

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 743 043**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/26** (2006.01)

**A61K 47/69** (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2008** **E 18162130 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019** **EP 3354267**

54 Título: **Sulforafano estabilizado**

30 Prioridad:

**23.01.2007 US 881875 P**

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

**18.02.2020**

73 Titular/es:

**PHARMAGRA LABS, INC. (100.0%)  
158 McLean Road  
Brevard, NC 28712, US**

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**ES 2 743 043 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Sulforafano estabilizado

## 5 Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere generalmente a sulforafano estabilizado, y sus análogos. La presente invención además se refiere generalmente a métodos para estabilizar el sulforafano y sus análogos.

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

20 El sulforafano, como se discutió anteriormente, es conocido como un compuesto anticancerígeno y antimicrobiano que se encuentra en vegetales crucíferos tales como col, brócoli, coles de brócoli, coles de Bruselas, coliflor, coles de coliflor, col china, col rizada, acelgas, rúcula, colinabo, mostaza, nabo, rábano rojo y berros. En la planta, está presente en forma unida como glucorafanina, un glucosinolato. El sulforafano frecuentemente se forma a partir de la glucorafanina en el daño de las células vegetales a través de una reacción enzimática.

25 Se conocen varios métodos sintéticos para producir sulforafano en la técnica. El sulforafano se sintetizó ya en 1948 por Schimid y Karrer (Schimid H. y Karrer, P.; Helvetica Chimica Acta. 1948; 31; 6: 1497-1505). La síntesis de Schimid resulta en una mezcla racémica. Otros métodos de síntesis de sulforafano desarrollados desde 1948 además tienden a resultar en mezclas racémicas de sulforafano. Además, el sulforafano se conoce como un aceite inestable. Debido a su inestabilidad, el sulforafano es difícil de fabricar y distribuir.

30 Las ciclodextrinas son una familia de oligosacáridos cíclicos compuestos de 5 o más unidades de  $\alpha$ -D-glucopiranosido enlazadas 1-4. La ciclodextrina bien caracterizada más grande contiene 32 unidades de 1,4-anhidroglucopiranosido, mientras que (como una mezcla pobremente caracterizada) además se conocen oligosacáridos cíclicos de 150 miembros (y mayores).

35 Las ciclodextrinas pueden formar complejos hospedador-huésped con moléculas hidrofóbicas dada la naturaleza única impartida por su estructura. Las ciclodextrinas incluyen un exterior que es suficientemente hidrofílico para impartir solubilidad en agua a la ciclodextrina. Se sabe que el interior de la ciclodextrina es hidrofílico, pero puede considerarse hidrofóbico con respecto al exterior de la ciclodextrina.

40 Las ciclodextrinas naturales, particularmente la betaciclodextrina, tienen una solubilidad acuosa limitada y su formación compleja con fármacos lipofílicos frecuentemente resulta en la precipitación de complejos de fármaco-ciclodextrina sólidos. Así, la solubilidad de la beta-ciclodextrina en agua es solo de aproximadamente 18,5 mg/mL a temperatura ambiente. Esta baja solubilidad acuosa se asocia, al menos en parte, con fuertes enlaces de hidrógeno intramoleculares en la red cristalina de ciclodextrina. La sustitución de cualquiera de los grupos hidroxilo formadores de enlaces de hidrógeno, incluso por entidades hidrofóbicas tales como grupos metoxi, aumentará la solubilidad acuosa de beta-ciclodextrina. Además, dado que estas manipulaciones frecuentemente producen grandes cantidades de productos isoméricos, la modificación química puede transformar las ciclodextrinas cristalinas en mezclas amorfas aumentando su solubilidad acuosa.

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

65 En soluciones acuosas, las ciclodextrinas forman complejos con muchos fármacos a través de un proceso en el cual las moléculas de agua ubicadas en la cavidad central se reemplazan por la molécula completa del fármaco, o más frecuentemente, por alguna porción lipofílica de la estructura del fármaco. Una vez incluidas en la cavidad de la ciclodextrina, las moléculas del fármaco pueden disociarse mediante dilución compleja, mediante el reemplazo del

fármaco incluido por alguna otra molécula adecuada (tales como lípidos dietéticos o sales biliares en el tracto GI) o, si el complejo se encuentra cerca en aproximación a una membrana biológica lipofílica (tal como la membrana mucosa del tracto GI), el fármaco puede transferirse a la matriz para la que tiene la mayor afinidad. Es importante destacar que, dado que no se forman ni rompen enlaces covalentes durante la formación del complejo fármaco-ciclodextrina, los complejos están en equilibrio dinámico con el fármaco libre y las moléculas de ciclodextrina (RA Rajewski y VJ Stella, "Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery", J. Pharm. Sci. 85 (11), 1142-1169 (1996)).

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

Para la preparación de los complejos sólidos, el agua puede eliminarse de las soluciones acuosas de fármaco-ciclodextrina por evaporación o sublimación, por ejemplo, secado por pulverización o liofilización. Además pueden aplicarse otros métodos para preparar complejos de fármaco-ciclodextrina sólidos, que incluyen los métodos de amasado, coprecipitación, neutralización y técnicas de molienda. En el método de amasado, el fármaco se añade a una suspensión acuosa de una ciclodextrina poco soluble en agua, tal como la beta-ciclodextrina. La mezcla puede mezclarse completamente, frecuentemente a temperaturas elevadas, para producir una pasta que después se seca. Esta técnica puede modificarse frecuentemente de manera que pueda lograrse en una sola etapa con la ayuda de mezcladores disponibles comercialmente que pueden funcionar a temperaturas superiores a 100 °C y bajo vacío. El método de amasado es un medio rentable para preparar complejos sólidos de ciclodextrina de fármacos poco solubles en agua. Además es posible la coprecipitación de un complejo de ciclodextrina mediante la adición de disolvente orgánico. Desafortunadamente, los solventes orgánicos usados como precipitantes frecuentemente interfieren con la complejación, lo que hace que este enfoque sea menos atractivo que el método de amasado. Se ha descubierto que algunos solventes orgánicos en algunas condiciones específicas, por ejemplo, solución acuosa de ácido acético al 10% (v/v), pueden mejorar la formación de complejos. Los complejos sólidos de fármacos ionizables a veces pueden prepararse mediante el método de neutralización en donde el fármaco se disuelve en una solución acuosa de ciclodextrina ácida (para fármacos básicos) o básica (para fármacos ácidos). La solubilidad del fármaco se reduce después a través de ajustes de pH apropiados (es decir, la formación del fármaco no ionizado) para forzar al complejo a salir de la solución. Finalmente, pueden formarse complejos de fármaco-ciclodextrina sólidos mediante la molienda de una mezcla física del fármaco y la ciclodextrina y después calentando la mezcla en un recipiente sellado de 60 a 90 °C.

#### Resumen de la invención

En un aspecto, la invención es una composición que comprende un complejo de sulforafano y alfa-ciclodextrina.

Además se describe en la presente descripción, una composición que incluye un complejo de un análogo de sulforafano y una ciclodextrina.

En otro aspecto, la invención es una composición farmacéutica. La composición farmacéutica comprende un complejo de alfa-ciclodextrina y sulforafano, y un excipiente.

Además se describe en la presente descripción una composición nutracéutica. La composición nutracéutica incluye un complejo de ciclodextrina y sulforafano, o un análogo de sulforafano, y un excipiente.

#### Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un esquema de reacción representativo.

La Figura 2 es un esquema de reacción representativo.

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

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

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

La Figura 6 es una tabla que muestra datos de estabilización a largo plazo de composiciones alfaB de acuerdo con la presente invención.

La Figura 7 es una tabla que muestra datos de estabilización a largo plazo de composiciones de alfaC de acuerdo con la presente invención.

La Figura 8 es una tabla que muestra los datos de estabilización a largo plazo de composiciones betaB.

## Descripción detallada de varias modalidades

- La Figura 1 representa un método mejorado para formar sulforafano. Como se describe en la presente descripción, la ftalimida de potasio y el dibromuro de tetrametileno pueden combinarse para formar bromobutilftalimida (Compuesto intermedio A). La bromobutilftalimida puede combinarse con metil mercaptano (MeSH) en presencia de metanol y sodio para formar el Compuesto intermedio B. Después del secado, el Compuesto intermedio B puede combinarse con peróxido de hidrógeno y metil terc-butil éter (MTBE) para formar una mezcla racémica de Compuesto intermedio C.
- Para formar un Compuesto intermedio C rico enantioméricamente (Figura 2), y finalmente un sulforafano rico enantioméricamente, la reacción de oxidación asimétrica (Sharpless modificada) puede incluir la adición de un reactivo Sharpless, tal como una mezcla 1:1:2 isopropóxido de titanio (IV), tartrato de dietilo, y el hidroperóxido de t-butilo. Como se describe en la presente descripción, el reactivo Sharpless puede ser una mezcla 1:2:1:1 de isopropóxido de titanio (IV), tartrato de dietilo, agua y el hidroperóxido de t-butilo a -20 °C en un disolvente, tal como diclorometano. Los expertos con habilidades ordinarias en la técnica reconocerán que el tartrato de dietilo debe usarse en una forma enantioméricamente pura para producir el sulforafano rico enantioméricamente. En consecuencia, debe elegirse el isómero (+) o (-), en dependencia de la quiralidad deseada del sulforafano. La oxidación se realiza típicamente a temperatura reducida (es decir, menos de aproximadamente 0 °C) en diclorometano.
- El Compuesto intermedio C (ya sea la mezcla racémica o la versión pura enantioméricamente, en dependencia del sulforafano deseado) puede combinarse después con metilamina en etanol para formar el Compuesto intermedio D. Finalmente, el Compuesto intermedio D puede combinarse con cloroformo, hidróxido de sodio, y tiosgenio para formar sulforafano.
- En un aspecto, la invención es una composición que incluye un complejo de sulforafano y alfa-ciclodextrina. Como además se describe en la presente descripción, las ciclodextrinas adecuadas pueden seleccionarse de una o más de W6 (alfa) ciclodextrina (una molécula de anillo de seis azúcar), W7 (beta) ciclodextrina (una molécula de anillo de siete azúcar), W8 (gamma) ciclodextrina (una molécula de anillo de ocho azúcar) y sus mezclas.
- En una modalidad, el sulforafano puede ser un sulforafano rico enantioméricamente. En otra modalidad, el sulforafano puede ser una mezcla racémica. Aun en otra modalidad, cualquier relación de enantiómeros de sulforafano puede estar presente en el complejo.
- Cuando se utilizan análogos de sulforafano, los análogos adecuados incluyen, pero no se limitan a, 6-isotiocianato-2-hexanona, exo-2-acetil-6-isotiocianatonorbornano, exo-2-isotiocianato-6-metilsulfonilnorbornano, 6-isotiocianato-2-hexanol, 1-isotiocianato-4-dimetilfosfonilbutano, exo-2-(1'-hidroxietil)-5-isotiocianatonorbornano, exo-2-acetil-5-isotiocianatonorbornano, 1-isotiocianato-5-metilsulfonilpentano, y cis-o trans- 3-(metilsulfonil)ciclohexilmetilisotiocianato, y sus mezclas.
- Como además se describe en la presente descripción, las composiciones de la presente invención pueden incluir complejos de ciclodextrina con sulforafano y análogos de sulforafano.
- Además se describe en la presente descripción un método para estabilizar sulforafano y análogos de este. El método incluye poner en contacto sulforafano, o un análogo de este, y al menos una ciclodextrina para formar un complejo entre el sulforafano, o análogo de este, y la ciclodextrina.
- La etapa de poner en contacto el sulforafano, o un análogo de este, con al menos una ciclodextrina puede incluir disolver o suspender la ciclodextrina en un disolvente o mezcla de disolventes para formar una primera solución o suspensión. Similarmente, el sulforafano, o un análogo de este, puede disolverse o suspender en el mismo o diferente disolvente o mezcla de disolventes para formar una segunda solución o suspensión. La primera solución o suspensión puede combinarse después para formar el presente complejo entre sulforafano, o un análogo de este, y al menos una ciclodextrina. El complejo puede separarse después de la solución y opcionalmente purificarse, resultando en un complejo de sulforafano estabilizado.
- La etapa de poner en contacto sulforafano, o un análogo de este, con al menos una ciclodextrina puede incluir alternativamente disolver o suspender al menos una ciclodextrina en un disolvente o mezcla de solventes para formar una solución o suspensión, y después añadir sulforafano, o un análogo de esta, a la solución o suspensión para formar el presente complejo.
- Además, la etapa de poner en contacto el sulforafano, o un análogo de este, con al menos una ciclodextrina puede realizarse por otros métodos. Por ejemplo, puede utilizarse un disolvente que disolverá completamente tanto el sulforafano, o análogo de este, como la ciclodextrina. Se describe además en la presente descripción, la ciclodextrina puede disolverse o suspenderse en un disolvente o una mezcla de solventes y después colocarse en el rotovap. El sulforafano, o análogo de este, puede pulverizarse directamente después en la solución o suspensión, ya sea en forma pura o como una solución o suspensión de sulforafano, o un análogo de este, en un disolvente o mezcla de solventes.

5 La etapa de poner en contacto además puede lograrse mediante el uso de un sistema disolvente bifásico. Por ejemplo, el sulforafano, o análogo de este, puede combinarse en disolventes inmiscibles separados (ya sea como suspensiones o en solución). Los disolventes inmiscibles pueden mezclarse después completamente hasta que se forme un complejo. El complejo puede aislarse después mediante una de las técnicas de aislamiento discutidas en la presente descripción.

10 Puede ser deseable realizar la etapa de poner contacto en ausencia de disolventes. Por ejemplo, en una técnica de secado por pulverización, una neblina de sulforafano, o un análogo de este, puede pulverizarse o rociarse con ciclodextrina pura para producir el presente complejo.

15 Como además se describe en la presente descripción, la etapa de disolver o suspender la ciclodextrina incluye disolver o suspender una ciclodextrina seleccionada de una o más de W6 (alfa) ciclodextrina, W7 (beta) ciclodextrina, W8 (gamma) ciclodextrina y sus combinaciones. La etapa de disolver o suspender una ciclodextrina además puede incluir disolver o suspender una o más de otras ciclodextrinas conocidas en la técnica.

20 Además, la etapa de disolver o suspender la ciclodextrina puede incluir disolver o suspender la ciclodextrina en un disolvente seleccionado del grupo que incluye disolventes débilmente no polares a polares. Los disolventes adecuados contemplados como útiles de acuerdo con la presente invención incluyen uno o más de agua, metanol, etanol, n-propanol, iso-propanol, n-butanol, sec-butanol, iso-butanol, terc-butanol, alcoholes de alto peso molecular, dimetilformamida, dietilformamida, etilenglicol, trietilenglicol, glicerina, polietilenglicol, ácido fórmico, ácido acético, formamida, acetona, tetrahidrofurano, dioxano, metil etil cetona, cetonas de alto peso molecular, acetato de etilo, acetonitrilo, N, N-dimetilacetamida, dimetilsulfóxido, disulfuro de carbono, hexano, isómeros de hexano, ciclohexano, heptano, isómeros de heptano, disolventes C<sub>8</sub>-C<sub>16</sub>, aceite mineral, éter dietílico, metil terc-butil éter, cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, benceno, nitrobenzono, tolueno, y sus mezclas.

25 Los disolventes que tienen una constante dieléctrica mayor que aproximadamente 5,0 se contemplan como útiles de acuerdo con la presente invención para formar suspensiones. Los disolventes que tienen una constante dieléctrica mayor que aproximadamente 20,0 se contemplan como útiles de acuerdo con la presente invención a partir de la formación de soluciones. Sin limitarse a la teoría, se cree que los disolventes más útiles son disolventes débilmente no polares, tales como el acetato de etilo y el diclorometano.

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

35 La etapa opcional de eliminar el complejo de la solución puede realizarse mediante procesos conocidos en la técnica como útiles en las técnicas de separación. Las técnicas de separación contempladas como útiles en la presente invención pueden incluir una o más de precipitación, filtración, evacuación, liofilización (secado por congelación), secado por pulverización, y destilación. Como además se describe en la presente descripción, el complejo puede precipitarse de la solución añadiendo un alcohol, tal como etanol, a la solución.

40 Como además se describe en la presente descripción, el sulforafano puede pulverizarse sobre la ciclodextrina en una secadora. Como se describe en la presente descripción, el sulforafano pulverizado puede ser puro o en solución. Similarmente, la ciclodextrina puede ser pura o puede estar en solución.

45 Cada etapa de disolución puede realizarse a temperaturas adecuadas para el disolvente seleccionado. Por ejemplo, la solubilidad de la ciclodextrina y el sulforafano en algunos solventes puede requerir temperaturas elevadas, mientras que la solubilidad de la ciclodextrina y el sulforafano en otros disolventes puede requerir temperaturas más bajas. Como se describe en la presente descripción, la solubilidad de la ciclodextrina y el sulforafano puede permitir la disolución a temperatura ambiente. Los expertos con habilidades ordinarias en la técnica reconocerán la relación entre la ciclodextrina y el sulforafano y los disolventes seleccionados, y serán capaces de hacer una determinación de la temperatura basada en la relación reconocida.

50 El sulforafano estabilizado formado de acuerdo con la presente invención puede almacenarse a temperatura ambiente, a temperaturas elevadas, o a temperaturas inferiores a la temperatura ambiente. El sulforafano estabilizado almacenado a temperaturas inferiores a aproximadamente la temperatura ambiente demostró la mayor estabilidad (como se ve en la Figura 5), pero el sulforafano estabilizado mostró una estabilidad mejorada sobre el sulforafano no estabilizado a todas las temperaturas.

55 El sulforafano, como la mayoría de los isotiocianatos, se conoce en la técnica como una molécula hidrofílica. En consecuencia, los expertos con habilidades ordinarias en la técnica podrían esperar que un complejo de sulforafano y ciclodextrina sea más soluble en agua que la ciclodextrina sola. Inesperadamente, los presentes inventores descubrieron que un complejo de sulforafano y ciclodextrina es en realidad menos soluble que la ciclodextrina sola. La solubilidad reducida permite además la separación del complejo de la solución, quedando ciclodextrina no complejada en la solución.

- 5 Sin limitarse a la teoría, se cree que el sulforafano, aunque es una molécula hidrofílica, es en realidad hidrofóbica con respecto a la ciclodextrina. Dicho de otra manera, el sulforafano, y sus análogos parecen ser menos hidrofílicos que otros isotiocianatos. En consecuencia, cuando forma un complejo en el centro relativamente hidrofóbico de las ciclodextrinas, el complejo general pierde la solubilidad en agua, lo que permite la separación.
- Además se describe en la presente descripción, el sulforafano estabilizado para su uso en el suministro de tratamientos anticancerígenos y/o antimicrobianos a un sujeto que necesita dicho tratamiento.
- 10 Para facilitar la referencia, la presente invención se describirá con referencia a la administración a sujetos humanos. Sin embargo, se entenderá que tales descripciones no se limitan a la administración a humanos, sino que además incluirán la administración a otros animales, tales como mamíferos, a menos que se indique explícitamente de cualquier otra forma. Por ejemplo, además de ser útiles para el tratamiento humano, estas combinaciones además son útiles para el tratamiento de mamíferos, que incluyen caballos, perros, gatos, ratas, ratones, ovejas, cerdos, etc.
- 15 Un primer componente del uso es el sulforafano, o un análogo de este, estabilizado de acuerdo con los métodos discutidos anteriormente. Los componentes pueden ser de cualquier pureza o grado, siempre que la preparación sea de calidad y estabilidad adecuada para uso farmacéutico. Los componentes pueden proporcionarse en forma pura, o pueden acompañarse con impurezas o compuestos comúnmente asociados que no afectan su actividad fisiológica o seguridad.
- 20 El uso puede incluir además la administración de otros componentes farmacéuticamente aceptables. El término "farmacéuticamente aceptable" se usa adjetivamente en la presente descripción para significar que el nombre modificado es apropiado para su uso en un producto farmacéutico.
- 25 Cuando se suministra el presente sulforafano estabilizado junto con un portador farmacéuticamente aceptable, se forma una composición farmacéutica.
- En la presente descripción se describe una composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de los trastornos descritos en la presente descripción. La composición farmacéutica comprende sulforafano estabilizado, o un análogo de este, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable, o un excipiente farmacéuticamente aceptable, términos que pueden usarse indistintamente en la presente descripción.
- 30 Los portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables se eligen de manera que los efectos secundarios del(de los) compuesto(s) farmacéutico(s) se minimicen y el rendimiento del(de los) compuesto(s) no se cancele o inhiba de tal manera que el tratamiento sea ineficaz.
- 35 El portador farmacéuticamente aceptable además puede seleccionarse en base a la vía de administración deseada del(de los) compuesto(s). La vía de administración deseada puede ser una o más de oral, enteral, parenteral, inyectable, bucal, y tópica. Por ejemplo, en un aspecto, el portador es adecuado para administración oral. En algunos aspectos, la composición incluye un portador o agente adicional que es adecuado para promover el suministro del(de los) compuesto(s) al tracto gastrointestinal o intestinal.
- 40 El portador debe ser aceptable en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la composición y no ser perjudicial para el receptor. El portador puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y se formula preferentemente con el(los) compuesto(s) como una composición de dosis unitaria, por ejemplo, un comprimido, que puede contener de 0,01% a 95% en peso del(de los) compuesto(s) activo(s).
- 45 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse mediante cualquiera de las técnicas de farmacia bien conocidas, por ejemplo, mediante la mezcla de los componentes.
- 50 Ya sea que los compuestos terapéuticos de la presente invención se administren enteral o parenteralmente, por separado o juntos, cada compuesto terapéutico puede estar contenido en una formulación farmacéutica adecuada de cualquiera de los excipientes, diluyentes u otros componentes de formulaciones farmacéuticamente aceptables descritos en la presente descripción.
- 55 Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, solución salina fisiológica, solución de Ringer, fosfato o tampón, solución salina tamponada, y otros portadores conocidos en la técnica. Las composiciones farmacéuticas además pueden incluir estabilizantes, antioxidantes, colorantes, y diluyentes. Los portadores y aditivos farmacéuticamente aceptables se eligen de manera que los efectos secundarios del compuesto farmacéutico se minimicen y el rendimiento del compuesto no se cancele o inhiba de tal manera que el tratamiento sea ineficaz. El término "cantidad farmacéuticamente eficaz" significará esa cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que se está buscando por un investigador o clínico. Esta cantidad puede ser una cantidad terapéuticamente eficaz.
- 60 Las presentes composiciones farmacéuticas pueden administrarse enteralmente y/o parenteralmente. La administración parenteral incluye métodos administrativos subcutáneos, intramusculares, intradérmicos, intravenosos, y otros conocidos
- 65

en la técnica. La administración enteral incluye solución, comprimidos, cápsulas de liberación sostenida, cápsulas con cubierta entérica, jarabes, bebidas, alimentos, y otros suplementos nutricionales. Cuando se administra, la presente composición farmacéutica puede estar a la temperatura corporal o cerca de ella.

5 Particularmente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención, o composiciones en las que están incluidas, pueden administrarse por vía oral, por ejemplo, como comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, pastillas, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas para usar por vía oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de las composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden  
10 contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y agradables al paladar. Los comprimidos pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido alginico; agentes aglutinantes, por ejemplo almidón, gelatina, o acacia, y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden ser no recubiertos o pueden ser recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y adsorción en el tracto gastrointestinal y de ese modo proporcionan una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retraso en el tiempo tal como monoestearato de glicerilo  
20 o diestearato de glicerilo.

Las formulaciones para uso oral pueden presentarse además como cápsulas de gelatina duras en donde los ingredientes activos se mezclan con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blandas en donde los ingredientes activos están presentes como tal, o mezclados con agua o un medio aceite, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida, cualquiera de una variedad de extractos de hierbas, leche, o aceite de oliva.  
25

Las suspensiones acuosas pueden producirse que contengan los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma acacia; agentes dispersantes o humectantes pueden ser fosfátidos de origen natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenooxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación del óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietileno sorbitán.  
30  
35

Las suspensiones acuosas además pueden contener además uno o más conservantes, por ejemplo, etil o n-propil p-hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, o uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.  
40

Las suspensiones oleosas pueden formularse mediante la suspensión de los ingredientes activos en un ácido graso omega 3, un aceite vegetal, por ejemplo aceite de araquís, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de nuez de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico.  
45

Los agentes edulcorantes, tales como los mencionados anteriormente, y agentes saborizantes pueden añadirse para proporcionar una preparación oral agradable al paladar. Estas composiciones pueden conservarse a través de la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.  
50

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en una mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se ilustran por aquellos ya mencionados anteriormente. Los excipientes adicionales, por ejemplo los agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes, además pueden estar presentes.  
55

Los jarabes y elixires que contienen la presente terapia de combinación puede formularse con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones pueden contener además un demulcente, un conservante, y agentes saborizantes y colorantes.  
60

El método y las composiciones en cuestión en los que puede utilizarse además pueden administrarse por vía parenteral, ya sea por vía subcutánea, o intravenosa o intramuscular, o intraesternal, o mediante técnicas de infusión, en forma de suspensiones estériles acuosas u oleaginosas inyectables, o tópicamente. Tales suspensiones pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida con el uso de aquellos agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente, u otros agentes aceptables. La preparación inyectable estéril puede ser además una suspensión o solución inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico,  
65

5 por ejemplo como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil que incluyen mono o diglicéridos. Además, los ácidos grasos poliinsaturados n-3 pueden encontrar uso en la preparación de inyectables;

10 En muchos casos, la vía de administración preferida es la enteral (por ejemplo, por vía oral). La administración oral incluye solución, comprimidos, cápsulas de liberación sostenida, cápsulas con recubrimiento entérico, y jarabes. La composición farmacéutica puede administrarse en formulaciones de dosificación unitaria que contienen portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales, según se desee.

15 Las composiciones destinadas para usar por vía oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de las composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y agradables al paladar.

20 El portador farmacéuticamente aceptable además puede seleccionarse en base a la vía de administración deseada del(de los) compuesto(s). Por ejemplo, en una modalidad preferida, el portador es adecuado para administración oral. En algunas modalidades, la composición incluye un portador o agente adicional que es adecuado para promover el suministro del(de los) compuesto(s) al tracto gastrointestinal o intestinal.

25 El portador debe ser aceptable en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la composición y no ser perjudicial para el receptor. El portador puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y se formula preferentemente con el(los) compuesto(s) como una composición de dosis unitaria, por ejemplo, un comprimido, que puede contener de 0,01% a 95% en peso del(de los) compuesto(s) activo(s).

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse mediante cualquiera de las técnicas de farmacia bien conocidas, por ejemplo, mediante la mezcla de los componentes.

30 Los comprimidos pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables, que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido alginico; agentes aglutinantes, por ejemplo almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico, o talco.

35 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral pueden presentarse en unidades discretas que contienen una cantidad predeterminada cada una de al menos un compuesto terapéutico útil en la presente invención; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión aceite-en-agua o agua-en-aceite. Como se indica, tales composiciones pueden prepararse por cualquier método adecuado de farmacia, que incluya la etapa de poner en asociación el(los) componentes activos y el portador (el cual puede estar constituido por uno o más ingredientes auxiliares). Generalmente, las composiciones se preparan mediante la mezcla íntima y uniforme del compuesto activo con un portador líquido o sólido finamente dividido o ambos, y después, si es necesario, se conforma el producto.

45 Por ejemplo, un comprimido puede prepararse mediante la compresión o el moldeo de un polvo o gránulos del compuesto, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares. Los comprimidos pueden prepararse al comprimir, en una máquina adecuada, el componente en una forma de flujo libre, tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con agentes aglutinantes, lubricantes, diluyentes inertes y/o agente(s) tensioactivo(s)/dispersante(s). Los comprimidos moldeados pueden fabricarse mediante moldeo, en una máquina adecuada, el componente en polvo se humedece con un diluyente líquido inerte.

50 El suministro oral de las combinaciones de la presente invención puede incluir formulaciones, como es bien conocido en la técnica, para proporcionar un suministro prolongado o sostenido del fármaco al tracto gastrointestinal y/o intestinal por cualquier número de mecanismos. Estos incluyen, pero no se limitan a, liberación sensible al pH de la forma de dosificación basada en el cambio de pH del intestino delgado, erosión lenta de un comprimido o cápsula, retención en el estómago basada en las propiedades físicas de la formulación, bioadhesión del forma de dosificación al revestimiento de la mucosa del tracto intestinal, o liberación enzimática del fármaco activo desde la forma de dosificación. Para algunos de los compuestos terapéuticos útiles en los métodos, combinaciones y composiciones de la presente invención, el efecto pretendido es extender el período de tiempo durante el cual la molécula del fármaco activo se suministra al sitio de acción mediante la manipulación de la forma de dosificación. Así, las formulaciones de liberación controlada con recubrimiento entérico y con recubrimiento entérico están dentro del alcance de la presente invención. Los recubrimientos entéricos adecuados incluyen ftalato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y polímeros aniónicos de ácido metacrílico y éster metílico de ácido metacrílico.

65 En ciertas modalidades, la composición farmacéutica puede comprender comprimidos que pueden no estar recubiertos o pueden estar recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y



de ese modo proporcionar una acción retardada durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retraso en el tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

5 Los jarabes y elixires que contienen el sulforafano estabilizado, o un análogo de este, pueden formularse con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, sorbitol, o sacarosa. Tales formulaciones pueden contener además un demulcente, un conservante, y agentes saborizantes y colorantes. Las formas de dosificación líquida para la administración oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes, y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tal como agua. Tales composiciones pueden comprender, además, adyuvantes, tales como agentes humectantes, emulsionantes y agentes de suspensión, y edulcorantes, saborizantes, y aromatizantes.

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

15 La presente invención además abarca la administración bucal o "sublingual", que incluye pastillas o una goma masticable que comprende los compuestos, que se exponen en la presente descripción. Los compuestos pueden depositarse en una base aromatizada, generalmente sacarosa, y acacia o tragacanto, y pastillas que comprenden los compuestos en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

20 El método sujeto de prescribir uno o más de sulforafano estabilizado, análogos estabilizados de sulforafano, y composiciones que comprenden el mismo que además pueden administrarse por vía parenteral, por ejemplo, ya sea por vía subcutánea, o intravenosa, o intramuscular, o intraesternal, o mediante técnicas de infusión, en la forma de suspensiones estériles inyectables acuosas u oleaginosas. Tales suspensiones pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida mediante el uso de aquellos agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados, los cuales se mencionaron anteriormente, u otros agentes aceptables. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o una suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico aceptable para la vía parenteral, por ejemplo, como una solución de 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, cualquier aceite fijo suave puede emplearse, que incluye mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos n-3 poliinsaturados pueden encontrar uso en la preparación de inyectables.

25 30 35 40 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración parenteral pueden comprender convenientemente preparaciones acuosas estériles de un compuesto de la presente invención. Estas preparaciones se administran preferentemente por la vía intravenosa, aunque la administración además puede efectuarse por medio de inyección subcutánea, intramuscular, o intradérmica o por infusión. Tales preparaciones pueden prepararse convenientemente mediante la mezcla del compuesto con agua y unir la solución estéril e isotónica resultante con la sangre. Las composiciones inyectables de acuerdo con la invención generalmente contendrán de 0,01 a 10% p/p de un compuesto descrito en la presente descripción.

45 50 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas estériles inyectables pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida con el uso de agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser además una suspensión o solución inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, solución de Ringer, y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil que incluyen mono o diglicéridos. Además, los ácidos grasos tal como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de los inyectables.

55 El ingrediente activo puede administrarse además mediante inyección como una composición en donde, por ejemplo, solución salina, dextrosa o agua pueden usarse como un portador adecuado. Una dosis diaria adecuada de cada compuesto terapéutico activo es una que alcanza el mismo nivel de suero sanguíneo que el producido por administración oral como se describió anteriormente.

60 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la aplicación tópica sobre la piel preferentemente toman la forma de ungüentos, cremas, lociones, pastas, geles, pulverizadores, polvos, jaleas, colirios, soluciones o suspensiones, aerosoles, o aceites. Los portadores que pueden usarse incluyen vaselina, (*por ejemplo* Vaseline®), lanolina, polietilenglicoles, alcoholes, y combinaciones de dos o más de estos. El compuesto o compuestos activos están generalmente presentes en una concentración de 0,01 a 50% p/p de la composición, por ejemplo, de 0,01 a 2%.

65 La presente invención además puede incluir cantidades seguras y efectivas de agentes de isotonicidad, *por ejemplo*, sales, tales como cloruro de sodio, y con mayor preferencia agentes de isotonicidad no electrolíticos, tales como sorbitol, y manitol.

La solubilidad de los componentes de las presentes composiciones puede mejorarse mediante un surfactante u otro

codisolvente adecuado en la composición. Tales codisolventes incluyen polisorbato 20, 60, y 80, surfactantes de polioxietileno/polioxipropileno (*por ejemplo*, Pluronic F-68, F-84 y P-103), ciclodextrina u otros agentes conocidos por los expertos en la técnica. Típicamente, tales codisolventes se emplean a un nivel de 0,01% a 2% en peso.

5 Los excipientes y portadores farmacéuticamente aceptables abarcan todo lo anterior y similares. Las consideraciones anteriores sobre formulaciones efectivas y procedimientos de administración se conocen bien en la técnica y se describen en los libros de texto estándar. Ver *por ejemplo* Gennaro, AR, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ma Edición, (Lippincott, Williams and Wilkins), 2000; Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975; Liberman, y otros, Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Nueva York, NY, 1980; y Kibbe, y otros, Eds., Handbook of Pharmaceutical Excipients (3rd Ed.), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999.

15 En el método descrito en la presente descripción, un sujeto que necesita tratamiento y/o prevención de los trastornos descritos en la presente descripción y/o afecciones relacionadas puede tratarse con una cantidad del presente sulforafano estabilizado y/o análogos estabilizados de sulforafano, donde la cantidad de los componentes individuales proporcionan una dosis o cantidad que es suficiente para constituir una cantidad eficaz de tratamiento o prevención.

20 Como se usa en la presente descripción, una "cantidad eficaz" significa la dosis o cantidad de la presente terapia de combinación que se administrará a un sujeto y la frecuencia de administración al sujeto que se determina fácilmente por un experto en la técnica, mediante el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas y tiene alguna acción terapéutica. La dosis o cantidad eficaz a administrar a un sujeto y la frecuencia de administración al sujeto puede ser determinada fácilmente por un experto en la técnica mediante el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas.

25 La frase "terapéuticamente eficaz" y "eficaz para el tratamiento, prevención, o inhibición" pretende calificar la cantidad de cada agente para su uso en la terapia que logrará el objetivo de proporcionar un anticancerígeno, quimiopreventivo, antibacteriano, y/o otra terapia medicinal.

30 La cantidad de los compuestos estabilizados presentes que se requiere para lograr el efecto biológico deseado dependerá, por supuesto, de una serie de factores tales como el compuesto específico elegido, el uso para el que está destinado, el modo de administración, y el huésped que se trata y el estado clínico del receptor.

35 Un síntoma cancerígeno, tumorigénico, o antibacteriano se considera perfeccionado o mejorado si se logra algún beneficio, sin importar cuán leve sea.

Se pretende que una "cantidad terapéuticamente eficaz" califique la cantidad de sulforafano estabilizado requerido para tratar, prevenir o inhibir carcinogénesis, tumorigénesis y afecciones inducidas por bacterias, tales como úlceras.

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

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

50 Las dosis para las presentes composiciones y métodos proporcionados en la presente descripción pueden determinarse y ajustarse en base a la eficacia demostrada para proporcionar un resultado quimioprotector o quimiopreventivo. Además, un experto en la técnica sabrá medir y cuantificar la presencia o ausencia de la carcinogénesis o síntomas de la tumorigénesis.

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

Los expertos en la técnica apreciarán que las dosis pueden determinarse además con la orientación de Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Novena edición (1996), Apéndice II, págs. 1707-1711.

60 En los ejemplos, todos los porcentajes se dan en peso a menos que se indique de cualquier otra manera.

## EJEMPLOS

Ejemplo 1

65

Este ejemplo ilustra un método para formar una mezcla racémica de sulforafano. La vía de reacción se ilustra en la Figura 1.

5 Compuesto intermedio A:

La ftalimida de potasio (65 g, 350 mmol, 1,00 eq.) y el dibromuro de tetrametileno (200 g, 930 mmol, 2,66 eq.) se combinaron (puros) y calentaron durante 12 horas. El exceso de dibromuro de tetrametileno se eliminó a través de evaporación rotatoria (rotovap). El residuo resultante se digirió con etanol y se filtró. El material que cristalizó en reposo se filtró, se lavó con etanol y se secó *al vacío*. Se obtuvo una segunda cosecha por concentración de filtrado y lavados combinados. La masa combinada de cultivos fue de 60,5 g (61% de rendimiento).

Compuesto intermedio B:

15 Toda la cristalería se secó (corriente de N<sub>2</sub>/pistola de calor). Un frasco de fondo redondo de 2 litros, equipado con una barra de agitación, se cargó con 300 mL de metanol anhidro. Se añadió cuidadosamente el sodio (6,48 g, 281,8 mmol, 1,06 eq.). A temperatura ambiente, se cargó el metilmercaptano (MeSH, 13,56 g, 281,8 mmol, 1,06 eq) a través una jeringa en una porción. [El MeSH (gaseoso) se atrapó en un frasco de fondo redondo de varios cuellos separado en un baño de hielo seco/acetona equipado con una trampa para dedos de hielo seco/acetona helada y se transfirió a una jeringa seca/enfriada en congelación.] Bromobutilftalimida (75,0 g, 265,8 mmol, 1,00 eq.) se suspendió en 300 mL de metanol anhidro y se cargó a la reacción. La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante toda la noche en nitrógeno. Una alícuota de la reacción analizada por cromatografía de gases confirmó que la reacción se había completado. A continuación, se añadieron 300 mL de agua a la reacción y el alcohol se eliminó a través de la destilación en rotovapor hasta el punto que el producto precipitó de la solución. El producto (sólido blanco) se filtró y se lavó con 2 x 20 25 150 ml de agua fría. El producto se secó en un horno de vacío a 40 °C durante la toda noche para dar 65,2 g (98% de rendimiento) de un sólido blanco que fue 98,4% puro mediante cromatografía de gases. El producto se almacenó en nitrógeno.

Este procedimiento se adaptó de un proceso informado en Helvetica Chimica Acta. 1948: 31;6: 1497-1505. El procedimiento actual se diferenció del procedimiento informado en varios aspectos. Primero, el procedimiento de informe utilizó un disolvente de reacción que era alcohol absoluto (EtOH). Además, después de dejar la reacción agitándose durante toda la noche a temperatura ambiente, el proceso informado incluía la etapa adicional de reflujo de la mezcla durante varias horas. La referencia original también trabajó la reacción de manera diferente. Por ejemplo, el NaBr se separó del alcohol y el filtrado se concentró hasta el residuo. El residuo se disolvió después en una mezcla de éter de disulfuro de carbono y se lavó con agua y solución de bicarbonato de sodio. El rendimiento del papel en tres experimentos estuvo entre aproximadamente 82 y 92%.

Los expertos con habilidades ordinarias en la técnica reconocerán que el presente procedimiento incluye menos etapas, lo que reduce el tiempo de reacción general y da como resultado rendimientos más altos que los del procedimiento anteriormente informado.

Compuesto intermedio C:

45 El compuesto intermedio B (45,0 g, 180,5 mmol, 1,00 eq.) se suspendió (no completamente disuelto) en 580 mL de una mezcla 1:1 de ácido acético y etanol. La suspensión se enfrió sobre un baño de hielo/salmuera. Se añadió la solución de peróxido de hidrógeno (120,014 M AQ, previamente titulada, 15,02 ml, 180,5 mmol, 1,00 eq.) y la reacción se dejó agitar, calentando a temperatura ambiente durante toda la noche. El material se disolvió durante el proceso para dar una solución amarilla clara. Se verificó una alícuota mediante cromatografía en capa fina (EtOAc puro) para confirmar el completamiento de la reacción. La reacción se concentró mediante rotovap (no completamente, ~Se eliminó el 90% del disolvente) y se diluyó con 400 ml de metil terc-butil éter (MTBE) en cuyo punto el producto (sólido amarillo claro) precipitó de la solución. El sólido se filtró y se lavó con 100 mL adicionales de MTBE. Se recogió una segunda cosecha del filtrado MTBE. La masa combinada de ambos cultivos (después de un secado adicional) fue de 44,5 g (95% de rendimiento) con pureza por HPLC de ~95%. La NMR mostró ácido acético residual. El material no se purificó más.

55 Este proceso se adaptó del procedimiento informado mencionado anteriormente. El procedimiento informado proporcionó dos procesos diferentes. El primero usó acetona anhidra como disolvente, sin ácido, y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante cinco días. El segundo proceso requirió ácido acético glacial y el enfriamiento de la reacción para moderar la exotermia. El tratamiento de referencia es la precipitación del producto con el uso del éter absoluto.

60 Los expertos con habilidades ordinarias en la técnica reconocerán que el presente procedimiento da como resultado tiempos de reacción reducidos y puede llevarse a cabo en condiciones ambientales de reacción.

Compuesto intermedio D:

65 Un frasco seco de fondo redondo de 500 mL de (corriente de N<sub>2</sub>/pistola de calor) se cargó equipado con una barra de agitación, con el compuesto intermedio C (35,34 g, 133,19 mmol, 1,0 eq.). La metilamina (solución al 33% en peso en

etanol, 175 mL, ~10 eq.) se cargó en el frasco de fondo redondo. El compuesto intermedio C sólido se disolvió lentamente durante aproximadamente 45 minutos. Después de una hora adicional, el sólido comenzó a precipitarse de la solución (presumiblemente metil ftalimida). La reacción se dejó agitar, bien sellada, a temperatura de reflujo durante la noche. La reacción se diluyó con 50 mL de etanol (parte del sólido disuelto) y se filtró para eliminar el subproducto de metil ftalimida. El subproducto sólido se lavó con 2 x 25 mL adicionales de etanol. El filtrado se concentró mediante rotovapor (temperatura del baño inferior a aproximadamente 30 °C). El residuo se adsorbió en 50 g de sílice y se formó una columna de 50 g de sílice. Tres volúmenes de columna de diclorometano fueron suficientes para lavar el subproducto de metilftalimida residual. El producto se eluyó con el uso de 40% de metanol:hidróxido de amonio 9:1 en diclorometano. Se recogió 19,1 g de un aceite amarillo claro que era puro a través de GC pero contenía agua e hidróxido de amonio por NMR. El aceite se destiló en Kuglrhor a 1 mbar y a una temperatura de baño de aire de 185 °C para dar 11,80 g de un aceite amarillo (65,5% de rendimiento) que era superior al 99% puro a través de GC. El residuo del recipiente pesó 3,14 g, lo que indica una posible degradación térmica.

15 Sulforafano:

Un frasco de fondo redondo de un litro equipado con una barra de agitación se cargó con compuesto intermedio D (10,8 g, 79,9 mmol, 1,00 eq.), 300 mL de cloroformo y 133 mL de solución de NaOH (ac) 1N (132,8 mmol, 1,66 eq.). A la solución bifásica, se cargó tiosfogeno (13,78 g, 119,8 mmol, 1,50 eq.). La reacción se agitó vigorosamente durante una hora, antes se comprobó una alícuota mediante cromatografía en capa fina. La mezcla se diluyó con -300 mL de cloroformo y 200 mL de salmuera. Se eliminaron los compuestos orgánicos y se volvió a extraer la fase acuosa con 2 x 500 mL de cloroformo. Los productos orgánicos se combinaron, secaron sobre sulfato de sodio y concentraron. El residuo se adsorbió en 20 g de sílice y se formó una columna de 50 g de sílice, eluyendo con metanol de 0 al 4% en cloroformo. Se recogió 12,14 gramos (rendimiento del 85,7%) del producto deseado como un aceite amarillo claro.

25 Estabilización de sulforafano:

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

30 El sulforafano se formuló con el uso de tres condiciones/procedimientos diferentes:

Tipo A: Disuelva todo (ciclodextrina/sulforafano) en agua rociada con nitrógeno (eliminar CO<sub>2</sub>). Deje agitar toda la noche a temperatura ambiente. Seque hasta peso constante bajo vacío (mantener el baño a menos de 30 °C). (La recuperación es teóricamente cuantitativa. Hay pérdida de masa debido al secado de la ciclodextrina, que generalmente es del 5 al 10% de humedad). Las cargas típicas fueron de ~1% p/p de sulforafano a ciclodextrina. La carga teórica se calcula a partir de la cantidad de sulforafano que ingresa a las formulaciones dividida por la masa de secado final.

Tipo B: a una suspensión de ciclodextrina en acetato de etilo, añada sulforafano. Deje agitar toda la noche a temperatura ambiente. Seque hasta peso constante bajo vacío (mantener el baño a menos de 30 °C). (La recuperación es teóricamente cuantitativa. Hay pérdida de masa debido al secado de la ciclodextrina, que generalmente es del 5 al 10% de humedad). Las cargas típicas fueron de ~1 al 5% p/p de sulforafano a ciclodextrina. La carga teórica se calcula a partir de la cantidad de sulforafano que ingresa a la formulación dividida por la masa de secado final.

Tipo C: A una solución saturada de ciclodextrina en agua, agregue sulforafano. Deje que la solución repose durante toda la noche. Recoja el precipitado por filtración. Si no se forma precipitado, enfrie a -4 °C durante toda la noche. Seque hasta un peso constante bajo vacío (mantener el baño a menos de 30 °C). La recuperación es generalmente pobre: 28% con alfa ciclodextrina, 26% con el uso de beta ciclodextrina y 62% con gamma ciclodextrina. La carga teórica se calcula con el uso del análisis de NMR de la formulación seca y es típicamente entre 7 y 13%, en dependencia de la ciclodextrina usada.

50 La Tabla 1 incluye una lista de cada una de las formulaciones preparadas de acuerdo con los procedimientos de Tipo A, Tipo B y Tipo C descritos anteriormente.

Tabla 1: Formulaciones producidas

Clave de muestra	Ciclodextrina	Tipo de formulación	Carga teórica
55 alfaB	alfa CD	B	4,73%
alfaC	alfa CD	C	7,1%
60 betaB	beta CD	B	5,15 %
betaC	beta CD	C	13,3%
gammaA	gamma CD	A	1,01%
gammaB	gamma CD	B	0,94%
65 gammaC	gamma cd	C	9,8%

Resumen del análisis de estabilidad

5 Análisis general: Las formulaciones de sulforafano se analizaron por HPLC (detección UV a 254 nm) con el uso de un método estándar interno (DEET). Se supone que el sulforafano se disocia completamente de la ciclodextrina en condiciones cromatográficas. Se usa un estándar de sulforafano (almacenado en un congelador) para determinar el factor de respuesta para cada análisis. El trabajo inicial demostró linealidad de la respuesta frente a la concentración de este estándar. El factor de respuesta (RF) de todas las inyecciones estándar en todos los análisis se ha mantenido estable demostrando la estabilidad del estándar en el congelador.

10 Condiciones de almacenamiento: Las muestras se almacenaron en tres condiciones: Tapadas y a temperatura ambiente, tapadas y almacenadas en el congelador (-30 °C), y abiertas y almacenadas en un horno a 40 °C. Estas muestras se analizaron para determinar la carga de sulforafano a lo largo del tiempo. La estabilización de las diferentes muestras y las diferentes condiciones de almacenamiento pueden observarse en las Figuras 3-5.

15 Ejemplo de preparación de la muestra: Una muestra de formulación de 20 mg a 50 mg (cuidadosamente pesada) se disuelve en 1 mL de solución estándar interna (DEET en DMF). Además, la cantidad de solución ISTD se pesa cuidadosamente. La muestra se diluye adicionalmente con 1 mL de agua desionizada rociada con nitrógeno. Las muestras se sonicaron durante aproximadamente diez minutos y se filtraron a través de un filtro de nylon de 0,45 µm. Después, las muestras se analizan mediante la detección por HPLC UV a 254 nm.

20 Condiciones cromatográficas

25	Columna:	Agilent Eclipse XDB-C18, 5 µm, 250 x 4,6 mm a 30 °C
	Disolvente A:	ácido fórmico al 0,1 % en agua
	Disolvente B:	MeCN
	Gradiente:	Disolvente B del 5% al 100% en disolvente A durante 30 minutos
30	Flujo:	1,5 ml/minuto
	Detector:	UV 254 nm, ESI-MS (pos/neg) para la confirmación
	Retención:	Sulforafano: 9,2 min. DEET: 15,5 min.

35 Análisis de los resultados: Los resultados se presentan como porcentaje de carga teórica frente tiempo (el cálculo para el teórico se describió anteriormente).

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

45 La Figura 4 demuestra los datos de estabilización de las formulaciones almacenadas en un recipiente abierto en un horno a 40 °C durante aproximadamente 150 días. Se extrajeron varias muestras antes de los 150 días. La muestra de alfaC mostró la tasa de degradación más lenta durante aproximadamente los primeros 40 días. Después de 150 días, la muestra betaB mantuvo el 40% de la carga teórica original de sulforafano y la muestra alfaB mantuvo aproximadamente el 45% de la carga teórica original.

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

55 Ejemplo 2

Este ejemplo demuestra los estudios de estabilidad extendidos para las presentes composiciones de sulforafano estabilizado.

60 El sulforafano se volvió a sintetizar con el uso del proceso descrito anteriormente a mayor escala. La síntesis dio como resultado aproximadamente 94 gramos de producto. Se reprodujeron tres formulaciones, alfaB, alfaC y betaB, como se muestra en la Tabla 2:

Tabla 2: Descripciones de la muestra

65

Muestra	Ciclodextrina	Método de formulación	Resultado
AlfaB (ID de muestra: 122PAL31)	W6 (Alfa)	<b>Tipo B:</b> Se añadieron 20,15 gramos de sulforafano a una suspensión de 380,0 gramos de alfa CD en 9,1 litros de EtOAc. La mezcla se agitó toda la noche a temperatura ambiente. La mezcla se secó a peso constante al vacío (a una temperatura del baño <30°C).	Masa seca final de 370 gramos. Porcentaje de recuperación: Cuant. Carga teórica = 5,44%. Carga experimental (análisis T-cero) = 4,91%
AlfaC (ID de muestra: 122PAL33)	W6 (Alfa)	<b>Tipo C:</b> Se añadieron 25,10 gramos de sulforafano a una solución saturada agitada de CD en H <sub>2</sub> O. La mezcla se dejó agitar durante tres horas a temperatura ambiente y después se colocó en un refrigerador durante toda la noche. El precipitado se recogió por filtración y se secó adicionalmente hasta el peso constante al vacío (mantener el baño a <30°C).	Masa seca final de 89,7 gramos. Porcentaje de recuperación: 23% de carga teórica = N/A. Carga experimental (análisis T-cero) = 6,42%
BetaB (ID de muestra: 122PAL35)	W7 (Beta)	<b>Tipo B:</b> Se añadieron 17,50 gramos de sulforafano a una suspensión de 332,5 gramos de beta CD en 8,9 litros de EtOAc. La mezcla se agitó toda la noche a temperatura ambiente. La mezcla se secó a peso constante al vacío (a una temperatura del baño <30°C).	Masa seca final de 334 gramos. Porcentaje de recuperación: Cuant. Carga teórica = 5,24%. Carga experimental (análisis T-cero) = 5,19%

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

Preparación de muestras:

Una muestra de formulación de 300 mg ca. (cuidadosamente pesada) se disolvió en 8 mL de solución estándar interna (DEET en DMF, 2 mg/mL ca). Además, la cantidad de solución ISTD se pesó cuidadosamente. La muestra se diluyó adicionalmente con 8 mL de agua DI rociada con nitrógeno. Las muestras se sonicaron durante -10 minutos y se filtraron a través de un filtro de nylon de 0,45 µm. Después, las muestras se analizaron mediante la detección por HPLC UV a 254 nm.

Condiciones cromatográficas:

Columna: Agilent Eclipse XDB-C18, 5 µm, 250x4,6 mm @ 30°C  
 Disolvente A: ácido fórmico al 0,1% en H<sub>2</sub>O  
 Disolvente B: MeCN  
 Gradiente: 5% a 100% de disolvente B en disolvente A durante 30 minutos  
 Flujo: 1,5 mL/min  
 Detector: UV 254 nm, ESI-MS (pos/neg) para la confirmación  
 Tiempos de retención: Sulforafano: 9,2 minutos DEET: 15,5 minutos

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

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

La Figura 8 demuestra los datos de estabilidad generados por la muestra betaB (descrita en la Tabla 2 anterior). Como puede observarse, la estabilidad del complejo betaB disminuyó ligeramente durante un período de cuatro meses a temperaturas reducidas y a temperatura ambiente, antes de estabilizarse durante los tres meses restantes del estudio. La

muestra del complejo betaB a temperatura elevada mostró más degradación, pero aún demostró una estabilidad mejorada más allá de lo que se esperaría para una muestra de sulforafano no estabilizada.

- 5 Estos ejemplos demuestran que los complejos de sulforafano actuales proporcionan una estabilidad mejorada para el sulforafano. En consecuencia, el sulforafano puede fabricarse y distribuirse más fácilmente como agente para tratamientos contra el cáncer, tratamientos antimicrobianos y otros usos. Además, estos datos de estabilidad demuestran que las composiciones de sulforafano pueden almacenarse durante períodos de tiempo más largos antes del tratamiento.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición que comprende un complejo de sulforafano y alfaciclodextrina.
- 5 2. Una composición farmacéutica que comprende un complejo de alfa-ciclodextrina y sulforafano, y un excipiente.
3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la composición se administrará en uno o más de la vía oral, tópica, parenteral, inyectable, bucal, sublingual, intramuscular o intravenosa.
- 10 4. Una composición de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la composición se administra por vía oral, como una solución, tableta, cápsula de liberación sostenida, cápsula con recubrimiento entérico o jarabe.
5. Una composición de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la composición se administra por vía oral, como una cápsula de liberación sostenida o una cápsula con recubrimiento entérico.



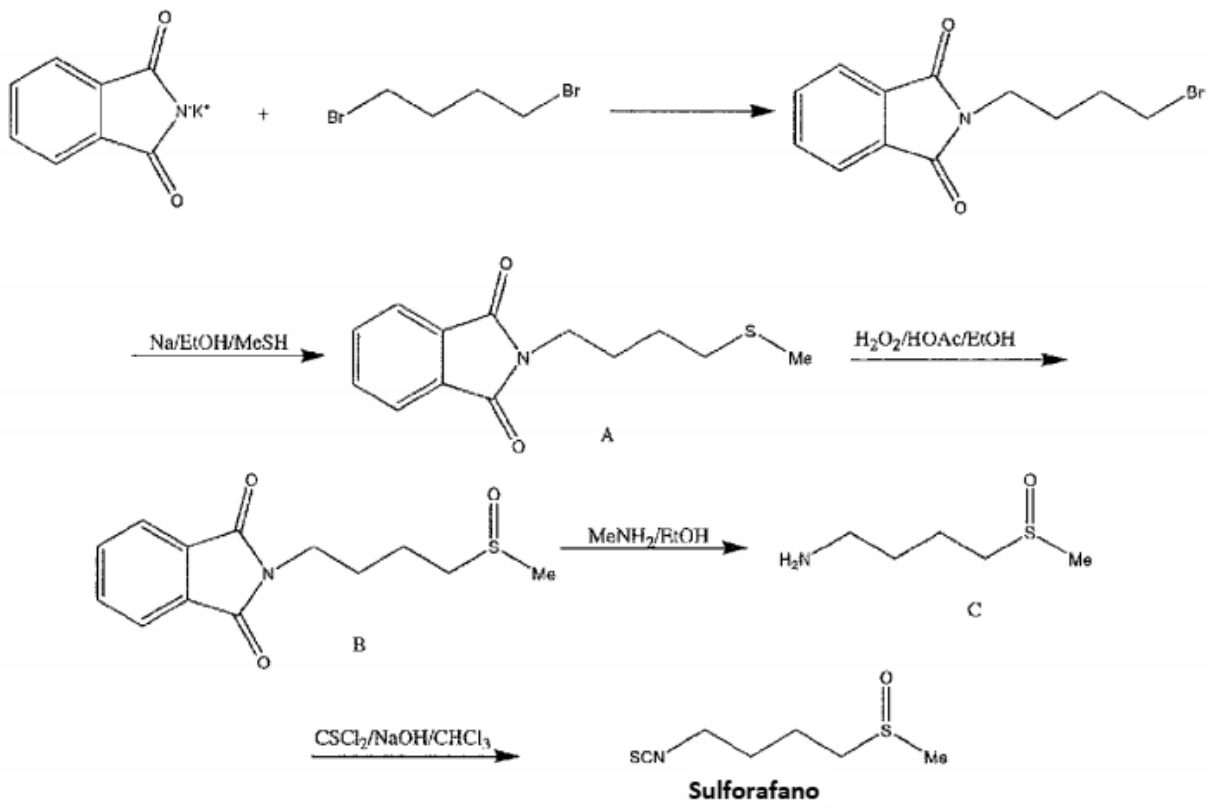


Figura 1

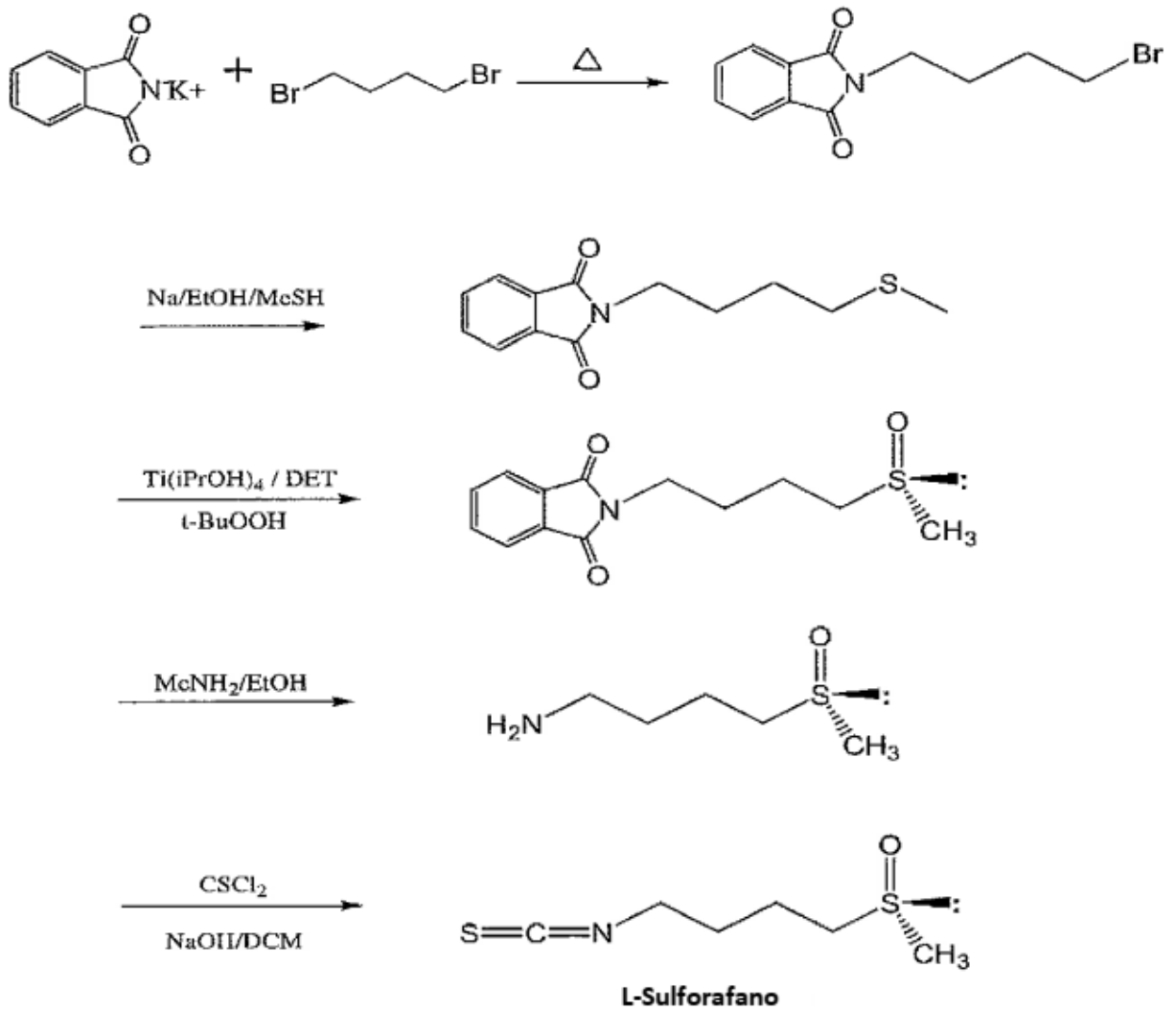


Figura 2

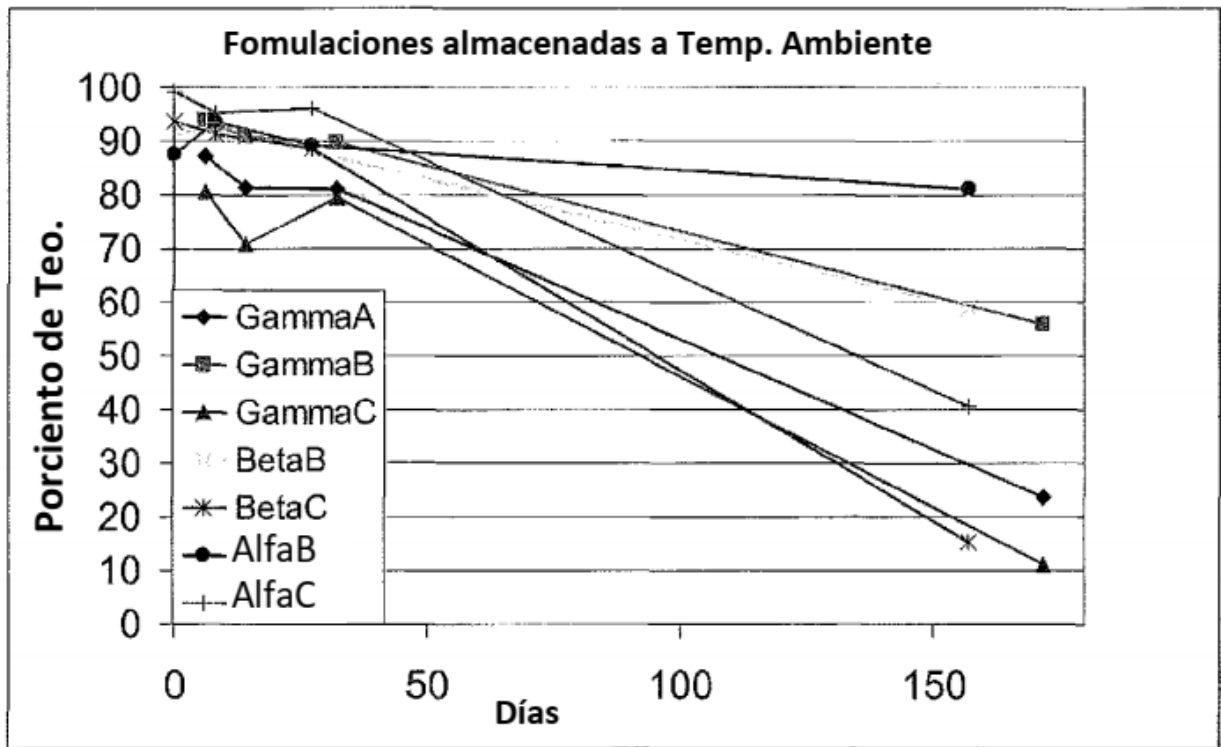
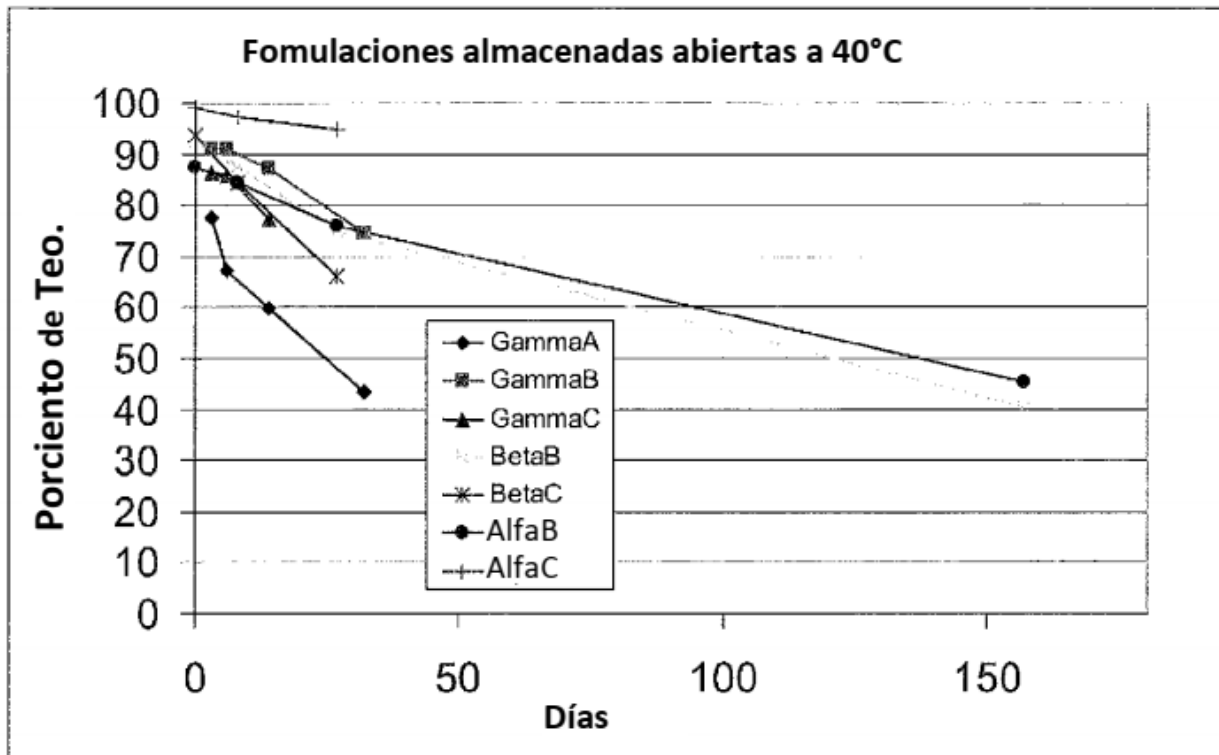


Figura 3



**Figura 4**

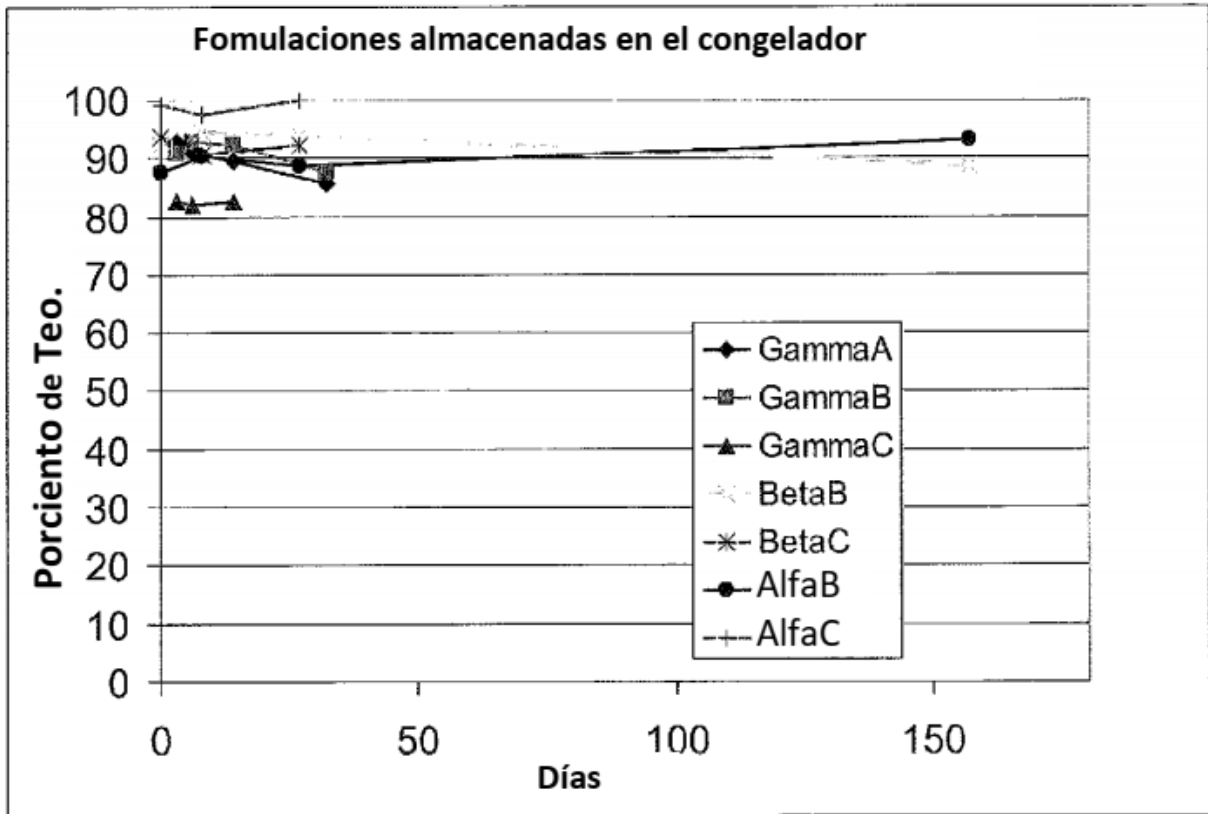
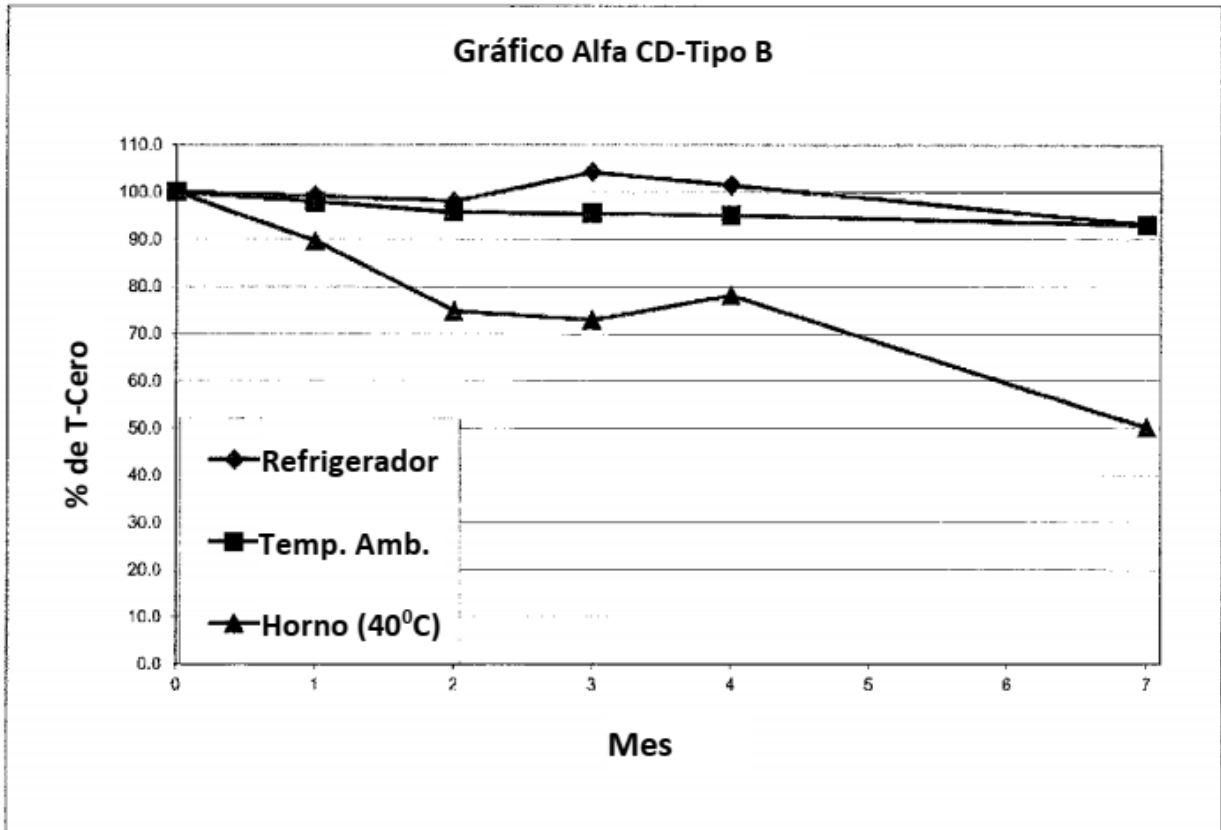
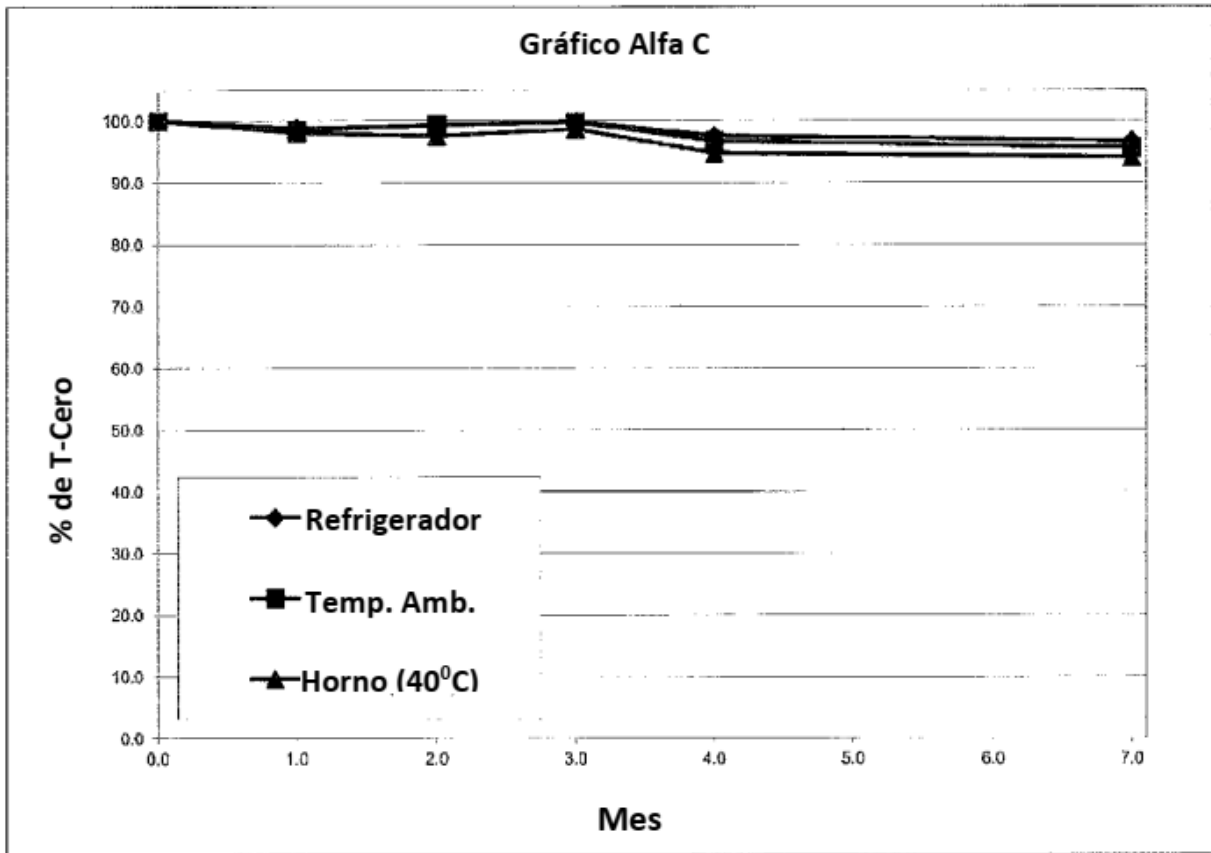


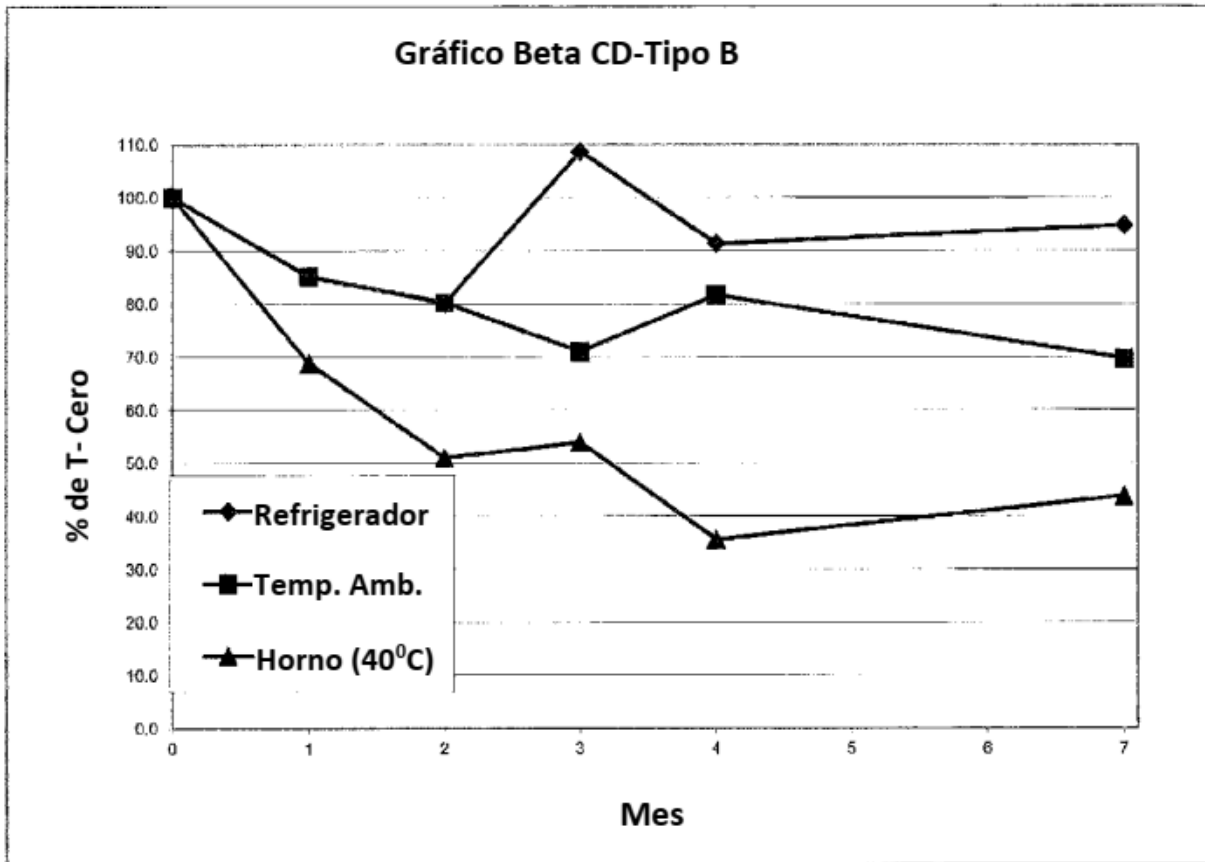
Figura 5



**Figura 6**



**Figura 7**



**Figura 8**