una fracción en peso molecular promedio expresado en número de poli(ácido láctico) de aproximadamente 0,7 a aproximadamente un 0,9.
- 50 56. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-55, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso de poli(etilenglicol).

57. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-55, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
58. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-55, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 15 a aproximadamente un 25 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
- 5 59. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-55, en la que la nanopartícula terapéutica comprende de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
60. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-59, en la que el copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular promedio expresado en número de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio expresado en número de
10 aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilen)glicol.
61. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-60, que además comprende de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol funcionalizado con un ligando de dirección.
62. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-60, que además comprende de
15 aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido coglicólico)-poli(etilen)glicol funcionalizado con un ligando de dirección.
63. La nanopartícula terapéutica de la realización 61 o 62, en la que el ligando de dirección está unido covalentemente al poli(etilen)glicol.
64. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-63, en la que el ácido hidrófobo es un
20 polielectrolito.
65. La nanopartícula terapéutica de la realización 64, en la que el polielectrolito está seleccionado entre el grupo que consiste en un poli(ácido estiren sulfónico), poli(ácido acrílico) y poli(ácido metacrílico).
66. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-65, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo es una mezcla de dos o más ácidos sustancialmente hidrófobos.
67. La nanopartícula terapéutica de la realización 66, que comprende una mezcla de dos ácidos sustancialmente
25 hidrófobos.
68. La nanopartícula terapéutica de la realización 67, en la que los dos ácidos sustancialmente hidrófobos son ácido oleico y ácido cólico.
69. La nanopartícula terapéutica de la realización 66, que comprende una mezcla de tres ácidos sustancialmente
30 hidrófobos.
70. La nanopartícula terapéutica de la realización 66, que comprende una mezcla de cuatro ácidos sustancialmente hidrófobos.
71. La nanopartícula terapéutica de la realización 66, que comprende una mezcla de cinco ácidos sustancialmente hidrófobos.
72. Un agente terapéutico preparado por medio de un proceso que comprende las etapas de:
35 emulsionado de una primera fase orgánica que comprende un primer polímero, el agente terapéutico y un ácido sustancialmente hidrófobo, formándose de este modo una fase de emulsión;
inactivación de la fase de emulsión formando de este modo una fase inactivada; y
filtración de la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas, en la que el agente terapéutico
40 es 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
73. La nanopartícula terapéutica de la realización 72, en la que el ácido hidrófobo es un ácido graso.
74. La nanopartícula terapéutica de la realización 73, en la que el ácido graso es un ácido graso saturado
45 seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido nonadecílico, ácido araquídico, ácido heneicosílico, ácido behénico, ácido tricostílico, ácido lignocérico, ácido pentacosílico, ácido cerótico, ácido heptacosílico, ácido montánico, ácido nonacosílico, ácido melísico, ácido hentriacontílico, ácido laceroico, ácido psílico, ácido gédico, ácido ceroplástico, ácido hexatriacontílico y combinaciones de los mismos.
75. La nanopartícula terapéutica de la realización 73, en la que el ácido graso es un ácido graso omega-3
50

seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido hexadecatrienoico, ácido alfa-linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosatrienoico, ácido eicosatetraenoico, ácido eicosapentanoico, ácido heneicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido tetracosapentaenoico, ácido tetracosahexaenoico y combinaciones de los mismos.

5 76. La nanopartícula terapéutica de la realización 73, en la que el ácido graso es un ácido graso omega-6 seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido linoleico, ácido gamma-lineolénico, ácido eicosadienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido araquidónico, ácido docosadienoico, ácido adrénico, ácido docosapentaenoico, ácido tetracosatetraenoico, ácido tetracosapentanoico y combinaciones de los mismos.

10 77. La nanopartícula terapéutica de la realización 73, en la que el ácido graso es un ácido graso omega-9 seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido oleico, ácido icosenoico, ácido meádico, ácido erúxico, ácido nervónico y combinaciones de los mismos.

78. La nanopartícula terapéutica de la realización 77, en la que el ácido graso es ácido oleico.

15 79. La nanopartícula terapéutica de la realización 73, en la que el ácido graso es un ácido graso poliinsaturado seleccionado entre el grupo que consiste en: ácido ruménico, ácido α -caléndico, ácido β -caléndico, ácido jacárico, ácido α -eleosteárico, ácido β -eleosteárico, ácido catálpico, ácido punícico, ácido rumelénico, ácido α -parinárico, ácido β -parinárico, ácido boseopentaenoico, ácido pinolénico, ácido podocárpico y combinaciones de los mismos.

80. La nanopartícula de una cualquiera de las realizaciones 72, en la que el ácido hidrófobo es un ácido biliar.

20 81. La nanopartícula terapéutica de la realización 80, en la que el ácido biliar está seleccionado entre el grupo que consiste en ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido hicólico, ácido beta-muricónico, ácido cólico, ácido litocólico, un ácido biliar conjugado con amino ácido y combinaciones de los mismos.

82. La nanopartícula terapéutica de la realización 81, en la que el ácido biliar es ácido cólico.

25 83. La nanopartícula terapéutica de la realización 81, en la que el ácido biliar conjugado con amino ácido es un ácido biliar conjugado con glicina o un ácido biliar conjugado con taurina.

84. La nanopartícula de una cualquiera de las realizaciones 72, en la que el ácido biliar está seleccionado entre el grupo que consiste en ácido dioctil sulfosuccínico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido dodecilsulfúrico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido pamoico, ácido undecanoico y combinaciones de los mismos.

30 85. La nanopartícula terapéutica de la realización 84, en la que el ácido hidrófobo es ácido pamoico.

86. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-85, en la que el ácido hidrófobo tiene un peso molecular de entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 800 Da.

35 87. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-86, en la que la nanopartícula terapéutica conserva sustancialmente el agente terapéutico durante al menos 1 minuto cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.

88. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-86, en la que la nanopartícula terapéutica libera de forma sustancialmente inmediata menos de aproximadamente un 30 % del agente terapéutico cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.

40 89. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-86, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 45 % del agente terapéutico durante aproximadamente 1 hora cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.

90. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-86, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 % del agente terapéutico durante aproximadamente 4 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.

45 91. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-86, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 15 % del agente terapéutico durante aproximadamente 10 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.

50 92. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-86, en la que la nanopartícula terapéutica libera de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 25 % del agente terapéutico durante aproximadamente 20 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.

93. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-86, en la que la nanopartícula terapéutica

libera de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 40 % del agente terapéutico durante aproximadamente 40 horas cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a 37 °C.

5 94. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-86, en la que la nanopartícula tiene un perfil de liberación que es sustancialmente el mismo que el perfil de liberación para una nanopartícula de control que es sustancialmente la misma que la nanopartícula terapéutica exceptuando que no contiene un ácido graso o un ácido biliar.

95. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-94, en la que el primer polímero es un copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol).

10 96. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-94, en la que el primer polímero es un copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol).

97. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 72-96, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo es una mezcla de dos o más ácidos sustancialmente hidrófobos.

98. La nanopartícula terapéutica de la realización 97, que comprende una mezcla de dos ácidos sustancialmente hidrófobos.

15 99. La nanopartícula terapéutica de la realización 97, que comprende una mezcla de tres ácidos sustancialmente hidrófobos.

100. La nanopartícula terapéutica de la realización 97, que comprende una mezcla de cuatro ácidos sustancialmente hidrófobos.

20 101. La nanopartícula terapéutica de la realización 97, que comprende una mezcla de cinco ácidos sustancialmente hidrófobos.

102. La nanopartícula terapéutica de cualquiera de las realizaciones 1, 5-95 o 97-101, en la que el polímero es PLA-PEG y la relación molar de PLA-PEG es de 5:1.

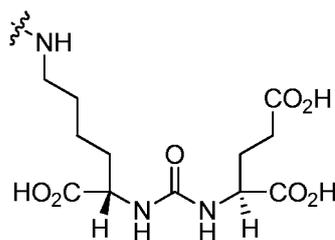
103. Un agente terapéutico preparado por medio de un procedimiento que comprende las etapas de:

25 combinar una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en el que la fase de emulsión comprende un primer polímero, el agente terapéutico y un ácido sustancialmente hidrófobo; inactivar la fase de emulsión formando de este modo una fase inactivada; y
30 filtrar la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas, en el que el agente terapéutico es 1-(4-([4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil)fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, la primera fase orgánica comprende el agente terapéutico y ácido pamoico en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a ácido pamoico de aproximadamente 11:1 y PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) en una relación en peso de agente terapéutico con respecto a PLA-PEG de aproximadamente 1:3 en un disolvente orgánico que comprende alcohol bencílico y acetato de etilo en una relación en peso de alcohol bencílico con respecto a acetato de etilo de aproximadamente 1,25 y la primera solución acuosa comprende un éter de polioxietileno estearílico (100) disuelto en alcohol bencílico en una relación en peso de 0,005:1 y
35 combinar la primera fase orgánica y la primera fase acuosa en una relación en peso de aproximadamente 1:5 para formar una segunda fase y emulsionar la segunda fase formada a partir de la misma e inactivar la fase de emulsión con ácido cítrico 0,1 M en solución acuosa a pH 4,5 y concentrar el producto resultante.

40 104. Una nanopartícula terapéutica de 1-(4-([4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil)fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

105. Una nanopartícula terapéutica comprende un agente terapéutico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un polímero seleccionado entre un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilenglicol) y una combinación de los mismos, en la que el agente terapéutico es 1-(4-([4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil)fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
45

106. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-71, 104 o 105, en la que está presente adicionalmente un ligando de dirección y es PLA-PEG-GL, en la que GL tiene la siguiente estructura:



107. La nanopartícula de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1-71 o 104-106, que además comprende un agente de solubilidad.
- 5 108. La nanopartícula terapéutica de acuerdo con la realización 107, en la que el agente de solubilidad es polisorbato 80.
109. La nanopartícula terapéutica de la realización 107, en la que el agente de solubilidad es éter polioxietileno estearílico (100).
110. La nanopartícula de una cualquiera de las reivindicaciones 1-109, en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea.
- 10 111. Una composición farmacéutica que comprende una nanopartícula de cualquiera de las realizaciones 1-110 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
112. La composición farmacéutica de la realización 111 que comprende una pluralidad de nanopartículas terapéuticas.
113. La composición farmacéutica de la realización 111 o 112, que además comprende un sacárido.
- 15 114. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 111-113, que además comprende una ciclodextrina.
115. La composición farmacéutica de las realizaciones 113 o 114, en la que el sacárido es un disacárido seleccionado entre el grupo que consiste en sacarosa, trehalosa y una mezcla de las mismas.
- 20 116. Un procedimiento de tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las realizaciones 1-110 o una composición farmacéutica de una cualquiera de las realizaciones 111-115.
117. El método de la realización 116, en el que el cáncer es leucemia mielógena crónica.
118. El método de la realización 116, en el que el cáncer es un tumor estromal gastrointestinal.
- 25 119. El método de la realización 116, en el que el cáncer está seleccionado entre el grupo que consiste en leucemia mielomonocítica crónica, síndrome hipersinófilo, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, leucemia linfoblástica aguda positiva de cromosoma de Filadelfia, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de páncreas, cáncer de mama, un tumor sólido, cáncer de cabeza y cuello y linfoma de células de corteza cerebral.
120. El método de la realización 119, en el que el cáncer es cáncer de mama.
- 30 121. Un procedimiento de preparación de una nanopartícula terapéutica, que comprende las etapas de:
- combinar una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase; emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en la que la fase de emulsión comprende un primer polímero, el agente terapéutico y un ácido sustancialmente hidrófobo; inactivar la fase de emulsión formando de este modo una fase inactivada; y
- 35 filtrar la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas, en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
122. El proceso de la realización 121, que además comprende combinar el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo en la segunda fase antes de emulsionar la segunda fase.
- 40 123. El proceso de la realización 122, en el que el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo forman un par iónico hidrófobo antes de emulsionar la segunda fase.
124. El proceso de la realización 122, en el que el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo forman un par iónico hidrófobo durante el emulsionado de la segunda fase.

125. El proceso de la realización 121, que además comprende combinar el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo en la segunda fase de forma sustancialmente concurrente con el emulsionado de la segunda fase.

5 126. El proceso de la realización 125, en el que la primera fase orgánica comprende el agente terapéutico y la primera solución acuosa comprende el ácido sustancialmente hidrófobo.

127. El procedimiento de una cualquiera de las realizaciones 121-126, en el que el agente terapéutico, cuando se protona, tiene un primer pK_a , el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un segundo pK_a , y la fase de emulsión se inactiva con una solución acuosa que tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a .

10 128. El proceso de la realización 127, en el que la fase inactivada tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a .

129. El procedimiento de una cualquiera de las realizaciones 121-128, en el que el agente terapéutico, cuando se protona, tiene un primer pK_a , el ácido sustancialmente hidrófobo tiene un segundo pK_a , y la primera fase acuosa tiene un pH igual a una unidad pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a .

15 130. El procedimiento de una cualquiera de las realizaciones 127-129, en el que el pH es igual a una unidad pK_a que es aproximadamente equidistante entre el primer pK_a y el segundo pK_a .

131. El procedimiento de una cualquiera de las realizaciones 121-130, en la que el agente terapéutico es 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea.

Ejemplos

20 La invención que se describe ahora de un modo general, se comprende más fácilmente mediante referencia a los siguientes ejemplos que se incluyen simplemente con fines de ilustración de determinados aspectos y realizaciones, y no se pretende que limite la invención en modo alguno.

Ejemplo 1 - preparación de formulación con un agente terapéutico

25 (a) Preparación de una reserva de fase orgánica: Se disolvió alcohol bencílico (8932,5 mg) en 67,5 mg de agua RODI (desionizada por ósmosis inversa) con mezcla. Se añadió el agente terapéutico, 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, (150 mg) a la solución, y posteriormente se sometió a tratamiento de ultrasonidos hasta que el fármaco se disolvió. Se añadió PLA-PEG-GL (19,2 mg) and PLA-PEG en una relación de 16 moles/5 moles (830,8 mg) a la misma y se sometió a agitación vorticial hasta disolución.

30 (b) Preparación de la reserva de fase acuosa: Se disolvió colato de sodio (2,75 g) en agua RODI (955,5 g) en una placa de agitación. Se añadió alcohol bencílico (40 g) a la solución de colato de sodio/agua y se agitó la mezcla en una placa de agitación hasta disolución.

35 (c) Formulación de emulsión: La relación en peso de fase acuosa con respecto a fase orgánica fue de 5:1. La fase orgánica, que pesó 10 g, se vertió en 50 g de la fase acuosa que se enfrió en un baño de agua con hielo, y se homogeneizó la mezcla usando un homogeneizador manual durante 15 segundos. Se alimentó la emulsión basta a través de un homogeneizador de alta presión con un ajuste de presión de 72,3 MPa de presión manométrica durante 1 pase para formar una nanoemulsión (emulsión fina).

40 (d) Formación de nanopartículas: Se vertió la nanoemulsión en 600 g de agua RODI fría (menos de 2 °C) al tiempo que se agitaba en una placa de agitación para formar una fase inactivada. (La relación en peso de inactivación con respecto a emulsión es de 10:1). Se añadieron 64,3 gramos de disolución de polisorbato 80 (350 gramos disueltos en 650 g de agua RODI) a la fase inactivada con mezcla.

45 (e) Concentración de las nanopartículas a través de filtración con flujo tangencial (TFF): Se concentró la fase inactivada usando TFF con un casete de 300 kDa Pall (2 membranas) para formar un concentrado de nanopartículas de aproximadamente 200 ml. Se sometió el concentrado de nanopartículas a diafiltración con aproximadamente 20 diavolúmenes de agua RODI fría a menos de 2 °C. El volumen del concentrado de nanopartículas sometido a diafiltración se redujo a un volumen mínimo.

50 Por consiguiente, la presente formulación contenía 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y los polímeros PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) y PLA-PEG-GL en una relación molar de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de aproximadamente 43:1 y una relación en peso del agente terapéutico, 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, con respecto a los polímeros de 15:85. No se apreció la presencia del contraión sobre el ácido hidrófobo en la presente formulación. El tamaño de la nanopartícula formada de este modo tal como se describe en la presente memoria fue de aproximadamente 116 nm.

Ejemplo 2 - preparación de formulación b con un agente terapéutico

55 (a) Preparación de una reserva de fase orgánica: Se disolvió ácido oleico (900 mg), ácido trifluoroacético (TFA) (273 mg) en alcohol bencílico (8827 mg). Se añadió el agente terapéutico, se mezcló 1-(4-{[4-

(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (120 mg) con una solución de ácido oleico/TFA/alcohol bencílico y se calentó a 80 °C durante 10 minutos para disolver el agente terapéutico en la misma. Una vez que se había disuelto 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, se permitió el enfriamiento de la solución a temperatura ambiente.

Se mezcló completamente la presente solución con una solución polimérica de PLA-PEG en una relación de 16 moles/5 moles (860 mg), PLA-PEG-GL (18,9 mg) y acetato de etilo (4549 mg) para formar una solución.

(b) Preparación de la reserva de fase acuosa: Se disolvió colato de sodio (4,5 g) en agua RODI (955,5 g) en una placa de agitación. Se añadió alcohol bencílico (40 g) a la solución de colato de sodio/agua y se agitó la mezcla en una placa de agitación hasta disolución.

(c) Formulación de emulsión: La relación en peso de fase acuosa con respecto a fase orgánica fue de 5:1. La fase orgánica se vertió en 33,4 g de la fase acuosa que se enfrió en un baño de agua con hielo, y se homogeneizó la mezcla usando un homogeneizador manual durante 15 segundos. Se alimentó la emulsión hasta a través de un homogeneizador de alta presión con un ajuste de presión de 72,3 MPa de presión manométrica durante 1 pase para formar una nanoemulsión (emulsión fina).

(d) Formación de nanopartículas: Se vertió la nanoemulsión en 401,2 g de agua RODI fría (menos de 2 °C) al tiempo que se agitaba en una placa de agitación para formar una fase inactivada. Se añadieron 51,4 gramos de una solución de polisorbato 80 (350 g disueltos en 650 g de agua RODI) a la fase inactivada con mezcla.

(e) Concentración de las nanopartículas a través de filtración con flujo tangencial (TFF): Se concentró la fase inactivada usando TFF con un casete de 300 kDa Pall (2 membranas) para formar un concentrado de nanopartículas de aproximadamente 200 ml. Se sometió el concentrado de nanopartículas a diafiltración con aproximadamente 20 diavolumenes de agua RODI fría a menos de 2 °C. El volumen del concentrado de nanopartículas sometido a diafiltración se redujo a un volumen mínimo.

Por consiguiente, la presente formulación contenía 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y los polímeros PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) y PLA-PEG-GL en una relación molar de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de aproximadamente 46:1 y una relación en peso del agente terapéutico, 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, con respecto a los polímeros de 12:88. Contenía aproximadamente un 5,7 % en peso de 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y aproximadamente un 9 % en peso de ácido oleico en un 3 % de ácido trifluoroacético. El tamaño de la nanopartícula formada de este modo tal como se describe en la presente memoria fue de aproximadamente 74 nm.

Ejemplo 3 - preparación de formulación c con agente terapéutico

(a) Preparación de una reserva de fase orgánica: Se mezclaron ácido trifluoroacético (1600 mg), alcohol bencílico (8827 mg) y agua RODI (1500 mg) juntos y, en caso necesario, se calentó para formar una solución. Se añadió a esta solución el agente terapéutico, 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (1468,8 mg) y se sometió al mezcla resultante a tratamiento con ultrasonidos para formar una solución. Una vez se había disuelto el agente terapéutico, se permitió el enfriamiento de la solución a temperatura ambiente. Se añadió la presente solución a una solución de ácido pamoico (136,5 mg) y DMSO (331,2 mg). Se mezcló completamente la presente solución con una solución polimérica de PLA-PEG en una relación de 16 mol/ 5 mol (643,5 mg), PLA-PEG-GL (14,5 mg) y acetato de etilo (7200 mg).

(b) Preparación de la reserva de fase acuosa: Se disolvió un tensioactivo, Brij S 100 (éter polioxietilen estearílico (100)) (200 mg) en alcohol bencílico (40,0 g) con agitación, y se añadió agua RODI fría (959,8 g) y se mezcló sobre hielo hasta obtener una solución transparente. Se enfrió la reserva de fase acuosa a menos de 2 °C con agitación.

(c) Formulación de emulsión: La relación en peso de fase acuosa con respecto a fase orgánica fue de 5:1. La fase orgánica se vertió en 50,07 g de la fase acuosa que se enfrió en un baño de agua con hielo, y se homogeneizó la mezcla usando un homogeneizador manual durante 15 segundos. Se alimentó la emulsión hasta a través de un homogeneizador de alta presión con un ajuste de presión de 72,3 MPa de presión manométrica durante 1 pase para formar una nanoemulsión (emulsión fina).

(d) Formación de nanopartículas: Se vertió la nanoemulsión en una solución activada de agua RODI (1000 mg) que se enfrió a menos de 2 °C y se agitó sobre una placa de agitación. Se añadió la solución inactivada a una solución enfriada (menos de 2 °C) de polisorbato 80 (350 g) disuelto en agua RODI (650 g) con mezcla.

(e) Concentración de las nanopartículas a través de filtración con flujo tangencial (TFF): Se concentró la fase inactivada usando TFF con un casete de 300 kDa Pall (2 membranas) para formar un concentrado de nanopartículas de aproximadamente 200 ml. Se sometió el concentrado de nanopartículas a diafiltración con aproximadamente 20 diavolumenes de agua RODI fría a menos de 2 °C. El volumen del concentrado de nanopartículas sometido a diafiltración se redujo a un volumen mínimo.

Por consiguiente, la presente formulación contenía 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y los polímeros PLA-PEG (en una relación molar de 16:5) y PLA-PEG-GL en una relación molar de PLA-PEG con respecto a PLA-PEG-GL de aproximadamente 44:1 y una relación en peso del agente terapéutico, 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, con respecto a los polímeros de 22:64. Contenía aproximadamente un 60 % en peso de ácido pamoico con respecto a 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea.

Por consiguiente, la formulación contenía aproximadamente un 5 % en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y un 3,2 % en peso de ácido pamoico. El tamaño de la nanopartícula formada de este modo tal como se describe en la presente memoria fue de aproximadamente 92 nm.

5 Ejemplo 4: formulación d con agente terapéutico

- (a) Preparación de la solución de reserva orgánica: Se combinó una solución de ácido xinafoico al 7 % caliente en alcohol bencílico con PLA-PEG en una relación molar de 16:5 con acetato de etilo y se sometió a agitación vorticial hasta disolución. Se añadió el agente terapéutico, 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, a la misma para preparar una concentración final de un 15 % en peso.
- (b) Preparación de la reserva de fase acuosa: Se disolvió colato de sodio (2,75 g) en agua RODI (955,5 g) con agitación. Se añadió alcohol bencílico (40 g) a la solución acuosa de colato de sodio y se agitó la mezcla hasta disolución.
- (c) Formulación de emulsión: La relación en peso de fase acuosa con respecto a fase orgánica fue de 5:1. La fase orgánica se vertió en la fase acuosa que se enfrió en un baño de agua con hielo, y se homogeneizó la mezcla usando un homogeneizador manual durante 15 segundos. Se alimentó la emulsión hasta a través de un homogeneizador de alta presión con un ajuste de presión de 72,3 MPa de presión manométrica durante 1 pase para formar una nanoemulsión (emulsión fina).
- (d) Formación de nanopartículas: Se vertió la nanoemulsión en una solución tampón de inactivación que consistió en ácido cítrico anhidro (19,2 g) en agua RODI fría (1000 g) que se enfrió a menos de 2 °C y se llevó a pH 4,5 con hidróxido de sodio 10 N, y se agitó la solución resultante en una placa de agitación. Se añadió la solución inactivada a una solución enfriada (menos de 2 °C) de polisorbato 80 (350 g) disuelto en agua RODI (650 g) con mezcla.
- (e) Se concentraron las nanopartículas a través de filtración con flujo tangencial de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1.

Por consiguiente, la presente formulación contenía el ácido xinafoico de contraíón. Contenía 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea. El tamaño de la nanopartícula formada de este modo tal como se describe en la presente memoria fue de aproximadamente 109 nm.

Ejemplo comparativo 1 solución de control

- (a) Preparación de la solución de reserva orgánica: Se combinó una solución de alcohol bencílico al 7,5 % en peso, preparada disolviendo alcohol bencílico en agua RODI, con PLA-PEG en una mezcla que tenía una relación en moles de 16:5 con acetato de etilo y se sometió a agitación vorticial hasta disolución.
- (b) Preparación de la reserva de fase acuosa: Se disolvió colato de sodio (2,75 g) en agua RODI (955,5 g) con agitación. Se añadió alcohol bencílico (40 g) a la solución acuosa de colato de sodio/agua y se agitó la mezcla hasta disolución.
- (c) Formulación de emulsión: La relación en peso de fase acuosa con respecto a fase orgánica fue de 5:1. La fase orgánica se vertió en la fase acuosa que se enfrió en un baño de agua con hielo, y se homogeneizó la mezcla usando un homogeneizador manual durante 15 segundos. Se alimentó la emulsión hasta a través de un homogeneizador de alta presión con un ajuste de presión de 72,3 MPa de presión manométrica durante 1 pase para formar una nanoemulsión (emulsión fina).
- (d) Formación de nanopartículas: Se vertió la nanoemulsión en 600 g de agua RODI fría (menos de 2 °C) al tiempo que se agitaba en una placa de agitación para formar una fase inactivada. (La relación en peso de inactivación con respecto a emulsión es de 10:1). Se añadieron 64,3 g de una solución de polisorbato 80 (350 g disueltos en 650 g de agua RODI) a la fase inactivada con mezcla.
- (e) Concentración de las nanopartículas a través de filtración con flujo tangencial (TFF): Se concentró la fase inactivada usando TFF con un casete de 300 kDa Pall (2 membranas) para formar un concentrado de nanopartículas de aproximadamente 200 ml. Se sometió el concentrado de nanopartículas a diafiltración con aproximadamente 20 diavolúmenes de agua RODI fría a menos de 2 °C. El volumen del concentrado de nanopartículas sometido a diafiltración se redujo a un volumen mínimo.

50 Ejemplo comparativo 2 formulación b

- (a) Preparación de una reserva de fase orgánica: Se disolvió ácido oleico (900 mg), ácido trifluoroacético (TFA) (273 mg) en alcohol bencílico (8827 mg). Se añadió el agente terapéutico, se mezcló 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (120 mg) con una solución de ácido oleico/TFA/alcohol bencílico y se calentó a 80 °C durante 10 minutos para disolver el agente terapéutico en la misma. Una vez que se había disuelto 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, se permitió el enfriamiento de la solución a temperatura ambiente. Se mezcló completamente la presente solución con una solución polimérica de PLA-PEG en una relación de 16 moles/5 moles (860 mg), PLA-PEG-GL (18,9 mg) y acetato de etilo (4549 mg) para formar una solución.
- (b) Preparación de la reserva de fase acuosa: Se disolvió colato de sodio (4,5 g) en agua RODI (955,5 g) en una placa de agitación. Se añadió alcohol bencílico (40 g) a la solución de colato de sodio/agua y se agitó la mezcla

en una placa de agitación hasta disolución.

(c) Formulación de emulsión: La relación en peso de fase acuosa con respecto a fase orgánica fue de 5:1. La fase orgánica se vertió en 33,4 g de la fase acuosa que se enfrió en un baño de agua con hielo, y se homogeneizó la mezcla usando un homogeneizador manual durante 15 segundos. Se alimentó la emulsión hasta a través de un homogeneizador de alta presión con un ajuste de presión de 72,3 MPa de presión manométrica durante 1 pase para formar una nanoemulsión (emulsión fina).

(d) Formación de nanopartículas: Se vertió la nanoemulsión en 401,2 g de agua RODI fría (menos de 2 °C) al tiempo que se agitaba en una placa de agitación para formar una fase inactivada. Se añadieron 51,4 gramos de una solución de polisorbato 80 (350 g disueltos en 650 g de agua RODI) a la fase inactivada con mezcla.

(e) Concentración de las nanopartículas a través de filtración con flujo tangencial (TFF): Se concentró la fase inactivada usando TFF con un casete de 300 kDa Pall (2 membranas) para formar un concentrado de nanopartículas de aproximadamente 200 ml. Se sometió el concentrado de nanopartículas a diafiltración con aproximadamente 20 diavolumenes de agua RODI fría a menos de 2 °C. El volumen del concentrado de nanopartículas sometido a diafiltración se redujo a un volumen mínimo.

Por consiguiente, la presente solución contenía 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea y los polímeros PLA-PEG (en una relación molar de aproximadamente 16:5) en una relación en peso del agente terapéutico con respecto a los polímeros de aproximadamente 1:14,7. Contenía aproximadamente un 6,0 % en peso de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, aproximadamente un 5,4 % de ácido cólico y aproximadamente un 1,1 % en peso de ácido oleico.

Ejemplo 5: formulación e con agente terapéutico

Se repitió el procedimiento del Ejemplo 1 exceptuando que no hubo presencia alguna de polímero PLA-PEG-GL. Se substituyó el polímero PLA-PEG-GI con 19,2 mg de PLA-PEG en una relación de 16 moles/5 moles de manera que la cantidad total de PLA-PEG presente fue de 850 mg.

Ejemplo 6: formulación f con agente terapéutico

Se repitió el procedimiento del Ejemplo 2 exceptuando que no hubo presencia alguna de polímero PLA-PEG-GL. Se substituyó el polímero PLA-PEG-GI con 20 mg de PLA-PEG en una relación de 16 moles/5 moles de manera que la cantidad total de PLA-PEG presente fue de 860 mg.

Ejemplo 7: formulación f con agente terapéutico

Se repitió el procedimiento del Ejemplo 3 exceptuando que no hubo presencia alguna de polímero PLA-PEG-GL. Se substituyó el polímero PLA-PEG-GI con 14,5 mg de PLA-PEG en una relación de 16 moles/5 moles de manera que la cantidad total de PLA-PEG presente fue de 658 mg.

Ejemplo 8: perfil de liberación de formulación

Se preparó cada formulación a una escala suficiente para proporcionar 200 mg de agente terapéutico, 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea, a una concentración de >2,5 mg/ml (FORMULACIÓN A = 25 g, FORMULACIÓN B = 20 g, FORMULACIÓN C = 10 g). Se prepararon suspensiones de nanopartículas con un 30 % en peso de sacarosa y se introdujeron en viales en alícuotas de > 11 mg del agente terapéutico. La Tabla 1 resume los atributos de las nanopartículas preparadas para el presente estudio.

Tabla 1: Resumen de la FORMULACIÓN A, B, C

Formulación	Número de Lote	Carga de Agente Terapéutico	Tamaño de partícula (nm)	API liberado a las 24 horas
A	237-46	4 %	130	60 %
B	237-45	5 %	95	22 %
C	237-44	16 %	100	2 %

Los tres lotes cumplieron los criterios de tamaño de partícula y liberación de agente terapéutico (90-150 nm, < 50 % de agente terapéutico liberado a t > 2 horas). Con la excepción de las nanopartículas de la FORMULACIÓN A, los lotes también cumplieron los criterios de carga de agente terapéutico de > 5 %. Históricamente, la carga de agente terapéutico de la FORMULACIÓN A ha sido el límite inferior o por debajo del valor umbral de carga diana, de forma que este resultado no resulta inesperado.

La Figura 3 muestra las curvas de liberación in vivo para cada lote. El procedimiento de liberación in vitro usado determina los perfiles de liberación a partir de estas nanopartículas en condiciones de 37 °C usando el sistema centrífugo. Se centrifugaron las muestras a 264.000 x g durante 30 minutos y se sometió a ensayo el sobrenadante

en cuanto a concentración de agente terapéutico. Se determinó el porcentaje acumulado de liberación por medio de comparación de la concentración de sobrenadante con la concentración total de agente terapéutico antes de la centrifugación.

5 El perfil de liberación in vitro de la Figura 3 muestra que la tasa de liberación del agente terapéutico fue cuantificablemente distinta para cada una de las formulaciones. La Figura 4 muestra los parámetros farmacocinéticos de las nanopartículas de agente terapéutico en Ratas de Wistar Han.

10 El protocolo fue el siguiente: Se dosificó por vía intravenosa a ratas macho Wistar Han (de aproximadamente seis semanas; n = 4/grupo) con cánulas permanentes en la vena yugular, 1 mg/kg de bolo de nanopartículas de la Formulación A, B, y C o nanopartículas de la Formulación A, B y C diluidas en disolución salina al 0,9 %. En diferentes momentos después de la dosificación, se tomaron muestras seriadas de sangre a partir de las cánulas de vena yugular y se cuantificaron las concentraciones de agente terapéutico en plasma por medio de LC-MS/MS. La Figura 4(a) muestra los parámetros farmacocinéticos de las nanopartículas vs agente terapéutico libre, mientras que (b) muestra los mismos datos con el agente terapéutico omitido.

15 La Figura 4(a) muestra que las tres formulaciones A, B y C, que se sometieron a ensayo exhibieron tiempos de retención sustancialmente mayores en torrente sanguíneo con respecto al API libre. Esto corresponde a mayores valores de AUC y $t_{1/2}$, resumidos en la Tabla 2 (TA = agente terapéutico).

Tabla 2: Resumen de datos de AUC_{total} y $t_{1/2}$ para nanopartículas de la FORMULACIÓN A, B & C sometidas a ensayo.

Parámetro	TA	Formulación A	60 % de EA	7 % de ácido xinafoico	Formulación C	Formulación B
AUC _{total} (hrng/ml)	919,5	312.972	485.188	653.749	601.768	550.539
$t_{1/2}$ (h)	13,2	17,7	23,8	25,1	23,8	23,7

Ejemplo 9: perfil de liberación para la formulación c

20 Se preparó de nuevo la FORMULACIÓN C como en el Ejemplo 3 usando el procedimiento tradicional por lotes en la escala de 2 g y 5 g. Se preparó una lote adicional de 2 g de la Formulación C usando un tampón de ácido cítrico 50 mM sometido a valoración a pH 4,5 con hidróxido de sodio para favorecer el emparejamiento iónico potencial. Se escogió este pH porque estaba entre el pK_a de ácido pamoico (~2,5) y el primer pK_a de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (~6,7). La Tabla 3 resume los atributos de partícula para estos lotes de pequeña escala:

Tabla 3: Efecto del uso de tampón de ácido cítrico 50 mM a pH 4,5 para el medio de inactivación de la Formulación C.

Lote	Número de Lote	Carga de Agente Terapéutico	Tamaño (nm)
2 g RODI Quench	237-34-1	4,48 %	101
5 g RODI Quench	237-34-2	2,43 %	98
2 g Buffered Quench	237-34-3	13,18 %	92

30 El mayor tiempo de procesado de la emulsión a partir del lote de 2 g hasta el lote de 5 g tuvo como resultado una disminución sustancial de la carga del agente terapéutico. Sin embargo, se mostró que el uso de la inactivación de tampón a pH 4,5 tuvo como resultado un aumento de casi tres veces la carga del agente terapéutico, 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea.

35 Se usó el procedimiento de liberación in vitro para determinar los perfiles de liberación a partir de estas nanopartículas en condiciones de 37 °C usando el sistema centrifugo. Se centrifugaron las muestras a 264.000 x g durante 30 minutos y se sometió a ensayo el sobrenadante en cuanto a concentración de agente terapéutico. Se determinó el porcentaje acumulado de liberación por medio de comparación de la concentración de sobrenadante con la concentración total de agente terapéutico antes de la centrifugación. La Figura 5 muestra que el perfil de liberación in vitro no se vio afectado por el uso de la inactivación de tampón.

Ejemplo 10: determinación de los atributos de partícula para la formulación c

40 Se prepararon dos lotes de 10 g de la Formulación C con tampón de ácido cítrico de 100 mM sometido a valoración hasta pH 4,5, agrupando cada uno de ellos en cinco lotes de 2 g para evitar los efectos del tiempo de procesado sobre la carga de fármaco del agente terapéutico, 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea. La Tabla 4 resume los atributos de partícula para estos lotes.

Tabla 4 Atributos de partícula para los lotes de la FORMULACIÓN C utilizando una inactivación de tampón de ácido cítrico de pH 4,5.

Número de Lote	Descripción	Carga API Diana	Sólidos en la Fase Orgánica	Carga de la Formulación C	Tamaño de partícula (nm)	Tensioactivo
237-34-3	TFA al 8 % en peso 7,5 peso de agua en BA, 1:1 pamoico con respecto a agente terapéutico, 20:80 (BA+DMSO):EA, inactivación de ácido cítrico 50 mM, pH 4,5	22 %	10 %	13,18 %	92	Brij, 0,02 % en peso
237-36	TFA al 8 % en peso 7,5 peso de % agua en BA, 1:1 pamoico con respecto a agente terapéutico, 20:80 (BA+DMSO):EA, inactivación de ácido cítrico 100 mM, pH 4,5	22 %	10 %	18,25 %	100	Brij, 0,02 % en peso
237-44	TFA al 8 % en peso 7,5 peso de % agua en BA, 1:1 pamoico con respecto a agente terapéutico, 20:80 (BA+DMSO):EA, inactivación de ácido cítrico 100 mM, pH 4,5, GL deseado	22 %	10 %	16,30 %	100	Brij, 0,02 % en peso

BA = alcohol bencílico
EA = alcohol etílico

- Se llevaron a cabo los perfiles de liberación in vitro como se muestra a continuación; se usó el procedimiento de liberación in vitro para determinar los perfiles de liberación a partir de estas nanopartículas en condiciones de 37 °C usando el sistema centrífugo. Se centrifugaron las muestras a 264.000 x g durante 30 minutos y se sometió a ensayo el sobrenadante en cuanto a concentración de agente terapéutico. Se determinó el porcentaje acumulado de liberación por medio de comparación de la concentración de sobrenadante con la concentración total de agente terapéutico antes de la centrifugación. Los resultados se muestran en la Figura 6.
- A partir de las investigaciones, se determinó que la máxima carga de agente terapéutico en la formulación C se obtuvo a pH 4,5. Sin pretender quedar ligado a teoría, se piensa que esto se puede atribuir al hecho de que el emparejamiento iónico entre el agente terapéutico y el contra ion está estimulado cuando el pH de la solución está por debajo del pK_a del fármaco de agente terapéutico protonado y por encima del pK_a de la molécula ácida (ácido pamoico). Se piensa que este efecto se maximiza teóricamente cuando la fracción más grande de ambas especies están en su estado ionizado.
- Ejemplo 11: estudio de programación de xenoinjerto mdamb361 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea nanopartículas q4d frente q8d**
- Se obtuvieron ratones hembra SCID/bg de alrededor de 6 semanas a partir de Charles River Laboratories (Wilmington, MA). Se mantuvieron los animales en condiciones ambientales limpias en jaulas con filtro estéril superior con lecho Alpha-Dri y se albergaron en estantes ventilados filtrados con HEPA. Los animales recibieron comida para roedores estéril y agua según demanda. Se llevaron a cabo todos los procedimientos de acuerdo con las recomendaciones de Institute for Laboratory Animal Research Guide for the Care and Use of Laboratory Animals y Pfizer Animal Care and Use Committee.
- De tres a cuatro días antes de inocular las células tumorales, se implantó a los animales 0,36 mg de un microgránulo de 17β -estradiol de liberación en 60 días (Innovative Research of America). Las células MDAMB-361 que se recogieron a una confluencia de un 80-90 % y una viabilidad por encima de 80-90 % (NS) se complementaron con 50 % de Matrigel (BD Biosciences, San Jose, CA) para facilitar la captación del tumor. Se implantaron las células (5×10^6 en 200 μ l) subcutáneamente (S.C.) en la región del flanco posterior del ratón y se permitió la proliferación hasta el tamaño designado antes de la administración del compuesto para cada experimento. Se determinó el tamaño tumoral midiendo con calibres electrónicos y se calculó el volumen tumoral como el producto de su longitud por anchura² x 0,5. Cuando los volúmenes tumorales alcanzaron un promedio de 250 mm³, se aleatorizaron los ratones para grupos de tratamiento que incluyeron un grupo de control de vehículo con inyecciones intravenosas (i.v.) del fármaco correspondiente a un volumen de 10 ml/kg en un programa cada cuatro días (Q4D) o cada ocho días (Q8D). Se trataron los animales con 5 o 10 mg/kg de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o 25 mg/kg de la nanopartícula de la Formulación B en cada inyección.
- La Figura 7 muestra que las nanopartículas de la Formulación B dosificadas cada 8 días tienen una eficacia similar y una vez cada 4 días y que las nanopartículas de la Formulación B pueden permitir una frecuencia de dosificación de 2 semanas en la clínica.

Ejemplo 12: inhibición de la proliferación tumoral mdamb361 y estudio de retardo de la proliferación tumoral

Se obtuvieron ratones hembra SCID/bg de alrededor de 6 semanas a partir de Charles River Laboratories (Wilmington, MA). Se mantuvieron los animales en condiciones ambientales limpias en jaulas con filtro estéril superior con lecho Alpha-Dri y se albergaron en estantes ventilados filtrados con HEPA. Los animales recibieron comida para roedores estéril y agua según demanda. Se llevaron a cabo todos los procedimientos de acuerdo con las recomendaciones de Institute for Laboratory Animal Research Guide for the Care and Use of Laboratory Animals y Pfizer Animal Care and Use Committee.

De tres a cuatro días antes de inocular las células tumorales, se implantó a los animales 0,36 mg de un microgránulo de 17 β -estradiol de liberación en 60 días (Innovative Research of America). Las células MDAMB-361 que se recogieron a una confluencia de un 80-90 % y una viabilidad por encima de 80-90 % (NS) se complementaron con 50 % de Matrigel (BD Biosciences, San Jose, CA) para facilitar la captación del tumor. Se implantaron las células (5 x 10⁶ en 200 μ l) subcutáneamente (S.C.) en la región del flanco posterior del ratón y se permitió la proliferación hasta el tamaño designado antes de la administración del compuesto para cada experimento. Se determinó el tamaño tumoral midiendo con calibres electrónicos y se calculó el volumen tumoral como el producto de su longitud por anchura² x 0,5. Cuando los volúmenes tumorales alcanzaron un promedio de 250 mm³, se aleatorizaron los ratones para grupos de tratamiento que incluyeron un grupo de control de vehículo con inyecciones intravenosas (i.v.) del fármaco correspondiente a un volumen de 10 ml/kg en un programa cada cuatro días (Q4D) para 4 dosis. Después de la cuarta dosis, se observó de forma adicional el retardo de la proliferación tumoral en los animales. Se trataron los animales con 10 mg/kg de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea; 2, 10 o 25 mg/kg de nanopartículas de la Formulación A o B; o 10 o 25 mg/kg de nanopartículas de la Formulación C en cada inyección.

La Figura 8A, 8B y 8C muestran las nanopartículas de la Formulación B y las nanopartículas de la Formulación C inhiben la proliferación tumoral con eficacia mejorada frente a 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (API desnuda) y las nanopartículas de la Formulación A.

Ejemplo 13: estudio de inhibición de proliferación tumoral modelo wm266-4

Se obtuvieron ratones hembra nu/nu de alrededor de 8 semanas a partir de Charles River Laboratories (Wilmington, MA). Se mantuvieron los animales en condiciones ambientales limpias en jaulas con filtro estéril superior con lecho Alpha-Dri y se albergaron en estantes ventilados filtrados con HEPA. Los animales recibieron comida para roedores estéril y agua según demanda. Se llevaron a cabo todos los procedimientos de acuerdo con las recomendaciones de Institute for Laboratory Animal Research Guide for the Care and Use of Laboratory Animals y Pfizer Animal Care and Use Committee.

Las células WM266-4 que se recogieron a una confluencia de un 80-90 % y una viabilidad por encima de 80-90 % (NS) se complementaron con 50 % de Matrigel (BD Biosciences, San Jose, CA) para facilitar la captación del tumor. Se implantaron las células (2 x 10⁶ en 200 μ l) subcutáneamente (S.C.) en la región del flanco posterior del ratón y se permitió la proliferación hasta el tamaño designado antes de la administración del compuesto para cada experimento. Se determinó el tamaño tumoral midiendo con calibres electrónicos y se calculó el volumen tumoral como el producto de su longitud por anchura² x 0,5. Cuando los volúmenes tumorales alcanzaron un promedio de 400 mm³, se aleatorizaron los ratones para grupos de tratamiento incluyendo un grupo de control de vehículo con dosificación oral (QD) de PF-0192513-00-0004 (PD-901) y/o inyecciones intravenosas (i.v.) de los fármacos de nanopartículas, B y C a 10 ml/kg en volumen en un programa cada cuatro días (Q4D) para 4 dosis. La dosificación y el fármaco se describe en las leyendas de las figuras. Se trataron los animales con 10 mg/kg de 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o 10, 25 o 50 mg/kg de nanopartículas de la Formulación B o C en cada inyección.

La Figura 9 ilustra que las nanopartículas de la Formulación C producen mayor tolerancia y eficacia que las nanopartículas de la Formulación B o 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea (API desnuda).

Ejemplo 14: estudios de modulación de diana in vivo con nanopartículas

Se llevaron a cabo estudios de modulación de diana in vivo para determinar los efectos del tratamiento con nanopartículas de la Formulación A, B y C sobre la fosforilación de S6 sobre S235/S236 y AKT en S473 y T308 por medio de ELISA. Se trituraron tumores frescos sometidos a resección para dar lugar a un polvo fino usando un mortero de granito y Marton metálico bajo nitrógeno líquido. Se almacenó el polvo tumoral a -80 °C hasta la preparación de lisados tumorales para el ensayo de ELISA. En resumen, se colocó una alícuota (50 mg) de polvo tumoral en un tubo de marbot de vidrio de 2 ml pre-enfriado, se añadieron 500 μ l de cóctel de tampón de lisis frío [Tris-HCl 20 mM (pH 7,5), NaCl 150 mM, Na₂EDTA 1,0 mM, EGTA 1 mM, 1 % de NP-40, 1 % de desoxicolato de sodio, pirofosfato de sodio 2,5 mM, β -glicerofosfato 1 mM, Na₃VO₄ 1 mM, 1 μ g/ml de leupeptina, PMSF 1 mM, 1 x proteasa/inhibidor de fosfatasa, se intercaló el tubo en hielo húmedo, y se homogeneizaron las muestras a velocidad 6 durante 30 segundos por medio del uso de un homogeneizador de tejidos. Se recogieron las muestras y se congelaron de forma instantánea sobre hielo seco y se descongelaron en hielo húmedo. Se repitió el ciclo de

congelación-descongelación, posteriormente se centrifugaron las muestras en una centrifuga Eppendorf refrigerada en frío a 13.000 rpm durante 10 minutos. Se recogió el sobrenadante y se centrifugó de nuevo. Se determinaron el fosfoAKT y total (S473 y T308) y los niveles totales de proteína fosfoS6 y lisados tumorales por medio de ELISA. Se comparó el alcance de la fosforilación en los tumores procedentes de animales tratados con el de tumores obtenidos por medio de resección de animales tratados con vehículo en el mismo punto.

La Figura 8A, 8B y 8C muestran que las nanopartículas de la Formulación B y las nanopartículas de la Formulación C inhiben pS6 con eficacia mejorada frente a 1-(4-([4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il]fenil]urea (API desnuda) y las nanopartículas de la Formulación A, y demuestran una modulación diana persistente observada hasta 7 días después de la dosis.

10 **Ejemplo 15: análisis de niveles de glucosa e insulina tras el tratamiento con nanopartículas**

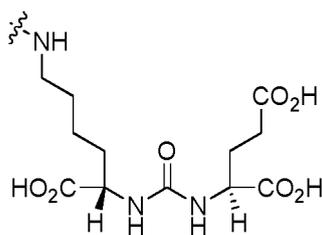
Glucosa: En estudios de ratones o ratas, se usaron aproximadamente 100 µl de plasma (EDTA como anticoagulante) para la evaluación del contenido de glucosa en base a un ensayo enzimático tal y como se publica por parte de Slein (Bergmeyer HU, ed. Slein MW. *Methods of Enzymatic Analysis*. Nueva York, NY: Academic Press; 1974:1196-1201.), usando enzimas hexoquinasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Se midió la glucosa en plasma con un sistema Advia® 120 Glucose Hexokinase_3 (GLUH_3) con Analizador Hematológico Automatizado (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, Nueva York). El ensayo de Advia Chemistry Glucose Hexokinase_3 (GLUH_3) usó un reactivo de dos componentes. Se añadió una muestra de plasma al Reactivo 1, que contenía el tampón, ATP y NAD. Se tomaron las lecturas de absorbancia de la muestra en el Reactivo 1 y se usó para corregir las sustancias interferentes en la muestra. Se añadió el Reactivo 2 (el tampón, ATP, NAD, hexoquinasa y G6PD), lo cual inició la conversión de glucosa y el desarrollo de absorbancia a 340/410 nm. La diferencia entre la absorbancia en el Reactivo 1 y Reactivo 2 fue proporcionar a la concentración de glucosa.

Insulina: En estudios de ratones o ratas, se usaron aproximadamente 20 µl de plasma (EDTA como anticoagulante) para la evaluación del contenido de insulina. El ensayo de insulina fue ELISA Sandwich basado en el uso del Estuche ELISA de Insulina de Rata/Ratón adquirido en EMD Millipore Corporation (St. Charles, Missouri). El procedimiento de ensayo fue el siguiente: 1) captura de moléculas de insulina a partir de muestras de plasma hasta los pocillos de una placa de micro-valoración por medio de la cantidad pre-valorada de anticuerpos monoclonales de insulina anti-rata de ratón y la unión de anticuerpos policlonales sometidos a tratamiento con biotina a la insulina capturada, 2) lavado de los materiales no ligados de las muestras, 3) unión de peroxidasa de rábano picante a los anticuerpos inmovilizados sometidos a tratamiento con biotina, 4) lavado de los conjugados de enzima libre, y 5) cuantificación de los conjugados inmovilizados de anticuerpo-enzima por medio del control de las actividades de peroxidasa de rábano picante en presencia del sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina. Se midió la actividad enzimática espectrofotométricamente por medio de absorbancia aumentada a 450 nm, que fue directamente proporcional a la cantidad de insulina capturada en la muestra de plasma. Se calculó la concentración de insulina en plasma por medio de interpolación a partir de una curva de referencia generada en el mismo ensayo con patrones de referencia de concentraciones conocidas de insulina de ratón o rata.

LA Figura 10 ilustra que las nanopartículas de la Formulación B y C pueden tener un perfil mejorado de seguridad con respecto a 1-(4-([4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il]fenil]urea (API desnuda).

REIVINDICACIONES

1. Una nanopartícula terapéutica que comprende:
 - un ácido sustancialmente hidrófobo;
 - un agente terapéutico, en la que el pKa del agente terapéutico protonado es de al menos aproximadamente 1,0
 - 5 unidad de pKa mayor que el pKa del ácido hidrófobo; y
 - un polímero seleccionado entre copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y combinaciones de los mismos;
 - en la que el agente terapéutico es 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 10 2. Una nanopartícula terapéutica de la reivindicación 1, en la que la relación molar de ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico varía de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1.
3. Una nanopartícula terapéutica de la reivindicación 2, que comprende aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 25 por ciento en peso del agente terapéutico y de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso del polímero, y en la que la nanopartícula comprende de aproximadamente 10 a
- 15 aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
4. Una nanopartícula terapéutica de la reivindicación 1, que comprende de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 30 por ciento en peso del ácido sustancialmente hidrófobo; de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 25 por ciento en peso del agente terapéutico; y de aproximadamente un 50 a aproximadamente un 99,75 por ciento en peso del polímero; en la que la nanopartícula terapéutica comprende de
- 20 aproximadamente un 10 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.
5. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo y el agente terapéutico forman un par iónico hidrófobo en la nanopartícula terapéutica.
6. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el ácido hidrófobo es un ácido graso, preferentemente en la que el ácido graso es un ácido graso omega-9 seleccionado entre el grupo que
- 25 consiste en: ácido oleico, ácido icosenoico, ácido meádico, ácido erúxico, ácido nervónico y combinaciones de los mismos.
7. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el ácido hidrófobo es un ácido biliar, preferentemente en la que el ácido biliar está seleccionado entre el grupo que consiste en ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido hicolico, ácido beta-muricónico, ácido cólico, ácido litocólico, un ácido biliar conjugado con amino ácido y combinaciones de los mismos.
- 30 8. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el ácido hidrófobo está seleccionado entre el grupo que consiste en ácido dioctil sulfosuccínico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido dodecilsulfúrico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido pamoico, ácido undecanoico y combinaciones de los mismos.
- 35 9. La nanopartícula terapéutica de la reivindicación 8, en la que el ácido hidrófobo es ácido pamoico.
10. La nanopartícula terapéutica de la reivindicación 1 que comprende:
 - el ácido sustancialmente hidrófobo ácido pamoico;
 - el agente terapéutico es 1-(4-{[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil}fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; y
 - 40 un polímero seleccionado entre copolímero de dibloques de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o un copolímero de dibloques de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol y combinaciones de los mismos;
 - en la que la relación molar de ácido pamoico con respecto al agente terapéutico varía de aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1.
11. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que además comprende de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 30 por ciento en peso de un copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o poli(ácido láctico)-poli(ácido co-glicólico)-poli(etilen)glicol funcionalizado con un ligando de dirección.
- 45 12. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que el ácido sustancialmente hidrófobo es una mezcla de dos o más ácidos sustancialmente hidrófobos, preferentemente en la que los dos ácidos sustancialmente hidrófobos son ácido oleico y ácido cólico.
- 50 13. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que está presente adicionalmente un ligando de dirección y es PLA-PEG-GL, en la que GL tiene la siguiente estructura:



14. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en la que las nanopartículas incluyen de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico, por ejemplo, aproximadamente un 1, aproximadamente un 2, aproximadamente un 3, aproximadamente un 4, aproximadamente un 5, aproximadamente un 6, aproximadamente un 7, aproximadamente un 8, aproximadamente un 9, aproximadamente un 10, aproximadamente un 11, aproximadamente un 12, aproximadamente un 13, aproximadamente un 14, aproximadamente un 15, aproximadamente un 16, aproximadamente un 17, aproximadamente un 18, aproximadamente un 19 o aproximadamente un 20 por ciento en peso del agente terapéutico.
15. Una composición farmacéutica que comprende una nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
16. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el tratamiento de cáncer, preferentemente en el que el cáncer está seleccionado entre el grupo que consiste en leucemia mielógena crónica, leucemia mielomonocítica crónica, síndrome hipersinófilo, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, leucemia linfoblástica aguda positiva de cromosoma de Filadelfia, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de páncreas, cáncer de mama, un tumor sólido, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de cabeza y cuello y linfoma de células de corteza cerebral.
17. La nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el tratamiento de carcinoma de endometrio, glioblastoma, cáncer de próstata, cáncer renal, carcinoma de pulmón de células pequeñas, meningioma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer de mama o melanoma.
18. Un procedimiento de preparación de una nanopartícula terapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 que comprende las etapas de:
- combinar una primera fase orgánica con una primera solución acuosa para formar una segunda fase;
 - emulsionar la segunda fase para formar una fase de emulsión, en el que la fase de emulsión comprende un primer polímero, el agente terapéutico y un ácido sustancialmente hidrófobo;
 - inactivar la fase de emulsión formando de este modo una fase inactivada; y
 - filtrar la fase inactivada para recuperar las nanopartículas terapéuticas, en la que el agente terapéutico es 1-(4-[[4-(dimetilamino)piperidin-1-il]carbonil]fenil)-3-[4-(4,6-dimorfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-il)fenil]urea o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

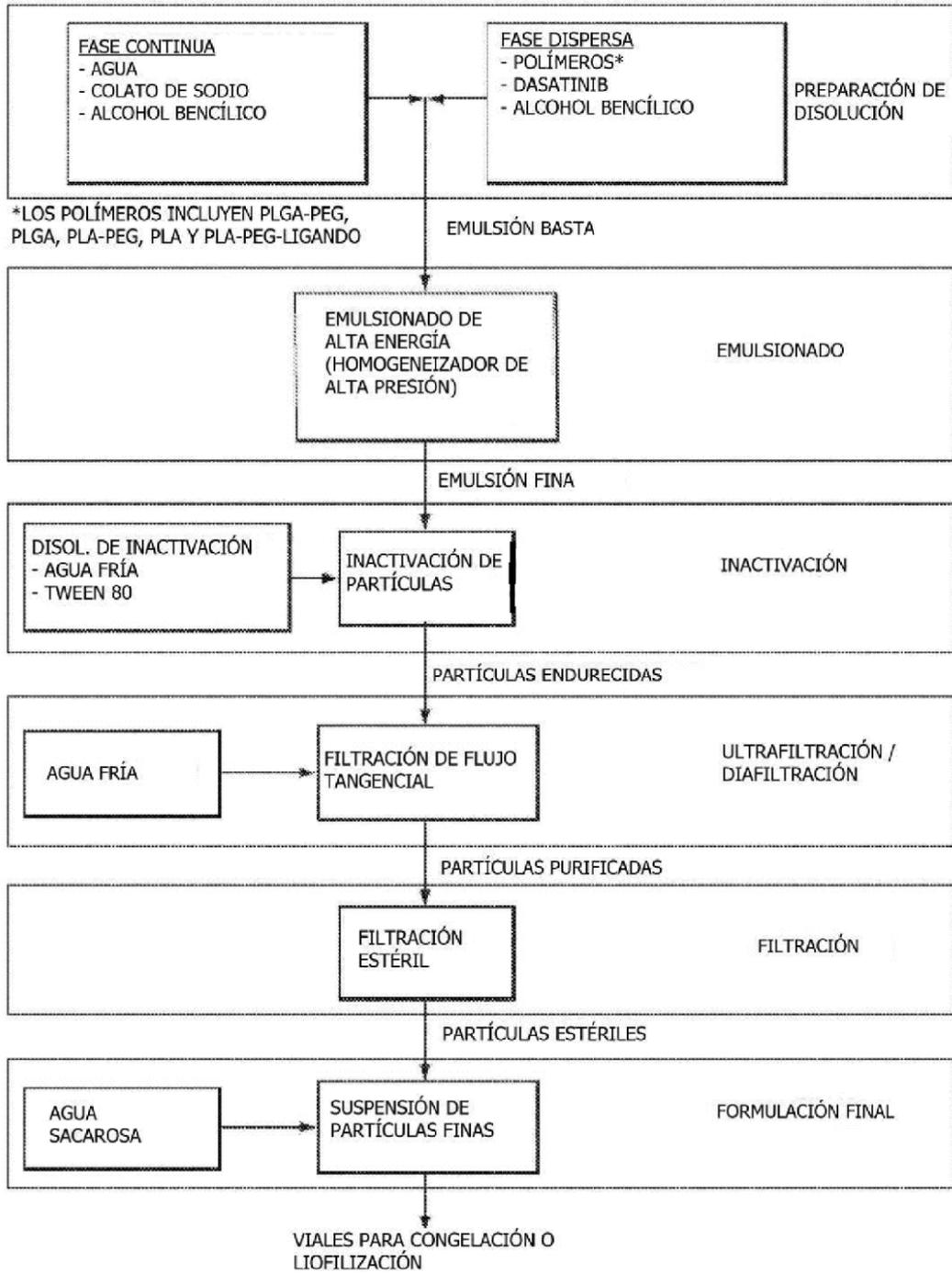


FIG. 1

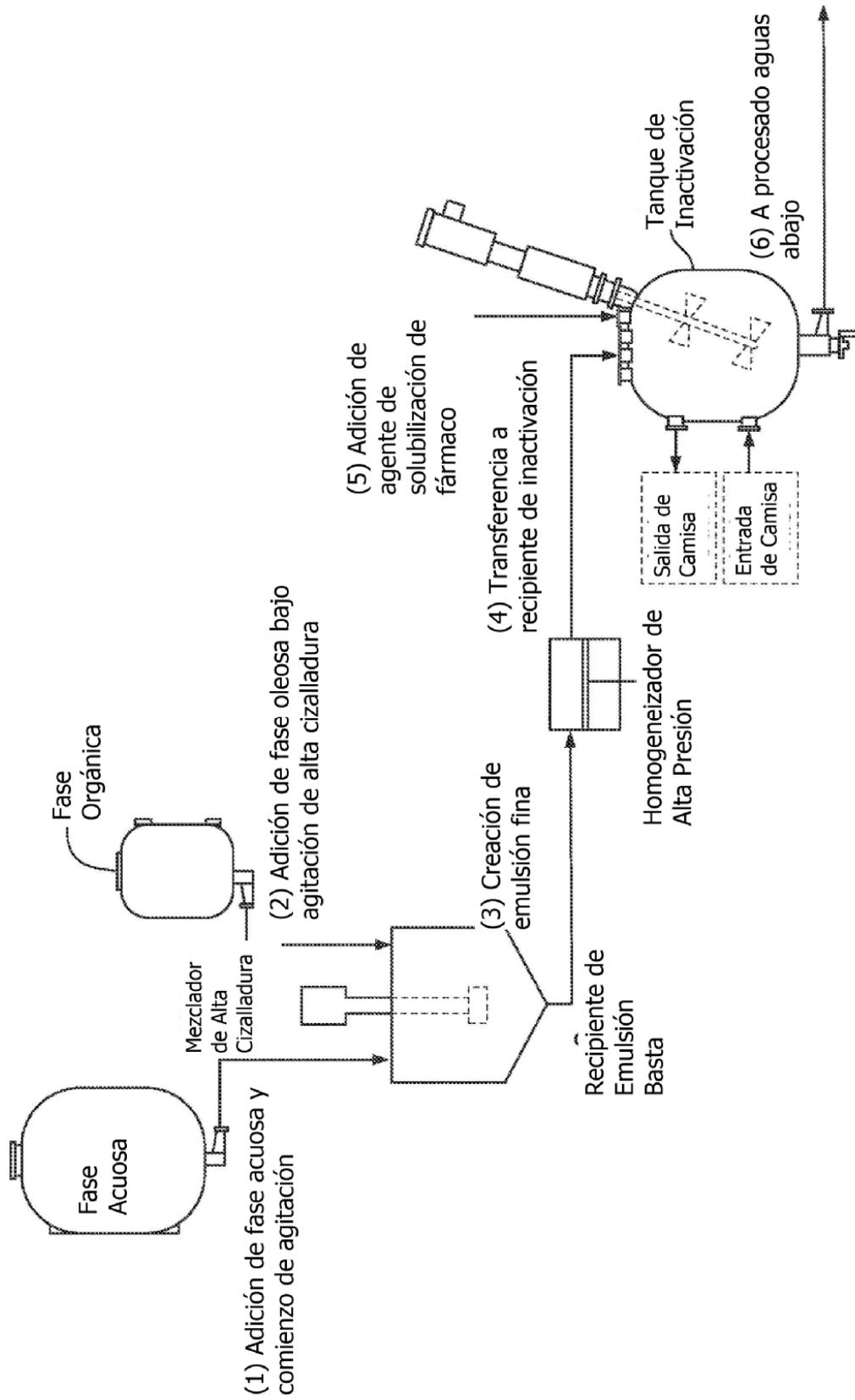


FIG. 2A

- 1) Concentrado desde aprox. 10 a aprox. 30 mg/ml
- 2) Diafiltración en frío 5 veces (99 % de reducción en solutos)
- 3) Calentamiento hasta 25 °C y adición extra de agente de solubilización de fármaco
- 4) Diafiltración adicional 15 veces (99,99 % de reducción en solutos)
- 5) Concentrado desde aprox. 30 mg/ml hasta aprox. 100 mg/ml
- 6) Recogida final de la suspensión concentrada

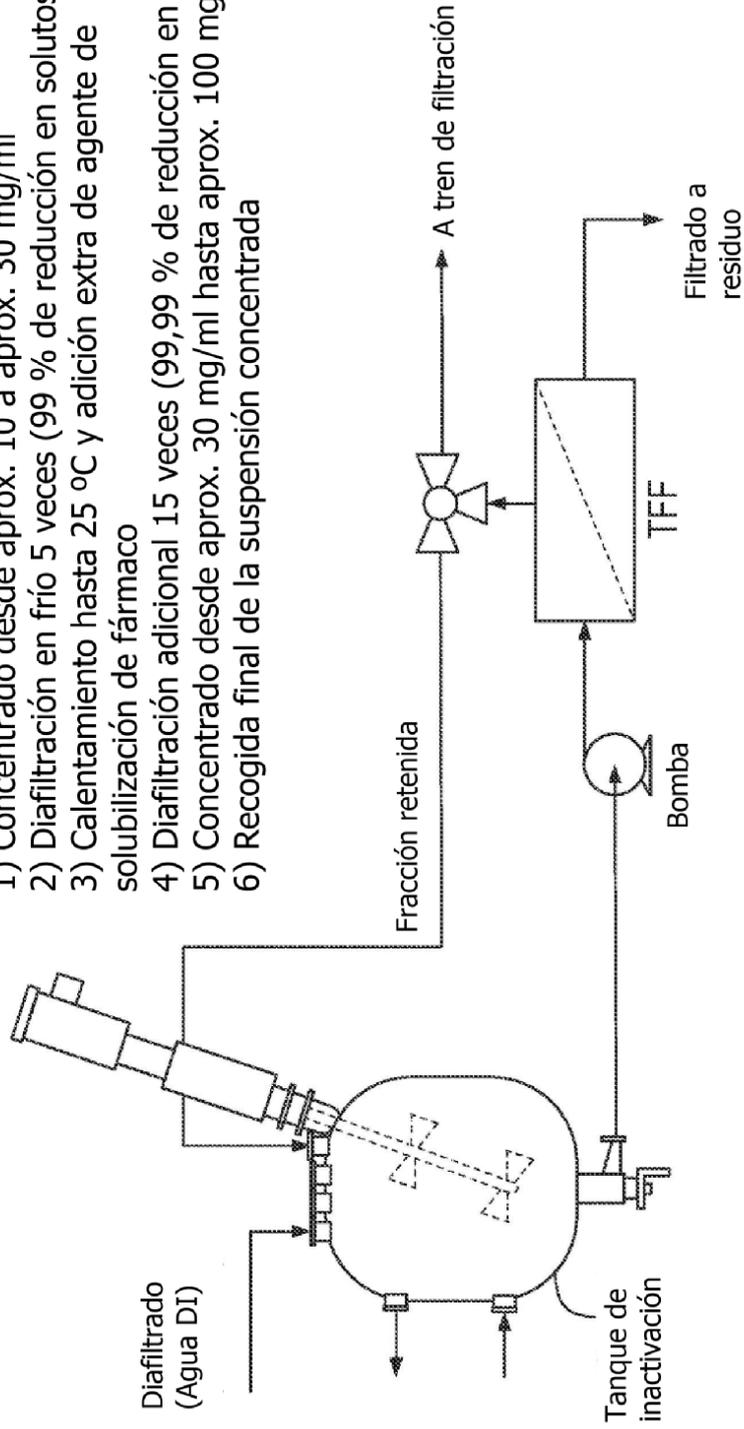


FIG. 2B

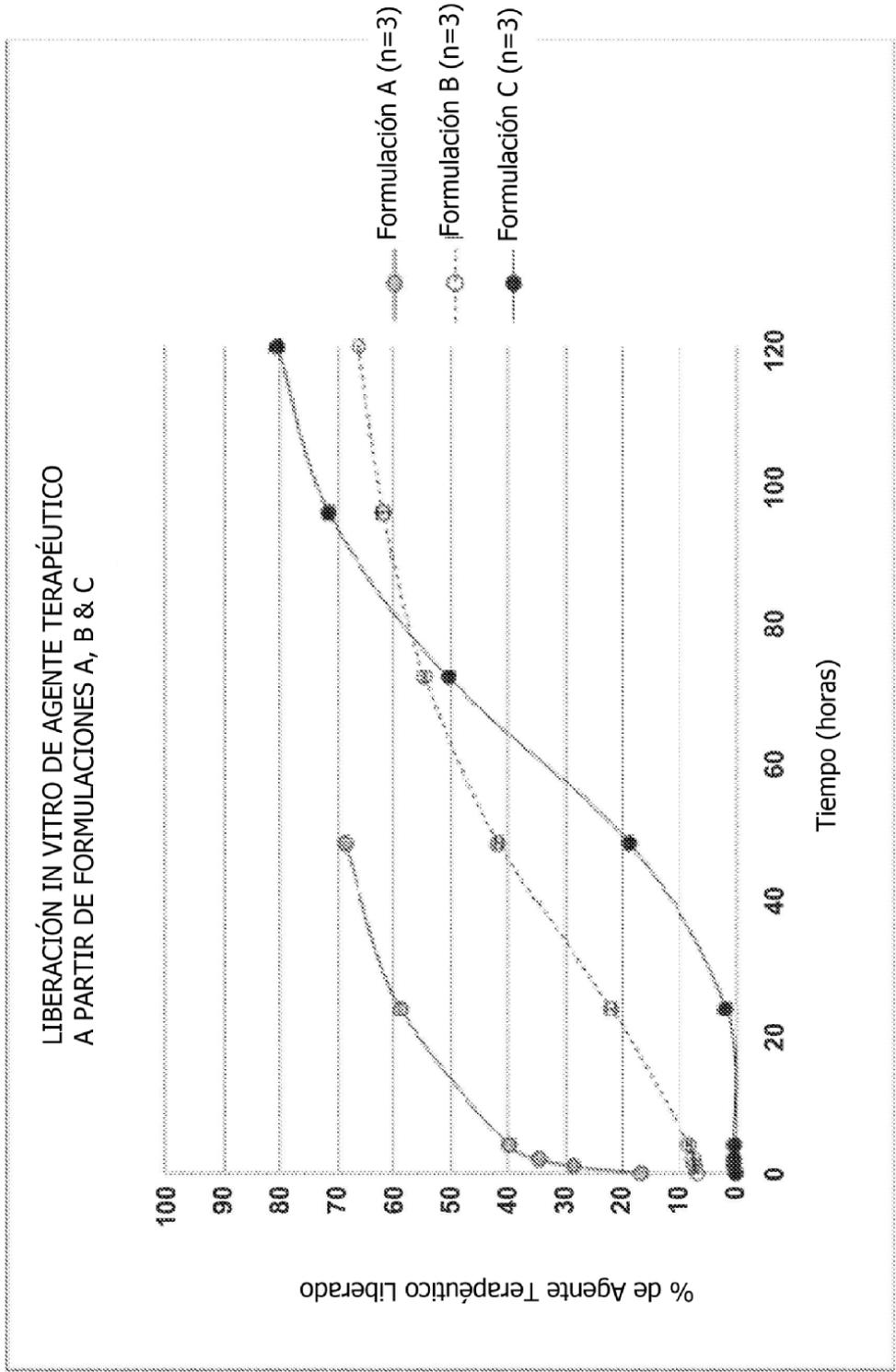


FIG. 3

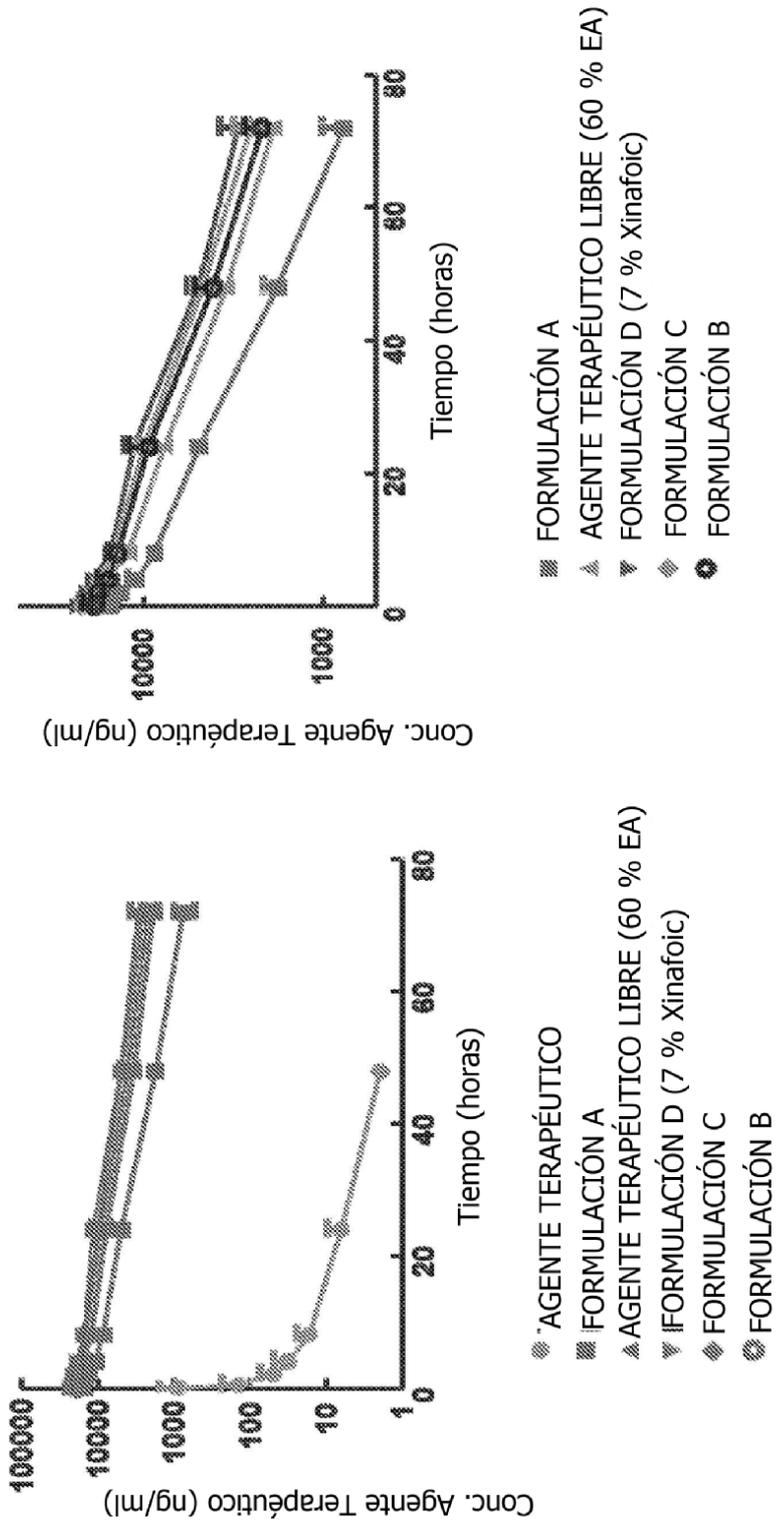


FIG. 4

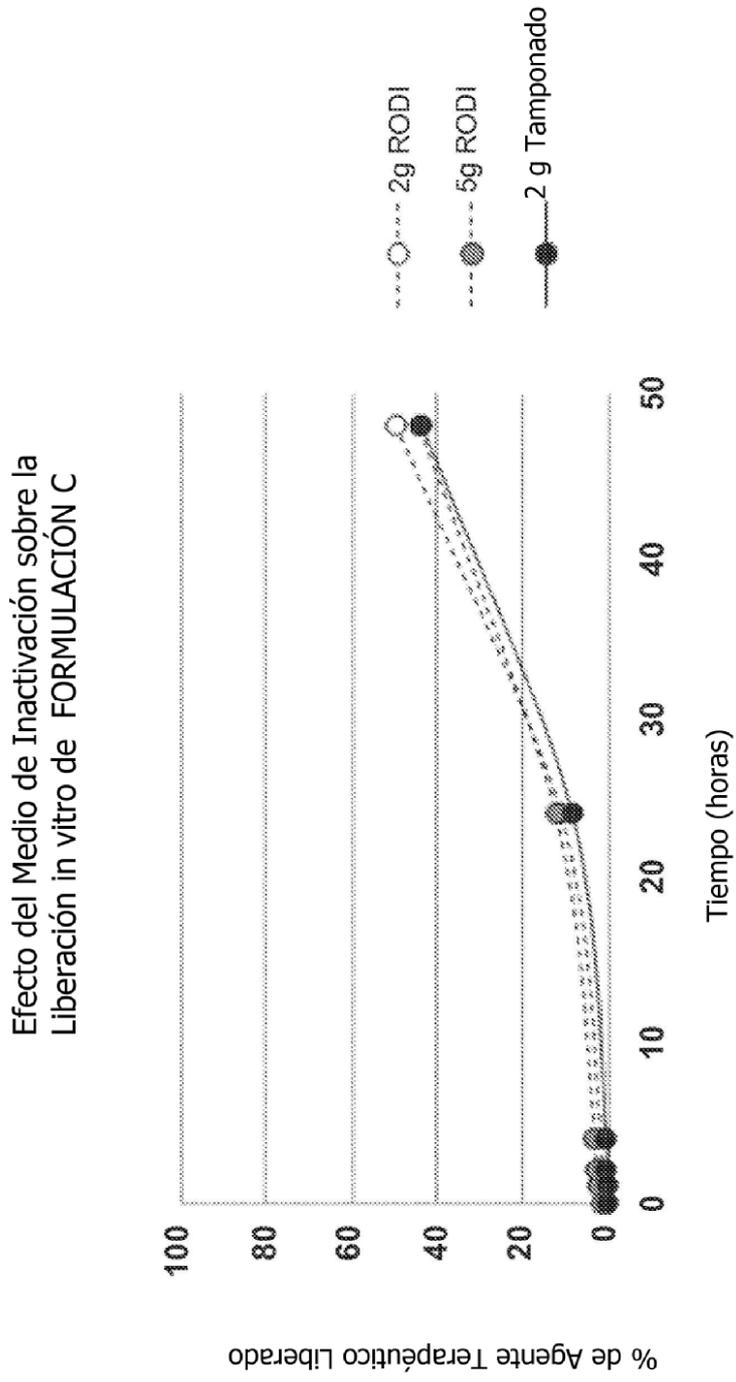


FIG. 5

Liberación in vitro de Lotes de FORMULACIÓN C
Inactivados en Tampón de Ácido Cítrico pH 4,5

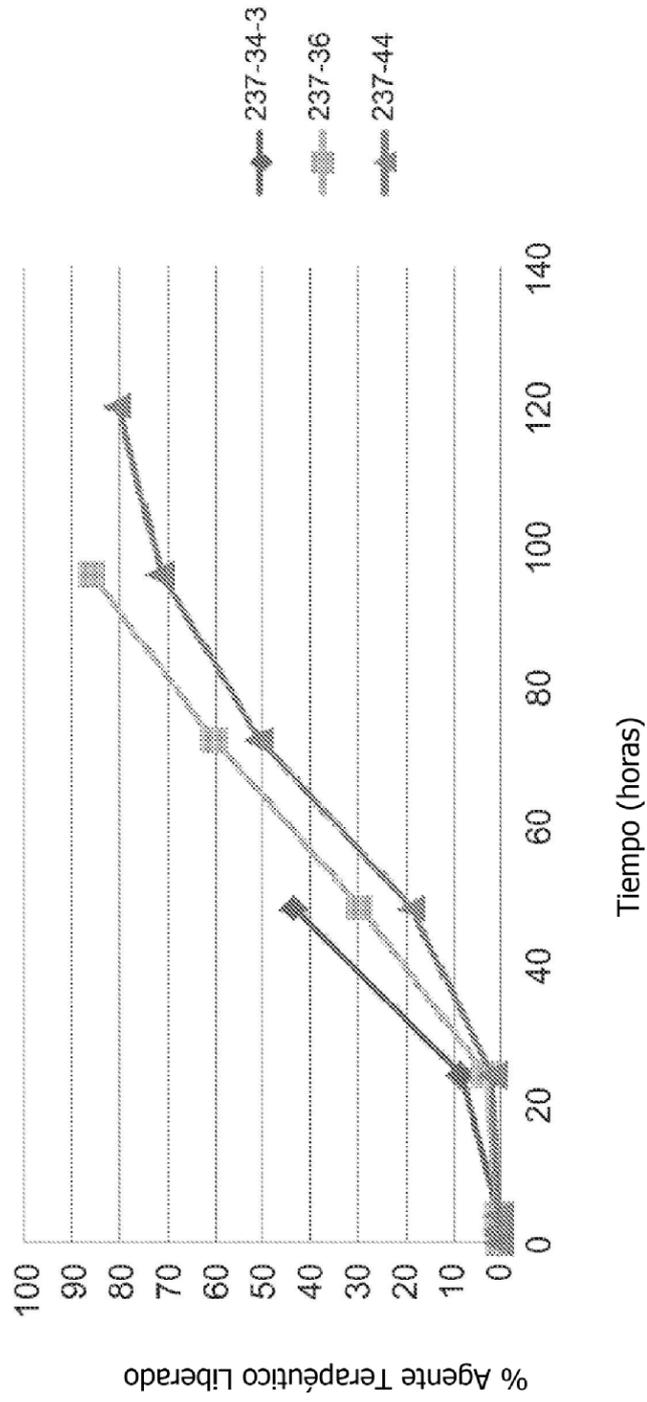


FIG. 6

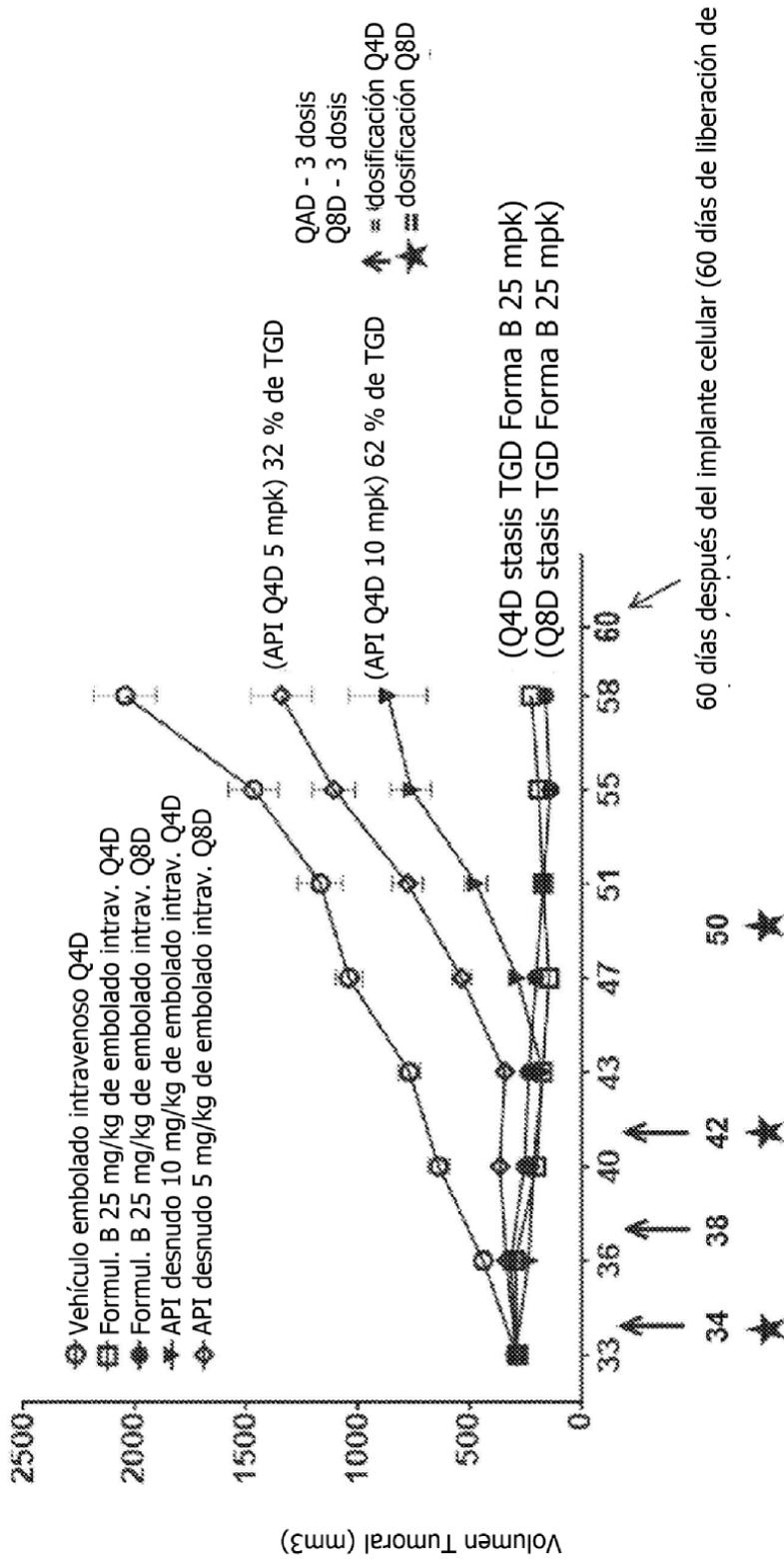


FIG. 7

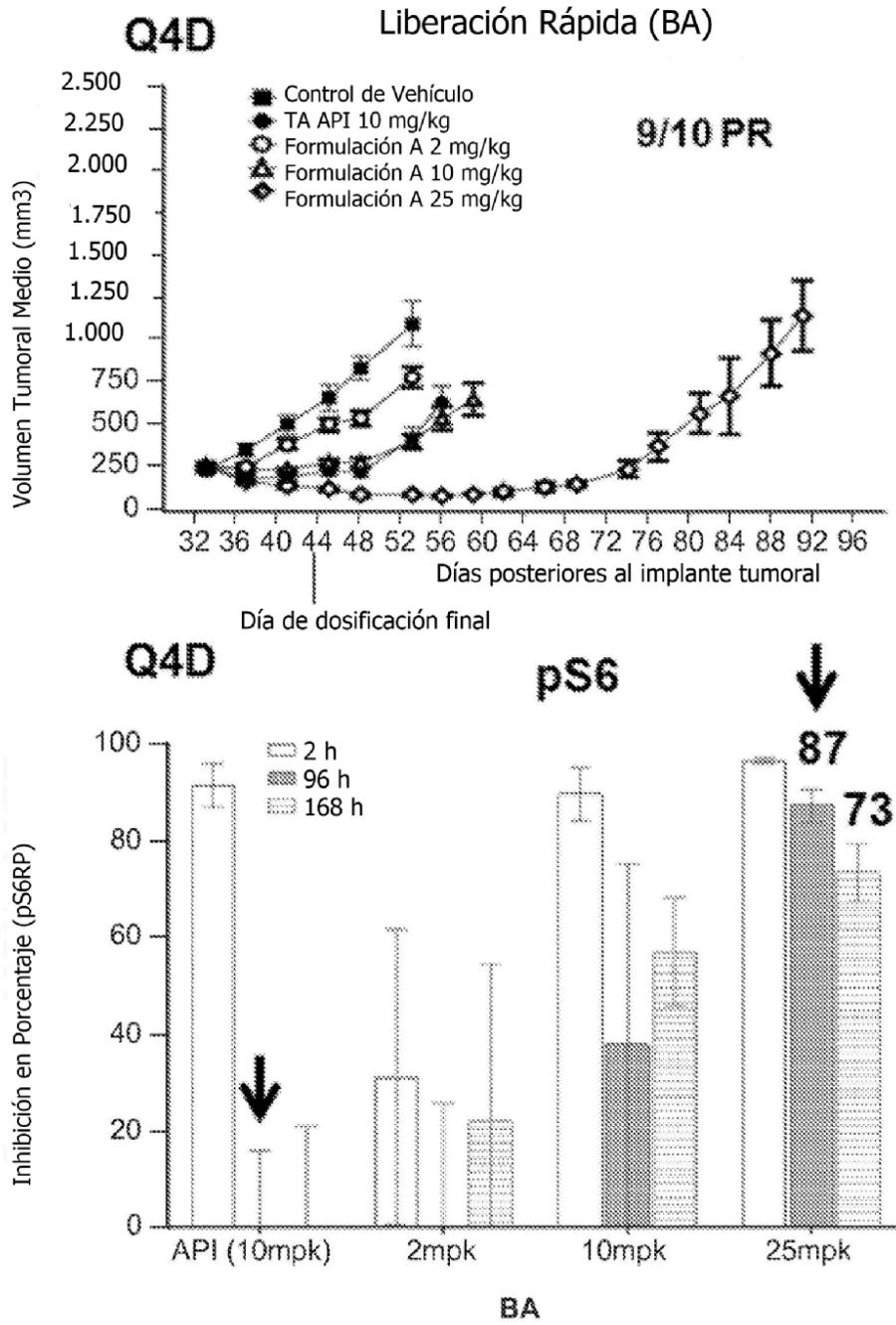


FIG. 8A

Liberación media (Oleico/TFA)

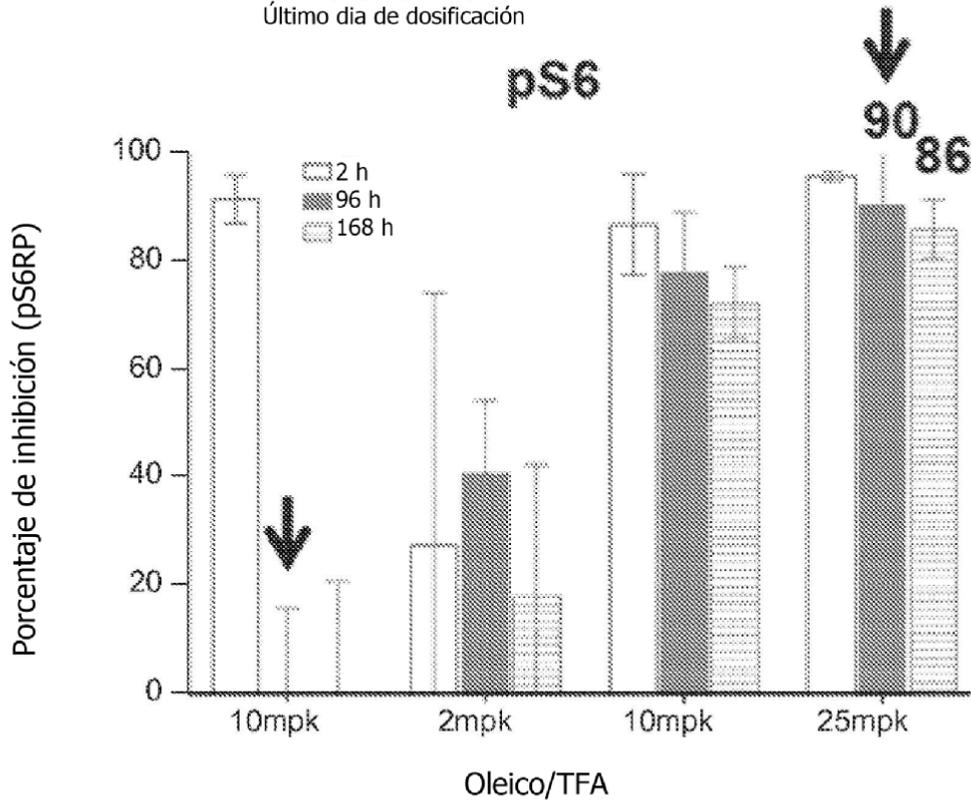
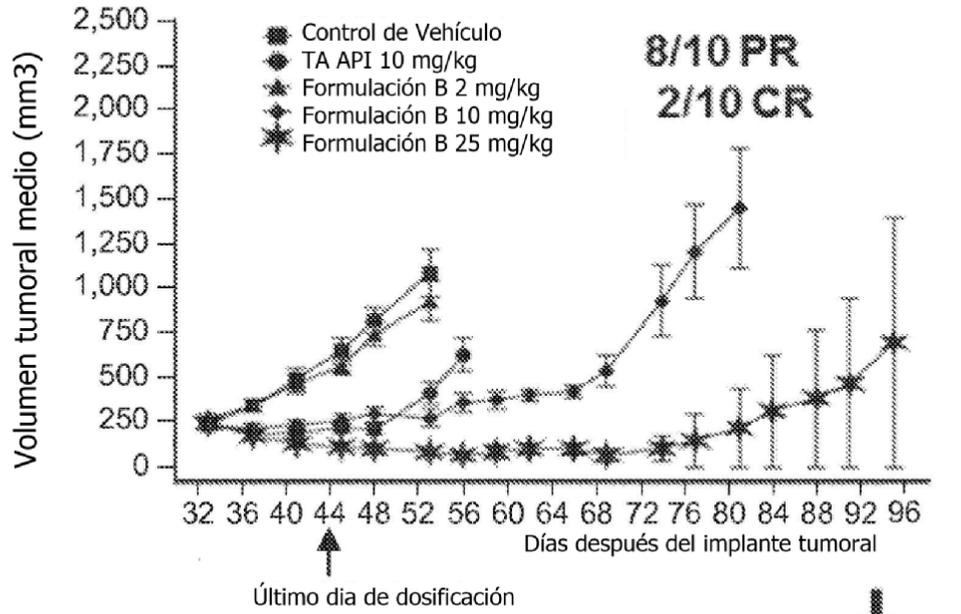


FIG. 8B

Liberación Lenta (Pamoato)

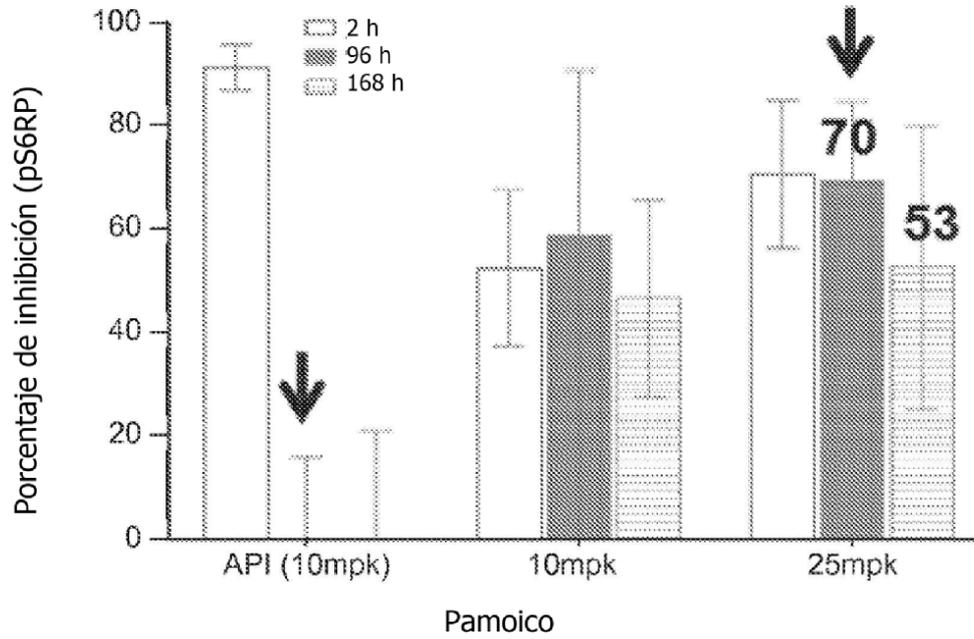
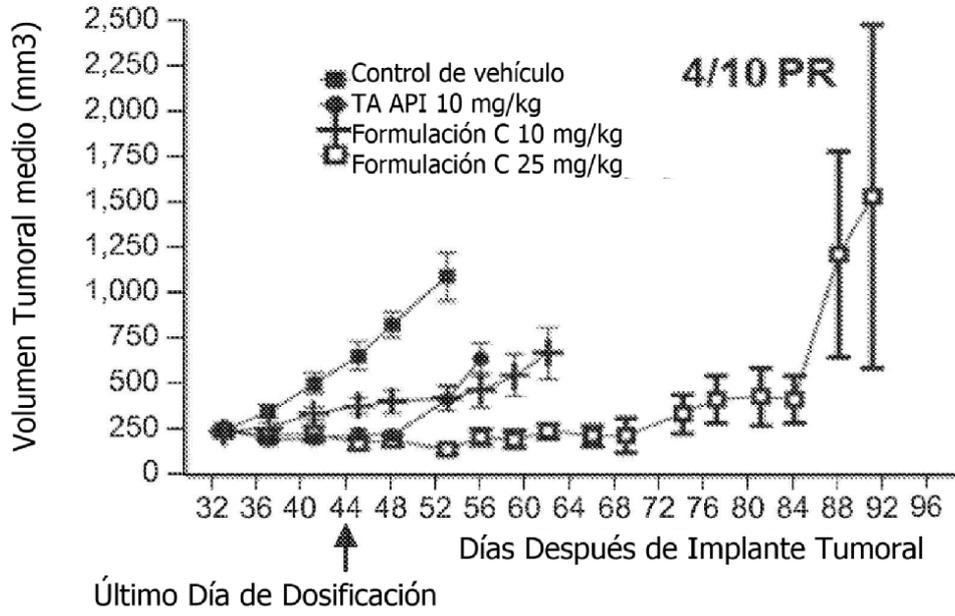


FIG. 8C

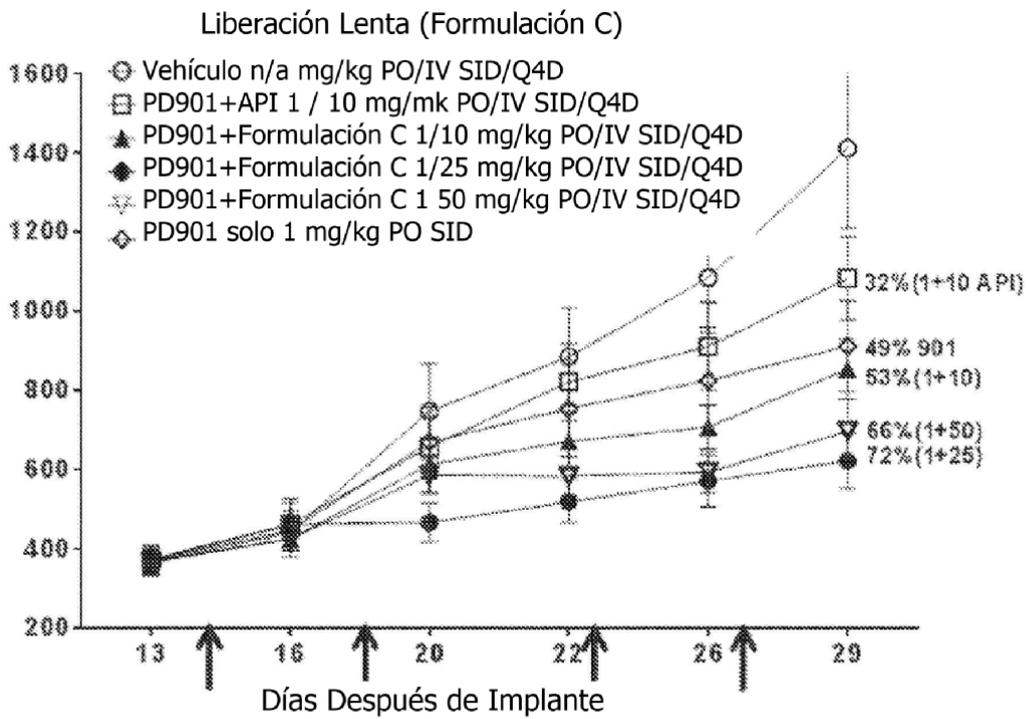
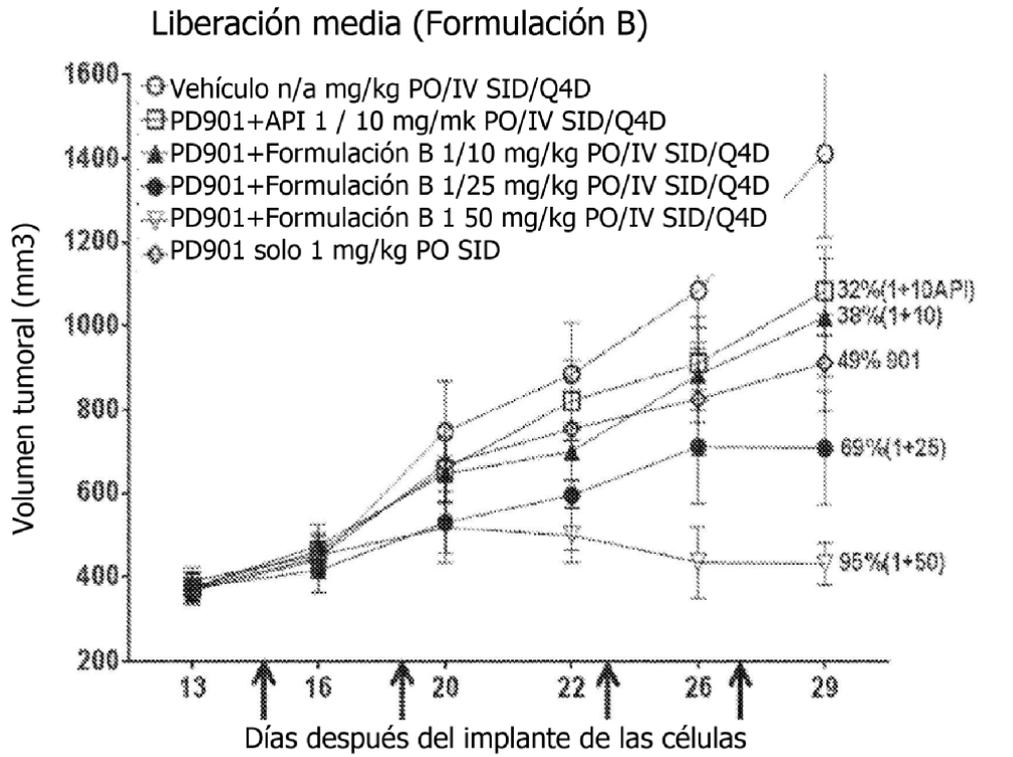


FIG. 9

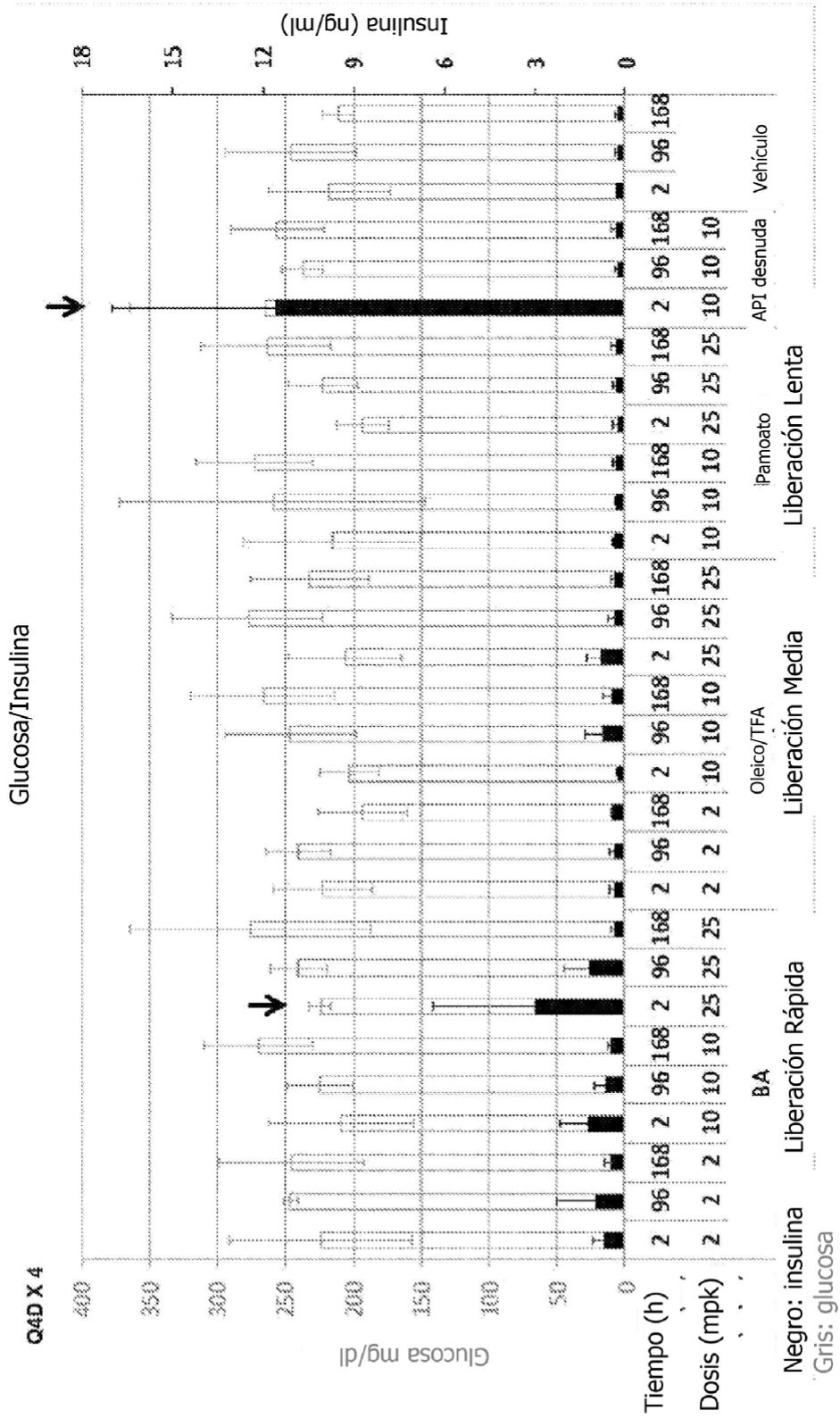


FIG. 10