(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 768 268**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/216 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.10.2013** **PCT/SE2013/051246**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **01.05.2014** **WO14065751**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2013** **E 13849763 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2019** **EP 2928463**

(54) Título: **Preparaciones liofilizadas de melfalán flufenamida**

(30) Prioridad:

26.10.2012 SE 1251211
26.10.2012 US 201261719184 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.06.2020

(73) Titular/es:

ONCOPEPTIDES AB (100.0%)
Västra Trädgårdsgatan 15
111 53 Stockholm, SE

(72) Inventor/es:

SPIRA, JACK y
LEHMANN, FREDRIK

(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 2 768 268 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

Preparaciones liofilizadas de melfalán flufenamida

Campo técnico

La presente invención, como se reivindica, está dirigida a preparaciones farmacéuticas liofilizadas que comprenden el clorhidrato de melfalán flufenamida, a procedimientos para su preparación, a composiciones que comprenden las preparaciones farmacéuticas liofilizadas y a su uso en el tratamiento del cáncer.

El alcance de la presente invención está definido por las reivindicaciones. En la descripción, cualquiera de las referencias a los procedimientos para el tratamiento se refiere a los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente invención para su uso en un tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante la terapia (o diagnóstico).

Técnica antecedente

El cáncer es una enfermedad la cual es difícil de curar y puede ser mortal. En consecuencia, los esfuerzos para desarrollar nuevas terapias para el cáncer están constantemente en curso en la sociedad de investigación. La gran mayoría de los cánceres están presentes como tumores sólidos, por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de próstata, mientras que el resto son tumores malignos hematológicos y linfoides, por ejemplo, leucemias y linfomas.

La quimioterapia se usa a menudo en intentos para curar o aliviar la enfermedad. Como las células cancerosas típicamente se dividen rápidamente, la quimioterapia normalmente actúa matando las células que se dividen rápidamente. En el sentido amplio, la mayoría de los fármacos quimioterapéuticos funcionan afectando la mitosis (es decir, la división celular), dirigiéndose efectivamente a las células de división rápida. Como estos fármacos causan daño a las células se denominan citotóxicos. Algunos fármacos provocan que las células experimenten apoptosis (llamada "muerte celular programada"). A menudo se usa la quimioterapia combinada, cuando dos o más fármacos que tienen diferentes modos de acción se usan juntos para optimizar el efecto antitumoral, minimizar los efectos secundarios, y prevenir el desarrollo de la resistencia. Los resultados obtenidos con la quimioterapia varían de acuerdo con el tipo de tumor. Algunos tumores son muy sensibles y el tratamiento tiene después una alta probabilidad de conducir a la cura.

Los fármacos quimioterapéuticos generalmente pueden dividirse en agentes alquilantes, antimetabolitos, antraciclinas, alcaloides vegetales, inhibidores de topoisomerasa y otros agentes antitumorales. Los fármacos afectan la división celular o la síntesis del ADN.

Los agentes alquilantes, tales como los fármacos derivados de la mostaza nitrogenada, es decir, los derivados de bis(2-cloroetil)amina, se usan como fármacos quimioterapéuticos en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades neoplásicas. Los agentes alquilantes tienen la capacidad de unir covalentemente los grupos alquilo a sitios electronegativos en las células. De este modo, estos agentes actúan deteriorando la función celular mediante la formación de enlaces covalentes con heteroátomos en moléculas biológicamente importantes como el ARN, el ADN y las proteínas. Ejemplos de agentes alquilantes son la mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, ifosfamida, temozolomida y melfalán que modifican químicamente el ADN de la célula.

El documento WO01/96367 divulga di y tripéptidos alquilantes y uno o dos aminoácidos adicionales o derivados de aminoácidos. Se demostró que estos derivados tienen una eficacia mejorada en una variedad de tipos de tumores.

La liofilización o secado por congelación es un procedimiento para deshidratar muestras, usado para preservar o aumentar la estabilidad o para detener la degradación. Debido al bajo contenido de agua de los productos liofilizados, típicamente alrededor del 1-4 %, la acción de los microorganismos y las enzimas se inhibe y de este modo la vida del producto aumenta. En la liofilización, la muestra a liofilizar se disuelve en una solución acuosa y posteriormente se congela después de lo cual se reduce la presión circundante. Después, la muestra se somete a sublimación, opcionalmente mediante la aplicación de calor, para sublimar el agua congelada directamente desde la fase sólida a la fase gaseosa. El contenido de agua final en el producto es muy bajo, típicamente alrededor del 1 % al 4 %. La liofilización se usa comúnmente en el campo farmacéutico para aumentar la vida útil de los productos farmacéuticos.

Sumario de la invención

La presente invención tal como se divulga en las reivindicaciones, se refiere a preparaciones liofilizadas que comprenden clorhidrato de éster etílico de melfalánil-L-p-fluorofenilalanina, conocido también como clorhidrato de melfalán flufenamida, o J1.

El melfalán flufenamida tiene una baja solubilidad en las soluciones acuosas. Por lo tanto, el uso de solventes orgánicos, tales como DMA (dimetilacetamida), es necesario para disolver el compuesto. Sin embargo, los solventes orgánicos a menudo son tóxicos y pueden causar también la destrucción de los dispositivos médicos usados para la administración del compuesto a los individuos, tales como los pacientes con cáncer. Por consiguiente, para superar

los problemas de la disolución y el suministro del compuesto en un solvente orgánico, existe la necesidad de preparaciones farmacéuticas alternativas de melfalán flufenamida que tengan suficiente solubilidad y una velocidad de disolución optimizada en soluciones aceptables fisiológicamente.

Un aspecto de la presente invención se dirige a una preparación farmacéutica liofilizada que comprende clorhidrato de melfalán flufenamida y sacarosa en la que la relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y la sacarosa es de 1:25 a 1:75.

En la presente memoria se describe una preparación farmacéutica liofilizada que es soluble en una solución acuosa.

Aún, un aspecto de la invención es un kit de partes, que comprende una preparación farmacéutica liofilizada como se define en la presente memoria, y una solución fisiológicamente aceptable.

Aún, un aspecto de la presente invención es una preparación farmacéutica liofilizada como se describe en la presente memoria, para su uso como un medicamento.

También se describe en la presente memoria un kit de partes como se describe en la presente memoria, para su uso como un medicamento.

Un aspecto de la presente invención es una preparación farmacéutica liofilizada como se describe en la presente memoria, para su uso en el tratamiento y/o la prevención del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier cáncer sólido o hematológico.

Aún, un aspecto de la invención es un kit de partes como se describe en la presente memoria, para su uso en el tratamiento del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier cáncer sólido o hematológico.

También se describe en la presente memoria un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier cáncer sólido o hematológico, mediante el cual una preparación farmacéutica liofilizada como se describe en la presente memoria, se administra en una dosis terapéuticamente eficaz a un individuo que lo necesita.

A menos que se defina de cualquier otra forma, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque los procedimientos y los materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria pueden usarse en la práctica o prueba de la presente invención, los procedimientos y los materiales adecuados se describen más adelante.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes de la siguiente descripción detallada y de las reivindicaciones.

Descripción detallada de la invención

El melfalán flufenamida o las sales farmacéuticamente aceptables de este, tienen una baja solubilidad en las soluciones acuosas, lo que puede requerir el uso de solventes orgánicos, tal como DMA (dimetilacetamida), para disolver dicho compuesto o las sales farmacéuticamente aceptables de este. Por lo tanto, cuando se administra el melfalán flufenamida a un paciente, la sustancia primero tiene que disolverse en un solvente orgánico, tal como DMA, y después de eso diluirse en una solución para infusión antes de la administración al paciente. El paciente está expuesto mediante este procedimiento, a solventes orgánicos, cuya exposición puede ser peligrosa para el paciente. El solvente orgánico también puede destruir los dispositivos médicos usados para la administración del melfalán flufenamida a los individuos, tales como los pacientes con cáncer.

Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que cuando el melfalán flufenamida o las sales farmacéuticamente aceptables de este se liofilizan en presencia de sacarosa, donde la relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y la sacarosa es de 1:25 a 1:75, la preparación farmacéutica liofilizada resultante tiene una alta solubilidad en una solución fisiológicamente aceptable y, además, la velocidad de disolución es alta, lo que puede ser beneficioso para evitar la degradación del melfalán flufenamida durante la disolución antes y durante la administración a un paciente.

En las preparaciones previas, se obtuvo el melfalán flufenamida a partir de la síntesis como un polvo de color blanco en forma cristalina. Esta forma cristalina solo puede disolverse en soluciones acuosas altamente ácidas, lo que es imposible para fines prácticos de fabricación. La presencia de los excipientes como tal, no mejoró suficientemente la solubilidad. Por lo tanto, el melfalán flufenamida se disolvió previamente en una solución de glucosa, en lugar de en DMA (dimetilacetamida). La preparación es factible pero inestable: 7 % de degradación/hora. Se produce además, la dimerización y la solución se vuelve de color amarillo brillante. Esta preparación, sin embargo, no fue confiable y la velocidad de polimerización varió en una manera inaceptable.

Por consiguiente, existe la necesidad de identificar maneras alternativas de proporcionar una preparación que comprenda clorhidrato de melfalán flufenamida que sea soluble, con una velocidad de disolución suficiente y con una

estabilidad mayor. La preparación, además, debe ser soluble en agua para evitar problemas negativos de tener un solvente orgánico en el producto que se proporciona al paciente (tal como DMA).

En la presente memoria se describe una preparación farmacéutica liofilizada que comprende el melfalán flufenamida, o una sal aceptable farmacéuticamente de este, y la sacarosa.

Dicho melfalán flufenamida es clorhidrato de melfalán flufenamida (J1).

La relación de peso reivindicada (p/p) entre dicho melfalán flufenamida y la sacarosa es de 1:25 a 1:75.

En otra divulgación de este aspecto, la relación de peso (p/p) entre dicho melfalán flufenamida y la sacarosa es 1:50.

En otra realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada comprende 25 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y 1,25 g de sacarosa.

En otra realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada comprende 50 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y 2,5 g de sacarosa.

En otra realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada comprende 15 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y 0,75 g de sacarosa.

En otra realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada comprende 20 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y 1,0 g de sacarosa.

En otra realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada comprende 40 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y 2,0 g de sacarosa.

En otra realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada comprende 55 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y 2,75 g de sacarosa.

En otra realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada comprende 200 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) o superior, tal como 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg u 800 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y en la que la relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y la sacarosa es de 1:25 a 1:75. Tales preparaciones pueden ser particularmente útiles como una dosis única alta, tal como antes del trasplante.

En otra realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada está libre, o sustancialmente libre de solventes orgánicos.

Antes de su uso, la preparación farmacéutica liofilizada que comprende clorhidrato de melfalán flufenamida y sacarosa, se diluirá en una solución fisiológicamente aceptable, para obtener una composición útil.

Por lo tanto, en otra realización de este aspecto, se proporciona una composición que comprende una preparación farmacéutica de clorhidrato de melfalán flufenamida de acuerdo con la invención.

En otra realización de este aspecto, dicha composición comprende una solución fisiológicamente aceptable. Preferentemente, dicha solución fisiológicamente aceptable es una solución de glucosa. Típicamente, la cantidad de glucosa es 4,5-5,5 % en peso de la preparación liofilizada.

La invención proporciona una preparación liofilizada como se divulga en las reivindicaciones que es estable en forma seca y soluble en una solución acuosa sin la presencia de un solvente orgánico. Mientras que previamente fue posible preparar una preparación liofilizada del melfalán flufenamida sola, tal preparación se disolvió muy lentamente en soluciones acuosas en comparación con el tiempo de degradación. La incorporación de sacarosa en la preparación del melfalán flufenamida liofilizado (a través de la solución inicial en un solvente orgánico) mejora considerablemente el tiempo de reconstitución, pero no altera significativamente la estabilidad del melfalán flufenamida reconstituido. Como resultado, la ventana de tiempo para el melfalán flufenamida reconstituido se amplía, y esto mejora los tratamientos de los pacientes, por ejemplo, al permitir velocidades de infusión más bajas, donde sea necesario. Una preparación "sin la presencia de un solvente orgánico" podría incluir cantidades trazas del solvente orgánico, típicamente menos del 0,5 % (p/p).

La preparación farmacéutica liofilizada de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) como se describe en la presente memoria, es un polvo de color blanco y esponjoso a diferencia de un melfalán flufenamida no liofilizado o una sal aceptable farmacéuticamente de este, la cual que puede estar en forma de un polvo denso, ligeramente amarillento.

Típicamente, la liofilización comprende cuatro etapas, el pretratamiento, la congelación, el secado primario y el secado secundario. En la etapa de pretratamiento, la sustancia a liofilizar se prepara para la liofilización, por ejemplo, preparando una solución que tenga la concentración deseada o mezclando la sustancia con componentes adicionales para obtener un resultado aceptable. La etapa de congelación puede realizarse en un matraz de secado por congelación en un baño frío, por ejemplo, mediante refrigeración mecánica, hielo seco y metanol, o nitrógeno líquido.

Las máquinas de secado por congelación están disponibles para la liofilización a mayor escala. Normalmente, las temperaturas de congelación están entre -50 °C y -80 °C.

En la etapa de secado primario, la presión se reduce al intervalo de unos pocos milibares, y puede suministrarse calor para sublimar el agua del material. La cantidad de calor necesaria puede calcularse mediante el uso del calor latente de las moléculas sublimadas de la sublimación. La duración de este período depende, pero puede durar días para conservar las estructuras de los materiales.

El objetivo de la etapa final de secado secundario es eliminar las moléculas de agua no congeladas. En esta fase, la temperatura puede ser tan alta como superior a 0 °C, para romper cualquier interacción fisicoquímica que se haya formado entre las moléculas de agua y el material congelado.

En el contexto de la presente divulgación, se entenderá que el clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) está liofilizado. Por lo tanto, la expresión "una preparación farmacéutica liofilizada de un clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) significa que el clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) está liofilizado.

Aspectos adicionales de la presente divulgación proporcionan el clorhidrato de melfalán flufenamida liofilizado, un kit de partes que comprende tal melfalán flufenamida, los procedimientos para la preparación de tales composiciones de hidrocloruro de melfalán flufenamida liofilizado que comprenden tal clorhidrato de melfalán flufenamida liofilizado y los usos de estos. "La liofilización", "liofilizado", etc, en el presente contexto pueden usarse indistintamente con "secado por congelación", "sometido a secado por congelación", etc.

El melfalán flufenamida puede contener también proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de sus átomos, como el deuterio (^{2}H). Los compuestos pueden marcarse radiactivamente con isótopos radiactivos, tales como por ejemplo tritio (^{3}H), yodo-125 (^{125}I) o carbono-14 (^{14}C).

La inclusión de la sacarosa proporciona una preparación liofilizada que es estable como tal y soluble en agua sin la presencia de un solvente orgánico a una velocidad suficiente en comparación con la velocidad de degradación, y por lo tanto es útil en la terapia y es menos tóxica.

Las sales farmacéuticamente aceptables para todos los aspectos de la presente divulgación pueden ser, por ejemplo, una sal de adición de ácido de un compuesto descrito en la presente memoria que es suficientemente básica, por ejemplo, una sal de adición de ácido con, por ejemplo, un ácido inorgánico u orgánico, por ejemplo, clorhídrico, bromhídrico, nítrico, metansulfónico, sulfúrico, fosfórico, trifluoroacético, para-toluenosulfónico, 2-mesitilensulfónico, cítrico, acético, tartárico, fumárico, láctico, succínico, málico, malónico, maleico, 1,2-etanodisulfónico, adípico, aspártico, bencenosulfónico, benzoico, etanosulfónico o nicotínico.

Como se mencionó anteriormente, cuando el clorhidrato de melfalán flufenamida se liofiliza en presencia de sacarosa, puede obtenerse un aumento inesperadamente alto de la solubilidad de la preparación farmacéutica liofilizada, lo cual permite la disolución directa del melfalán flufenamida liofilizado en una solución acuosa, tal como una solución fisiológicamente aceptable. A diferencia de un melfalán flufenamida no liofilizado que no es posible disolver directamente en una solución acuosa pero que primero tiene que disolverse en un solvente orgánico antes de la dilución en una solución acuosa. Por lo tanto, se proporciona en la presente memoria una preparación farmacéutica liofilizada que comprende clorhidrato de melfalán flufenamida, en la que el melfalán flufenamida se liofiliza en presencia de sacarosa.

Debido a la baja solubilidad del melfalán flufenamida no liofilizada en soluciones acuosas aceptables fisiológicamente usadas para la administración del fármaco a un paciente, es necesario disolver primero el melfalán flufenamida no liofilizada en un solvente orgánico, tal como DMA. El melfalán flufenamida, por lo tanto, a menudo se almacena disuelto en la DMA. Previamente no ha sido posible disolver directamente el melfalán flufenamida en una solución acuosa, pero se han tenido que usar solventes orgánicos. Una vez disuelto en el solvente orgánico, esta solución de melfalán flufenamida y el solvente orgánico puede disolverse en soluciones aceptables fisiológicamente para la administración a un individuo.

Como el melfalán flufenamida es muy tóxico, para minimizar la exposición del personal médico a dichos fármacos, se usan dispositivos especiales para transferir los fármacos después de la disolución en solventes orgánicos a la solución para la administración. Estos dispositivos de transferencia son a menudo tubos plásticos que comprenden policarbonato. Sin embargo, tales tubos son sensibles y pueden ser destruidos por solventes orgánicos, tal tal como DMA. Por lo tanto, en los casos en que el fármaco que se va a administrar se disuelve en tal solvente orgánico, puede que no sea posible usar el dispositivo de transferencia, y el fármaco disuelto en su lugar tiene que adicionarse directamente a la solución fisiológicamente aceptable usada para la administración justo antes del tiempo de administración al paciente. Esto puede ser peligroso para el personal médico, quien después corre el riesgo de estar expuesto al fármaco tóxico.

Como se mencionó anteriormente, la liofilización del melfalán flufenamida aumenta su solubilidad en soluciones aceptables fisiológicamente. Este aumento puede ser aún más pronunciado cuando el melfalán flufenamida se liofiliza en presencia de sacarosa. Como se describe en la presente memoria, cuando el melfalán flufenamida se liofiliza en presencia de sacarosa, la solubilidad del melfalán flufenamida puede aumentarse, en comparación con el melfalán

flufenamida no liofilizado. El uso de un solvente orgánico, tal como DMA, puede evitarse para disolver primero el melfalán flufenamida.

El melfalán flufenamida que se ha liofilizado en presencia de sacarosa, puede disolverse directamente en una solución fisiológicamente aceptable, como 4,5-5,5 % en peso, por ejemplo, solución de glucosa al 5 %, o una solución acuosa de NaCl (por ejemplo, 0,9 % en peso de NaCl). De este modo, los dispositivos que comprenden policarbonato y que se usan para la administración del melfalán flufenamida pueden usarse, minimizando el riesgo de exposición del personal médico al fármaco. De esta forma se evita también, administrar la DMA tóxica al paciente. Esto permite preparar directamente la solución que comprende melfalán flufenamida a una concentración adecuada para la administración al paciente. Como alternativa, una solución concentrada que comprende una preparación farmacéutica liofilizada de melfalán flufenamida en una solución fisiológicamente aceptable puede prepararse primero y después transferirse a la bolsa para infusión mediante el uso de los dispositivos de transferencia usados comúnmente.

También, cuando el melfalán flufenamida se disuelve en DMA, se forma típicamente un aducto entre el melfalán flufenamida y la DMA. Mediante el uso de una preparación farmacéutica liofilizada proporcionada de acuerdo con la invención, es posible disolver el melfalán flufenamida liofilizado directamente en una solución fisiológicamente aceptable, evitando primero disolver el melfalán flufenamida en la DMA. De este modo, puede evitarse la formación de aductos de melfalán flufenamida-DMA y tampoco el aducto del DMA tiene que administrarse al paciente.

Se describe también, en la presente memoria una composición farmacéutica que comprende una preparación farmacéutica liofilizada de clorhidrato de melfalán flufenamida como se define en la presente memoria, que se obtiene opcionalmente por el procedimiento para preparar tal preparación liofilizada divulgada en la presente memoria. Dicha composición farmacéutica puede comprender además una solución fisiológicamente aceptable, tal como una solución acuosa de NaCl (por ejemplo, 0,9 % en peso) o solución de glucosa (por ejemplo, glucosa al 4,5-5,5 % en peso, tal como 5 % en peso). Esta composición farmacéutica puede ser una solución concentrada propuesta para la dilución antes de la administración a un individuo o como una solución que permite la administración directa a un paciente.

Debido a la mayor solubilidad del melfalán flufenamida después de la liofilización en presencia de sacarosa como se describe en la presente memoria, es posible preparar una solución de melfalán flufenamida disuelto, tal como una composición farmacéutica que comprende un melfalán flufenamida o una sal aceptable farmacéuticamente de este, que está sustancialmente libre de solventes orgánicos tal como DMA, diclorometano, tetrahidrofurano, 2-metil tetrahidrofurano, acetato de etilo, acetona, dimetilformamida, acetonitrilo, dimetilsulfóxido, dioxano, dietil éter, ácido acético, n-butanol, isopropanol, n-propanol, terc-butanol, sec-butanol, metanol, etanol, y ácido acético.

Por "sustancialmente libre" se entiende en este documento que la composición farmacéutica comprende solo cantidades trazas de un solvente orgánico, tal como menos de un total de 1 % en peso de un solvente orgánico, preferentemente menos de un total de 0,5 % en peso de un solvente orgánico, con mayor preferencia menos de un total de 0,1 % en peso de un solvente orgánico. En un aspecto, la preparación liofilizada o la composición farmacéutica no contienen ninguna cantidad medible de un solvente orgánico. Tales preparaciones serían menos tóxicas y por lo tanto más toleradas por un paciente, es decir, darían menos efectos secundarios tales como vómitos, náuseas u otros síntomas generales cuando se infunden.

En un aspecto de la invención, se proporciona una preparación farmacéutica liofilizada como se describe en la presente memoria, que está libre o sustancialmente libre de solventes orgánicos.

La composición farmacéutica puede consistir en una preparación farmacéutica liofilizada como se divulga en la presente memoria, que comprende clorhidrato de melfalán flufenamida y la solución fisiológicamente aceptable, tal como una solución de glucosa.

La redacción de una "solución fisiológicamente aceptable " se define en la presente memoria, es una solución acuosa, tal como una solución de NaCl (tal como 0,9 % en peso de NaCl) o solución de glucosa, tal como 4,5-5,5 % en peso de glucosa, por ejemplo 5 % en peso u otra solución fisiológicamente aceptable. Cualquier solución de este tipo puede ser opcionalmente tamponada.

Una composición farmacéutica que comprende melfalán flufenamida liofilizado y una solución fisiológicamente aceptable para administración directa a un individuo, generalmente comprende melfalán flufenamida a una concentración de 1 mg/ml o menos, tal como 0,2 mg/ml. Sin embargo, la composición farmacéutica puede comprender melfalán flufenamida en una concentración de hasta 4 mg/ml para dilución en una solución fisiológicamente aceptable antes de la administración a un paciente.

Se describe también en la presente memoria un procedimiento para preparar una preparación farmacéutica liofilizada, mediante el cual:

a. el clorhidrato de melfalán flufenamida se disuelve en un solvente orgánico para obtener una solución de melfalán flufenamida;

b. la solución de melfalán flufenamida se añade a la sacarosa en una relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida y sacarosa de 1:25 a 1:75, para obtener una solución acuosa de melfalán flufenamida/sacarosa; y

c. la solución acuosa de melfalán flufenamida/sacarosa se somete a liofilización.

La relación de peso (p/p) entre dicho melfalán flufenamida y la sacarosa es de 1:25, 1:50 1:75.

En otra realización de este aspecto, la relación de peso (p/p) entre dicho melfalán flufenamida y la sacarosa es de 1:50.

De acuerdo con la invención, se proporciona un procedimiento, en el que la relación de peso (p/p) entre dicho melfalán flufenamida y la sacarosa es de 1:25 a 1:75. Preferentemente, la relación de peso (p/p) entre dicho melfalán flufenamida y la sacarosa es de 1:50.

El solvente orgánico puede seleccionarse de cualquiera de etanol, ácido que contiene etanol, glicerina, propilenglicol, alcohol bencílico, dimetilacetamida (DMA), N-metil-2-pirrolidona, isopropanol, n-butanol, terc-butanol, metil terc-butil éter, propilenglicol, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, 2-metil tetrahidrofurano, acetona, dimetilformamida, acetonitrilo, dioxano, ácido acético, ácido láctico, ácido propiónico, n-butanol, isopropanol, n-propanol, terc-butanol, una mezcla de terc-butanol y agua, sec-butanol, metanol, y una mezcla de etanol y agua. Preferentemente, dicho solvente orgánico es terc-butanol o una mezcla de terc-butanol y agua, con mayor preferencia una mezcla de terc-butanol y agua en una relación en volumen de 1:1.

También se describe en la presente memoria un procedimiento para la preparación de una preparación farmacéutica liofilizada como se describe en la presente memoria, mediante el cual

a) el clorhidrato de melfalán flufenamida se disuelve en un solvente orgánico;

b) se añade agua a la solución obtenida en la etapa a) para obtener una solución de dicho clorhidrato de melfalán flufenamida en una concentración de 0,2-3,0 mg/ml;

c) se añade sacarosa a la solución obtenida en la etapa b); y

d) la solución obtenida en la etapa c) se somete a liofilización.

Preferentemente, dicho solvente orgánico es terc-butanol.

También se describe en la presente memoria un procedimiento para la preparación de una preparación farmacéutica liofilizada como se describe en la presente memoria, mediante el cual

a) el clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) se disuelve en una mezcla 1:1 (v/v) de terc-butanol y agua para obtener una solución;

b) la solución en la etapa a) se añade a la sacarosa liofilizada, para obtener una solución de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1), terc-butanol, agua y sacarosa, en la que la relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y la sacarosa es de 1:25 a 1:75; y

c) la solución obtenida en la etapa c) se somete a liofilización.

Ejemplos de solventes orgánicos útiles para disolver el clorhidrato de melfalán flufenamida, en la etapa a), pueden ser cualquiera seleccionado de etanol, ácido que contiene etanol, glicerina, propilenglicol, alcohol bencílico, dimetilacetamida (DMA), N-metil-2-pirrolidona, isopropanol, n-butanol, terc-butanol, metil terc-butil éter, propilenglicol, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, 2-metil tetrahidrofurano, acetona, dimetilformamida, acetonitrilo, dioxano, ácido acético, ácido láctico, ácido propiónico, n-butanol, isopropanol, n-propanol, terc-butanol, una mezcla de terc-butanol y agua, sec-butanol, metanol, y una mezcla de etanol y agua.

Cuando el melfalán flufenamida o una sal aceptable farmacéuticamente de este se disuelve en terc-butanol y agua, la concentración del terc-butanol puede ser 10-100 % en volumen, tal como 10-90 % en volumen, 30-70 % en volumen, o 50 % en volumen.

El agua usada para disolver y/o diluir muestras de una preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con la presente invención, es agua estéril o purificada, o agua para inyección (WFI).

Puede encontrarse información sobre cómo se realiza la liofilización, por ejemplo, en Rey, L. y May, J. Freeze Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products (2010), ISBN 978-1439B2575-4. En la etapa de congelación, la muestra se congela, por ejemplo, en un baño de hielo seco-acetona a una temperatura de -70 °C a -90 °C, tal como -70 °C, -75 °C, -78 °C, -80 °C, -82 °C, -85 °C, -88 °C o -90 °C, por ejemplo, durante 10 minutos a 120 minutos.

Como alternativa, la muestra puede congelarse en un congelador a una temperatura de -14 °C a -25 °C, tal como -14 °C, -16 °C, -18 °C, -20 °C, -22 °C, o -25 °C, por ejemplo, durante 10 min a 24 horas. También es posible congelar la muestra en nitrógeno líquido.

En la etapa de secado por congelación primaria, la presión puede reducirse de 0,1 mbar a 50 mbar, tal como 1 mbar a 10 mbar. La temperatura es típicamente inferior a 0 °C, tal como -50 a 0 °C, o -20 a -1 °C, por ejemplo -50, -40, -30, -20, -10 o -5 °C. Esta fase puede durar, por ejemplo, de 4 a 48 horas, por ejemplo, de 12 a 24 horas.

En la etapa de secado final, cuando la mayor parte del agua se ha evaporado, la temperatura puede ser como en la etapa de secado primario o superior a 0 °C.

Puede añadirse sacarosa antes o después de diluir la solución obtenida en la etapa a) y antes de realizar la liofilización. La sacarosa está típicamente en forma de polvo, pero se puede añadir como una solución acuosa.

También se describe en la presente memoria una preparación farmacéutica liofilizada como se define en la presente memoria que puede obtenerse mediante el procedimiento divulgado anteriormente.

También se proporciona en la presente memoria un kit de combinación de partes que comprende:

(i) una preparación farmacéutica liofilizada que comprende melfalán flufenamida como se reivindica; y

(ii) una solución fisiológicamente aceptable, tal como una solución de NaCl (tal como 0,9 % en peso de NaCl) o una solución de glucosa, tal como una solución de glucosa de 4,5-5,5 % en peso, por ejemplo, una solución de glucosa de 5 % en peso, u otra solución fisiológicamente aceptable.

Tal kit también puede comprender un dispositivo para mezclar los contenidos de los dos recipientes entre sí y/o para transferir la mezcla resultante a un dispositivo, tal como una bolsa que comprende una solución de glucosa, para la administración a un paciente.

Tal kit puede consistir en el primer recipiente que comprende una preparación farmacéutica liofilizada que comprende melfalán flufenamida como se describe en la presente memoria y el segundo recipiente que comprende la solución fisiológicamente aceptable. El melfalán flufenamida en el kit también puede estar mezclado con un portador y/o excipiente aceptable farmacéuticamente. Un ejemplo es la glucosa al 5 % por ejemplo con, albúmina al 1 % u otra proteína o compuesto. La cantidad de solución fisiológicamente aceptable puede ser ya sea una pequeña cantidad para preparar una solución concentrada de la preparación farmacéutica liofilizada que comprende melfalán flufenamida, o una cantidad mayor para permitir la preparación de una solución que tenga la concentración deseada para la administración a un paciente. Como alternativa, el kit puede comprender tanto un recipiente que comprende una solución fisiológicamente aceptable para preparar una solución concentrada de la preparación farmacéutica liofilizada y un segundo recipiente, tal como una bolsa para infusión, que comprende una cantidad mayor de una solución fisiológicamente aceptable para la preparación de la solución más diluida para la administración a un individuo.

Una preparación farmacéutica liofilizada, una composición farmacéutica o un kit descritos en la presente memoria pueden comprender solo clorhidrato de melfalán flufenamida como agente antitumoral. Sin embargo, el melfalán flufenamida también puede combinarse con uno o más agentes antitumorales, tal como otras sustancias antitumorales tales como la gemcitabina, etopósido, doxorrubicina o taxanos u otras sustancias eficaces terapéuticamente. Cuando se combinan con otros agentes antitumorales, estos pueden mezclarse con el melfalán flufenamida o una sal aceptable farmacéuticamente de estos antes de la liofilización y en consecuencia liofilizarse junto con el melfalán flufenamida o una sal aceptable farmacéuticamente de estos o combinarse con el melfalán flufenamida liofilizado o una sal aceptable farmacéuticamente estos después de la liofilización, tal como en un kit o una composición farmacéutica. El melfalán flufenamida liofilizado también puede mezclarse con una o más sustancias antitumorales en forma seca, incluso sin liofilizar, después de la liofilización del melfalán flufenamida o una sal aceptable farmacéuticamente de este.

El melfalán flufenamida proporcionado en la presente memoria tiene una actividad citotóxica y por lo tanto puede usarse en la prevención y/o el tratamiento del cáncer como se describe en otra parte (ver, por ejemplo, el documento WO 01/96367). Una reducción de la supervivencia de las células tumorales de melfalán flufenamida se demostró en el documento WO 01/96367 para diferentes tumores hematológicos y/o sólidos, por ejemplo, cáncer de pulmón, mieloma, linfoma, leucemia, cáncer de mama, y carcinoma de ovario. Además, el melfalán flufenamida se demostró en el documento WO 01/96367para evitar la resistencia al melfalán. Por lo tanto, el melfalán flufenamida puede usarse en la prevención y/o el tratamiento del cáncer, reduciendo el crecimiento tumoral y/o destruyendo las células tumorales. De este modo, el melfalán flufenamida puede usarse para curar y/o prolongar la supervivencia de pacientes afectados por enfermedades cancerosas. El melfalán flufenamida también puede usarse como una dosis única alta, antes del trasplante, de un paciente con cáncer

Otro aspecto de la presente invención proporciona el uso de una preparación farmacéutica liofilizada, kit o composición farmacéutica como se divulga y reivindica en la presente memoria, para su uso como medicamento.

Otro aspecto de la presente invención proporciona el uso de una preparación farmacéutica liofilizada, kit o composición farmacéutica como se divulga y reivindica en la presente memoria, para su uso en el tratamiento y/o prevención del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico.

En una realización de este aspecto, dicha preparación farmacéutica liofilizada, kit o composición farmacéutica como se divulga y reivindica en la presente memoria, para su uso en el tratamiento y/o prevención del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico, se proporciona cada 3ra semana, típicamente de 3 a 6 ciclos de tratamiento.

Otro aspecto de la presente invención proporciona el uso de una preparación farmacéutica liofilizada, kit o composición farmacéutica como se divulga y reivindica en la presente memoria, para su uso antes del trasplante de cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico. En tal uso, la preparación comprende aproximadamente 200 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) o superior, tal como 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg u 800 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) en la que la relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y la sacarosa es de 1:25 a 1:75. Tales preparaciones pueden ser particularmente útiles como una dosis única alta, antes del trasplante.

Otro aspecto de la presente invención proporciona el uso de una preparación farmacéutica liofilizada, kit o composición farmacéutica como se divulga y reivindica en la presente memoria, para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico.

Otro aspecto de la presente invención proporciona el uso de una preparación farmacéutica liofilizada, kit o composición farmacéutica como se divulga y reivindica en la presente memoria, para la preparación de un medicamento antes del trasplante de cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico. En tal uso, la preparación comprende 200 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) o superior, tal como 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg u 800 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1). Tales preparaciones pueden ser particularmente útiles como una dosis única alta, antes del trasplante.

Otro aspecto de la presente invención proporciona una preparación farmacéutica liofilizada, un kit o composición farmacéutica que comprende clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) en combinación con otro fármaco útil en el tratamiento del cáncer, para su uso en el tratamiento y/o prevención del cáncer, tal como el cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico.

También se describe en la presente memoria un procedimiento para el tratamiento y/o prevención del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico. El procedimiento puede comprender la administración de una preparación farmacéutica liofilizada, un kit o una composición farmacéutica como se proporciona en la presente memoria en una dosis terapéuticamente eficaz a un individuo que lo necesite. El individuo es típicamente un humano o un animal doméstico.

En una realización de este aspecto, la preparación farmacéutica liofilizada reivindicada, un kit o una composición farmacéutica como se proporciona en la presente memoria en una dosis terapéuticamente eficaz para un individuo que lo necesita cada 3ra semana típicamente durante 3 a 6 ciclos de tratamiento.

Además se describe en la presente memoria un procedimiento para el tratamiento y/o prevención del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico, en el que la preparación del producto farmacéutico liofilizado reivindicado, se proporciona un kit o una composición farmacéutica que comprende clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) en una dosis eficaz terapéuticamente a un individuo que lo necesite, en combinación con otro fármaco, útil en el tratamiento del cáncer. El individuo es típicamente un humano o un animal doméstico.

También se describe en la presente memoria un procedimiento para el tratamiento y/o prevención del cáncer, tal como cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama y/o cualquier otro cáncer sólido o hematológico, en el que el la preparación farmacéutica liofilizada reivindicada, se proporciona un kit o una composición farmacéutica que comprende clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) en una dosis terapéuticamente eficaz antes del trasplante a un individuo que lo necesite. El individuo es típicamente un humano o un animal doméstico. En tal procedimiento, la preparación comprende 200 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) o superior, tal como 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg u 800 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y en la que la relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y la sacarosa es de 1:25 a 1:75. Tales preparaciones pueden ser particularmente útiles como una dosis única alta, antes del trasplante.

La administración de la preparación farmacéutica liofilizada reivindicada, un kit o una composición farmacéutica a un individuo que lo necesite puede realizarse mediante inyecciones intravenosas. También es posible administrar el

melfalán flufenamida liofilizado o una composición farmacéutica que comprende tal melfalán flufenamida liofilizado en cavidades corporales, tales como la instilación en la vejiga, o en cavidades peritoneales o pleurales.

El clorhidrato de melfalán flufenamida puede administrarse en una cantidad de 20-130 mg, tal como 25-75 mg, por ejemplo 15, 20, 25, 40, 50 o 55 mg de una cantidad total de melfalán flufenamida por administración. La composición farmacéutica o el kit proporcionado en la presente memoria que comprende melfalán flufenamida puede tener, por lo tanto, una cantidad del melfalán flufenamida liofilizado reivindicado tal que pueda administrarse esta cantidad.

El clorhidrato de melfalán flufenamida puede administrarse en una cantidad de 20-130 mg, tal como 25-75 mg, por ejemplo 15, 20, 25, 40, 50 o 55 mg de una cantidad total de melfalán flufenamida por administración. La composición farmacéutica o el kit proporcionado en la presente memoria que comprende melfalán flufenamida puede tener, por lo tanto, una cantidad de melfalán flufenamida liofilizado de manera que esta cantidad pueda administrarse cada 3ra semana, típicamente de 3 a 6 ciclos de tratamiento.

El clorhidrato de melfalán flufenamida liofilizado puede administrarse diariamente, cada segundo o tercer día, semanalmente, cada segunda, tercera o 4 ^{ta} semana o incluso como una dosis única alta, tal como antes del trasplante, en dependencia del individuo y la forma del cáncer a tratar. Una dosis única alta puede ser 200 mg o superiores de melfalán flufenamida, como 300, 400, 500, 600, 700 u 800 mg de melfalán flufenamida.

La expresión "prevención", como se usa en la presente memoria, pretende incluir la terapia en un paciente que ha sido sometido a la quimioterapia contra cualquier forma de cáncer como se describe en la presente memoria, y que se somete a una terapia continua con el objetivo de prevenir cualquier metástasis que se produzca por dicho cáncer.

Sin embargo, un aspecto de la presente divulgación proporciona el uso de la sacarosa como excipiente, en una preparación liofilizada de melfalán flufenamida, o una sal aceptable farmacéuticamente de este, para disminuir el tiempo de reconstitución de la preparación liofilizada de dicho melfalán flufenamida, cuando se reconstituye en un solvente acuoso.

Dicho melfalán flufenamida, o una sal aceptable farmacéuticamente de este, es el clorhidrato de melfalán flufenamida (J1).

Dicho clorhidrato de melfalán flufenamida se disuelve preferentemente en terc-butanol o una mezcla de terc-butanol y agua, antes de someter dicho melfalán flufenamida a dicho excipiente.

En este documento, "liofilización", "secado por congelación", "liofilizado", "sometido a secado por congelación", y similares pueden usarse indistintamente.

La sacarosa es, por ejemplo, la vendida por Dansukker, que tiene el número de registro CAS 57-50-1.

Sin embargo, un aspecto de la presente divulgación proporciona el uso del terc-butanol, opcionalmente en mezcla con el agua, en un proceso para preparar una preparación farmacéutica liofilizada de melfalán flufenamida, preferentemente clorhidrato de melfalán flufenamida (J1). Preferentemente, dicho terc-butanol está en la mezcla con el agua en una relación de volumen 1:1.

El clorhidrato de melfalán flufenamida puede prepararse como se divulga en el documento WO 01/96367. El ejemplo 1 del documento WO 01/96367 divulga un procedimiento sintético para elaborar el melfalán flufenamida (éster etílico de L-melfalanil-L-p-fluorofenilalanina), así como su sal clorhidrato - clorhidrato de melfalán flufenamida J1 (éster etílico de L-melfalanil-L-*p*-fluorofenilalanina, compuesto J1). En el documento WO 01/96367, se demostró que el melfalán flufenamida tiene una actividad de destrucción celular aumentada contra tumores, incluso cuando se usa en concentraciones más bajas que el melfalán. Además, la resistencia al melfalán podría impedirse.

La presente invención se describirá además por medio de los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1. Efecto de la sacarosa sobre la velocidad de disolución del melfalán flufenamida liofilizado

Se probó la velocidad de disolución del clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) mediante la adición de la sacarosa al proceso de secado por congelación de J1. La sacarosa es un agente de formulación generalmente considerado como seguro (GRAS) de acuerdo con la FDA (Administración Americana de Alimentos y Medicamentos).

<u>Etapa 1 - preparación y liofilización del J1</u> (no en el alcance de las reivindicaciones)

Se preparó una solución de J1 (5 mg) en terc-butanol:agua 1:1 (5 ml). Se añadieron 100 µL de la solución a un frasco que contenía 0,2 mg de sacarosa. El frasco se cubrió con papel de aluminio y se congeló en hielo seco-acetona. El frasco estaba compuesto por 0,1 mg de J1 y 0,2 mg de sacarosa. El frasco con la muestra después de eso se sometió a secado por congelación durante la noche. El secado por congelación se realizó en un equipo Leybold Lyovac GT2.

<u>Etapa 2 - Solución de glucosa para disolución</u>

Se preparó una solución de glucosa al 5 % (100 ml) y se añadió el marcador interno ácido 3-metoxibenzoico (0,8 mg/ml) a la solución.

Etapa 3 - Determinación de la velocidad de disolución

Se añadieron 0,5 ml de la solución de glucosa de la etapa 2 al frasco sometido a secado por congelación con la muestra J1 de la etapa 1. El frasco se agitó a temperatura ambiente durante 15 segundos y después de eso se filtró y se transfirió a un frasco de vidrio para medir la concentración de J1, con HPLC. La cantidad de J1 disuelto se determinó mediante el uso de HPLC y una curva de calibración.

Resultados

La concentración de J1, disuelta en la solución de glucosa durante 15 segundos de la etapa 3 fue de 0,08 mg/ml, lo que representa aproximadamente el 40 % de J1 disuelto en 15 segundos.

Ejemplo 2. Prueba del efecto de la cantidad de sacarosa sobre la velocidad de disolución del melfalán flufenamida en solución acuosa

Se probó la velocidad de disolución mediante la adición de la sacarosa en diferentes cantidades al proceso de secado por congelación del clorhidrato de melfalán flufenamida (J1). La experimentación se llevó a cabo como se establece en el Ejemplo 1 anterior, pero se varió la cantidad de sacarosa: Se preparó una solución de J1 (5 mg) en terc-butanol:agua 1:1 (5 ml). Se añadieron 100 µL de la solución a los frascos que contenían sacarosa sometida a secado por congelación de 0,2 mg, 5 mg y 50 mg, respectivamente. Los frascos se cubrieron con papel de aluminio y congelaron en hielo seco-acetona. Los frascos estuvieron compuestos por 0,1 mg de J1 y 0,2 mg de sacarosa (relación 1:2 p/p), 0,1 mg de J1 y 5 mg de sacarosa (relación 1:50 p/p) y 0,1 mg de J1 y 50 mg de sacarosa (relación 1:500 p/p). Los frascos con las muestras después de eso se sometieron a secado por congelación durante la noche. El secado por congelación se realizó en un equipo Leybold Lyovac GT2. Se preparó una solución acuosa (100 ml) y se añadió el marcador interno ácido 3-metoxibenzoico (0,08 mg/ml) a la solución. Se añadieron 0,5 ml de la solución de glucosa a cada uno de los frascos sometidos a secado por congelación con la muestra J1. Los frascos se agitaron a temperatura ambiente durante 15 segundos y después de eso se filtraron y se transfirieron a frascos de vidrio para medir la concentración de J1, con HPLC. La cantidad de J1 disuelto en cada frasco se determinó mediante el uso de HPLC y una curva de calibración. La concentración de J1, disuelto en la solución de agua durante 15 segundos para cada frasco se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1.

Cantidad de J1/sacarosa	Relación de peso J1: sacarosa (p/p)	% de J1 disuelto en 15 segundos
0,1 mg / 0,2 mg*	1:2	46
0,1 mg / 5 mg	1:50	97
0,1 mg / 50 mg*	1:500	20
*ejemplo fuera del alcance de las reivindicaciones		

Los resultados en la Tabla 1 muestran que se produjo un aumento inesperado de la velocidad de disolución cuando la relación de peso (p/p) entre dicho melfalán flufenamida y la sacarosa fue de aproximadamente 1:50, sin embargo, se produjo un aumento sustancial de la velocidad de disolución cuando la relación de peso (p/p) entre dicho melfalán flufenamida y sacarosa fue de 1:2.

Ejemplo 3. Prueba del efecto de la cantidad de sacarosa en la velocidad de disolución del melfalán flufenamida en la solución de glucosa

Se preparó una solución de J1 1 mg/ml en terc-butanol/agua 1:1. Se añadieron 100 ul de esta solución a siete frascos de vidrio transparente de 2 ml que contenían sacarosa (0,2 mg, 1 mg, 2,5 mg, 5,0 mg, 7,5 mg, 10 mg y 50 mg). Los frascos de vidrio se usaron de manera que se pudiera controlar que una mezcla homogénea entre J1 y sacarosa se formara antes del secado por congelación. Los frascos se agitaron ocasionalmente. Los frascos 1-3 mostraron una solución transparente (inspección visual) después de 1-2 minutos, mientras que los frascos 4-7 que contenían una mayor cantidad de sacarosa necesitaron hasta 20 minutos antes de que se disolvieran todos la masa de azúcar. Para los frascos 6 y 7 se observó un sistema de dos fases (t-butanol/agua) y no se obtuvo una solución homogénea. Los 7 frascos se enfriaron y se sometieron a secado por congelación durante 36 horas.

Se añadió una solución de glucosa al 5 % que contenía 0,08 mg/ml de ácido 3-metoxibenzoico (0,5 ml) a cada uno de los frascos de polipropileno que contenían la mezcla liofilizada de J1:sacarosa, uno por vez. El frasco se agitó a temperatura ambiente durante 15 segundos, la solución se filtró a través de un dispositivo de filtro suministrado con el frasco y se transfirió a un frasco de vidrio para el análisis de la concentración de J1 con HPLC. Por comparación de

los valores integrales de HPLC para los picos J1 con una curva de calibración, se pudieron calcular las concentraciones en mg/ml. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Disolución de J1 después de 15 segundos en una solución de glucosa al 5 %.

Muestra	Área (254 nM)	Área.int.estándar (305 nM)	solubilidad mg/ml (15 segundos)	J1:sacarosa (p/p)	% de J1 disuelto
1*	1.120	242	0,16	1:2	79
2*	998	249	0,14	1:10	71
3	1.263	260	0,18	1:25	90
4	1.195	254	0,17	1:50	85
5	1.173	255	0,17	1:75	83
6*	513	250	0,07	1:100	36
7*	1.204	264	0,17	1:500	85
*ejemplo fuera del alcance de las reivindicaciones					

La Tabla 2 muestra que la velocidad de disolución de J1 después de 15 segundos es rápida para todas las proporciones de sacarosa, excepto para la muestra 6, donde solo se disolvió el 36 %. Como se mencionó anteriormente, las muestras 6 y 7 no eran homogéneas antes del secado por congelación y esto podría ser una explicación plausible.

Ejemplo 4. Prueba del efecto de la cantidad de sacarosa sobre la velocidad de disolución del melfalán flufenamida en la solución de glucosa con transferencia de frasco

Se repitió el Ejemplo 3 anterior, sin embrago, con la diferencia de que después de la filtración, la mezcla se transfirió desde el frasco de filtro de polipropileno a un frasco de vidrio para evitar una disolución adicional. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Disolución de J1 después de 15 segundos en una solución de glucosa al 5 %.

Muestra	Área (254 nM)	Área.int.estándar (305 nM)	solubilidad mg/ml (15 segundos)	J1:sacarosa (p/p)	% de J1 disuelto
1*	906	227	0,13	1:2	64
2*	959	238	0,14	1:10	68
3	898	229	0,13	1:25	63
4	924	235	0,13	1:50	65
5	570	217	0,08	1:75	40
6*	918	236	0,13	1:100	65
7*	811	242	0,11	1:500	57
*ejemplo fuera del alcance de las reivindicaciones					

La solubilidad de J1 fue algo menor que la descrita en el ejemplo 3. Por lo tanto, la transferencia a un frasco de vidrio al realizar estos estudios pudiera ser importante para evitar una mayor disolución. Tenga en cuenta que el estándar interno es 10 % inferior en estos experimentos. Esto podría explicarse por las diferencias de presión en el frasco de filtro frente al frasco de vidrio y da como resultado las diferencias en el volumen de inyección en el HPLC.

Ejemplo 5. Prueba del efecto de la cantidad de sacarosa sobre la velocidad de disolución del melfalán flufenamida en solución acuosa

Se llevaron a cabo experimentos adicionales para investigar el efecto de la glucosa sobre la disolución de J1 después de 15 segundos. El secado por congelación se realizó como anteriormente, pero en lugar de una solución de glucosa al 5 %, se añadió una solución de agua que contenía 0,08 mg/ml de ácido 3-metoxibenzoico (0,5 ml) a cada uno de los frascos de vidrio, uno a la vez. El frasco se agitó a temperatura ambiente durante 15 segundos y se transfirió a un frasco de polipropileno, se filtró y se transfirió a un frasco de vidrio para evitar una mayor disolución. La concentración

de J1 se determinó con HPLC. El experimento se ejecutó por duplicado (a y b). Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Disolución de J1 después de 15 segundos en una solución acuosa.

Muestra	Área (254 nM)	Área,int,estándar (305 nM)	solubilidad mg/ml (15 segundos)	J1:sacarosa (p/p)	% de J1 disuelto
1a*	1.032	205	0,15	J1:Sac 1:2	73
1b*	968	209	0,14		68
2a*	945	206	0,13	J1: Sac 1:10	67
2b*	850	202	0,12		60
3a	876	197	0,12	J1:Sac 1:25	62
3b	879	203	0,12		62
4a	971	209	0,14	J1:Sac 1:50	69
4b	889	204	0,13		63
5a	464	203	0,06	J1:Sac 1:75	32
5b	571	204	0,08		40
6a*	473	207	0,07	J1:Sac 1:100	33
6b*	907	216	0,13		64
7a*	782	214	0,11	J1:Sac 1:500	55
7b*	773	221	0,11		54
*ejemplo fuera del alcance de las reivindicaciones					

La Tabla 4 frente a la Tabla 3 muestra que la cantidad de J1 disuelto después de 15 segundos es más o menos la misma cuando se usa agua en lugar de una solución de glucosa al 5 %. El parámetro más importante parece ser la cantidad de sacarosa en los frascos sometidos a secado por congelación. Los resultados con una relación J1:sacarosa ≤1:50 parecen más consistentes que los resultados con relaciones superiores de J1:sacarosa.

Ejemplo 6. Prueba de estabilidad de solución de J1: terc-butanol

Se probó la estabilidad de la solución que contenía J1 y terc-butanol:agua, 1:1 (v/v). Una solución que comprende terc-butanol:agua 1:1 (v/v) y J1 a una concentración de 1 mg/ml, se dejó a temperatura ambiente durante 5 días. La cantidad de J1 se midió por HPLC y la señal disminuyó del 97,2 % al 85,5 %, es decir, una disminución del 11,7 %. Un experimento similar, donde J1 se disolvió en una solución ácida de etanol-agua proporcionó una degradación que pareció mucho más rápida.

Ejemplo 7. Régimen de dosificación de las preparaciones de la invención

Se prueban clínicamente las preparaciones farmacéuticas liofilizadas de la presente invención, que comprenden clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y sacarosa. Los pacientes con neoplasia maligna avanzada en buena condición física, con funciones conservadas de los órganos principales y que no son susceptibles al tratamiento estándar contra el cáncer pero que necesitan tratamiento médico, se inscribirán en el estudio. Inicialmente, se elige un diseño de titulación de dosis acelerada para minimizar el número de pacientes tratados por debajo del nivel activo biológicamente, lo que reduce sus posibilidades de beneficio terapéutico. Se tratará a un paciente en cada nivel de dosis hasta que se observe una toxicidad límite de la dosis. El estudio cambia después, a un diseño conservador con cohortes de 3 a 6 pacientes por nivel de dosis hasta alcanzar la dosis máxima tolerada.

La dosis de partida para el estudio será una dosis fija de 25 mg de J1 (aproximadamente 14 mg/m^2) que representa en términos equimolares una dosis de melfalán de 14 mg u 8 mg/m^2. Las dosis se aumentarán/reducirán de acuerdo con la toxicidad observada, siguiendo un esquema de dosificación predefinido. El régimen de aumento de la dosis se basa en el deseo y la necesidad de proporcionar el beneficio terapéutico lo más rápido posible a los pacientes individuales, mientras que se tiene debidamente en cuenta protegerlo/protegerla contra la toxicidad desfavorable. La solución J1 se administrará como una infusión intravenosa cada 3ra semana durante 3 a 6 ciclos de tratamiento en dependencia de la tolerancia y la respuesta tumoral.

Todos los pacientes recibirán la solución J1 como una infusión intravenosa de 30 minutos en el día 1 de cada ciclo de tratamiento, con 21 días entre tratamientos y con la posibilidad de posponerse hasta 3 semanas, esperando que los eventos adversos clínicamente relevantes retornen al grado 1 o menos. Se planea que los pacientes reciban al menos

3 ciclos de tratamiento. Los pacientes regresarán a la clínica para los controles de seguridad los días 8, 10-12, 15 y 21 de cada ciclo. El esquema de eventos se repetirá cada ciclo de tratamiento hasta 6 ciclos de tratamiento, en dependencia de la toxicidad observada y la respuesta tumoral.

Administración del tratamiento

Se planea que todos los pacientes en este estudio reciban al menos 3 ciclos de tratamiento con 21 días entre las administraciones de tratamiento. Para los pacientes con enfermedad estable o remisión tumoral objetiva y toxicidad tolerable al final del ciclo 3, el tratamiento puede extenderse otros 3 ciclos dentro del estudio a discreción del investigador. Después de eso, el paciente abandona el estudio. El tratamiento del estudio se administrará a través de un catéter venoso central, que se implantará/insertará de acuerdo con los programas clínicos estándar. La farmacia diluirá el concentrado J1 en 250 ml de glucosa al 5 %. El conjunto de tubos de infusión debe llenarse previamente con glucosa al 5 %. El tiempo desde la preparación hasta el final de la infusión no debe exceder los 60 minutos, es decir, la infusión debe comenzar lo antes posible, pero no después de 30 minutos desde la preparación y debe administrarse como una infusión intravenosa central de 30 minutos. Se recomienda el tratamiento profiláctico con el fármaco antiemético (por ejemplo, Navoban; 5 mg intravenoso y Betapred; 4 mg intravenoso) antes de la administración de la solución J1. Los fármacos antieméticos posteriores contra la emesis tardía se administrarán a discreción del investigador. Los pacientes permanecerán en la clínica durante al menos 2 horas después de la interrupción de la administración del fármaco del estudio. Típicamente, la dosis inicial para la fase IIa será de 50 mg.

Respuesta tumoral

La respuesta tumoral se evaluará al inicio y/o cada 3 o 9 semanas/3er ciclo de tratamiento.

Al inicio, las lesiones tumorales se clasificarán de la siguiente manera:

Medibles	Lesiones que pueden medirse con precisión en al menos una dimensión (diámetro más largo a registrar) como ≥ 20 mm con técnicas convencionales o como ≥ 10 mm con tomografía computarizada en espiral o imagen por resonancia magnética.
No medibles	Todas las demás lesiones, incluidas las pequeñas (diámetro más largo < 20 mm con técnicas convencionales o < 10 mm con tomografía computarizada en espiral o imagen por resonancia magnética) y lesiones verdaderamente no medibles (es decir, lesiones óseas, enfermedad leptomeníngea, ascitis, derrame pleural/pericárdico, enfermedad inflamatoria de la mama, linfangitis cutis/pulmonis, masas abdominales que no están confirmadas y se siguen mediante técnicas de imagen y lesiones quísticas).

Las lesiones medibles hasta un máximo de 5 lesiones por órgano y 10 lesiones en total, representativas de los órganos involucrados, deben identificarse como lesiones objetivo y se registrarán y medirán en los valores iniciales. Las lesiones objetivo deben seleccionarse en base de su tamaño (aquellas con los diámetros más largos) y su idoneidad para mediciones repetitivas precisas. Se calculará una suma de los diámetros más largos para todas las lesiones objetivo y se informará como la suma de los diámetros más largos de los valores iniciales. El diámetro más largo de la suma de los valores iniciales se utilizará como referencia para caracterizar la respuesta tumoral objetiva.

Todas las otras lesiones (o sitios de la enfermedad), deben identificarse como lesiones no objetivo y también, deben registrarse en los valores iniciales. No se requieren mediciones de estas lesiones, pero la presencia o ausencia de cada una debe tenerse en cuenta durante todo el seguimiento.

Criterios de respuesta para la evaluación de las lesiones objetivo

Respuesta completa (CR)	La desaparición de todas las lesiones objetivo.
Respuesta parcial (PR)	Al menos disminuye el 30 % en la suma de los diámetros más largos de las lesiones objetivo, al tomar como referencia la suma de los valores iniciales del diámetro más largo.
Enfermedad estable (SD)	Ninguna contracción suficiente para calificar la respuesta como parcial, ningún aumento suficiente para calificar la enfermedad como progresiva, tomando como referencia la suma más pequeña del diámetro más largo desde que comenzó el tratamiento.
Enfermedad progresiva (PD)	Al menos un aumento del 20 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones objetivo, tomando como referencia la suma más pequeña del diámetro más largo registrado desde que comenzó el tratamiento o la aparición de una o más lesiones nuevas.

Criterios de respuesta para la evaluación de lesiones no objetivo

Respuesta completa (CR)	La desaparición de todas las lesiones no objetivo y la normalización del nivel del marcador tumoral.
Enfermedad estable (SD)	La persistencia de una o más lesión(es) no objetivo y/o el mantenimiento del nivel del marcador tumoral por encima de los límites normales.
Enfermedad progresiva (PD)	La aparición de una o más lesiones nuevas y/o progresión inequívoca de las lesiones no objetivo existentes.

REIVINDICACIONES

1. Una preparación farmacéutica liofilizada que comprende clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y sacarosa en la que la relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y la sacarosa es de 1:25 a 1:75.

2. Una preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la relación de peso (p/p) entre dicho clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y la sacarosa es 1:50.

3. Una preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende 50 mg de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1) y 2,5 g de sacarosa.

4. Una preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que está libre, o esencialmente libre de solventes orgánicos.

5. Una composición que comprende una preparación farmacéutica liofilizada de clorhidrato de melfalán flufenamida (J1), de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

6. Una composición de acuerdo con la reivindicación 5, que comprende una solución fisiológicamente aceptable.

7. Un kit de combinación de partes que comprende

(i) una preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; y

(ii) una solución fisiológicamente aceptable.

8. Una preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su uso como un medicamento.

9. Una preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su uso en el tratamiento y/o prevención del cáncer.

10. La preparación farmacéutica liofilizada para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicho cáncer es uno cualquiera de cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, mesotelioma, mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer hematológico.

11. La preparación farmacéutica liofilizada para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en el que dicha preparación farmacéutica liofilizada se proporciona cada 3ra semana.

12. La preparación farmacéutica liofilizada para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicha preparación farmacéutica liofilizada se proporciona cada 3ra semana en 3 a 6 ciclos de tratamiento.

13. Una preparación farmacéutica liofilizada para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, antes del trasplante.

14. Un kit de combinación de partes de acuerdo con la reivindicación 7, para su uso en el tratamiento del cáncer.