

SISTEMAS DE ENTREGA DE NANOPARTÍCULA QUE INCLUYEN
ESTABILIZADORES ANFIFÍLICOS

Solicitudes Relacionadas

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de EE.UU. con números de serie 62/192,973 presentada el 15 de julio de 2015 y 62/252,936 presentada el 6 de noviembre de 2015, las cuales se incorporan acá por referencia en su totalidad.

Campo Técnico

[0002] La invención se relaciona con composiciones y métodos para la entrega mejorada y la toxicidad reducida de combinaciones de agentes terapéuticos, y con un empaque comercial o producto que comprende dicha combinación.

Antecedentes

[0003] La progresión de varias enfermedades que ponen en peligro la vida tal como cáncer, SIDA, enfermedades infecciosas, desórdenes inmunes y desórdenes cardiovasculares está influenciada por múltiples mecanismos moleculares. Debido a esta complejidad, lograr curas con un agente único se ha cumplido con éxito limitado. Así, las combinaciones de agentes a menudo se han usado para combatir la enfermedad, particularmente en el tratamiento de cánceres. Parece que hay una fuerte correlación entre el número de agentes administrados y las tasas de cura para cánceres tal como leucemia linfocítica aguda y cáncer colon-rectal metastásico (Fre, y otros, Clin. Cancer Res (1998) 4:2027-2037; Fisher, M.D., Clin. Colorectal Cancer (2001) 1:85-86). En particular, los agentes quimioterapéuticos en combinación con agentes potenciadores, tal como inhibidores de proteína de choque térmico se han usado para tratar exitosamente un número de cánceres en la clínica.

[0004] Los taxanos son una clase de fármacos anticancerígenos ampliamente utilizados. Estos se producen naturalmente por plantas que pertenecen al género *Taxus* (por ejemplo, Tejos). Los “taxanos” incluyen paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel y otros taxanos análogos o derivados de los mismos.

[0005] Los agentes potenciadores como se describen acá son agentes molecularmente orientados que afectan la tumorigenesis, a menudo al modular la apoptosis. Estos agentes incluyen inhibidores de proteína de choque térmico (HSP), en particular inhibidores HSP90 (HSPi). El HSP90 es un acompañante molecular el cual estabiliza una variedad de proteínas requeridas para la supervivencia de las células cancerígenas. Se encontró que se sobre expresan en un número de tipos de cánceres y por lo tanto la inhibición de HSP90 se identificó como un beneficio terapéutico potencial en el tratamiento de múltiples tipos de malignidades.

[0006] Los investigadores han demostrado mejoras prometedoras en el tratamiento de cáncer al administrar cocteles de fármacos libres de un número de combinaciones de taxanos/inhibidores HSP90 (HSP90i). A pesar de las ventajas asociadas con el uso de estos cocteles de fármacos libres, hay varios inconvenientes que limitan su eficacia incluyendo extensiva toxicidad gastrointestinal y ocular. Adicionalmente, la administración de estos cocteles de fármacos libres a menudo resulta en la eliminación rápida de uno o ambos de los agentes antes de alcanzar el sitio objetivo.

[0007] La trayectoria RAS/RAF/MEK/ERK (Quinasas Reguladas de Señal Extracelular) es una de las trayectorias intracelulares mejor conocidas y se regula mediante quinasas de tirosina receptora, citoquinas, y receptor acoplado a proteína G heterotrimérico. La serie de proteínas que hacen esta trayectoria comienza con un receptor en la superficie de la célula y luego transfiere la información de forma intracelular a través de las proteínas subsecuentes al ADN dentro del núcleo. La trayectoria incluye proteínas tales como, MAPK (quinasas de proteína activadas de mitógeno, también denominadas ERK), las cuales se comunican al adicionar grupos

fosfato a una proteína vecina, y a su vez actúa como un interruptor de “encendido” o “apagado”. Cuando una de las proteínas en la trayectoria es mutada, se puede atascar en la posición “encendido” o “apagado” – este es un paso necesario en el desarrollo de varios cánceres. Los componentes de la trayectoria MAPK/ERK se descubrieron cuando éstos se encontrando en células cancerígenas. Numerosos fármacos que reversan el cambio “encendido” o “apagado” están siendo investigados como tratamientos de cáncer.

[0008] El PI3K/AKT/mTOR u objetivo de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/AKT/mamífero de trayectoria de rapamicina es otra trayectoria de señalización intracelular bien conocida que es central al crecimiento y supervivencia celular, regulación de ciclo celular, y muerte de célula programada. La activación anormal de esta cascada de señalización está vinculada a diversos estados de enfermedad, incluyendo la mayoría de cánceres humanos, y por los tantos varios componentes de la trayectoria son objetivos para intervención terapéutica. La trayectoria de PI3K/AKT/mTOR juega un papel clave en la proliferación, adhesión, migración, invasión, metabolismo, y supervivencia celular así como angiogénesis. Puede haber factores conocidos que mejoran esta trayectoria incluyendo, EGF, shh, IGF-1, insulina, y CaM; y puede haber factores conocidos para inhibidor esta trayectoria incluyendo PTEN, GSK3B, y HB9.

[0009] Los investigadores han demostrado mejoras prometedoras en el tratamiento de cáncer al administrar cocteles de fármacos libres de un número de inhibidores de estas trayectorias. A pesar de las ventajas asociadas con el uso de estos cocteles de fármacos libres, hay varios inconvenientes que limitar su eficacia incluyendo extensiva toxicidad gastrointestinal y ocular. Adicionalmente, la administración de los cocteles de fármacos libres a menudo resulta en la eliminación rápida de uno o ambos de los agentes antes de alcanzar el sitio objetivo.

[0010] Para mejorar la eliminación, varios fármacos anticancerígenos en general se han incorporado en vehículos de entrega diseñados para “protegerlos” de

mecanismos que de otra forma resultarían en su eliminación rápida del flujo sanguíneo. Es bien conocido que las nanopartículas tienen la capacidad de suministrar este efecto de “protección” y ellas a menudo permiten extender la vida útil de los agentes terapéuticos así como reducir su toxicidad y/o resistencia a fármaco asociada. La encapsulación en vehículos de entrega bien diseñados puede también resultar en farmacocinética coordinada de fármacos encapsulados. Sin embargo, la formulación de fármacos específicos o más de un fármaco en vehículos de entrega se ha probado que es difícil debido a la composición de polímero del vehículo que a menudo afecta diferencialmente la farmacocinética de los fármacos individuales. Así, una composición que es adecuada para retención y liberación de un fármaco puede no ser adecuada para la retención y liberación de un segundo fármaco. Presentemente, aunque algunas combinaciones activas de inhibidores a estas trayectorias están siendo utilizadas exitosamente en ensayos clínicos, no ha sido descrita una preparación farmacéutica diseñada para reducir la toxicidad y controlar la farmacocinética, y así la entrega de tumor, de estas drogas.

[0011] La publicación PCT WO2006/014626 ('626) describe construcciones particuladas para liberación de agentes activos de varios tipos. En las nanopartículas de esta publicación, los profármacos en donde una porción terapéutica se acopla a través de un enlazador a una porción hidrófoba se ensamblan en nanopartículas usando un estabilizador anfifílico. Las formulaciones están diseñadas para coordinar la liberación de fármacos libres a partir de partículas por virtud de hidrolisis de una unión divisible en el enlazador que resulta en el fármaco libre que es liberado a partir de nanopartículas. Esto es en contraste a la presente invención en donde las nanopartículas están diseñadas con el fin de liberar los profármacos en forma intacta con hidrolisis posterior en el flujo sanguíneo. Este subconjunto de las nanopartículas descritas en la publicación '626 resulta de la selección adecuada de copolímero y la proporción específica de porción hidrófoba a hidrófila así como el rango requerido de pesos moleculares de la porción hidrófoba

y el tamaño de las nanopartículas. Esto resulta en un comportamiento diferente del enfocado en las nanopartículas de la publicación '626.

[0012] Los presentes inventores han identificado por primera vez formulaciones de nanopartícula particulares que comprenden la combinación de fármacos que resultan en vidas útiles extendidas, toxicidad reducida, resistencia a fármaco reducida y/o eficacia superior cuando se administra *in vivo*. Las combinaciones particulares de droga ilustrativas incluyen taxanos o derivados de los mismos y un inhibidor HSP90 y combinaciones de inhibidor de RAS/RAF/MEK/ERK y un inhibidor de PI3K/AKT/mTOR.

Divulgación de la Invención

[0013] Ahora se ha encontrado que al suministrar dos o más agentes terapéuticos, cada uno como un conjugado de profármaco de una porción hidrófoba acoplada a través de un enlazador a dicho agente terapéutico y encapsulando dichos profármacos de tamaño adecuado al mezclar dichos profármacos con un copolímero de una porción hidrófoba y una porción hidrófila de una proporción adecuada y formado dichas nanopartículas al mezclar dicha mezcla con una fase acuosa, se obtienen composiciones de modo que una amplia variedad de agentes terapéuticos se pueden suministrar a sujetos, en donde la dosis máxima tolerada se aumenta y las concentraciones de plasma se mantienen a un nivel deseado por largos periodos de tiempo.

[0014] Así, en un aspecto, la invención está dirigida a una composición farmacéutica que comprende nanopartículas en donde dichas nanopartículas tienen un diámetro promedio de menos de 80 nm, o preferiblemente 20-80 nm, o incluso más de preferiblemente 40-80 nm, y comprenden por lo menos dos agentes terapéuticos, cada agente terapéutico acoplado a través de un enlazados a una porción hidrófoba para formar dicho profármaco, dichas nanopartículas también comprenden un copolímero de una porción hidrófoba y una porción hidrófila en donde la proporción

en peso de la porción hidrófoba a la porción hidrófila está en el rango de 8:5 a 12:5 y en donde la porción hidrófoba tiene un peso molecular de 8 kD a 15 kD.

[0015] Los profármacos se pueden encapsular en la misma nanopartícula, o en nanopartículas separadas. Una composición simple se puede administrar como una combinación de dichos agentes bien sea encapsulada en la misma nanopartícula o en nanopartículas separadas o se pueden administrar composiciones separadas de nanopartículas que contienen cada uno de los profármacos. Así, como se usa acá, una “composición” incluye no sólo una composición simple *per se*, sino también un “conjunto” de composiciones en donde el conjunto suministra nanopartículas que comprenden los profármacos de los agentes terapéuticos usados en combinación. Así, el “conjunto” es simplemente una forma alterna para suministrar la combinación de agentes sin premezclar necesariamente las composiciones individuales cada una incluyendo nanopartículas que comprenden profármacos de un agente terapéutico. Así, una “composición” incluye esta posibilidad de suministrar a un sujeto la combinación en formulaciones separadas sin mezclarlas antes de la administración. Cuando se suministra como un “conjunto” de composiciones, la administración puede ser simultánea o secuencial.

[0016] Las combinaciones de taxano con inhibidores de choque térmico o combinaciones de inhibidores de varias trayectorias de quinasa son usadas como ejemplos, pero las composiciones de la invención pueden fácilmente incluir cualquier combinación deseada de agentes terapéuticos, y pueden incluir más de dos agentes terapéuticos.

[0017] En una modalidad ilustrativa, la invención se relaciona con composiciones y métodos para administrar cantidades efectivas y menos tóxicas de combinaciones de droga de taxano/HSP90i usando nanopartículas que están asociadas establemente con al menos un taxano y un HSP90i. Estas composiciones permiten que los dos o más agentes se entreguen al sitio de enfermedad en una forma coordinada, asegurando de esta forma que los agentes están presentes en el sitio

de enfermedad en concentraciones terapéuticamente activas con el fin de mejorar la eficacia. Este resultado se logrará bien sea que los agentes sean coencapsulados en nanopartícula o vehículos de entrega a base de micela, o se encapsulan cada una de forma separada en nanopartícula o vehículos de entrega a base de micela administrada de modo que concentraciones terapéuticamente activas de cada una se suministran en el sitio de la enfermedad. La farmacocinética (PK) de la composición se controla por medio de los vehículos de entrega como tal de modo que se logra la entrega coordinada (siempre y cuando el PK de los sistemas de entrega sea comparable). En un aspecto, el taxano y HSP90i se forman como conjugados de droga.

[0018] En este aspecto específico, la invención está dirigida a un método para entregar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de fármaco de taxano/HSP90i a un objeto deseado al administrar las composiciones de la invención.

[0019] La invención también está dirigida a un método para reducir el perfil de efecto secundario de una combinación de droga taxano/HSP90i al administrar las composiciones de la invención. El “perfil de efecto secundario reducido” se puede medir mediante una reducción en efectos secundarios gastrointestinales, oculares y/u otros efectos asociados con un taxano o productos de combinación de droga de taxano/HSP90i los cuales no están asociados con nanopartículas de la invención. Los efectos secundarios asociados con los cocteles de fármacos libres de combinaciones de taxano/HSP90i o taxanos encapsulados en nanopartícula como tal son conocidos por los expertos en la materia y un perfil de efecto secundario mejorado usando formulaciones de la invención son fácilmente medidos. Así, acá se suministran composiciones más seguras y/o menos tóxicas que comprenden una combinación de droga taxano/HSP90i.

[0020] La invención también está dirigida a un método para reducir la resistencia a fármaco al administrar las composiciones de combinación de droga taxano/HSP90i

de la invención. Así, acá se suministran composiciones que comprenden una combinación de droga taxano/HSP90i con resistencia a fármaco reducida. Preferiblemente, dicha resistencia a fármaco es resistencia a fármaco específica de taxano.

[0021] La invención también está dirigida a un método para entregar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de droga taxano/HSP90i al administrar un HSP90i bien sea antes, concurrente o después de la entrega de un taxano establemente asociado con un vehículo de entrega. En aspectos preferidos, el taxano y/o HSP90i cada uno se conjuga en una porción hidrófoba.

[0022] En otro aspecto ilustrativo de la invención, se divulgan composiciones y métodos para administrar cantidades efectivas y menos tóxicas de combinaciones de inhibidores de la trayectoria RAS/RAF/MEK/ERK ("ERK) y/o la trayectoria PI3K/AKT/mTOR ("AKT) usando nanopartículas que están asociadas establemente con al menos dos de estos inhibidores. Estas composiciones permiten que los dos o más agentes sean entregados al sitio de la enfermedad en una forma coordinada, asegurando de esta forma que los agentes están presentes en el sitio de la enfermedad a concentraciones terapéuticamente activas con el fin de mejorar la eficacia. Este resultado se logrará bien sea que los agentes estén coencapsulados en nanopartícula (incluyendo vehículos de entrega a base de micela), o son encapsulados cada uno de forma separada en nanopartícula o vehículos de entrega a base de micela administrados de modo que concentraciones terapéuticamente activas de cada uno se suministran en el sitio de la enfermedad. La farmacocinética (PK) de la composición se controla por los vehículos de entrega como tal de modo que se logra la entrega coordinada (siempre y cuando la PK de los sistemas de entrega sea comparable). En un aspecto, los inhibidores ERK y/o AKT se formulan como conjugados de droga.

[0023] En este aspecto ilustrativo, la invención está dirigida a un método para entregar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de fármaco

inhibidor de ERK/AKT a un objetivo deseado al administrar las composiciones de la invención.

[0024] La invención también está dirigida a un método para reducir el perfil de efecto secundario de una combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT al administrar las composiciones de la invención. El “perfil de efecto secundario reducido” se puede medir mediante una reducción en erupción papulopustular, gastrointestinal, ocular y/u otros efectos secundarios asociados con un producto de combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT el cual no está asociado con nanopartículas de la invención. Los efectos secundarios asociados con los cocteles de fármaco libre de combinaciones de fármaco inhibidores de ERK/AKT o de cada inhibidor individual son conocidos por los expertos en la materia y se puede medir fácilmente un perfil de efecto secundario mejorado usando las formulaciones de la invención. Así, acá se suministran composiciones más seguras y/o menos tóxicas que comprenden una combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT.

[0025] La invención también incluye un método para reducir la resistencia de droga al administrar las composiciones de combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT de la invención. Así, acá se suministran composiciones que comprenden una combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT con resistencia a droga reducida.

[0026] La invención también incluye un método para entregar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT al administrar un inhibidor de ERK bien sea antes, concurrente o después de la entrega de un inhibidor de AKT establemente asociado con un vehículo de entrega. En aspectos preferidos, el inhibidor de ERK y/o inhibidor de AKT se conjugan cada uno a una porción hidrófoba.

[0027] En algunas modalidades, un agente terapéutico adicional es administrado con las composiciones de la invención.

[0028] Algunas de las combinaciones de la presente invención son útiles para el tratamiento de enfermedades proliferativas. Una enfermedad proliferativa es

principalmente una enfermedad de tumor (o cáncer) (y/o cualquier metástasis). Las combinaciones inventivas son particularmente útiles para tratar un tumor el cual es un tumor sólido.

Breve Descripción de las Figuras

[0029] La figura 1 es un gráfico de las concentraciones de plasma (medido como porcentaje de dosis inyectada) de docetaxel libre (triángulos invertidos), AUY922 libre (triángulos) en comparación con docetaxel encapsulada en nanopartícula (círculos) y AUY encapsulada en nanopartícula (cuadrados) cuando se administra *in vivo*.

[0030] La figura 2 es un gráfico de la tolerabilidad relativa de docetaxel y AUY922 administrado como una combinación de nanopartícula en comparación con la dosis máxima tolerada (MTD) de los fármacos libres administrados individualmente y en combinación.

[0031] La figura 3 es una gráfica de la eficacia de una combinación de docetaxel y AUY922 coencapsulada en nanopartículas de la invención y administrada a una proporción de 1:2 docetaxel:AUY922 p/p a una dosis de docetaxel de 10 mg (cuadrados) o una dosis de docetaxel de 20 mg (triángulos) cuando se administra a ratones que producen el modelo de tumor ST996 PDX la cual se caracteriza que es resistente a taxano.

[0032] La figura 4 es un gráfico de la eficacia de una combinación de docetaxel y AUY922 coencapsulada en nanopartículas de la invención en comparación con la combinación de fármaco libre en su MTD cuando se administra a ratones que producen el modelo de tumor HCT15 el cual se caracteriza por ser resistente a taxano.

[0033] La figura 5A es un gráfico de la eficacia de una combinación de selumetinib e ipatasertib coencapsulada en nanopartículas de la invención en comparación con la combinación de fármaco libre (círculos) cuando se administra a ratones que

producen el modelo de tumor HCT116. El selumetinib se administra como una dosis de 10 mg/kg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 50 mg/kg (triángulos invertidos) o dosis de 100 mg/kg (diamantes) cuando se coencapsularon en nanopartículas de la invención.

[0034] La figura 5B es un gráfico de la eficacia de una combinación de selumetinib e ipatasertib coencapsulada en nanopartículas de la invención en comparación con la combinación de fármaco libre (círculos) cuando se administra a ratones que producen el modelo de tumor HCT116. El selumetinib se administra como una dosis de 20 mg/kg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 50 mg/kg cuando se encapsula. El ipatasertib se administra a una dosis de 40 mg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 50 mg/kg (triángulos invertidos) o dosis de 100 mg/kg (diamantes) cuando se coencapsularon en nanopartículas de la invención.

[0035] La figura 6 es un gráfico de la eficacia de una combinación de selumetinib e ipatasertib coencapsulada en nanopartículas de la invención en comparación con la combinación de fármaco libre (círculos) cuando se administra a ratones que producen el modelo de tumor HCT-15. El selumetinib se administra como una dosis de 20 mg/kg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 50 mg/kg cuando se encapsula. El ipatasertib se administra a una dosis de 40 mg/kg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 100 mg/kg cuando se coencapsula en nanopartículas de la invención.

Modos de Llevar a Cabo la Invención

[0036] El acercamiento preferido de entrega de fármaco aplicado acá fue combinar dos conceptos bien conocidos, específicamente el uso de profármacos y la utilización de vehículos de entrega micelar o de nanopartícula. El objetivo de la mayoría de las tecnologías de profármacos es típicamente hacer que las drogas hidrófobas sean más hidrófilas para solubilidad aumentada en un ambiente acuoso. Sin embargo, al hacerlas más hidrófobas y consecuentemente más compatibles con

sistemas de entrega a base de polímero es posible ajustar las propiedades de dos fármacos dispares de modo que sus tasas de liberación efectiva coinciden. Los portadores de nanopartícula de micelas o lipofílicos se pueden usar para mantener estos profármacos en ambiente acuoso dado que los fármacos individuales como tal son de otra forma insolubles.

[0037] Los parámetros que son más probables que afectan la disponibilidad *in vivo* de un fármaco cuando se optimiza el diseño de dichos sistemas, incluye: (1) la eliminación de plasma de la partícula portadora; (2) la tasa de partición de la droga fuera de la partícula; y (3) la tasa de hidrolisis del profármaco. En un sistema ideal las partículas permanecen intactas con administración IV, se despejan relativamente de forma lenta del compartimiento de sangre central, y la hidrolisis de profármaco es relativamente rápida, preferiblemente a través de medios enzimáticos en lugar de pH para evitar problemas de estabilidad en la formulación. El proceso de limitación de tasa que afecta la disponibilidad de fármaco en las composiciones de la presente invención es la tasa de partición del profármaco de la partícula al plasma. Una serie de profármacos con base en docetaxel y AUY922 y en selumetinib e ipatasertib fueron investigados con el fin de validar este acercamiento general para lograr el control del comportamiento farmacocinético de una combinación de fármaco taxano/HSP90i, o un inhibidor de ERK/AKT, *in vivo*.

[0038] Se han hecho varios intentos para producir profármacos de cáncer lipofílicos funcionales para mejorar el desempeño de los agentes antineoplásicos o para abordar los problemas de formulaciones asociados con la droga. Estos incluyen conjugados con fosfolípidos, colesterol, ácidos grasos α -bromo, ácido oleico, fullereno y ácido docosaheptaenoico. Los profármacos se han formulado en un vehículo de lípido, tal como liposomas, emulsiones de aceite o micelas. Algunos de estos reportan eficacia mejorada reclamada sobre formas no-profármaco en modelos *in vivo*. Sin embargo, en la mayoría de los casos estos no suministran ninguna información en eliminación de plasma o presentan datos *in vivo* que cubren

múltiples días después de la administración que se enfoca en la fase de eliminación de la droga en lugar de la fase de distribución. La información de eliminación de droga durante las primeras 24 horas después de la administración es el periodo de mayor interés significativo desde una perspectiva de entrega de tumor debido a la permeabilidad y retención mejorada (EPR) y la eliminación disminuida por el sistema reticuloendotelial (RES) como se observa con portadores de nanopartículas. La presente invención se basa en micelas o nanopartículas dado que estos portadores tienen la capacidad de suministrar vidas útiles de circulación de plasma extendidas y máxima capacidad de carga de droga. Adicionalmente, las micelas han mostrado que se acumulan en tumores a altos niveles con relación a otros tejidos.

[0039] Pasando, ahora, a las modalidades ejemplificadas acá como típicas de combinaciones de fármacos en general:

[0040] Taxanos, particularmente paclitaxel y docetaxel son ampliamente usados en agentes quimioterapéuticos para tratar un rango de carcinomas. El material clínico de paclitaxel es formulado en Cremophor® EL/etanol, y se diluye con regulador antes de la administración. Existen varios reportes en la literatura que describen intentos para mejorar la formulación de paclitaxel usando micelas, liposomas o emulsiones. En casi todos los casos sin embargo es claro a partir de los datos farmacocinéticos reportados que aunque estos portadores formulan paclitaxel, estos no actúan como verdaderos vehículos de entrega *in vivo* dado que la droga se particiona rápidamente fuera del portador con una vida útil en el orden de minutos.

[0041] Los principios definidos anteriormente fueron aplicados para formular conjugados de HSP90i para inclusión en nanopartículas, para terapia de combinación con taxano así como para formular conjugados inhibidores de AKT y/o ERK para terapias de combinación. En una ilustración, el desarrollo de una serie de profármacos de docetaxel y AUY922 y formulaciones asociadas micelares/de nanopartícula se incluyen en la invención. En otra modalidad ilustrativa, se describe

el desarrollo de profármacos de selumetinib e ipatasertib, por ejemplo, y formulaciones asociadas micelares/de nanopartícula.

[0042] La invención describe el diseño de vehículos de entrega de partícula con vidas útiles de circulación prolongadas donde la liberación de ambos agentes se modula al manipular la composición del copolímero de nanopartícula y/o el grado de hidrofobicidad de ancla de lípido y/o la labilidad de los reticuladores. La farmacocinética de los profármacos *in vivo* se muestra que depende altamente de la naturaleza y el tamaño de cada bloque del copolímero. De forma similar, la eficacia de los profármacos *in vivo* se muestra que depende de la naturaleza del copolímero, el enlace y/o la tasa de partición relativa del ancla de lípido.

[0043] En particular, se ha encontrado que en un amplio rango de combinaciones de agente terapéutico, las formulaciones son más efectivas cuando el tamaño de las nanopartículas es menor a 80 nm, o preferiblemente 20-80 nm, o incluso más preferiblemente 40-80 nm en diámetro promedio y en donde las nanopartículas se forman al ensamblar en una partícula un profármaco en donde un agente terapéutico se acopla a través de un enlazador a una porción hidrófoba y un copolímero que comprende una porción hidrófoba y una porción hidrófila en donde la proporción en peso de la porción hidrófoba a la porción hidrófila está en el rango de 8:5 a 12:5, preferiblemente 10:5 (o 2:1) y en donde la porción hidrófoba tiene un peso molecular de 8 kD a 15 kD. Esto permite la partición lista de las partículas de los profármacos en forma intacta donde con la liberación del agente terapéutico por sí solo cuando el profármaco es liberado al flujo sanguíneo es relativamente rápida.

[0044] Como se indicó anteriormente, dos ejemplos emplean profármacos de un taxano y HSP90i o profármacos de inhibidores de AKT y ERK y vehículos de entrega micelar o de nanopartícula para facilitar el control de farmacocinética. Al hacer estas drogas más hidrófobas y consecuentemente más compatibles con sistemas de entrega a base de polímero, se puede controlar la farmacocinética de las composiciones de combinación de droga. También es posible ajustar las

propiedades de formulaciones que contienen agentes antineoplásticos adicionales de modo que sus tasas de liberación efectivas *in vivo* se coinciden con la de las dos combinaciones de fármacos. Los portadores de nanopartícula de micelas o lipofílicos se pueden usar para suspender estos profármacos y otros agentes en un ambiente acuoso.

[0045] Como se mostró anteriormente, las nanopartículas de profármaco de circulación larga suministran actividad terapéutica significativamente mejorada sobre las combinaciones de fármacos sin encapsular en la dosis de tolerancia máxima; estos tipos de formulaciones por lo tanto son ventajosas *per se*.

[0046] Así, las composiciones farmacéuticas ejemplares son aquellas que comprenden nanopartículas o micelas de un profármaco de un taxano o un profármaco de un HSP90i, o un profármaco de un inhibidor de AKT o un profármaco de un inhibidor de ERK donde los profármacos son conjugados de dichos agentes cada uno acoplado a una porción hidrófoba a través de un enlazador en donde dichos profármacos están asociados con un lípido y/o un estabilizador anfifílico. En algunas modalidades, no se requiere ningún lípido.

[0047] La invención también incluye métodos para administrar las combinaciones anteriores u otras combinaciones de droga usando las composiciones de la invención, para combinar las composiciones de la invención con formulaciones de agentes antineoplásticos adicionales y administrar estos y a métodos para preparar estas composiciones y formulaciones.

[0048] Los vehículos de entrega de nanopartícula de la presente invención pueden ser usados no sólo en administración parenteral sino también en tópica, intraperitoneal, intramuscular, aerosol o entrega oral o por medio de la aplicación del vehículo de entrega sobre o en un dispositivo implantable natural o sintético en o cerca del sitio objetivo para propósitos terapéuticos o imagen médica o similares. Preferiblemente, los vehículos de entrega de nanopartícula de la invención se usan en administración parenteral, más preferiblemente, administración intravenosa.

[0049] Las modalidades preferidas acá descritas no pretenden ser exhaustivas o limitar el alcance de la invención a las formas precisas divulgadas. Estas se han seleccionado y descrito con fin de explicar mejor los principios de la invención y sus aplicaciones y el uso práctico para permitir a los expertos en la materia entender sus enseñanzas.

Drogas Ilustrativas

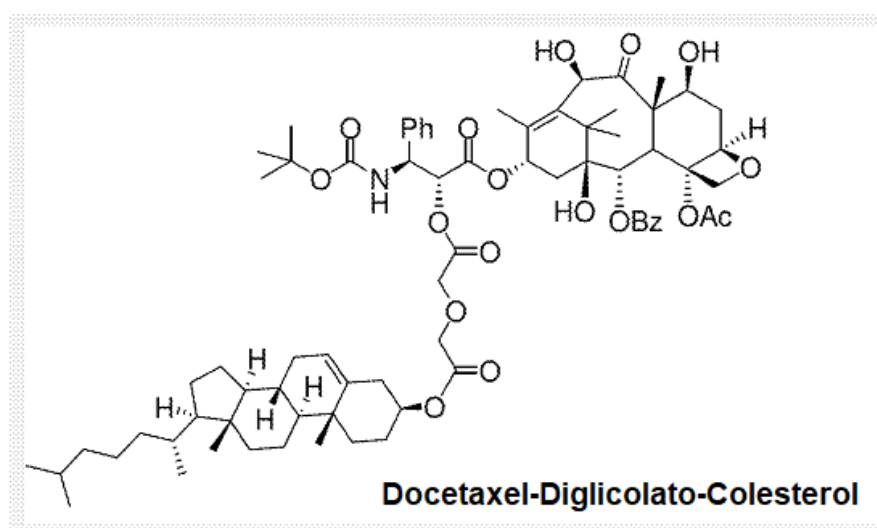
Taxanos

[0050] Los taxanos son una clase de drogas anticancerígenas ampliamente utilizadas. Estos son diterpenos que se producen naturalmente por plantas que pertenecen al género *Taxus* (por ejemplo, Tejos). “Taxanos” como se usa acá incluyen paclitaxel (Taxol™), docetaxel (Taxotere™), cabazitaxel y otros análogos de taxano o derivados de los mismos. El Paclitaxel fue originalmente derivado del árbol de Tejo y sus análogos incluyen docetaxel y otros compuestos de estructura similar. Taxol™ es una forma comercialmente disponible de paclitaxel formulado con Cremophor™. Más recientemente, otro Taxano, cabazitaxel, fue aprobado por la FDA para tratar cáncer de próstata refractario hormonal.

[0051] El paclitaxel es un agente quimioterapéutico ampliamente utilizado para el tratamiento de un rango de carcinomas como se describió anteriormente.

[0052] Docetaxel es un agente anticancerígeno antimitótico clínicamente bien establecido que funciona al interferir con la división celular. Es aprobado por la FDA para el tratamiento de cáncer de seno localmente avanzado o metastático, cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, cáncer de próstata refractario hormonal y cáncer de pulmón de célula no pequeña. Docetaxel es aproximadamente dos veces más potente que paclitaxel (debido al efecto de docetaxel en el centrosoma del huso mitótico), sin embargo tiene eficacia similar al paclitaxel lo cual debe ser debido al hecho que el docetaxel es propenso resistencia a droga celular por medio de un número de diferentes mecanismos.

[0053] Una modalidad ejemplificada de un profármaco de docetaxel para uso de la invención se muestra a continuación:



Inhibidores de HSP90

[0054] Los “agentes potenciadores” o “agentes potenciadores orientados molecularmente” como se describen acá se refieren a compuestos que se orientan a tumorigenesis, incluyendo modulación de la actividad apoptótica. Como se usa acá, estos incluyen, pero no se limitan a inhibidores de proteína de choque térmico (HSP). Los inhibidores de HSP de la invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de HSP90, inhibidores de HSP70, inhibidores de HSP60, inhibidores de HSP27, e inhibidores de HSP 10. Preferiblemente, se utilizan los inhibidores de HSP90 (HSP90i).

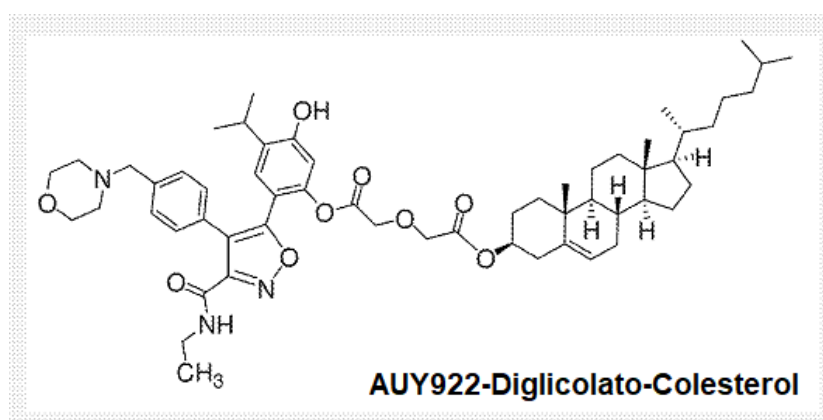
[0055] Entre las proteínas de choque térmico el foco en HSP90 ha aumentado debido a su participación en varios fenómenos celulares y trayectorias de orientación y más importantemente en progresión de enfermedad. HSP90 es un componente clave de un complejo multi-acompañante el cual está involucrado en el doblez posttranslacional de un gran número de proteínas, varias de las cuales juegan papeles esenciales en tumorigenesis. Esta regula la conformación, estabilidad, y función de varias proteínas oncogénicas críticas que son esenciales en mantener la transformación maligna y en el aumento de la supervivencia,

crecimiento, y potencial invasivo de las células cancerígenas. Los inhibidores de HSP90 inducen la degradación de estas proteínas.

[0056] La disponibilidad de drogas que pueden específicamente orientarse a HSP90 e inhibir su función, resultando en la reducción de las proteínas cliente, ha hecho del HSP90 un objetivo novedoso y excitante para terapia de cáncer. Un número de inhibidores de HSP90 se están sometiendo actualmente a ensayos clínicos para una variedad de cánceres. Los inhibidores de HSP90 incluyen los productos naturales geldanamicina y radicicol así como los derivados sintéticos 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17AAG). AUY922 (o “NVP-AUY922”, también conocido como luminespib) es una droga experimental candidata para el tratamiento de cáncer.

[0057] Varios de estos inhibidores de HSP90 son altamente tóxicos por su cuenta. Por ejemplo, geldanamicina es un inhibidor de HSP90 efectivo aunque no se puede usar *in vivo* debido a su alta toxicidad y capacidad de daño hepático. El derivado semi-sintético 17AAG tiene de alguna manera toxicidad menor pero la misma potencia que geldanamicina y actualmente está sometido a ensayos clínicos.

[0058] Una modalidad ejemplificada de un profármaco de HSP90i para uso en la invención se muestra a continuación:



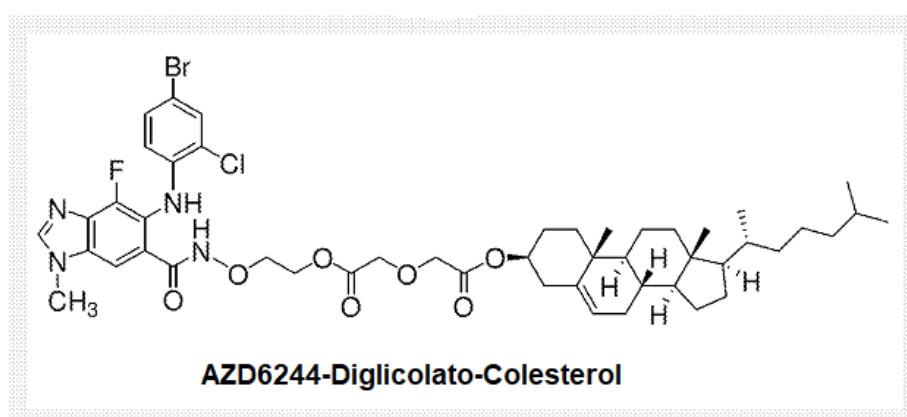
Inhibidores de RAS/RAF/MEK/ERK

[0059] Un “inhibidor de RAS/RAF/MEK/ERK” o “inhibidor de MEK” o “inhibidor de ERK” como se usa acá está destinado a incluir cualquier inhibidor con actividad moduladora en cualquier punto a lo largo de la trayectoria RAS/RAF/MEK/ERK.

Dichos inhibidores incluyen, por ejemplo, selumetinib, GSK1120212, TAK-733, REDA119, U0126, PD 98059 y D-87503. Varios de estos inhibidores, tal como PD 98059, son inhibidores altamente selectivos de MEK-1 y/o MEK-2. Ciertos inhibidores actúan a través de inhibición alostérica, algunos son inhibidores competitivos de no ATP, y algunos son inhibidores reversibles mientras que otros no lo son.

[0060] El selumetinib, también conocido como AZD6244, es un agente anticancerígeno clínicamente bien establecido que funciona al inhibir la quinasa de proteína activada de mitógeno (quinasas MEK o MAPK/ERK) 1 y 2.

[0061] Una modalidad ejemplificada de un profármaco de selumetinib para uso de la invención es un profármaco de selumetinib-colesterol enlazado a través de un enlace de glicolato o succinato tal como se ve a continuación:

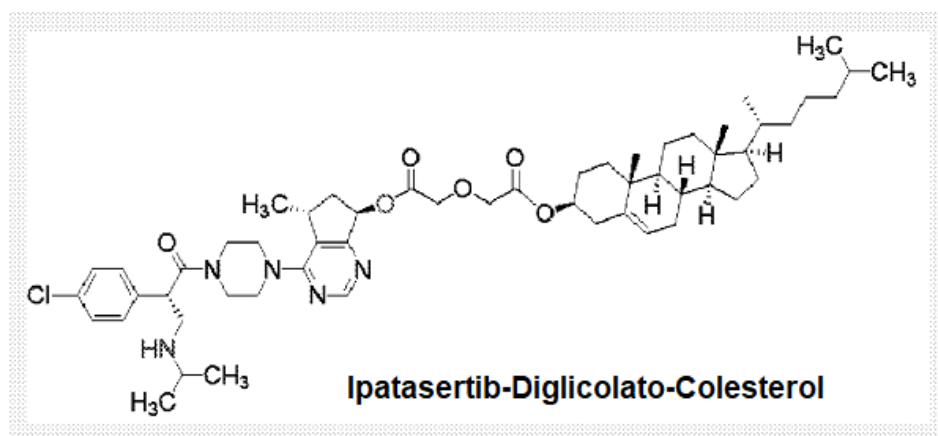


Inhibidores de PI3K/AKT/mTOR

[0062] Un “inhibidor PI3K/AKT/mTOR” o “inhibidor AKT” como se usa acá está destinado a incluir cualquier inhibidor con actividad moduladora en cualquier punto a lo largo de la trayectoria PI3K/AKT/mTOR. Dichos inhibidores incluyen, por ejemplo, ipatasertib, wortmannin, GCK690693, perifosina, y SC79.

[0063] Algunos inhibidores, tal como wortmannin el cual es un metabolito esteroide, actúa por inhibición covalente de PI3K. Otros, tal como ipatasertiv, enfocan AKT. Similar a lo anterior, algunos actúan a través de inhibición competitiva de ATP mientras que otros son inhibidores no ATP.

[0064] Modalidades ejemplificadas de profármacos inhibidores de PI3K/AKT/mTOR para uso de la invención con un profármaco de ipatasertib-colesterol enlazado a través de un enlace de glicolato o succinato tal como se ve a continuación:



Preparación de Vehículos de Entrega de Nanopartícula para Combinaciones de Profármaco

[0065] Los vehículos de entrega pueden incluir nanopartículas de polímero, micropartículas de polímero, micelas de copolímero de bloque, sistemas híbridos de polímero-lípido, polímeros de cadena simple derivada, micelas de lípido, micelas de lipoproteína, emulsiones estabilizadas de lípido, ciclodextrinas, y similares.

[0066] Las nanopartículas y micropartículas pueden comprender un núcleo concentrado de droga que está rodeado por un recubrimiento polimérico (nanocápsulas) o como un sólido o un líquido disperso a lo largo de una matriz de polímero (nanoesferas). Métodos generales de preparación de nanopartículas y micropartículas se describen por Soppimath, y otros (J. Liberación de Control (2001) 70:1-20) cuyo contenido se incorpora acá. Otros vehículos de entrega polimérica que se pueden usar incluyen micelas de copolímero de bloque que comprenden una droga que contiene un núcleo hidrófobo rodeado por una capa hidrófila; estos generalmente son utilizados como portadores para drogas hidrófobas y se pueden preparar como se encuentra en Allen, y otros, Coloides y Superficies B: Biointerfaces (1999) 16:3-27. Los sistemas híbridos de polímero-lípido consisten de una nanopartícula de polímero rodeada por una monocapa de lípido. La partícula

de polímero sirve como un espacio de carga para la incorporación de drogas hidrófobas mientras que la monocapa de lípido suministra una interferencia estabilizante entre el núcleo hidrófobo y el ambiente acuoso externo. Los polímeros tal como policaprolactona y poli(D,L-lactida) se pueden usar mientras que la monocapa de lípido está típicamente compuesta de una mezcla de lípido. Los métodos adecuados de preparación son similares a los referenciados anteriormente para nanopartículas de polímero. Los polímeros de cadena simple derivada son polímeros adaptados para enlace covalente de un agente biológicamente activo para formar un conjugado de polímero-droga. Numerosos polímeros se han propuesto para síntesis de conjugados de polímero-droga que incluyen poliaminoácidos, polisacáridos tal como dextrina o dextrano, y polímeros sintéticos tal como copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA). Métodos adecuados de preparación se detallan en Veronese y Morpurgo, *IL Farmaco* (1999) 54:497-516 y se incorporan acá por referencia.

[0067] Las micelas son partículas de auto-ensamblaje compuestas de lípidos anfipáticos o componentes poliméricos que son utilizados para la entrega de agentes escasamente solubles presentes en el núcleo hidrófobo. Varios medios para la preparación de vehículos de entrega micelar se pueden preparar como se describe en Perkins, y otros, *Int. J. Pharm.* (2000) 200:27-39 (incorporada acá por referencia). Las micelas de lipoproteína se pueden preparar a partir de lipoproteínas naturales o artificiales que incluyen lipoproteínas de baja y alta densidad y quilomicrones. Las emulsiones estabilizadas en lípido son micelas preparadas de modo que comprenden un núcleo lleno de aceite estabilizado por un componente emulsionante tal como una monocapa o bicapa de lípidos. El núcleo puede comprender ésteres de ácido graso tal como triacilglicerol (aceite de maíz). La monocapa o bicapa puede comprender un conjugado lípido de polímero hidrófilo tal como DSPE-PEG. Estos vehículos de entrega se pueden preparar por homogenización del aceite en la presencia del conjugado de lípido de polímero. Los

agentes que se incorporan en emulsiones estabilizadas en lípido son generalmente pobremente solubles en agua. Los análogos de polímero adecuados que presentan propiedades similares a las lipoproteínas tal como micelas de esteres de ácido esteárico u poli(óxido de etileno) bloque-poli(hidroxietil-L-aspartamida) y poli(óxido de etileno)-bloque-poli(hidroxihexil-L-aspartamida) también se pueden usar en la práctica de esta invención (Lavasanifar, y otros, J. Biomed. Mater. Res. (2000) 52:831-835).

[0068] En aspectos preferidos de la invención, las nanopartículas son de auto-ensamblaje. En algunas modalidades, las nanopartículas son auto-estabilizantes en que no requieren la presencia de un estabilizante adicional.

[0069] Los vehículos de entrega así se suministra de modo que se logra la entrega consistente de concentraciones terapéuticas de las anteriores combinaciones. Así, las concentraciones de plasma de cada agente se pueden mantener por simple coencapsulación de los agentes en los vehículos que comprenden la composición o los agentes que se pueden encapsular en vehículos separados si los vehículos controlan la farmacocinética de la composición para mantener las concentraciones de droga de plasma en la misma forma.

Entrega de Profármaco

[0070] La invención suministra composiciones que muestran características mejoradas de entrega para una combinación de agente terapéutico en donde dichos agentes terapéuticos se formulan como profármacos. Los profármacos de la invención están hechos al conjugar la droga en una porción hidrófoba. Debido a que la farmacocinética de la formulación se puede controlar al manipular la naturaleza de la porción hidrófoba, así como manipulando los componentes de las micelas o nanopartículas, particularmente el copolímero, se pueden lograr las características deseadas de la entrega de fármacos. Por ejemplo, la farmacocinética del profármaco de taxano se puede hacer para coincidir con la farmacocinética del

profármaco HSP90i y/o formulaciones que contienen otros agentes antineoplásticos, ofreciendo la oportunidad de un sistema mejorado de entrega de droga coordinada por lo cual la concentración del HSP90i y el taxano entregado a un tumor permanece sustancialmente al que es administrado. Por lo tanto, una proporción sinérgica del taxano:HSP90i, determinado *in vitro*, se puede mantener dentro de un factor de 1.5 o 2 usando la formulación mejorada de profármaco de taxano en combinación con una formulación compatible del HSP90i. Resultados similares se obtienen para combinaciones de inhibidores de AKT e inhibidores de MEK usando los mismos métodos y composiciones. Estas formulaciones son útiles en el tratamiento de cáncer u otras indicaciones hiperproliferativas. El mantenimiento de las concentraciones de agente terapéutico se puede medir fácilmente al determinar los niveles de los agentes en la sangre o plasma con el tiempo. Las composiciones coordinadas mantendrán las concentraciones administradas como se miden en la sangre o el plasma dentro de los límites anteriores por al menos 1 hora o 4 horas o incluso 24 horas.

[0071] Un lípido también se puede asociar con los profármacos en las composiciones de nanopartícula de la invención. Dichos lípidos son típicamente un fosfolípido, tal como fosfatidilcolina de distearoil, fosfatidilcolina de dipalmitoil, fosfocolina de dimiristoil, y los correspondientes etanoles de fosfatidil, inositoles de fisfatidil, glicerol de fosfatidil, y similares. Las cadenas de ácidos grasos también pueden ser no saturadas e incluir, por ejemplo, ácidos oleicos y linoleicos. Los ácidos grasos no necesitan ser idénticos. Adicionalmente, la porción de lípido puede ser un esfingosina tal como esfingomielina o como tal un éster de tocoferol tal como succinato de vitamina E o adipato de vitamina E.

Profármacos y Porciones Hidrófobas

[0072] La porción hidrófoba para uso en la generación de profármacos de la invención puede incluir polímeros o productos naturales. Ejemplos de porciones

poliméricas hidrófobas incluyen pero no se limitan a polímeros de los siguientes: acrilatos incluyendo acrilato de metilo, acrilato de etilo, acrilato de propilo, acrilato de n-butilo (BA), acrilato de isobutilo, acrilato de 2-etilo, y acrilato de t-butilo; metacrilatos incluyendo metacrilato de etilo, metacrilato de n-butilo, y metacrilato de isobutilo; acrilonitrilos; metacrilonitrilo; vinilos incluyendo acetato de vinilo, vinilversatato, vinilpropionato, vinilformamida, vinilacetamida, nivilpiridinas, y vinilimidazol; aminoalquilos incluyendo aminoalquilacrilatos, aminoalquilmetacrilatos, y aminoalquil(met)acrilamidas; estirenos; ftalato de acetato de celulosa, succinato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilceulosa, y polímeros poli(D,L lactido), poli(D,L-lactido-co-glicólido), poli(glicólido), poli(hidroxibutirato), poli(alquilcarbonato) y poli(ortoesteres), poliésteres, poli(ácido hidroxivalérico), polidioxanona, poli(tereftalato de etileno), poli(ácido málico), poli(ácido tartrónico), polianhidros, polifosfazenos, poli(aminoácidos) y sus copolímeros (ver generalmente, Illum, D., Davids, S.S. (eds.) Polímeros en Entrega Controlada de Droga, Wright, Bristol, 1987; Arshady, J. Control. Liberación (1986) 4:155-180); polímeros a base de péptido hidrófobo y copolímeros basados en poli(ácidos L-amino) (Lavasanifar, A., y otros, Adv. Droga Entrega Rev. (2002) 54:169-190), copolímeros de poli(acetato de etileno-vinilo) ("EVA"), caucho de silicona, polietileno, polipropileno, polidienos (polibutadieno, poliisopreno y formas hidrogenadas de estos polímeros), copolímeros de anhídrido maleico de vinil-metileter y otros éteres de vinilo, poliamidas (nylon 6,6), poliuretano, poli(uretanos de éster), poli(uretanos de éter), poli(éster-urea). Los hidrófobos poliméricos particularmente preferidos incluyen poli(acetato de etilenvinilo), oligómeros y polímeros de poli(ácido D,L-láctico), oligómeros y polímeros de poli(ácido L-láctico), poli(ácido glicólico), copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico, poli(caprolactona) poli(valerolactona), polianhidros, copolímeros de poli(caprolactona) o poli (ácido láctico). Para aplicaciones no biológicamente relacionadas los portadores poliméricos particularmente preferidos incluyen poliestireno, poliacrilatos, y butadienos. Los

polímeros deben contener uno o más grupos funcionales los cuales se pueden incorporar en el polímero por derivación o pueden ser inherentes en la química del polímero. Los polímeros como porciones hidrófobas deben tener pesos moleculares entre 800 y 200.000. El rango preferido es 1.000 a 10.000 para polímeros con sitios funcionales mono o divalentes. Para polímeros con una multiplicidad de sitios funcionales para derivación, el peso molecular preferido del polímero por droga conjugada es 1.000 a 10.000.

[0073] Los productos naturales con grupos funcionales o grupos que se pueden convertir en grupos funcionales para conjugación incluyen: vitaminas hidrófobas (por ejemplo vitamina E, vitaminas K y A), carotenoides y retinoides (por ejemplo beta caroteno, astaxantina, trans y cis retinal, ácido retinoico, ácido fólico, dihidrofolato, acetato de retinilo, palmitato de retinilo), colecalciferol, calcitriol, hidroxicolecalciferol, ergocalciferol, α -tocoferol, acetato de α -tocoferol, nicotinato de α -tocoferol, y estradiol. Los productos naturales preferidos son colesterol o cadenas de carbono C₂₂ los cuales se pueden obtener fácilmente.

[0074] Dependiendo de la naturaleza de la porción hidrófoba, ésta puede ser capaz de acomodar más de una, incluyendo sustancialmente más de una droga a través de una multiplicidad de sitios de enlace. Las porciones poliméricas pueden tener tanto como 100 sitios por los cuales las drogas se pueden enlazar. Las porciones hidrófobas más simples, tal como vitamina E, pueden suministrar sólo uno de dichos sitios. Así, el número de drogas acopladas a una porción hidrófoba simple puede ser sólo 1, o puede ser 2, 5, 10, 25, 100 y más, y todos los enteros entre éstos. Por ejemplo, los polímeros definidos anteriormente pueden suministrarse fácilmente con una multiplicidad de grupos funcionales para acoplarse a la droga. Las porciones hidrófobas difuncionales incluirían las cadenas de polímero hidrófobas enunciadas anteriormente que tienen dos grupos terminales OH, COOH, o NH₂. Las porciones hidrófobas multifuncionales incluyen todas las enunciadas anteriormente que tienen múltiples grupos OH, COOH, o NH₂ en algunas o todas las unidades de monómero

en el núcleo del polímero. Estos grupos funcionales son simplemente ilustrativos; otras porciones que pueden formar grupos funcionales para enlace incluyen sustituyentes de fenilo, grupos halo, y similares. Típicamente, cuando la porción hidrófoba es un polímero hidrófobo, este puede tener múltiples sitios para unión. Cuando la porción hidrófoba es una molécula relativamente pequeña, esta acomodará únicamente el número de enlazadores para el cual tiene disponible grupos funcionales.

Copolímeros Estabilizadores Anfifílicos

[0075] El “estabilizador anfifílico” para uso en la invención es preferiblemente un compuesto polimérico que comprende una porción hidrófila y una porción hidrófoba. Más preferiblemente, es un copolímero de un bloque hidrófilo acoplado con un bloque hidrófobo. “Hidrófobo” se define como está anteriormente. “Hidrófilo” en el contexto de la presente invención se refiere a porciones que tienen una solubilidad en solución acuosa (es decir, una solución fisiológica como se definió anteriormente) de por lo menos 1.0 mg/ml. Así, en el estabilizador anfifílico, la región hidrófoba, si se toma sola, exhibiría una solubilidad en medio acuoso de menos de 0.05 mg/ml y la región hidrófila, si se toma sola, exhibiría una solubilidad en medio acuoso de más de 1 mg/ml. Los ejemplos incluyen copolímeros de polietilenglicol con ácido poliláctico o poli(ácido láctico-co-glicólico) o poliestireno. Los polímeros hidrófobos típicos incluyen poliestireno y derivados hidrófobos de polimetacrilatos así como derivados de polivinilo. Los componentes hidrófilos típicos incluyen polietilenglicol y derivados hidrófilos de polímeros hidrófobos, así como dextrano y derivados de dextrano y ácido poliamino. La lista está destinada a ser ejemplar y no exhaustiva. Las nanopartículas formadas por el proceso de esta invención se pueden formar con copolímeros anfifílicos de injerto, bloque o aleatorios. Estos copolímeros pueden tener un peso molecular entre 500 g/mol y 50.000 g/mol o más, o entre

aproximadamente 3.000 g/mol y aproximadamente 25.000 g/mol, o por lo menos 2.000 g/mol.

[0076] Ejemplos de bloques hidrófobos adecuados en un estabilizador anfifílico incluyen pero no se limitan a los siguientes: acrilatos que incluyen acrilato de metilo, acrilato de etilo, acrilato de propilo, acrilato de n-butilo (BA), acrilato de isobutilo, acrilato de 2-etilo, y acrilato de t-butilo; metacrilatos que incluyen metacrilato de etilo, metacrilato de n-butilo, y metacrilato de isobutilo; acrilonitrilos; metacrilonitrilo; vinilos que incluyen acetato de vinilo, vinilversatato, vinilpropionato, vinilformamida, vinilacetamida, vinilpiridina, y vinilimidazol; aminoalquilos incluyendo aminoalquilacrilatos, aminoalquilmetacrilatos, y aminoalquil(met)acrilamidas; estirenos; ftalato de acetato de celulosa, succinato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, poli(D,L láctido), poli(D,L-láctido-co-glicólido), poli(glicólido), poli(hidroxibutirato), poli(alquilcarbonato) y poli(ortoesteres), poliésteres, poli(ácido hidroxivalérico), polidioxanona, poli(tereftalato de etileno), poli(ácido málico), poli(ácido tartrónico), polianhidros, polifosfazenos, poli(aminoácidos) y sus copolímeros (ver generalmente, Illum, D., Davids, S.S. (eds.) Polímeros en Entrega Controlada de Droga, Wright, Bristol, 1987; Arshady, J. Control. Liberación (1986) 4:155-180); polímeros a base de péptido hidrófobo y copolímeros basados en poli(ácidos L-amino) (Lavasanifar, A., y otros, Adv. Droga Entrega Rev. (2002) 54:169-190), copolímeros de poli(acetato de etileno-vinilo) (EVA), caucho de silicona, polietileno, polipropileno, polidienos (polibutadieno, poliisopreno y formas hidrogenadas de estos polímeros), copolímeros de anhídrido maleico de vinil-metileter y otros éteres de vinilo, poliamidas (nylon 6,6), poliuretano, poli(uretanos de éster), poli(uretanos de éter), poli(éster-urea). Los bloques poliméricos particularmente preferidos incluyen poli(acetato de etilenvinilo), oligómeros y polímeros de poli(ácido D,L-láctico), oligómeros y polímeros de poli(ácido L-láctico), poli(ácido glicólico), copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico, poli(caprolactona), poli(valerolactona), polianhidros, o poli (ácido láctico).

[0077] Ejemplos de bloques hidrófilos adecuados en un estabilizador anfifílico incluyen pero no se limitan a los siguientes: alcohol de polivinilo, ácidos carboxílicos incluyendo ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido itacónico, y ácido maleico; polietilenos u óxido de polietileno; poliacrilamidas y copolímeros de las mismas con dimetilaminoetilmetacrilato, cloruro de dialildimetilamonio, cloruro de vinilbenziltrimetilamonio, ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido sulfónico 2-acrilamido-2-metilpropano y sulfonato de estireno, polivinilpirrolidona, almidones y derivados de almidón, dextrano y derivados de extraño; polipéptidos, tal como polilisinas, poliargininas, ácidos poliglutámicos; ácidos polihialurónicos, ácidos algínicos, poliláctidos, polietileniminas, poliionenas, ácidos poliacrílicos, y poliiiminocarboxilados, gelatina, y ácidos mono o dicarboxílicos etilénicos insaturados. Los estabilizadores de polímero tal como alcohol de polivinilo también pueden ser usados por su cuenta.

[0078] Preferiblemente, los bloques son repeticiones de dibloque o tribloque. Preferiblemente, los copolímeros de bloque para esta invención incluyen bloques de poliestireno, polietileno, acrilato de polibutilo, metacrilato de polibutilo, ácido poliláctico, mezclas de ácido láctico y glicólico, policaprolactona, ácido poliacrílico, polioxietileno y poliacrilamida. Una lista de polímeros hidrófilos adecuados se puede encontrar en Manual de Gomas y Resinas Solubles en Agua, R. Davidson, McGraw-Hill (1980).

[0079] En copolímeros de injerto, la longitud de una porción injertada puede variar. Preferiblemente, los segmentos injertados son cadenas de alquilo de 12 a 32 carbonos o equivalente a 6 a 16 unidades de etileno en longitud. Adicionalmente, el injerto del núcleo de polímero puede ser útil para mejorar la solvatación o propiedades de estabilización de nanopartícula. Un grupo butilo injertado en el núcleo hidrófobo de un copolímero de dibloque de un polietileno o polietilenglicol debe aumentar la solubilidad del bloque de polietileno. Las porciones químicas adecuadas injertadas a la unidad de bloque del copolímero comprenden cadenas

de alquilo que contienen especies tal como amidas, imidas, fenilo, carboxi, aldehído o grupos alcohol. Un ejemplo de un estabilizador comercialmente disponible es el de la familia Hypermer comercializado por Uniqema Co. El estabilizador anfifílico también puede ser de la familia de gelatina tal como las gelatinas derivadas de colágeno animal o de pez.

[0080] En algunas modalidades de la invención, el copolímero es un ácido poliláctico (PLA)-PEG, poliestireno (PS)-PEG o copolímero de poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA)-PEG. En algunas modalidades, el copolímero comprende PLA. Las nanopartículas que contienen PLA pueden tener una vida útil más larga. En otras modalidades, el copolímero es un copolímero PLGA-PEG en donde el componente PLGA es 10.000-15.000 Dalton. El copolímero en algunas modalidades es un copolímero PLGA-PEG en donde el componente PLGA es 10.000-15.000 Dalton y el componente PEG es aproximadamente 5.000 o menos Dalton. En algunas modalidades, el PLA, PS o PLGA tiene un peso molecular de 8.000 – 14.000 Dalton. En ciertas modalidades de la invención, la proporción de componente hidrófobo a hidrófilo del copolímero dictará el tamaño promedio de las nanopartículas. Cuando se usa PEG, hay por lo menos aproximadamente una proporción de 2:1 peso:peso de componente hidrófobo:PEG, es decir, en el rango de 8.5:12.5. Preferiblemente, el tamaño promedio de las nanopartículas es menor a 80 nm, por ejemplo, 40 a 80 nm. Más preferiblemente, el tamaño promedio de las nanopartículas es menor a 75 nm. En algunos casos, el tamaño promedio de las nanopartículas es de aproximadamente 20 a 80 nm, aproximadamente 20 a 75 nm o aproximadamente 50 a 75 nm. En algunas modalidades, la proporción de profármaco de taxano:profármaco HSP90i:copolímero es 1:1:4 a 1:1:16, o 1:1:4 a 1:1:12 y la proporción de profármaco inhibidor de AKT:profármaco inhibidor de ERK:copolímero es 1:1:4 a 1:1:16, o 1:1:4 a 1:1:12.

[0081] Cuando se hacen las nanopartículas de la invención, es crítico asegurar que el profármaco se disuelve adecuadamente en solvente antes de mezclar. En ciertas

modalidades, la naturaleza del solvente alterará el tamaño promedio de las nanopartículas. Para copolímeros con PLGA, acetonitrilo es el solvente preferido. Para copolímeros con PLA, dimetilformamida (DMF) es el solvente preferido. En algunas modalidades, la temperatura de fabricación de nanopartículas de la invención no altera el tamaño promedio de las nanopartículas. En algunas modalidades, las nanopartículas de la invención son estables a 4°C, -20°C y tan bajo como -80°C. En algunas modalidades, las nanopartículas de la invención mantienen su tamaño promedio y la carga de fármaco (medido como un cambio de tamaño de partícula de menos de 10 nm con más de 90% de carga de fármaco retenida) después de por lo menos una ronda de congelación/descongelación.

Administración de Composiciones de la Invención *In Vivo*

[0082] Las composiciones de la presente invención se pueden administrar en animales de sangre caliente, incluyendo humanos, así como especies domesticas y/o aviares. Adicional a las composiciones farmacéuticas, las formulaciones adecuadas para uso veterinario se pueden preparar y administrar en una forma adecuada al sujeto. Los sujetos veterinarios preferidos incluyen especies mamíferas, por ejemplo, primates no humanos, perros, gatos, ganado, caballos, ovejas, y ave domesticada. Los sujetos pueden también incluir animales de laboratorio, por ejemplo, en particular, ratas, conejos, ratones, y conejillos de indias, para el tratamiento de dolencias en humanos, un médico calificado determinará cómo se deben utilizar las composiciones de la presente invención con respecto a la dosis, horario y ruta de administración usando protocolos establecidos. Dichas aplicaciones pueden también utilizar escalada de dosis si los agentes encapsulados en las composiciones de vehículo de entrega de la presente invención exhiben toxicidad reducida a tejidos sanos del sujeto.

[0083] Preferiblemente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administran parenteralmente, es decir, intraarterialmente, intravenosamente,

intraperitonealmente, subcutáneamente, o intramuscularmente. Más preferiblemente, las composiciones farmacéuticas se administran intravenosamente o intraperitonealmente mediante una inyección en bolo. Por ejemplo, ver Rahman, y otros, patente No. US 3.993.754; Sears, patente No. US 4.145.410; Papahadjopoulos, y otros, patente No. US 4.235.871; Schneider, patente No. US 4.224.179; Lenk, y otros, patente No. US 4.522.803; y Fountain, y otros, patente No. US 4.588.578, incorporadas por referencia.

[0084] En otros métodos, las preparaciones farmacéuticas o cosméticas de la presente invención se pueden poner en contacto con el tejido objetivo por aplicación directa de la preparación al tejido. La aplicación se puede hacer por procedimientos tópicos “abiertos” o “cerrados”. Por “tópico”, se entiende la aplicación directa de la preparación multi-droga a un tejido expuesto al ambiente, tal como la piel, orofaringe, canal auditivo externo, y similares. Procedimientos “abiertos” son aquellos procedimientos que incluyen la incisión de la piel de un paciente y directamente visualizar el tejido subyacente al cual se aplican las preparaciones farmacéuticas. Esto generalmente se logra por un procedimiento quirúrgico, tal como una traqueotomía para acceder a los pulmones, laparotomía abdominal para acceder la víscera abdominal, u otro acercamiento quirúrgico directo al tejido objetivo. Procedimientos “cerrados” son procedimientos invasivos en los cuales los tejidos objetivos internos no se visualizan directamente, pero se acceden al insertar instrumentos a través de pequeñas heridas en la piel. Por ejemplo, las preparaciones se pueden administrar al peritoneo por lavado de aguja. Alternativamente, las preparaciones se pueden administrar a través de dispositivos endoscópicos.

[0085] Las composiciones farmacéuticas que comprenden vehículos de entrega de la invención se preparan de acuerdo con técnicas estándar y pueden comprender agua, agua regulada, 0.9% salina, 0.3% glicina, 5% dextrosa y similares, incluyendo glicoproteínas para estabilidad mejorada, tal como albúmina, lipoproteína, globulina,

y similares. Estas composiciones se pueden esterilizar por técnicas de esterilización convencionales, bien conocidas. Las soluciones acuosas resultantes se pueden empacar para uso o filtrar bajo condición asépticas y liofilizar, la preparación liofilizada se combina con una solución acuosa estéril antes de la administración. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables como se requiera para aproximar las condiciones fisiológicas, tal como ajuste de pH y agentes reguladores, agentes ajustadores de tonicidad, y similares, por ejemplo, acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, y similares.

[0086] La concentración de los vehículos de entrega en las formulaciones farmacéuticas puede variar ampliamente, tal como desde menos de aproximadamente 0.05%, usualmente en o al menos aproximadamente 2-5% hasta tanto como 10 a 30% en peso y se seleccionará principalmente por volúmenes de fluido, viscosidades, y similares, de acuerdo con el modo particular de administración seleccionado. Por ejemplo, la concentración se puede aumentar para reducir la carga de fluido asociado con el tratamiento. Alternativamente, los vehículos de entrega compuestos de lípidos irritantes se pueden diluir a concentraciones bajas para bajar la inflamación en el sitio de administración. Para diagnóstico, la cantidad de vehículos de entrega administrados dependerá de la etiqueta particular utilizada, el estado de la enfermedad que se diagnostica y el juicio del médico.

EJEMPLOS

[0087] Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar la invención.

Ejemplo 1

Síntesis de Profármaco para Combinaciones de Nanopartícula Inhibidoras de
Taxano/HSP90

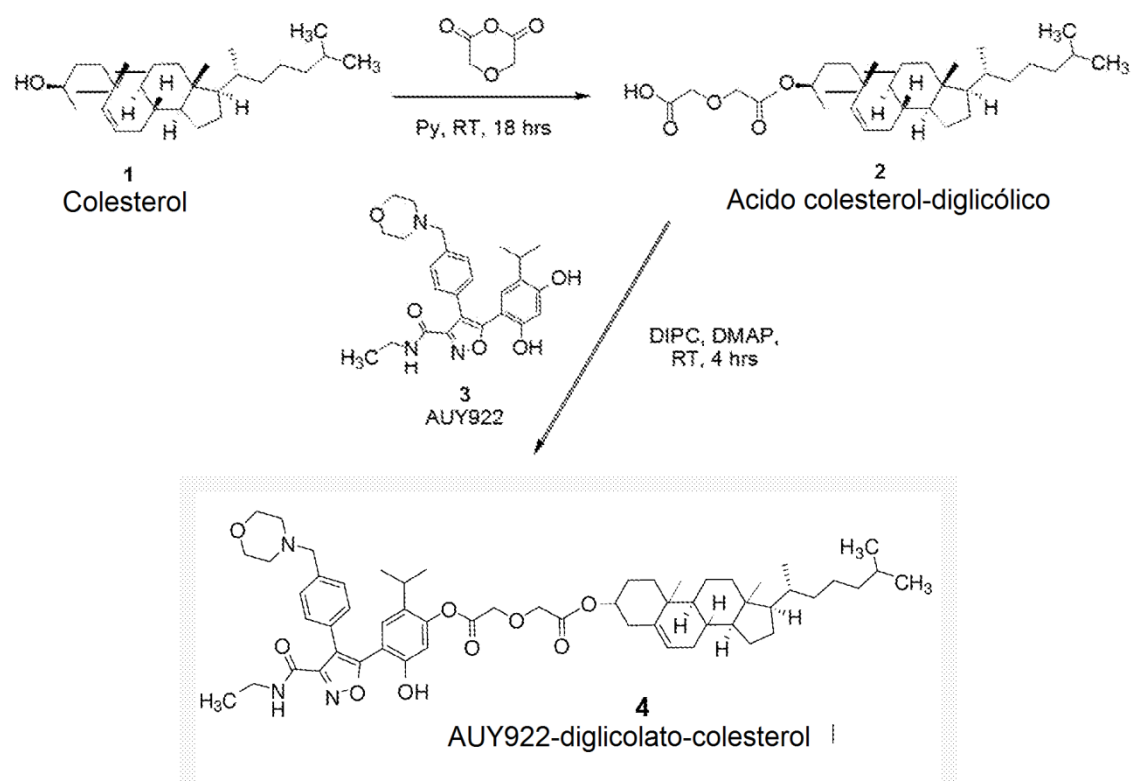
Síntesis de Profármacos

[0088] Derivados de docetaxel se prepararon de forma selectiva mediante la explotación de la diferencia en las velocidades de reacción entre los grupos hidroxilo docetaxel. Bajo las condiciones de reacción utilizadas aquí, la mayoría de docetaxel fue consumido antes de que se generaran niveles significativos del producto de diacilo, como se monitorizó por TLC. La cromatografía en columna se utilizó para eliminar docetaxel sin reaccionar, el producto de diacilo y otras impurezas en la mezcla de reacción en bruto. La pureza y la identidad de los productos finales se confirmaron por HPLC y análisis nmR, respectivamente.

[0089] Para la síntesis de los conjugados de docetaxel, docetaxel (1 equivalente), un ácido de lípido (2 equivalentes) y 4-N, N-dimetilaminopiridina (3 equivalentes) se disolvieron en cloroformo libre de alcohol. Después, se añadió diisopropilcarbodiimida (1,3 equiv.) y la solución se agitó a temperatura ambiente. La reacción se controló por TLC hasta que la mayoría del docetaxel se había consumido (típicamente 2-4 horas). Después, la mezcla de reacción se lavó con ácido clorhídrico diluido y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras la eliminación del disolvente, el producto bruto se pasó por una columna de gel de sílice usando un gradiente de metanol/cloruro de metileno. El profármaco purificado era liofilizado a partir de benceno y se almacena a temperatura ambiente.

[0090] Para la síntesis del conjugado AUY922: ver el siguiente esquema para AUY922-colesterol:

Esquema 1:



[0091] Etapa 1: Síntesis de ácido colesterol-diglicólico: anhídrido diglicólico (10,20 g, 87,88 mmol) se añadió en pequeñas porciones durante un período de 15 minutos a una solución agitada y clara de colesterol (1,20.0 g, 51,70 mmol) en piridina (100 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. La solución de color amarillo pálido resultante se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente. La reacción se controló por TLC usando 5% de metanol en diclorometano como eluyente y se secó por pulverización con una solución de tinción de p-anisaldehído. Después del consumo completo de colesterol, la mezcla se concentró en un evaporador rotatorio bajo vacío a 30°C para separar por destilación la mayor parte de la piridina y el jarabe resultante se vertió sobre agua fría (500 ml) con agitación rigurosa. El contenido se agitó durante 10 minutos para apagar y solubilizar el exceso de anhídrido diglicólico. El sólido separado se recogió por filtración en vacío. A continuación, se suspendió en una solución de HCl acuoso al 10% y se agitó rigurosamente durante 10 minutos con sonicación ocasional. Se filtró y se lavó con agua fría a un pH neutro y se secó en un horno de vacío a 30°C durante 6 horas para obtener polvo de flujo libre. A continuación, se disolvió en diclorometano (15 ml) y se puso en una columna de gel de sílice (1500 g). Se eluyó con un gradiente

de 1-3% de metanol en diclorometano y se recogieron y concentraron las fracciones que contenían el producto. El sólido resultante se co-evaporó con diclorometano (3x10 ml) y se secó a alto vacío durante la noche para obtener ácido colesterol-diglicólico (22,8 g) como un polvo blanco con un rendimiento del 87%. ¹H nmR (400 MHz, CDCl₃): δ 5,46-5,40 (m, 1H), 4,83-4,72 (m, 1H), 4,28 (s, 2H), 4,25 (s, 2H), 2,43-2,35 (m, 2H), 2,08-1,96 (m, 2H), 1,95-1,80 (m, 4H), 1,70-1,45 (m, 6H), 1,45-1,25 (m, 4H), 1,25 a 1,10 (m, 6H), 1,09-0,96 (m, 3H), 0,94 (d, J = 8 Hz, 3H), 0,90 (d, J = 4 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 4 Hz, 3H), 0,70 (s, 3H) ppm. ESI-MS Datos: m / z = 525,35 [M + Na].

[0092] Etapas 2: Síntesis de AUY922-diglicolato-colesterol: cantidades pesadas de ácido colesterol-diglicólico (2, 12,0 g, 23,86 mmol), AUY922 (3, 10,0 g, 21,48 mmol) y N,N-dimetilamino piridina (3,0 g, 24,55 mmol) se almacenaron a alto vacío durante 10 minutos y se purgó con nitrógeno. Los contenidos se disolvieron en diclorometano anhidro (200 ml) y se agitó a 19°C bajo atmósfera de nitrógeno. Para esto, una solución de carbodiimida diisopropilo (6,0 ml, 38,98 mmol) en diclorometano (25 ml) se introdujo en un período de 15 minutos y la mezcla se agitó a 19°C durante 4 horas. La reacción se controló mediante TLC utilizando 10% de metanol en diclorometano como eluyente y se secó con solución de tinción de p-anisaldehído u observado bajo luz UV. Después del consumo completo del ácido colesterol-diglicólico (2), la solución turbia resultante se enfrió a -15°C y el sólido separado se retiró por filtración a través de una almohadilla de algodón y filtrados de este lote y el lote de AUY922 (2,0 g) reciclado se combinó y se concentró hasta obtener una solución espesa.

[0093] Purificación: La solución espesa se cargó en una columna de gel de sílice pre-empaquetada en diclorometano (1,500 g). Se eluyó con 1-5% de metanol en diclorometano. Las fracciones que contienen el producto principal se concentraron para obtener una espuma sólida de color amarillo pálido (11,50 g). La espuma sólida se sometió a otra purificación cromatográfica en gel de sílice mediante la carga en

una columna de gel de sílice pre-empaquetada en diclorometano (1,500 g). La columna se eluyó con un sistema de eluyente isocrático con una relación de disolvente de 3 / 0,5 / 96,5 metanol/ isopropanol/ diclorometano. Este proceso de purificación en columna de gel de sílice se repitió hasta que se obtuvo una pureza >95% por HPLC y se logró H nmR. Alternativamente, el producto se pasó a través de una columna de fase inversa (RP, C-18) en metanol puro con una relación de carga de 0,5 g por 240 g de C-18 de la columna. Las fracciones de producto puras se recogieron y se concentraron. Se secó en horno de vacío durante 18 horas para conseguir AUY922-colesterol-diglicolato puro (4) como un polvo blanco (4,95 g, 24% rendimiento, pureza 98% HPLC a 230 nm). H nmR (600 MHz, DMSO-d₆): δ 10,42 (s, 1 H), 8,86 (t, J = 4 Hz, 1H), 7,23 (c AB, J = 8, 40 Hz, 4H), 6,96 (s, 1 H), 6,72 (s, 1H), 5,37 (bs, 1H), 4,58-4,53 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 4,17 (s, 2H), 3,60-3,53 (m, 4H), 2,08 (bs, 2H), 3,33 (bs, 2H), 3.26 a 3.17 (m, 2H), 3,12-3,00 (m, 1H), 2,40-2,30 (m, 6H), 2,05-1,90 (m, 2H), 1,90-1,75 (m, 3H), 1,65-1,45 (m, 5H), 1,44-1,20 (m, 6H), 1,19-0,95 (m, 17H), 0,94 a 0,91 (m, 9H), 0,88 (d, J = 4 Hz, 3H), 0,70 (s, 3H) ppm. ESI-MS Datos: m / z = 950,59 [M + H].

[0094] Los compuestos preparados son: docetaxel-colesterol y AUY922-colesterol cada uno vinculado a través de un enlazador glicolato.

Ejemplo 2

Formulación de nanopartículas de profármaco de Docetaxel y AUY922 que aumenta dramáticamente las concentraciones de drogas de plasma

[0095] El taxano y profármacos AUY922 descritos en el Ejemplo 1 se combinaron para generar nanopartículas de la invención. Se formó un número de diferentes nanopartículas incluyendo los que comprenden copolímeros de PLA-PEG o PLGA-PEG a los siguientes pesos moleculares ("K" se refiere a miles):

PLA (10K) -PEG (5K); PLA (8K) -PEG (5K); PLA (13K) -PEG (2K); PLA (14K) -PEG (4K); PLA (11 K) -PEG (5K); PLGA (10K) -PEG (5K); PLGA (10K) -PEG (2K); y PLGA (15K) PEG (5K).

[0096] Las nanopartículas que comprenden PLA-PEG que mostraron el tamaño y la estabilidad óptima en una proporción de 2:1, es decir, PLA (10K)-PEG (5K), se formaron con profármacos de colesterol docetaxel y AUY922-colesterol para uso en estos estudios farmacocinéticos.

[0097] Como se muestra en la Figura 1, el porcentaje de dosis inyectada de cada profármaco se mantuvo en aproximadamente 50% por hasta 12 horas, y 20% por hasta 24 horas en comparación con docetaxel libre y AUY922 libre que se ha demostrado en la técnica que se limpia con bastante rapidez.

Ejemplo 3

Mejora de la tolerabilidad de Docetaxel: AUY-922 Combinación formulada en las nanopartículas vs combinación libre de drogas

[0098] La tolerancia relativa de docetaxel y AUY922 que se administran como una combinación en la forma de los profármacos del Ejemplo 1 y en las nanopartículas formadas con PLA (10K)-PEG (5K) copolímeros en vivo se comparó con la dosis máxima tolerada (MTD) de cada uno de los fármacos libres administrados individualmente.

[0099] Como se muestra en la Figura 2, la combinación de docetaxel y AUY922 fue significativamente más tolerable cuando se formula en nanopartículas de la invención en comparación con la tolerancia de los fármacos libres administrados por separado.

Ejemplo 4

Eficacia de docetaxel y un inhibidor de HSP90 en el modelo de tumor ST996 PDX (Clasificada como Resistente al Taxano)

[0100] Con el fin de determinar si las combinaciones de profármacos de docetaxel y AUY922 eran más tolerable y/o eficaces cuando se combinan en nanopartículas del Ejemplo 3 en comparación con la administración cuando hay combinaciones de nanopartículas sin encapsular de la invención se administraron a ratones que expresan un modelo de tumor de resistencia a los taxanos ST996 PDX.

[0101] Como se muestra en la Figura 3, la combinación de docetaxel y AUY922 era más tolerable/menos tóxico cuando se formula en nanopartículas del Ejemplo 3 en comparación con la administración de estos fármacos cuando están sin encapsular.

[0102] Se obtuvieron resultados similares en un segundo modelo de tumor resistente a taxano, HCT15 que se ve en la Figura 4, que muestra también que la combinación de docetaxel y AUY922 fue más eficaz cuando se formula en nanopartículas del Ejemplo 3 en comparación con la administración de estas dos drogas libres en su MTD.

Ejemplo 5

Eficacia de Selumetinib e Ipatasertib en el modelo de tumor de cáncer de colon humano HCT116

[0103] Con el fin de determinar si las combinaciones de profármacos selumetinib e ipatasertib eran más tolerables y/o eficaces cuando se combinan en nanopartículas en comparación con la administración cuando están sin encapsular, las combinaciones de nanopartículas de la invención se administraron a ratones con el modelo de tumor HCT116. Las nanopartículas comprenden poliestireno-PEG, PS (20k)~PEG (5K), y los profármacos descritos anteriormente en los que estos agentes están acoplados a colesterol a través de un enlazador diglicolato.

[0104] Como se muestra en la Figura 5A, la combinación de selumetinib e ipatasertib en dos fármacos diferentes: las tasas de fármaco fueron más tolerable/menos tóxicas cuando se formula en estas nanopartículas en comparación con la administración de estos fármacos cuando están sin encapsular.

[0105] Se obtuvieron resultados similares cuando se duplicó la dosis de selumetinib e ipatasertib en el cóctel de fármaco libre (véase la Figura 5B).

Ejemplo 6

Eficacia de Selumetinib e Ipatasertib en el Modelo de Cáncer de Colon Resistente a Múltiples Fármacos HCT-15

[0106] Con el fin de determinar si las combinaciones de profármaco de selumetinib e ipatasertib fueron más tolerables y/o eficaces cuando se combinan en las nanopartículas del Ejemplo 5 en comparación con la administración cuando están sin encapsular, se repitieron estudios similares al Ejemplo 5 en un modelo de tumor HCT-15 resistente a múltiples fármacos.

[0107] Como se muestra en la figura 6, la combinación de selumetinib e ipatasertib a la proporción de 1:2 droga:droga fue más tolerable/menos tóxica cuando se formuló en las nanopartículas del Ejemplo 5 en comparación con la administración de estos medicamentos a una proporción de 1:2 cuando no están encapsulados.

P-14808

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2018/0000146**
Solicitud de patente a nombre de **CELATOR PHARMACEUTICALS INC.**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, piso 3, obrando como apoderada de la sociedad CELATOR PHARMACEUTICALS INC., domiciliada en New Jersey, Estados Unidos de América, Solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **211** notificado electrónicamente el 26 de febrero de 2019, atentamente me permito informar que, con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al Solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, se realizan las siguientes modificaciones:

1. Título

De acuerdo con la objeción realizada, se aclara que se modificó el título con el fin de eliminar el término que hacía referencia a un atributo. De esta manera, el título ha sido modificado a: *“SISTEMAS DE ENTREGA DE NANOPARTÍCULA QUE INCLUYEN ESTABILIZADORES ANFIFÍLICOS”*.

2. Reivindicaciones

En relación con las objeciones sobre la falta de claridad de las reivindicaciones, presento junto con este memorial un nuevo capítulo reivindicatorio, el cual consta de nueve (9) reivindicaciones, y que reemplaza completamente el presentado anteriormente. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

- 2.1 Se incluyó la nueva reivindicación 9.
- 2.2 Se modificó el preámbulo de la reivindicación 1.
- 2.3 Se modificó la reivindicación 1.

En cuanto a estas modificaciones, me permito decir que las mismas no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud y se realizaron con el ánimo de superar las objeciones de claridad y nivel inventivo planteadas por el Examinador en su concepto técnico.

3. Pago de tasas

Considerando que el presente memorial se presenta junto con modificaciones a las reivindicaciones se adjunta recibo por concepto de examen de patentabilidad, según lo establecido en la Resolución 3719 de 2016.

En relación con el número de reivindicaciones, atentamente nos permitimos decir que no se adjunta tasa por concepto de reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio tiene menor número de reivindicaciones que el cubierto por la tasa de solicitud de patente, y en esencia es el mismo objeto, pero definido con mayor claridad.

4. Claridad de la solicitud

El Solicitante manifiesta que mediante la presentación del nuevo capítulo reivindicatorio queda subsanada la totalidad de las objeciones, de modo tal que las nuevas reivindicaciones proporcionan claridad y concisión a la invención descrita, siguiendo las recomendaciones realizadas por el Examinador en su concepto técnico.

- 4.1 Como primera medida, se informa que se incluyó la nueva reivindicación 9, la cual se encuentra soportada en la antigua reivindicación 6.
- 4.2 Se informa que se modificó el preámbulo de la reivindicación 1 con el propósito de eliminar la expresión “*que incluye un conjunto de composiciones farmacéuticas*”, de manera que ahora recita: “*una composición farmacéutica*”.
- 4.3 Su Despacho ha indicado que “*[l]a reivindicación 1 no es clara porque define la composición de la solicitud en términos del resultado a alcanzar, donde “cada agente terapéutico se acopla a través de un enlazador a una porción hidrófoba para formar un profármaco”. No se acepta un resultado a alcanzar como característica técnica porque no define la composición, puesto que la reivindicación incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado*”. En respuesta a ello, el Solicitante respetuosamente manifiesta que la caracterización de los profármacos como resultado a alcanzar no tiene ningún sentido. Los componentes de la composición están claramente definidos: uno es un agente terapéutico y el otro es una porción hidrófoba y el tercero es un enlazador. Se puede emplear una

amplia variedad de cada uno de ellos siempre que el profármaco esté compuesto por los tres elementos. Dicho esto, se informa que se modificó la reivindicación 1 para eliminar la expresión “*para formar un profármaco*”.

- 4.4 Además, se informa que también se modificó la reivindicación 1 a fin de recitar: “*al menos dos agentes terapéuticos*”, lo cual se encuentra soportado en el Párrafo [0014] de la descripción inicialmente presentada. En este respecto, es de mencionar que la expresión “*al menos*” o similares, establecen un alcance perfectamente entendible para cualquier persona medianamente versada en la materia, puesto que indican inequívocamente la cantidad mínima necesaria de elementos posibles que deben estar presentes en cada una de las configuraciones posibles de la invención reclamada. El uso de este tipo de términos y otros análogos que indican la posibilidad de obtener la invención en diversas modalidades, es una práctica aceptada a nivel mundial en el ámbito de las patentes, ya que como el Examinador debe saberlo, una patente de invención no se limita a una única modalidad, si no que cubre un concepto inventivo global que abarca diferentes modalidades (diversas materializaciones de la invención) ligadas por un efecto técnico común que finalmente delimita el alcance de la invención.

Por ejemplo, este lenguaje se utiliza en situaciones donde se quiere evitar que un infractor trate de argumentar que la composición farmacéutica comprende al menos dos agentes terapéuticos, en lugar de comprender dos agentes terapéuticos. Si se reclamara únicamente dos agentes terapéuticos, se estaría violando el derecho de un inventor de reclamar protección sobre la totalidad de su concepto inventivo, que en este caso está soportado por la divulgación del Capítulo Descriptivo. En conclusión, en los casos donde se está haciendo uso de dicha expresión en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, necesariamente la expresión corresponde a los elementos mínimos sobre las que actúan los componentes de la presente invención.

Por lo tanto, no debería existir problema alguno en el uso de la expresión “*al menos*” o similares, pues es perfectamente entendible por cualquier persona medianamente versada en la materia, de tal manera que, a la luz del Capítulo Descriptivo, es perfectamente claro el alcance y los límites de la protección solicitada.

- 4.5 Su Despacho también ha indicado que “[*l*a reivindicación 1 no es clara porque define la composición de la solicitud en términos de parámetros de diámetro de partícula o de peso molecular de la denominada porción hidrófoba, cuando se refiere a que las “nanopartículas tienen un diámetro promedio de 20-80 nm”, o que “la porción hidrófoba tiene un peso

molecular de 8 kD a 15 kD”. No debe caracterizar la composición por sus parámetros, es necesario definirla como una razonable generalización de los componentes probados”. Ante ello, el Solicitante expresa su completo desacuerdo y manifiesta que contrario a la opinión del Examinador, el diámetro de partícula de las nanopartículas y el peso molecular de la porción hidrófoba corresponden a factores críticos para definir la composición reclamada, por tanto, corresponden a características técnicas esenciales de las nanopartículas y del estabilizador anfifílico, las cuales definen la invención. Por ejemplo, el diámetro promedio describe la estructura de la invención. Cabe tener en cuenta que la invención no debe limitarse a PLA o PLGA y PEG ilustrados en los Ejemplos, ya que la restricción de la materia a los ejemplos sería simplemente una limitación no deseada que llevaría a obtener una patente que no tiene uso debido a su alcance limitado. De este modo, no es claro porqué los parámetros especificados son indefinidos.

4.6 El Examinador ha indicado que “[l]a reivindicación 7 no es clara porque define la composición de la solicitud en términos de un proceso de obtención, cuando se refiere a que las “nanopartículas se forman al mezclar una fase acuosa y una fase orgánica” y que “en donde dicho mezclado se lleva a cabo al mezclar rápidamente corrientes de chorro”. Ante ello, el Solicitante respetuosamente manifiesta que contrario a la opinión del Examinador, la manera de formar la composición tiene un impacto en su naturaleza última, lo cual es fácilmente entendido por una persona versada en la técnica. Por lo tanto, la materia reclamada en la reivindicación 7 es esencial para definir la presente invención.

4.7 Su Despacho también ha indicado que “[l]as reivindicaciones 1 y 7 no son concisas porque definen la composición de la solicitud en términos de géneros funcionales, como “dos agentes terapéuticos”, “un estabilizador anfifílico”, “un copolímero de bloque o un copolímero de injerto”, “una porción hidrófoba y una porción hidrófila”, “fase orgánica (que) comprende dicho copolímero y dicho profármaco” o “fase acuosa y (...) fase orgánica”. Se sugiere restringir la solicitud a una razonable generalización del tipo de compuestos que han sido sintetizados o probados, es decir, que se encuentran debidamente sustentados”. En respuesta a ello, se aclara que:

- El término “estabilizador anfifílico” es claramente definido en la reivindicación 1 cuando se menciona “un estabilizador anfifílico que es un copolímero de bloque o un copolímero de injerto...”.

En relación con los términos restantes, respetuosamente manifestamos que el Manual Andino de Patentes y la Guía de Examen de Solicitudes de Patente y Modelos de Utilidad de la SIC, establecen que el lenguaje utilizado en una solicitud de patente debe ser el lenguaje común del campo técnico relacionado y su significado y alcance en las reivindicaciones, debe ser el que normalmente se

da en el área técnica de la solicitud, siendo claro para la persona versada en la materia con su sola lectura, lo que cumple a cabalidad la presente solicitud. Así las cosas, las reivindicaciones de la presente solicitud son lo suficientemente claras y concisas precisando la materia reclamada, pues el uso de términos como “*dos agentes terapéuticos*”, “*un copolímero de bloque o un copolímero de injerto*”, “*una porción hidrófoba y una porción hidrófila*”, “*fase orgánica (que) comprende dicho copolímero y dicho profármaco*” o “*fase acuosa y (...) fase orgánica*” a la luz del Capítulo Descriptivo resultan completamente reconocibles por cualquier persona medianamente versada en la materia.

Además, es importante resaltar que tal como se establece en el Artículo 51, Capítulo V del Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, “*El alcance de la protección conferida por la patente estará determinado por el tenor de las reivindicaciones. **La descripción y los dibujos, o en su caso, el material biológico depositado, servirán para interpretarlas***”, por lo que el experto en la técnica al momento de reproducir la invención no sólo puede, sino que también **debe recurrir** a la memoria descriptiva y dibujos para interpretar en caso que sea necesario, la materia reclamada. En el presente caso, los términos objetados son claramente definidos en las reivindicaciones dependientes 2 y 4 a 6.

En conclusión, una persona medianamente versada en la materia puede entender perfectamente el alcance y los límites de la protección solicitada, entendiendo qué elementos estructurales deben usarse para reproducir el invento y cuáles elementos están cobijados por las reivindicaciones y cuáles no.

Adicionalmente, es importante recordar que un inventor está en su derecho de reclamar protección para la totalidad de un concepto inventivo desarrollado **sin importar la amplitud de éste**, siempre y cuando se guarde unidad de invención. Así las cosas, respetuosamente se considera errada la objeción que el Examinador presenta en relación con los términos objetados, pues estos indican claramente y de manera directa qué tipo de característica estructural debe estar incluida en la invención reclamada.

Esto es, dentro del concepto inventivo desarrollado se contemplan modalidades sin apartarse del espíritu y alcance de la materia reivindicada. De nuevo, una persona versada en la materia puede entender perfectamente el alcance y los límites de la protección solicitada con base en la información divulgada en el Capítulo Descriptivo y en las reivindicaciones dependientes. Por lo demás, vale la pena anotar que el uso de estos términos y otros análogos que indican la posibilidad de obtener la invención en diversas modalidades, es una práctica

aceptada a nivel mundial en el ámbito de las patentes, ya que como el Examinador debe saberlo, una patente de invención **no se limita** a una única modalidad, sino que cubre un concepto inventivo **global** que abarca diferentes modalidades (diversas materializaciones de la invención) ligadas por un efecto técnico común que finalmente delimita el alcance de la invención. Así las cosas, respetuosamente se insiste que los términos objetados son perfectamente entendibles por cualquier persona medianamente versada en la materia, de tal manera que a la luz del Capítulo Descriptivo y a las reivindicaciones dependientes es perfectamente claro el alcance y los límites de la protección solicitada, entendiendo cuáles materializaciones están cobijadas por las reivindicaciones y cuáles no.

Adicional a lo anterior, nos permitimos informar a esta Superintendencia que los términos objetados por el Examinador **no llevarían** a que un experto con nivel medio en la materia se vea confundido sobre el alcance de la invención definida en las reivindicaciones, sino que por el contrario dicho experto podría saber qué desea proteger el solicitante, hecho que se puede demostrar gracias al examen de patentabilidad detallado realizado por el Examinador en su concepto técnico (puntos 5 y 6 del Oficio 211), ya que si lo que aduce el Examinador fuese cierto con respecto a la falta de concisión de las reivindicaciones 1 y 7, entonces el Examinador no hubiera estado en capacidad de realizar un análisis detallado del cumplimiento de los requisitos de patentabilidad, ni tampoco hubiese podido llegar a la conclusión de la supuesta falta de nivel inventivo de las antiguas reivindicaciones 1 a 8.

Además, pareciera que el Examinador está intentando restringir el alcance de las reivindicaciones en tal medida que sería fácil para cualquier experto en la técnica eludir las reivindicaciones utilizando las enseñanzas que la solicitud actual proporciona. Esto es completamente contrario al principio de exclusividad de protección otorgada por el Estado. Es decir, a cambio de una divulgación completa de su invención, se les proporcionará a los solicitantes la posibilidad de evitar que otros infrinjan su invención a través de la provisión de reivindicaciones que representen una generalización razonable de su divulgación.

Es así como, si los solicitantes modifican las reivindicaciones para recitar componentes específicos que son bien conocidos por los expertos en la materia, entonces se hace fácil para un tercero evitar infracciones simplemente seleccionando materiales que son diferentes a los enumerados en las reivindicaciones, pero que son bien conocidos por tener el mismo efecto. Dado el conocimiento general de la persona experta, se considera que las reivindicaciones actuales representan una generalización razonable del contenido

de la solicitud y que la persona experta lo reconocerá como tal. Es importante tener en cuenta que la persona experta conoce perfectamente todos los aspectos comunes en el campo técnico de la invención y que, por ende, tendrá una visión diferente a la que pueda tener el Examinador.

Por lo tanto, los términos objetados por el Examinador se mantienen, ya que los mismos **no afectan** la claridad de la invención y el experto con nivel medio en la materia puede entender lo que se desea proteger y el alcance de dicha protección, tal como se indicó previamente.

En consecuencia, nos permitimos indicar que el presente capítulo reivindicatorio, que incluye nueve (9) reivindicaciones, se ajusta a las disposiciones del artículo 30 de la Decisión 486/00.

5. **Descripción**

Su Despacho ha indicado que “[L]a *La descripción no es clara porque se no utilizan los términos técnicos correctos para definir los fármacos eliminados ni los inhibidores de proteína, sino que se refiere a la eliminación de fármacos en términos de “despeje” y a la proteína de choque térmico como “proteína de golpe de calor”*”. En respuesta a ello, se informa que se presenta un nuevo capítulo descriptivo en el que se reemplazaron los términos “despeje” y “proteína de golpe de calor” por los términos correctos “eliminación” y “proteína de choque térmico” respectivamente.

En cuanto al comentario del Examinador indicando que “[L]a *descripción no divulga la invención de manera suficiente porque la característica en que la composición de la solicitud “comprende un tercer agente terapéutico”, no se describe de forma en que la persona normalmente versada en la materia técnica tenga alguna motivación para ejecutarla o reproducirla, sin necesidad de realizar un esfuerzo inventivo que sea superior a sus habilidades ordinarias. Para que la descripción sea suficiente es necesario que haya una demostración experimental del efecto que tiene la inclusión de un tercer agente terapéutico en la composición de la solicitud. Se sugiere eliminar la alusión a la inclusión de un tercer agente terapéutico*”, respetuosamente manifestamos que el Párrafo [0014] de la descripción divulga “*Así, en un aspecto, la invención está dirigida a una composición farmacéutica que comprende nanopartículas ..., y comprenden **por lo menos dos** agentes terapéuticos, cada agente terapéutico acoplado...*” (énfasis añadido). Por lo tanto, la invención comprende dos, tres, cuatro o más agentes terapéuticos, lo cual es claramente entendido por una persona versada en la materia.

Adicionalmente, es de resaltar que de acuerdo con los lineamientos incluidos en el artículo 30 de la Decisión 486/00, se establece que “*las reivindicaciones definirán la materia que se desea proteger mediante la patente. Deben ser claras y concisas y estar enteramente sustentadas por la descripción*” (el subrayado es nuestro). De esta forma, los lineamientos de

patentabilidad en Colombia establecen que una invención debe ser clara y estar soportada por la información incluida en la descripción de la solicitud. Sin embargo, la legislación colombiana **no indica** que los ejemplos ilustrativos, los cuales son opcionales para facilitar el entendimiento de la invención y soportar las ventajas descritas, sean limitantes de la invención.

6. **Nivel Inventivo**

El Examinador establece en su concepto técnico la falta de nivel inventivo de las antiguas reivindicaciones 1 a 8 a la luz de las enseñanzas técnicas descritas en el documento US2012/0052097 – Fetzner (D1).

En este sentido, me permito indicar que el artículo 18 de la Decisión 486 establece que *“Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica”*.

Lo anterior significa que el análisis de nivel inventivo **NO** es una comparación de los objetos de las anterioridades y la solicitud en estudio. El análisis de nivel inventivo **debe demostrar** la obviedad de la invención y establecer cómo ésta no contiene un salto cualitativo, que demuestre su altura inventiva, teniendo en cuenta que se hace **necesario demostrar** que la invención analizada carece de nivel inventivo y hubiese sido obvia para una persona versada en la materia.

Considerando la anterior definición y teniendo en cuenta las modificaciones realizadas, es deseo del Solicitante manifestar que la invención reclamada en el nuevo capítulo reivindicatorio es inventiva en relación con el estado de la técnica citado. Es así como el Solicitante expresa que:

En la presente memoria descriptiva, la naturaleza de la invención se define en el párrafo [0043]. En particular, la invención reside en encontrar las partículas más efectivas en términos de su tamaño y en términos de la naturaleza del estabilizador anfifílico. Como se señala en dicho párrafo, se ha encontrado que, en un amplio rango de combinaciones de agente terapéutico, las formulaciones son más efectivas cuando el tamaño de las nanopartículas es menor a 80 nm y cuando la proporción en peso de la porción hidrófoba a la porción hidrófila está en el rango reivindicado, así como cuando la porción hidrófoba tiene un peso molecular en el rango reclamado. Las reivindicaciones también son específicas a aquellas partículas en las que al menos dos agentes terapéuticos están presentes como profármacos acoplados a través de un enlazador a una porción hidrófoba e, independientemente del enlace a cualquier agente terapéutico, está presente un estabilizador anfifílico.

Se verá que la presente invención define un subgénero que es extremadamente restringido en comparación con el género muy amplio de (Fetzer, US 2012/0052097) citado como D1. El rango de partículas aceptables descrito por D1 se describe en el párrafo [0412] entre 10 y 220 nm y en el párrafo [0361] entre 20 y 500 nm. **No se preparan partículas reales** en D1, por lo que no hay mediciones de ninguna característica preferida. Los ejemplos se limitan a la preparación de conjugados de una proteína que es un péptido terapéutico para un polímero anfifílico o para un polímero hidrófobo. La invención descrita por D1 en los párrafos [0004] – [0008] es completamente genérica en cuanto a si su péptido terapéutico está acoplado al polímero hidrófobo o al polímero hidrófilo-hidrófobo. Además, las partículas descritas por D1 tienen que incluir una pluralidad tanto de los polímeros hidrófobos como de los polímeros anfifílicos, a diferencia de la presente invención en la que los agentes terapéuticos pueden estar acoplados a diferentes porciones hidrófobas, pero **no existe** una pluralidad de estabilizadores anfifílicos. Por lo tanto, en general, D1 no sugiere la reivindicación 1 de la presente solicitud, incluso en lo que se refiere al tamaño de la nanopartícula o a las características requeridas del profármaco y del estabilizador anfifílico.

Más allá de eso, la presente solicitud determina, como se muestra en el Ejemplo 2, que la proporción óptima de la porción hidrófoba a la hidrófila del polímero anfifílico es 10:5 y las partículas obtenidas al usar nanopartículas en las que se muestra un polímero anfifílico con esta relación es exitoso en los Ejemplos 3-4.

Aunque la relación hidrofóbica: hidrofílica en el polímero anfifílico en los Ejemplos 5 y 6 está fuera del rango reivindicado, el Ejemplo que determina específicamente la relación ventajosa es el Ejemplo 2. Las relaciones probadas se muestran en la tabla a continuación, donde todas las relaciones determinadas se basan en un valor de 5 para la región hidrófila.

Hidrofóbica : hidrofílica
10:5
8:5
13:2 = 32,5:5
14:4 – 17,5:5
11:5
10:5
10:2 = 25:5
15:5

Como se observa, la proporción de 10:5 se probó contra un amplio rango de relaciones y se encontró que era la más efectiva. De este modo, la presente reivindicación se centra en esta relación. Por lo tanto, se reclama un rango razonable que rodea 10:5.

Los Ejemplos 5 y 6 muestran que los enlaces de colesterol a los fármacos a través de un enlazador diglicolato son particularmente ventajosos.

Por lo tanto, no se puede decir que D1 sugiere las limitaciones de la reivindicación de esta solicitud, incluso como lo demuestra la tabla comparativa que se incluye en la acción oficial que se contesta. El párrafo [0497] citado de D1 que proporciona una relación de hidrófobo-hidrófilo de 40:1 a 1:1 es mucho más amplio que el de la presente invención; en lugar de 8:5 a 12:5 esto está en el rango de 5:5-200:5. De hecho, incluso la proporción más restringida que podría calcularse a partir del párrafo [0025] de D1, que da rangos de peso para cada porción del polímero anfifílico, es mucho más amplia: eso es 65:5-6,7:5. Esto no puede sugerir la proporción reclamada. De manera similar, el párrafo [0483] citado de D1 donde la porción hidrófoba puede tener un peso molecular entre 1kD y 70kD es mucho más amplio que el peso óptimo requerido de 8kD a 15kD.

En resumen, D1 no comienza a sugerir las limitaciones establecidas en las reivindicaciones en las que al menos dos agentes terapéuticos se suministran como profármacos y los polímeros contienen un estabilizador anfifílico independiente que no está unido a un agente terapéutico, en donde el tamaño de partícula y la naturaleza de los estabilizadores anfifílicos se definen estrechamente en función de los resultados experimentales y no sólo de números arbitrarios, como parece ser el caso en D1. La acción oficial que se contesta indica que no hay ningún efecto debido a estos parámetros, pero los solicitantes han **demostrado por sus determinaciones en el Ejemplo 2 que estos hacen una diferencia.** De esta manera, no hay datos en absoluto en D1 que ilustren cualquier éxito con las partículas ideadas en la divulgación forzada de D1.

Adicionalmente, como cuestión de interés, cabe mencionar que la solicitud que se publicó como D1 nunca se emitió como patente en los EE.UU. y se abandonó al recibir el requisito de restricción que encontró una multiplicidad de invenciones en D1, reflejando así la naturaleza sin dirección fija de la divulgación. En este sentido, respetuosamente se considera que no es apropiado rechazar una invención enfocada en resultados experimentales con base esencialmente en una divulgación ficticia (como D1) en la que el solicitante de la patente simplemente usó su imaginación para describir tantas alternativas posibles como se podría imaginar.

De esta forma, teniendo en cuenta que el documento D1 **no menciona, describe o sugiere** todas las características técnicas reclamadas en el nuevo capítulo reivindicatorio

presentado por el Solicitante, no es posible afirmar que la invención hubiera podido haber sido derivada en forma obvia a partir de dicho documento.

Por lo tanto, es claro que las nuevas reivindicaciones 1 a 9 cumplen con el requisito de nivel inventivo, tal como se define en el artículo 18 de la Decisión 486 y como se explica detalladamente en el Manual Andino y la Guía para Examinadores de la Superintendencia de Industria y Comercio.

Habiendo atendido cabalmente las objeciones presentadas por ese despacho, atentamente solicitamos se conceda el privilegio de patente de invención a la solicitud en estudio o si el señor Examinador considera que subsisten razones para objetar la presente invención, rogamos expedir otro examen de fondo con los debidos motivos y razones que sustenten su objeción con el fin de que nuestro mandante tenga la posibilidad de exponer sus argumentos con base en la interpretación de los artículos 45 de la Decisión 486 -el cual otorga la facultad al Examinador para emitir los exámenes de fondo- y 42 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo que señala que: *“habiéndose dado oportunidad a los interesados para expresar sus opiniones, y con base en las pruebas e informes disponibles, se tomará la decisión, que será motivada. La decisión resolverá todas las peticiones que hayan sido oportunamente planteadas dentro de la actuación por el peticionario y por los terceros reconocidos”*, (el subrayado es nuestro).

En consecuencia, solicitamos a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

Señor Director,


CAROLINA DAZA MONTALVO
C.C. 66.783.790 de Palmira Valle
TP-141563 CSJ
notificaciones@clarkemodet.com.co

ANEXOS

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por nueve (9) reivindicaciones.
- Nuevo capítulo descriptivo.
- Comprobante de pago de tasa correspondiente a nuevo examen de patentabilidad.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende nanopartículas en donde dichas nanopartículas tienen un diámetro promedio de 20-80 nm y comprende:
 - a) al menos dos agentes terapéuticos, cada uno de dichos agentes terapéuticos administrado como un profármaco acoplado a través de un enlazador a una porción hidrófoba, y
 - b) un estabilizador anfifílico que es un copolímero de bloque o un copolímero de injerto que comprende una porción hidrófoba y una porción hidrófila en donde la proporción en peso de la porción hidrófoba a la porción hidrófila está en el rango de 8:5 a 12:5 y en donde la porción hidrófoba tiene un peso molecular de 8 kD a 15 kD,y en la que los profármacos de dichos dos agentes terapéuticos diferentes están contenidos en la misma nanopartícula o están contenidos en nanopartículas separadas.
2. La composición de la reivindicación 1, en donde en dicho estabilizador anfifílico, la porción hidrófoba comprende ácido poliláctico (PLA) o ácido poli(láctico-co-glicólico (PLGA) y la porción hidrófila comprende polietilenglicol (PEG).
3. La composición de la reivindicación 1, en donde dichos al menos dos agentes están incluidos en la misma nanopartícula.
4. La composición de la reivindicación 1, en donde un agente terapéutico es un taxano y el otro agente terapéutico es un inhibidor de HSP o en donde un agente terapéutico es un inhibidor de PI3K/AKT/mTOR y el otro agente terapéutico es un inhibidor de RAS/RAF/MEK/ERK.
5. La composición de la reivindicación 4, en donde el taxano es docetaxel, el inhibidor de HSP es luminespib, el inhibidor de PI3K/AKT/mTOR es ipatasertib, y el inhibidor de RAS/RAF/MEK/ERK es selumetinib.

6. La composición de la reivindicación 1, en donde en cada uno de dichos profármacos la porción hidrófoba es colesterol u otro producto natural.
7. La composición de la reivindicación 1, en donde dichas nanopartículas se forman al mezclar una fase acuosa y una fase orgánica, dicha fase orgánica comprende dicho copolímero y dicho profármaco, y en donde dicho mezclado se lleva a cabo al mezclar rápidamente corrientes de chorro una de las cuales comprende la fase acuosa y la otra de las cuales comprende la fase orgánica.
8. La composición de la reivindicación 1, la cual además comprende un tercer agente terapéutico.
9. La composición de la reivindicación 1 o 6, en donde el enlazador es ácido diglicólico.

SISTEMAS DE ENTREGA DE NANOPARTÍCULA QUE INCLUYEN
ESTABILIZADORES ANFIFÍLICOS

Solicitudes Relacionadas

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de EE.UU. con números de serie 62/192,973 presentada el 15 de julio de 2015 y 62/252,936 presentada el 6 de noviembre de 2015, las cuales se incorporan acá por referencia en su totalidad.

Campo Técnico

[0002] La invención se relaciona con composiciones y métodos para la entrega mejorada y la toxicidad reducida de combinaciones de agentes terapéuticos, y con un empaque comercial o producto que comprende dicha combinación.

Antecedentes

[0003] La progresión de varias enfermedades que ponen en peligro la vida tal como cáncer, SIDA, enfermedades infecciosas, desórdenes inmunes y desórdenes cardiovasculares está influenciada por múltiples mecanismos moleculares. Debido a esta complejidad, lograr curas con un agente único se ha cumplido con éxito limitado. Así, las combinaciones de agentes a menudo se han usado para combatir la enfermedad, particularmente en el tratamiento de cánceres. Parece que hay una fuerte correlación entre el número de agentes administrados y las tasas de cura para cánceres tal como leucemia linfocítica aguda y cáncer colon-rectal metastásico (Fre, y otros, Clin. Cancer Res (1998) 4:2027-2037; Fisher, M.D., Clin. Colorectal Cancer (2001) 1:85-86). En particular, los agentes quimioterapéuticos en combinación con agentes potenciadores, tal como inhibidores de proteína de choque térmico se han usado para tratar exitosamente un número de cánceres en la clínica.

[0004] Los taxanos son una clase de fármacos anticancerígenos ampliamente utilizados. Estos se producen naturalmente por plantas que pertenecen al género *Taxus* (por ejemplo, Tejos). Los “taxanos” incluyen paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel y otros taxanos análogos o derivados de los mismos.

[0005] Los agentes potenciadores como se describen acá son agentes molecularmente orientados que afectan la tumorigenesis, a menudo al modular la apoptosis. Estos agentes incluyen inhibidores de proteína de choque térmico (HSP), en particular inhibidores HSP90 (HSPi). El HSP90 es un acompañante molecular el cual estabiliza una variedad de proteínas requeridas para la supervivencia de las células cancerígenas. Se encontró que se sobre expresan en un número de tipos de cánceres y por lo tanto la inhibición de HSP90 se identificó como un beneficio terapéutico potencial en el tratamiento de múltiples tipos de malignidades.

[0006] Los investigadores han demostrado mejoras prometedoras en el tratamiento de cáncer al administrar cocteles de fármacos libres de un número de combinaciones de taxanos/inhibidores HSP90 (HSP90i). A pesar de las ventajas asociadas con el uso de estos cocteles de fármacos libres, hay varios inconvenientes que limitan su eficacia incluyendo extensiva toxicidad gastrointestinal y ocular. Adicionalmente, la administración de estos cocteles de fármacos libres a menudo resulta en la eliminación rápida de uno o ambos de los agentes antes de alcanzar el sitio objetivo.

[0007] La trayectoria RAS/RAF/MEK/ERK (Quinasas Reguladas de Señal Extracelular) es una de las trayectorias intracelulares mejor conocidas y se regula mediante quinasas de tirosina receptora, citoquinas, y receptor acoplado a proteína G heterotrimérico. La serie de proteínas que hacen esta trayectoria comienza con un receptor en la superficie de la célula y luego transfiere la información de forma intracelular a través de las proteínas subsecuentes al ADN dentro del núcleo. La trayectoria incluye proteínas tales como, MAPK (quinasas de proteína activadas de mitógeno, también denominadas ERK), las cuales se comunican al adicionar grupos

fosfato a una proteína vecina, y a su vez actúa como un interruptor de “encendido” o “apagado”. Cuando una de las proteínas en la trayectoria es mutada, se puede atascar en la posición “encendido” o “apagado” – este es un paso necesario en el desarrollo de varios cánceres. Los componentes de la trayectoria MAPK/ERK se descubrieron cuando éstos se encontrando en células cancerígenas. Numerosos fármacos que reversan el cambio “encendido” o “apagado” están siendo investigados como tratamientos de cáncer.

[0008] El PI3K/AKT/mTOR u objetivo de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/AKT/mamífero de trayectoria de rapamicina es otra trayectoria de señalización intracelular bien conocida que es central al crecimiento y supervivencia celular, regulación de ciclo celular, y muerte de célula programada. La activación anormal de esta cascada de señalización está vinculada a diversos estados de enfermedad, incluyendo la mayoría de cánceres humanos, y por los tantos varios componentes de la trayectoria son objetivos para intervención terapéutica. La trayectoria de PI3K/AKT/mTOR juega un papel clave en la proliferación, adhesión, migración, invasión, metabolismo, y supervivencia celular así como angiogénesis. Puede haber factores conocidos que mejoran esta trayectoria incluyendo, EGF, shh, IGF-1, insulina, y CaM; y puede haber factores conocidos para inhibidor esta trayectoria incluyendo PTEN, GSK3B, y HB9.

[0009] Los investigadores han demostrado mejoras prometedoras en el tratamiento de cáncer al administrar cocteles de fármacos libres de un número de inhibidores de estas trayectorias. A pesar de las ventajas asociadas con el uso de estos cocteles de fármacos libres, hay varios inconvenientes que limitar su eficacia incluyendo extensiva toxicidad gastrointestinal y ocular. Adicionalmente, la administración de los cocteles de fármacos libres a menudo resulta en la eliminación rápida de uno o ambos de los agentes antes de alcanzar el sitio objetivo.

[0010] Para mejorar la eliminación, varios fármacos anticancerígenos en general se han incorporado en vehículos de entrega diseñados para “protegerlos” de

mecanismos que de otra forma resultarían en su eliminación rápida del flujo sanguíneo. Es bien conocido que las nanopartículas tienen la capacidad de suministrar este efecto de “protección” y ellas a menudo permiten extender la vida útil de los agentes terapéuticos así como reducir su toxicidad y/o resistencia a fármaco asociada. La encapsulación en vehículos de entrega bien diseñados puede también resultar en farmacocinética coordinada de fármacos encapsulados. Sin embargo, la formulación de fármacos específicos o más de un fármaco en vehículos de entrega se ha probado que es difícil debido a la composición de polímero del vehículo que a menudo afecta diferencialmente la farmacocinética de los fármacos individuales. Así, una composición que es adecuada para retención y liberación de un fármaco puede no ser adecuada para la retención y liberación de un segundo fármaco. Presentemente, aunque algunas combinaciones activas de inhibidores a estas trayectorias están siendo utilizadas exitosamente en ensayos clínicos, no ha sido descrita una preparación farmacéutica diseñada para reducir la toxicidad y controlar la farmacocinética, y así la entrega de tumor, de estas drogas.

[0011] La publicación PCT WO2006/014626 ('626) describe construcciones particuladas para liberación de agentes activos de varios tipos. En las nanopartículas de esta publicación, los profármacos en donde una porción terapéutica se acopla a través de un enlazador a una porción hidrófoba se ensamblan en nanopartículas usando un estabilizador anfifílico. Las formulaciones están diseñadas para coordinar la liberación de fármacos libres a partir de partículas por virtud de hidrolisis de una unión divisible en el enlazador que resulta en el fármaco libre que es liberado a partir de nanopartículas. Esto es en contraste a la presente invención en donde las nanopartículas están diseñadas con el fin de liberar los profármacos en forma intacta con hidrolisis posterior en el flujo sanguíneo. Este subconjunto de las nanopartículas descritas en la publicación '626 resulta de la selección adecuada de copolímero y la proporción específica de porción hidrófoba a hidrófila así como el rango requerido de pesos moleculares de la porción hidrófoba

y el tamaño de las nanopartículas. Esto resulta en un comportamiento diferente del enfocado en las nanopartículas de la publicación '626.

[0012] Los presentes inventores han identificado por primera vez formulaciones de nanopartícula particulares que comprenden la combinación de fármacos que resultan en vidas útiles extendidas, toxicidad reducida, resistencia a fármaco reducida y/o eficacia superior cuando se administra *in vivo*. Las combinaciones particulares de droga ilustrativas incluyen taxanos o derivados de los mismos y un inhibidor HSP90 y combinaciones de inhibidor de RAS/RAF/MEK/ERK y un inhibidor de PI3K/AKT/mTOR.

Divulgación de la Invención

[0013] Ahora se ha encontrado que al suministrar dos o más agentes terapéuticos, cada uno como un conjugado de profármaco de una porción hidrófoba acoplada a través de un enlazador a dicho agente terapéutico y encapsulando dichos profármacos de tamaño adecuado al mezclar dichos profármacos con un copolímero de una porción hidrófoba y una porción hidrófila de una proporción adecuada y formado dichas nanopartículas al mezclar dicha mezcla con una fase acuosa, se obtienen composiciones de modo que una amplia variedad de agentes terapéuticos se pueden suministrar a sujetos, en donde la dosis máxima tolerada se aumenta y las concentraciones de plasma se mantienen a un nivel deseado por largos periodos de tiempo.

[0014] Así, en un aspecto, la invención está dirigida a una composición farmacéutica que comprende nanopartículas en donde dichas nanopartículas tienen un diámetro promedio de menos de 80 nm, o preferiblemente 20-80 nm, o incluso más de preferiblemente 40-80 nm, y comprenden por lo menos dos agentes terapéuticos, cada agente terapéutico acoplado a través de un enlazados a una porción hidrófoba para formar dicho profármaco, dichas nanopartículas también comprenden un copolímero de una porción hidrófoba y una porción hidrófila en donde la proporción

en peso de la porción hidrófoba a la porción hidrófila está en el rango de 8:5 a 12:5 y en donde la porción hidrófoba tiene un peso molecular de 8 kD a 15 kD.

[0015] Los profármacos se pueden encapsular en la misma nanopartícula, o en nanopartículas separadas. Una composición simple se puede administrar como una combinación de dichos agentes bien sea encapsulada en la misma nanopartícula o en nanopartículas separadas o se pueden administrar composiciones separadas de nanopartículas que contienen cada uno de los profármacos. Así, como se usa acá, una “composición” incluye no sólo una composición simple *per se*, sino también un “conjunto” de composiciones en donde el conjunto suministra nanopartículas que comprenden los profármacos de los agentes terapéuticos usados en combinación. Así, el “conjunto” es simplemente una forma alterna para suministrar la combinación de agentes sin premezclar necesariamente las composiciones individuales cada una incluyendo nanopartículas que comprenden profármacos de un agente terapéutico. Así, una “composición” incluye esta posibilidad de suministrar a un sujeto la combinación en formulaciones separadas sin mezclarlas antes de la administración. Cuando se suministra como un “conjunto” de composiciones, la administración puede ser simultánea o secuencial.

[0016] Las combinaciones de taxano con inhibidores de choque térmico o combinaciones de inhibidores de varias trayectorias de quinasa son usadas como ejemplos, pero las composiciones de la invención pueden fácilmente incluir cualquier combinación deseada de agentes terapéuticos, y pueden incluir más de dos agentes terapéuticos.

[0017] En una modalidad ilustrativa, la invención se relaciona con composiciones y métodos para administrar cantidades efectivas y menos tóxicas de combinaciones de droga de taxano/HSP90i usando nanopartículas que están asociadas establemente con al menos un taxano y un HSP90i. Estas composiciones permiten que los dos o más agentes se entreguen al sitio de enfermedad en una forma coordinada, asegurando de esta forma que los agentes están presentes en el sitio

de enfermedad en concentraciones terapéuticamente activas con el fin de mejorar la eficacia. Este resultado se logrará bien sea que los agentes sean coencapsulados en nanopartícula o vehículos de entrega a base de micela, o se encapsulan cada una de forma separada en nanopartícula o vehículos de entrega a base de micela administrada de modo que concentraciones terapéuticamente activas de cada una se suministran en el sitio de la enfermedad. La farmacocinética (PK) de la composición se controla por medio de los vehículos de entrega como tal de modo que se logra la entrega coordinada (siempre y cuando el PK de los sistemas de entrega sea comparable). En un aspecto, el taxano y HSP90i se forman como conjugados de droga.

[0018] En este aspecto específico, la invención está dirigida a un método para entregar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de fármaco de taxano/HSP90i a un objeto deseado al administrar las composiciones de la invención.

[0019] La invención también está dirigida a un método para reducir el perfil de efecto secundario de una combinación de droga taxano/HSP90i al administrar las composiciones de la invención. El “perfil de efecto secundario reducido” se puede medir mediante una reducción en efectos secundarios gastrointestinales, oculares y/u otros efectos asociados con un taxano o productos de combinación de droga de taxano/HSP90i los cuales no están asociados con nanopartículas de la invención. Los efectos secundarios asociados con los cocteles de fármacos libres de combinaciones de taxano/HSP90i o taxanos encapsulados en nanopartícula como tal son conocidos por los expertos en la materia y un perfil de efecto secundario mejorado usando formulaciones de la invención son fácilmente medidos. Así, acá se suministran composiciones más seguras y/o menos tóxicas que comprenden una combinación de droga taxano/HSP90i.

[0020] La invención también está dirigida a un método para reducir la resistencia a fármaco al administrar las composiciones de combinación de droga taxano/HSP90i

de la invención. Así, acá se suministran composiciones que comprenden una combinación de droga taxano/HSP90i con resistencia a fármaco reducida. Preferiblemente, dicha resistencia a fármaco es resistencia a fármaco específica de taxano.

[0021] La invención también está dirigida a un método para entregar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de droga taxano/HSP90i al administrar un HSP90i bien sea antes, concurrente o después de la entrega de un taxano establemente asociado con un vehículo de entrega. En aspectos preferidos, el taxano y/o HSP90i cada uno se conjuga en una porción hidrófoba.

[0022] En otro aspecto ilustrativo de la invención, se divulgan composiciones y métodos para administrar cantidades efectivas y menos tóxicas de combinaciones de inhibidores de la trayectoria RAS/RAF/MEK/ERK ("ERK) y/o la trayectoria PI3K/AKT/mTOR ("AKT) usando nanopartículas que están asociadas establemente con al menos dos de estos inhibidores. Estas composiciones permiten que los dos o más agentes sean entregados al sitio de la enfermedad en una forma coordinada, asegurando de esta forma que los agentes están presentes en el sitio de la enfermedad a concentraciones terapéuticamente activas con el fin de mejorar la eficacia. Este resultado se logrará bien sea que los agentes estén coencapsulados en nanopartícula (incluyendo vehículos de entrega a base de micela), o son encapsulados cada uno de forma separada en nanopartícula o vehículos de entrega a base de micela administrados de modo que concentraciones terapéuticamente activas de cada uno se suministran en el sitio de la enfermedad. La farmacocinética (PK) de la composición se controla por los vehículos de entrega como tal de modo que se logra la entrega coordinada (siempre y cuando la PK de los sistemas de entrega sea comparable). En un aspecto, los inhibidores ERK y/o AKT se formulan como conjugados de droga.

[0023] En este aspecto ilustrativo, la invención está dirigida a un método para entregar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de fármaco

inhibidor de ERK/AKT a un objetivo deseado al administrar las composiciones de la invención.

[0024] La invención también está dirigida a un método para reducir el perfil de efecto secundario de una combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT al administrar las composiciones de la invención. El “perfil de efecto secundario reducido” se puede medir mediante una reducción en erupción papulopustular, gastrointestinal, ocular y/u otros efectos secundarios asociados con un producto de combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT el cual no está asociado con nanopartículas de la invención. Los efectos secundarios asociados con los cocteles de fármaco libre de combinaciones de fármaco inhibidores de ERK/AKT o de cada inhibidor individual son conocidos por los expertos en la materia y se puede medir fácilmente un perfil de efecto secundario mejorado usando las formulaciones de la invención. Así, acá se suministran composiciones más seguras y/o menos tóxicas que comprenden una combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT.

[0025] La invención también incluye un método para reducir la resistencia de droga al administrar las composiciones de combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT de la invención. Así, acá se suministran composiciones que comprenden una combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT con resistencia a droga reducida.

[0026] La invención también incluye un método para entregar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de fármaco inhibidor de ERK/AKT al administrar un inhibidor de ERK bien sea antes, concurrente o después de la entrega de un inhibidor de AKT establemente asociado con un vehículo de entrega. En aspectos preferidos, el inhibidor de ERK y/o inhibidor de AKT se conjugan cada uno a una porción hidrófoba.

[0027] En algunas modalidades, un agente terapéutico adicional es administrado con las composiciones de la invención.

[0028] Algunas de las combinaciones de la presente invención son útiles para el tratamiento de enfermedades proliferativas. Una enfermedad proliferativa es

principalmente una enfermedad de tumor (o cáncer) (y/o cualquier metástasis). Las combinaciones inventivas son particularmente útiles para tratar un tumor el cual es un tumor sólido.

Breve Descripción de las Figuras

[0029] La figura 1 es un gráfico de las concentraciones de plasma (medido como porcentaje de dosis inyectada) de docetaxel libre (triángulos invertidos), AUY922 libre (triángulos) en comparación con docetaxel encapsulada en nanopartícula (círculos) y AUY encapsulada en nanopartícula (cuadrados) cuando se administra *in vivo*.

[0030] La figura 2 es un gráfico de la tolerabilidad relativa de docetaxel y AUY922 administrado como una combinación de nanopartícula en comparación con la dosis máxima tolerada (MTD) de los fármacos libres administrados individualmente y en combinación.

[0031] La figura 3 es una gráfica de la eficacia de una combinación de docetaxel y AUY922 coencapsulada en nanopartículas de la invención y administrada a una proporción de 1:2 docetaxel:AUY922 p/p a una dosis de docetaxel de 10 mg (cuadrados) o una dosis de docetaxel de 20 mg (triángulos) cuando se administra a ratones que producen el modelo de tumor ST996 PDX la cual se caracteriza que es resistente a taxano.

[0032] La figura 4 es un gráfico de la eficacia de una combinación de docetaxel y AUY922 coencapsulada en nanopartículas de la invención en comparación con la combinación de fármaco libre en su MTD cuando se administra a ratones que producen el modelo de tumor HCT15 el cual se caracteriza por ser resistente a taxano.

[0033] La figura 5A es un gráfico de la eficacia de una combinación de selumetinib e ipatasertib coencapsulada en nanopartículas de la invención en comparación con la combinación de fármaco libre (círculos) cuando se administra a ratones que

producen el modelo de tumor HCT116. El selumetinib se administra como una dosis de 10 mg/kg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 50 mg/kg (triángulos invertidos) o dosis de 100 mg/kg (diamantes) cuando se coencapsularon en nanopartículas de la invención.

[0034] La figura 5B es un gráfico de la eficacia de una combinación de selumetinib e ipatasertib coencapsulada en nanopartículas de la invención en comparación con la combinación de fármaco libre (círculos) cuando se administra a ratones que producen el modelo de tumor HCT116. El selumetinib se administra como una dosis de 20 mg/kg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 50 mg/kg cuando se encapsula. El ipatasertib se administra a una dosis de 40 mg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 50 mg/kg (triángulos invertidos) o dosis de 100 mg/kg (diamantes) cuando se coencapsularon en nanopartículas de la invención.

[0035] La figura 6 es un gráfico de la eficacia de una combinación de selumetinib e ipatasertib coencapsulada en nanopartículas de la invención en comparación con la combinación de fármaco libre (círculos) cuando se administra a ratones que producen el modelo de tumor HCT-15. El selumetinib se administra como una dosis de 20 mg/kg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 50 mg/kg cuando se encapsula. El ipatasertib se administra a una dosis de 40 mg/kg en la combinación de fármaco libre y una dosis de 100 mg/kg cuando se coencapsula en nanopartículas de la invención.

Modos de Llevar a Cabo la Invención

[0036] El acercamiento preferido de entrega de fármaco aplicado acá fue combinar dos conceptos bien conocidos, específicamente el uso de profármacos y la utilización de vehículos de entrega micelar o de nanopartícula. El objetivo de la mayoría de las tecnologías de profármacos es típicamente hacer que las drogas hidrófobas sean más hidrófilas para solubilidad aumentada en un ambiente acuoso. Sin embargo, al hacerlas más hidrófobas y consecuentemente más compatibles con

sistemas de entrega a base de polímero es posible ajustar las propiedades de dos fármacos dispares de modo que sus tasas de liberación efectiva coinciden. Los portadores de nanopartícula de micelas o lipofílicos se pueden usar para mantener estos profármacos en ambiente acuoso dado que los fármacos individuales como tal son de otra forma insolubles.

[0037] Los parámetros que son más probables que afectan la disponibilidad *in vivo* de un fármaco cuando se optimiza el diseño de dichos sistemas, incluye: (1) la eliminación de plasma de la partícula portadora; (2) la tasa de partición de la droga fuera de la partícula; y (3) la tasa de hidrolisis del profármaco. En un sistema ideal las partículas permanecen intactas con administración IV, se despejan relativamente de forma lenta del compartimiento de sangre central, y la hidrolisis de profármaco es relativamente rápida, preferiblemente a través de medios enzimáticos en lugar de pH para evitar problemas de estabilidad en la formulación. El proceso de limitación de tasa que afecta la disponibilidad de fármaco en las composiciones de la presente invención es la tasa de partición del profármaco de la partícula al plasma. Una serie de profármacos con base en docetaxel y AUY922 y en selumetinib e ipatasertib fueron investigados con el fin de validar este acercamiento general para lograr el control del comportamiento farmacocinético de una combinación de fármaco taxano/HSP90i, o un inhibidor de ERK/AKT, *in vivo*.

[0038] Se han hecho varios intentos para producir profármacos de cáncer lipofílicos funcionales para mejorar el desempeño de los agentes antineoplásticos o para abordar los problemas de formulaciones asociados con la droga. Estos incluyen conjugados con fosfolípidos, colesterol, ácidos grasos α -bromo, ácido oleico, fullereno y ácido docosaheptaenoico. Los profármacos se han formulado en un vehículo de lípido, tal como liposomas, emulsiones de aceite o micelas. Algunos de estos reportan eficacia mejorada reclamada sobre formas no-profármaco en modelos *in vivo*. Sin embargo, en la mayoría de los casos estos no suministran ninguna información en eliminación de plasma o presentan datos *in vivo* que cubren

múltiples días después de la administración que se enfoca en la fase de eliminación de la droga en lugar de la fase de distribución. La información de eliminación de droga durante las primeras 24 horas después de la administración es el periodo de mayor interés significativo desde una perspectiva de entrega de tumor debido a la permeabilidad y retención mejorada (EPR) y la eliminación disminuida por el sistema reticuloendotelial (RES) como se observa con portadores de nanopartículas. La presente invención se basa en micelas o nanopartículas dado que estos portadores tienen la capacidad de suministrar vidas útiles de circulación de plasma extendidas y máxima capacidad de carga de droga. Adicionalmente, las micelas han mostrado que se acumulan en tumores a altos niveles con relación a otros tejidos.

[0039] Pasando, ahora, a las modalidades ejemplificadas acá como típicas de combinaciones de fármacos en general:

[0040] Taxanos, particularmente paclitaxel y docetaxel son ampliamente usados en agentes quimioterapéuticos para tratar un rango de carcinomas. El material clínico de paclitaxel es formulado en Cremophor® EL/etanol, y se diluye con regulador antes de la administración. Existen varios reportes en la literatura que describen intentos para mejorar la formulación de paclitaxel usando micelas, liposomas o emulsiones. En casi todos los casos sin embargo es claro a partir de los datos farmacocinéticos reportados que aunque estos portadores formulan paclitaxel, estos no actúan como verdaderos vehículos de entrega *in vivo* dado que la droga se particiona rápidamente fuera del portador con una vida útil en el orden de minutos.

[0041] Los principios definidos anteriormente fueron aplicados para formular conjugados de HSP90i para inclusión en nanopartículas, para terapia de combinación con taxano así como para formular conjugados inhibidores de AKT y/o ERK para terapias de combinación. En una ilustración, el desarrollo de una serie de profármacos de docetaxel y AUY922 y formulaciones asociadas micelares/de nanopartícula se incluyen en la invención. En otra modalidad ilustrativa, se describe

el desarrollo de profármacos de selumetinib e ipatasertib, por ejemplo, y formulaciones asociadas micelares/de nanopartícula.

[0042] La invención describe el diseño de vehículos de entrega de partícula con vidas útiles de circulación prolongadas donde la liberación de ambos agentes se modula al manipular la composición del copolímero de nanopartícula y/o el grado de hidrofobicidad de ancla de lípido y/o la labilidad de los reticuladores. La farmacocinética de los profármacos *in vivo* se muestra que depende altamente de la naturaleza y el tamaño de cada bloque del copolímero. De forma similar, la eficacia de los profármacos *in vivo* se muestra que depende de la naturaleza del copolímero, el enlace y/o la tasa de partición relativa del ancla de lípido.

[0043] En particular, se ha encontrado que en un amplio rango de combinaciones de agente terapéutico, las formulaciones son más efectivas cuando el tamaño de las nanopartículas es menor a 80 nm, o preferiblemente 20-80 nm, o incluso más preferiblemente 40-80 nm en diámetro promedio y en donde las nanopartículas se forman al ensamblar en una partícula un profármaco en donde un agente terapéutico se acopla a través de un enlazador a una porción hidrófoba y un copolímero que comprende una porción hidrófoba y una porción hidrófila en donde la proporción en peso de la porción hidrófoba a la porción hidrófila está en el rango de 8:5 a 12:5, preferiblemente 10:5 (o 2:1) y en donde la porción hidrófoba tiene un peso molecular de 8 kD a 15 kD. Esto permite la partición lista de las partículas de los profármacos en forma intacta donde con la liberación del agente terapéutico por sí solo cuando el profármaco es liberado al flujo sanguíneo es relativamente rápida.

[0044] Como se indicó anteriormente, dos ejemplos emplean profármacos de un taxano y HSP90i o profármacos de inhibidores de AKT y ERK y vehículos de entrega micelar o de nanopartícula para facilitar el control de farmacocinética. Al hacer estas drogas más hidrófobas y consecuentemente más compatibles con sistemas de entrega a base de polímero, se puede controlar la farmacocinética de las composiciones de combinación de droga. También es posible ajustar las

propiedades de formulaciones que contienen agentes antineoplásticos adicionales de modo que sus tasas de liberación efectivas *in vivo* se coinciden con la de las dos combinaciones de fármacos. Los portadores de nanopartícula de micelas o lipofílicos se pueden usar para suspender estos profármacos y otros agentes en un ambiente acuoso.

[0045] Como se mostró anteriormente, las nanopartículas de profármaco de circulación larga suministran actividad terapéutica significativamente mejorada sobre las combinaciones de fármacos sin encapsular en la dosis de tolerancia máxima; estos tipos de formulaciones por lo tanto son ventajosas *per se*.

[0046] Así, las composiciones farmacéuticas ejemplares son aquellas que comprenden nanopartículas o micelas de un profármaco de un taxano o un profármaco de un HSP90i, o un profármaco de un inhibidor de AKT o un profármaco de un inhibidor de ERK donde los profármacos son conjugados de dichos agentes cada uno acoplado a una porción hidrófoba a través de un enlazador en donde dichos profármacos están asociados con un lípido y/o un estabilizador anfifílico. En algunas modalidades, no se requiere ningún lípido.

[0047] La invención también incluye métodos para administrar las combinaciones anteriores u otras combinaciones de droga usando las composiciones de la invención, para combinar las composiciones de la invención con formulaciones de agentes antineoplásticos adicionales y administrar estos y a métodos para preparar estas composiciones y formulaciones.

[0048] Los vehículos de entrega de nanopartícula de la presente invención pueden ser usados no sólo en administración parenteral sino también en tópica, intraperitoneal, intramuscular, aerosol o entrega oral o por medio de la aplicación del vehículo de entrega sobre o en un dispositivo implantable natural o sintético en o cerca del sitio objetivo para propósitos terapéuticos o imagen médica o similares. Preferiblemente, los vehículos de entrega de nanopartícula de la invención se usan en administración parenteral, más preferiblemente, administración intravenosa.

[0049] Las modalidades preferidas acá descritas no pretenden ser exhaustivas o limitar el alcance de la invención a las formas precisas divulgadas. Estas se han seleccionado y descrito con fon de explicar mejor los principios de la invención y sus aplicaciones y el uso práctico para permitir a los expertos en la materia entender sus enseñanzas.

Drogas Ilustrativas

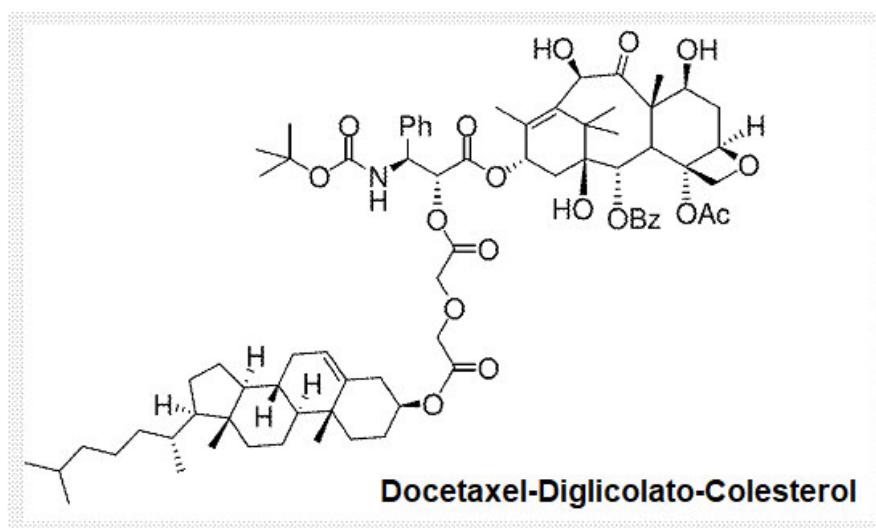
Taxanos

[0050] Los taxanos son una clase de drogas anticancerígenas ampliamente utilizadas. Estos son diterpenos que se producen naturalmente por plantas que pertenecen al género *Taxus* (por ejemplo, Tejos). “Taxanos” como se usa acá incluyen paclitaxel (Taxol™), docetaxel (Taxotere™), cabazitaxel y otros análogos de taxano o derivados de los mismos. El Paclitaxel fue originalmente derivado del árbol de Tejo y sus análogos incluyen docetaxel y otros compuestos de estructura similar. Taxol™ es una forma comercialmente disponible de paclitaxel formulado con Cremophor™. Más recientemente, otro Taxano, cabazitaxel, fue aprobado por la FDA para tratar cáncer de próstata refractario hormonal.

[0051] El paclitaxel es un agente quimioterapéutico ampliamente utilizado para el tratamiento de un rango de carcinomas como se describió anteriormente.

[0052] Docetaxel es un agente anticancerígeno antimitótico clínicamente bien establecido que funciona al interferir con la división celular. Es aprobado por la DFA para el tratamiento de cáncer de seno localmente avanzado o metastático, cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, cáncer de próstata refractario hormonal y cáncer de pulmón de célula no pequeña. Docetaxel es aproximadamente dos veces más potente que paclitaxel (debido al efecto de docetaxel en el centrosoma del huso mitótico), sin embargo tiene eficacia similar al paclitaxel lo cual debe ser debido al hecho que el docetaxel es propenso resistencia a droga celular por medio de un número de diferentes mecanismos.

[0053] Una modalidad ejemplificada de un profármaco de docetaxel para uso de la invención se muestra a continuación:



Inhibidores de HSP90

[0054] Los “agentes potenciadores” o “agentes potenciadores orientados molecularmente” como se describen acá se refieren a compuestos que se orientan a tumorigenesis, incluyendo modulación de la actividad apoptótica. Como se usa acá, estos incluyen, pero no se limitan a inhibidores de proteína de choque térmico (HSP). Los inhibidores de HSP de la invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de HSP90, inhibidores de HSP70, inhibidores de HSP60, inhibidores de HSP27, e inhibidores de HSP 10. Preferiblemente, se utilizan los inhibidores de HSP90 (HSP90i).

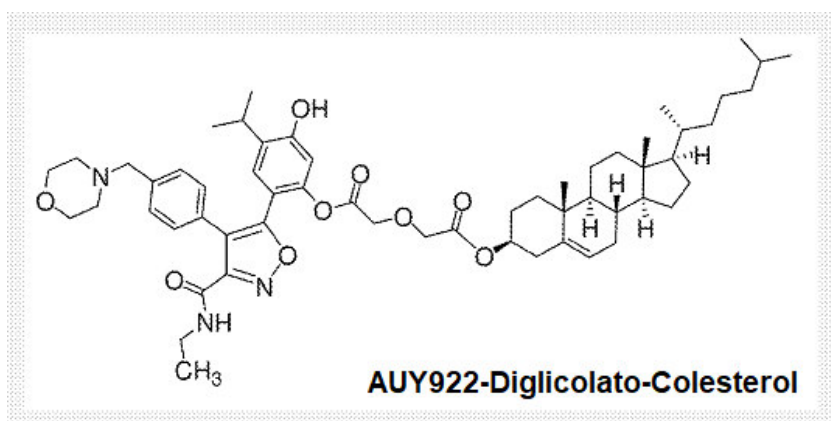
[0055] Entre las proteínas de choque térmico el foco en HSP90 ha aumentado debido a su participación en varios fenómenos celulares y trayectorias de orientación y más importantemente en progresión de enfermedad. HSP90 es un componente clave de un complejo multi-acompañante el cual está involucrado en el doblez posttranslacional de un gran número de proteínas, varias de las cuales juegan papeles esenciales en tumorigenesis. Esta regula la conformación, estabilidad, y función de varias proteínas oncogénicas críticas que son esenciales en mantener la transformación maligna y en el aumento de la supervivencia,

crecimiento, y potencial invasivo de las células cancerígenas. Los inhibidores de HSP90 inducen la degradación de estas proteínas.

[0056] La disponibilidad de drogas que pueden específicamente orientarse a HSP90 e inhibir su función, resultando en la reducción de las proteínas cliente, ha hecho del HSP90 un objetivo novedoso y excitante para terapia de cáncer. Un número de inhibidores de HSP90 se están sometiendo actualmente a ensayos clínicos para una variedad de cánceres. Los inhibidores de HSP90 incluyen los productos naturales geldanamicina y radicicol así como los derivados sintéticos 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17AAG). AUY922 (o “NVP-AUY922”, también conocido como luminespib) es una droga experimental candidata para el tratamiento de cáncer.

[0057] Varios de estos inhibidores de HSP90 son altamente tóxicos por su cuenta. Por ejemplo, geldanamicina es un inhibidor de HSP90 efectivo aunque no se puede usar *in vivo* debido a su alta toxicidad y capacidad de daño hepático. El derivado semi-sintético 17AAG tiene de alguna manera toxicidad menor pero la misma potencia que geldanamicina y actualmente está sometido a ensayos clínicos.

[0058] Una modalidad ejemplificada de un profármaco de HSP90i para uso en la invención se muestra a continuación:



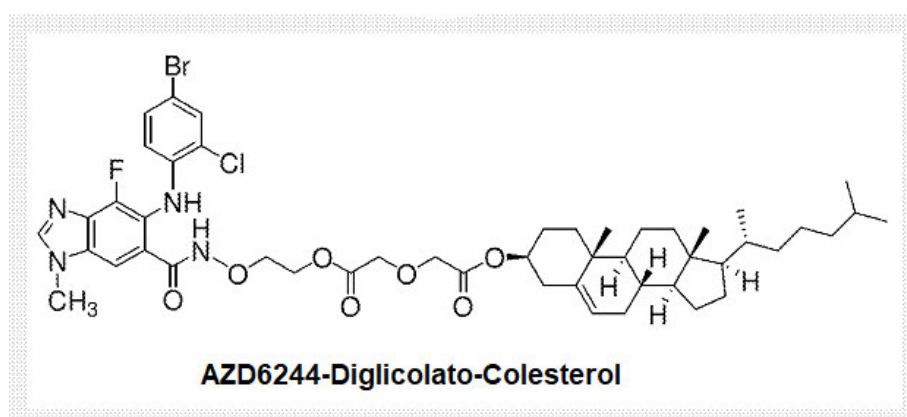
Inhibidores de RAS/RAF/MEK/ERK

[0059] Un “inhibidor de RAS/RAF/MEK/ERK” o “inhibidor de MEK” o “inhibidor de ERK” como se usa acá está destinado a incluir cualquier inhibidor con actividad moduladora en cualquier punto a lo largo de la trayectoria RAS/RAF/MEK/ERK.

Dichos inhibidores incluyen, por ejemplo, selumetinib, GSK1120212, TAK-733, REDA119, U0126, PD 98059 y D-87503. Varios de estos inhibidores, tal como PD 98059, son inhibidores altamente selectivos de MEK-1 y/o MEK-2. Ciertos inhibidores actúan a través de inhibición alostérica, algunos son inhibidores competitivos de no ATP, y algunos son inhibidores reversibles mientras que otros no lo son.

[0060] El selumetinib, también conocido como AZD6244, es un agente anticancerígeno clínicamente bien establecido que funciona al inhibir la quinasa de proteína activada de mitógeno (quinasas MEK o MAPK/ERK) 1 y 2.

[0061] Una modalidad ejemplificada de un profármaco de selumetinib para uso de la invención es un profármaco de selumetinib-colesterol enlazado a través de un enlace de glicolato o succinato tal como se ve a continuación:

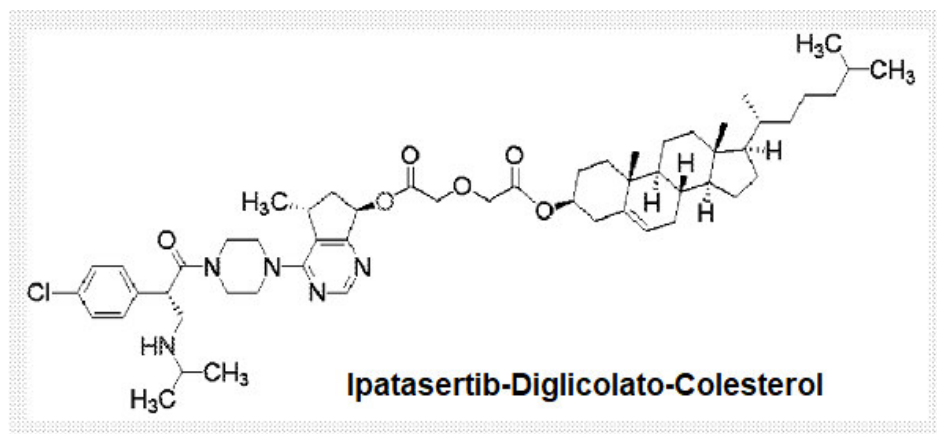


Inhibidores de PI3K/AKT/mTOR

[0062] Un “inhibidor PI3K/AKT/mTOR” o “inhibidor AKT” como se usa acá está destinado a incluir cualquier inhibidor con actividad moduladora en cualquier punto a lo largo de la trayectoria PI3K/AKT/mTOR. Dichos inhibidores incluyen, por ejemplo, ipatasertib, wortmannin, GCK690693, perifosina, y SC79.

[0063] Algunos inhibidores, tal como wortmannin el cual es un metabolito esteroide, actúa por inhibición covalente de PI3K. Otros, tal como ipatasertiv, enfocan AKT. Similar a lo anterior, algunos actúan a través de inhibición competitiva de ATP mientras que otros son inhibidores no ATP.

[0064] Modalidades ejemplificadas de profármacos inhibidores de PI3K/AKT/mTOR para uso de la invención con un profármaco de ipatasertib-colesterol enlazado a través de un enlace de glicolato o succinato tal como se ve a continuación:



Preparación de Vehículos de Entrega de Nanopartícula para Combinaciones de Profármaco

[0065] Los vehículos de entrega pueden incluir nanopartículas de polímero, micropartículas de polímero, micelas de copolímero de bloque, sistemas híbridos de polímero-lípido, polímeros de cadena simple derivada, micelas de lípido, micelas de lipoproteína, emulsiones estabilizadas de lípido, ciclodextrinas, y similares.

[0066] Las nanopartículas y micropartículas pueden comprender un núcleo concentrado de droga que está rodeado por un recubrimiento polimérico (nanocápsulas) o como un sólido o un líquido disperso a lo largo de una matriz de polímero (nanoesferas). Métodos generales de preparación de nanopartículas y micropartículas se describen por Soppimath, y otros (J. Liberación de Control (2001) 70:1-20) cuyo contenido se incorpora acá. Otros vehículos de entrega polimérica que se pueden usar incluyen micelas de copolímero de bloque que comprenden una droga que contiene un núcleo hidrófobo rodeado por una capa hidrófila; estos generalmente son utilizados como portadores para drogas hidrófobas y se pueden preparar como se encuentra en Allen, y otros, Coloides y Superficies B: Biointerfaces (1999) 16:3-27. Los sistemas híbridos de polímero-lípido consisten de una nanopartícula de polímero rodeada por una monocapa de lípido. La partícula

de polímero sirve como un espacio de carga para la incorporación de drogas hidrófobas mientras que la monocapa de lípido suministra una interferencia estabilizante entre el núcleo hidrófobo y el ambiente acuoso externo. Los polímeros tal como policaprolactona y poli(d,l-lactida) se pueden usar mientras que la monocapa de lípido está típicamente compuesta de una mezcla de lípido. Los métodos adecuados de preparación son similares a los referenciados anteriormente para nanopartículas de polímero. Los polímeros de cadena simple derivada son polímeros adaptados para enlace covalente de un agente biológicamente activo para formar un conjugado de polímero-droga. Numerosos polímeros se han propuesto para síntesis de conjugados de polímero-droga que incluyen poliaminoácidos, polisacáridos tal como dextrina o dextrano, y polímeros sintéticos tal como copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA). Métodos adecuados de preparación se detallan en Veronese y Morpurgo, *IL Farmaco* (1999) 54:497-516 y se incorporan acá por referencia.

[0067] Las micelas son partículas de auto-ensamblaje compuestas de lípidos anfipáticos o componentes poliméricos que son utilizados para la entrega de agentes escasamente solubles presentes en el núcleo hidrófobo. Varios medios para la preparación de vehículos de entrega micelar se pueden preparar como se describe en Perkins, y otros, *Int. J. Pharm.* (2000) 200:27-39 (incorporada acá por referencia). Las micelas de lipoproteína se pueden preparar a partir de lipoproteínas naturales o artificiales que incluyen lipoproteínas de baja y alta densidad y quilomicrones. Las emulsiones estabilizadas en lípido son micelas preparadas de modo que comprenden un núcleo lleno de aceite estabilizado por un componente emulsionante tal como una monocapa o bicapa de lípidos. El núcleo puede comprender esteres de ácido graso tal como triacilglicerol (aceite de maíz). La monocapa o bicapa puede comprender un conjugado lípido de polímero hidrófilo tal como DSPE-PEG. Estos vehículos de entrega se pueden preparar por homogenización del aceite en la presencia del conjugado de lípido de polímero. Los

agentes que se incorporan en emulsiones estabilizadas en lípido son generalmente pobremente solubles en agua. Los análogos de polímero adecuados que presentan propiedades similares a las lipoproteínas tal como micelas de esteres de ácido esteárico u poli(óxido de etileno) bloque-poli(hidroxietil-L-aspartamida) y poli(óxido de etileno)-bloque-poli(hidroxihexil-L-aspartamida) también se pueden usar en la práctica de esta invención (Lavasanifar, y otros, J. Biomed. Mater. Res. (2000) 52:831-835).

[0068] En aspectos preferidos de la invención, las nanopartículas son de auto-ensamblaje. En algunas modalidades, las nanopartículas son auto-estabilizantes en que no requieren la presencia de un estabilizante adicional.

[0069] Los vehículos de entrega así se suministra de modo que se logra la entrega consistente de concentraciones terapéuticas de las anteriores combinaciones. Así, las concentraciones de plasma de cada agente se pueden mantener por simple coencapsulación de los agentes en los vehículos que comprenden la composición o los agentes que se pueden encapsular en vehículos separados si los vehículos controlan la farmacocinética de la composición para mantener las concentraciones de droga de plasma en la misma forma.

Entrega de Profármaco

[0070] La invención suministra composiciones que muestran características mejoradas de entrega para una combinación de agente terapéutico en donde dichos agentes terapéuticos se formulan como profármacos. Los profármacos de la invención están hechos al conjugar la droga en una porción hidrófoba. Debido a que la farmacocinética de la formulación se puede controlar al manipular la naturaleza de la porción hidrófoba, así como manipulando los componentes de las micelas o nanopartículas, particularmente el copolímero, se pueden lograr las características deseadas de la entrega de fármacos. Por ejemplo, la farmacocinética del profármaco de taxano se puede hacer para coincidir con la farmacocinética del

profármaco HSP90i y/o formulaciones que contienen otros agentes antineoplásticos, ofreciendo la oportunidad de un sistema mejorado de entrega de droga coordinada por lo cual la concentración del HSP90i y el taxano entregado a un tumor permanece sustancialmente al que es administrado. Por lo tanto, una proporción sinérgica del taxano:HSP90i, determinado *in vitro*, se puede mantener dentro de un factor de 1.5 o 2 usando la formulación mejorada de profármaco de taxano en combinación con una formulación compatible del HSP90i. Resultados similares se obtienen para combinaciones de inhibidores de AKT e inhibidores de MEK usando los mismos métodos y composiciones. Estas formulaciones son útiles en el tratamiento de cáncer u otras indicaciones hiperproliferativas. El mantenimiento de las concentraciones de agente terapéutico se puede medir fácilmente al determinar los niveles de los agentes en la sangre o plasma con el tiempo. Las composiciones coordinadas mantendrán las concentraciones administradas como se miden en la sangre o el plasma dentro de los límites anteriores por al menos 1 hora o 4 horas o incluso 24 horas.

[0071] Un lípido también se puede asociar con los profármacos en las composiciones de nanopartícula de la invención. Dichos lípidos son típicamente un fosfolípido, tal como fosfatidilcolina de distearoil, fosfatidilcolina de dipalmitoil, fosfocolina de dimiristoil, y los correspondientes etanoles de fosfatidil, inositoles de fisfatidil, gliceroles de fosfatidil, y similares. Las cadenas de ácidos grasos también pueden ser no saturadas e incluir, por ejemplo, ácidos oleicos y linoleicos. Los ácidos grasos no necesitan ser idénticos. Adicionalmente, la porción de lípido puede ser un esfingosina tal como esfingomielina o como tal un éster de tocoferol tal como succinato de vitamina E o adipato de vitamina E.

Profármacos y Porciones Hidrófobas

[0072] La porción hidrófoba para uso en la generación de profármacos de la invención puede incluir polímeros o productos naturales. Ejemplos de porciones

poliméricas hidrófobas incluyen pero no se limitan a polímeros de los siguientes: acrilatos incluyendo acrilato de metilo, acrilato de etilo, acrilato de propilo, acrilato de n-butilo (BA), acrilato de isobutilo, acrilato de 2-etilo, y acrilato de t-butilo; metacrilatos incluyendo metacrilato de etilo, metacrilato de n-butilo, y metacrilato de isobutilo; acrilonitrilos; metacrilonitrilo; vinilos incluyendo acetato de vinilo, vinilversatato, vinilpropionato, vinilformamida, vinilacetamida, nivilpiridinas, y vinilimidazol; aminoalquilos incluyendo aminoalquilacrilatos, aminoalquilmetacrilatos, y aminoalquil(met)acrilamidas; estirenos; ftalato de acetato de celulosa, succinato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilceulosa, y polímeros poli(D,L lactido), poli(D,L-lactido-co-glicólido), poli(glicólido), poli(hidroxibutirato), poli(alquilcarbonato) y poli(ortoesteres), poliésteres, poli(ácido hidroxivalérico), polidioxanona, poli(tereftalato de etileno), poli(ácido málico), poli(ácido tartrónico), polianhidros, polifosfazenos, poli(aminoácidos) y sus copolímeros (ver generalmente, Illum, D., Davids, S.S. (eds.) Polímeros en Entrega Controlada de Droga, Wright, Bristol, 1987; Arshady, J. Control. Liberación (1986) 4:155-180); polímeros a base de péptido hidrófobo y copolímeros basados en poli(ácidos L-amino) (Lavasanifar, A., y otros, Adv. Droga Entrega Rev. (2002) 54:169-190), copolímeros de poli(acetato de etileno-vinilo) ("EVA"), caucho de silicona, polietileno, polipropileno, polidienos (polibutadieno, poliisopreno y formas hidrogenadas de estos polímeros), copolímeros de anhídrido maleico de vinil-metileter y otros éteres de vinilo, poliamidas (nylon 6,6), poliuretano, poli(uretanos de éster), poli(uretanos de éter), poli(éster-urea). Los hidrófobos poliméricos particularmente preferidos incluyen poli(acetato de etilenvinilo), oligómeros y polímeros de poli(ácido D,L-láctico), oligómeros y polímeros de poli(ácido L-láctico), poli(ácido glicólico), copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico, poli(caprolactona) poli(valerolactona), polianhidros, copolímeros de poli(caprolactona) o poli (ácido láctico). Para aplicaciones no biológicamente relacionadas los portadores poliméricos particularmente preferidos incluyen poliestireno, poliacrilatos, y butadienos. Los

polímeros deben contener uno o más grupos funcionales los cuales se pueden incorporar en el polímero por derivación o pueden ser inherentes en la química del polímero. Los polímeros como porciones hidrófobas deben tener pesos moleculares entre 800 y 200.000. El rango preferido es 1.000 a 10.000 para polímeros con sitios funcionales mono o divalentes. Para polímeros con una multiplicidad de sitios funcionales para derivación, el peso molecular preferido del polímero por droga conjugada es 1.000 a 10.000.

[0073] Los productos naturales con grupos funcionales o grupos que se pueden convertir en grupos funcionales para conjugación incluyen: vitaminas hidrófobas (por ejemplo vitamina E, vitaminas K y A), carotenoides y retinoles (por ejemplo beta caroteno, astaxantina, trans y cis retinal, ácido retinoico, ácido fólico, dihidrofolato, acetato de retinilo, palmitato de retinilo), colecalciferol, calcitriol, hidroxicolecalciferol, ergocalciferol, α -tocoferol, acetato de α -tocoferol, nicotinato de α -tocoferol, y estradiol. Los productos naturales preferidos son colesterol o cadenas de carbono C22 los cuales se pueden obtener fácilmente.

[0074] Dependiendo de la naturaleza de la porción hidrófoba, ésta puede ser capaz de acomodar más de una, incluyendo sustancialmente más de una droga a través de una multiplicidad de sitios de enlace. Las porciones poliméricas pueden tener tanto como 100 sitios por los cuales las drogas se pueden enlazar. Las porciones hidrófobas más simples, tal como vitamina E, pueden suministrar sólo uno de dichos sitios. Así, el número de drogas acopladas a una porción hidrófoba simple puede ser sólo 1, o puede ser 2, 5, 10, 25, 100 y más, y todos los enteros entre éstos. Por ejemplo, los polímeros definidos anteriormente pueden suministrarse fácilmente con una multiplicidad de grupos funcionales para acoplarse a la droga. Las porciones hidrófobas difuncionales incluirían las cadenas de polímero hidrófobas enunciadas anteriormente que tienen dos grupos terminales OH, COOH, o NH₂. Las porciones hidrófobas multifuncionales incluyen todas las enunciadas anteriormente que tienen múltiples grupos OH, COOH, o NH₂ en algunas o todas las unidades de monómero

en el núcleo del polímero. Estos grupos funcionales son simplemente ilustrativos; otras porciones que pueden formar grupos funcionales para enlace incluyen sustituyentes de fenilo, grupos halo, y similares. Típicamente, cuando la porción hidrófoba es un polímero hidrófobo, este puede tener múltiples sitios para unión. Cuando la porción hidrófoba es una molécula relativamente pequeña, esta acomodará únicamente el número de enlazadores para el cual tiene disponible grupos funcionales.

Copolímeros Estabilizadores Anfifílicos

[0075] El “estabilizador anfifílico” para uso en la invención es preferiblemente un compuesto polimérico que comprende una porción hidrófila y una porción hidrófoba. Más preferiblemente, es un copolímero de un bloque hidrófilo acoplado con un bloque hidrófobo. “Hidrófobo” se define como está anteriormente. “Hidrófilo” en el contexto de la presente invención se refiere a porciones que tienen una solubilidad en solución acuosa (es decir, una solución fisiológica como se definió anteriormente) de por lo menos 1.0 mg/ml. Así, en el estabilizador anfifílico, la región hidrófoba, si se toma sola, exhibiría una solubilidad en medio acuoso de menos de 0.05 mg/ml y la región hidrófila, si se toma sola, exhibiría una solubilidad en medio acuoso de más de 1 mg/ml. Los ejemplos incluyen copolímeros de polietilenglicol con ácido poliláctico o poli(ácido láctico-co-glicólico) o poliestireno. Los polímeros hidrófobos típicos incluyen poliestireno y derivados hidrófobos de polimetacrilatos así como derivados de polivinilo. Los componentes hidrófilos típicos incluyen polietilenglicol y derivados hidrófilos de polímeros hidrófobos, así como dextrano y derivados de dextrano y ácido poliamino. La lista está destinada a ser ejemplar y no exhaustiva. Las nanopartículas formadas por el proceso de esta invención se pueden formar con copolímeros anfifílicos de injerto, bloque o aleatorios. Estos copolímeros pueden tener un peso molecular entre 500 g/mol y 50.000 g/mol o más, o entre

aproximadamente 3.000 g/mol y aproximadamente 25.000 g/mol, o por lo menos 2.000 g/mol.

[0076] Ejemplos de bloques hidrófobos adecuados en un estabilizador anfifílico incluyen pero no se limitan a los siguientes: acrilatos que incluyen acrilato de metilo, acrilato de etilo, acrilato de propilo, acrilato de n-butilo (BA), acrilato de isobutilo, acrilato de 2-etilo, y acrilato de t-butilo; metacrilatos que incluyen metacrilato de etilo, metacrilato de n-butilo, y metacrilato de isobutilo; acrilonitrilos; metacrilonitrilo; vinilos que incluyen acetato de vinilo, vinilversatato, vinilpropionato, vinilformamida, vinilacetamida, vinilpiridina, y vinilimidazol; aminoalquilos incluyendo aminoalquilacrilatos, aminoalquilmetacrilatos, y aminoalquil(met)acrilamidas; estirenos; ftalato de acetato de celulosa, succinato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, poli(D,L láctido), poli(D,L-láctido-co-glicólido), poli(glicólido), poli(hidroxibutirato), poli(alquilcarbonato) y poli(ortoesteres), poliésteres, poli(ácido hidroxivalérico), polidioxanona, poli(tereftalato de etileno), poli(ácido málico), poli(ácido tartrónico), polianhidros, polifosfazenos, poli(aminoácidos) y sus copolímeros (ver generalmente, Illum, D., Davids, S.S. (eds.) Polímeros en Entrega Controlada de Droga, Wright, Bristol, 1987; Arshady, J. Control. Liberación (1986) 4:155-180); polímeros a base de péptido hidrófobo y copolímeros basados en poli(ácidos L-amino) (Lavasanifar, A., y otros, Adv. Droga Entrega Rev. (2002) 54:169-190), copolímeros de poli(acetato de etileno-vinilo) (EVA), caucho de silicona, polietileno, polipropileno, polidienos (polibutadieno, poliisopreno y formas hidrogenadas de estos polímeros), copolímeros de anhídrido maleico de vinil-metileter y otros éteres de vinilo, poliamidas (nylon 6,6), poliuretano, poli(uretanos de éster), poli(uretanos de éter), poli(éster-urea). Los bloques poliméricos particularmente preferidos incluyen poli(acetato de etilenvinilo), oligómeros y polímeros de poli(ácido D,L-láctico), oligómeros y polímeros de poli(ácido L-láctico), poli(ácido glicólico), copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico, poli(caprolactona), poli(valerolactona), polianhidros, o poli (ácido láctico).

[0077] Ejemplos de bloques hidrófilos adecuados en un estabilizador anfifílico incluyen pero no se limitan a los siguientes: alcohol de polivinilo, ácidos carboxílicos incluyendo ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido itacónico, y ácido maleico; polietilenos u óxido de polietileno; poliacrilamidas y copolímeros de las mismas con dimetilaminoetilmetacrilato, cloruro de dialildimetilamonio, cloruro de vinilbenziltrimetilamonio, ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido sulfónico 2-acrilamido-2-metilpropano y sulfonato de estireno, polivinilpirrolidona, almidones y derivados de almidón, dextrano y derivados de extraño; polipéptidos, tal como polilisinas, poliargininas, ácidos poliglutámicos; ácidos polihialurónicos, ácidos algínicos, poliláctidos, polietileniminas, poliionenas, ácidos poliacrílicos, y poliiiminocarboxilados, gelatina, y ácidos mono o dicarboxílicos etilénicos insaturados. Los estabilizadores de polímero tal como alcohol de polivinilo también pueden ser usados por su cuenta.

[0078] Preferiblemente, los bloques son repeticiones de dibloque o tribloque. Preferiblemente, los copolímeros de bloque para esta invención incluyen bloques de poliestireno, polietileno, acrilato de polibutilo, metacrilato de polibutilo, ácido poliláctico, mezclas de ácido láctico y glicólico, policaprolactona, ácido poliacrílico, polioxietileno y poliacrilamida. Una lista de polímeros hidrófilos adecuados se puede encontrar en Manual de Gomas y Resinas Solubles en Agua, R. Davidson, McGraw-Hill (1980).

[0079] En copolímeros de injerto, la longitud de una porción injertada puede variar. Preferiblemente, los segmentos injertados son cadenas de alquilo de 12 a 32 carbonos o equivalente a 6 a 16 unidades de etileno en longitud. Adicionalmente, el injerto del núcleo de polímero puede ser útil para mejorar la solvatación o propiedades de estabilización de nanopartícula. Un grupo butilo injertado en el núcleo hidrófobo de un copolímero de dibloque de un polietileno o polietilenglicol debe aumentar la solubilidad del bloque de polietileno. Las porciones químicas adecuadas injertadas a la unidad de bloque del copolímero comprenden cadenas

de alquilo que contienen especies tal como amidas, imidas, fenilo, carboxi, aldehído o grupos alcohol. Un ejemplo de un estabilizador comercialmente disponible es el de la familia Hypermer comercializado por Uniqema Co. El estabilizador anfifílico también puede ser de la familia de gelatina tal como las gelatinas derivadas de colágeno animal o de pez.

[0080] En algunas modalidades de la invención, el copolímero es un ácido poliláctico (PLA)-PEG, poliestireno (PS)-PEG o copolímero de poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA)-PEG. En algunas modalidades, el copolímero comprende PLA. Las nanopartículas que contienen PLA pueden tener una vida útil más larga. En otras modalidades, el copolímero es un copolímero PLGA-PEG en donde el componente PLGA es 10.000-15.000 Dalton. El copolímero en algunas modalidades es un copolímero PLGA-PEG en donde el componente PLGA es 10.000-15.000 Dalton y el componente PEG es aproximadamente 5.000 o menos Dalton. En algunas modalidades, el PLA, PS o PLGA tiene un peso molecular de 8.000 – 14.000 Dalton. En ciertas modalidades de la invención, la proporción de componente hidrófobo a hidrófilo del copolímero dictará el tamaño promedio de las nanopartículas. Cuando se usa PEG, hay por lo menos aproximadamente una proporción de 2:1 peso:peso de componente hidrófobo:PEG, es decir, en el rango de 8.5:12.5. Preferiblemente, el tamaño promedio de las nanopartículas es menor a 80 nm, por ejemplo, 40 a 80 nm. Más preferiblemente, el tamaño promedio de las nanopartículas es menor a 75 nm. En algunos casos, el tamaño promedio de las nanopartículas es de aproximadamente 20 a 80 nm, aproximadamente 20 a 75 nm o aproximadamente 50 a 75 nm. En algunas modalidades, la proporción de profármaco de taxano:profármaco HSP90i:copolímero es 1:1:4 a 1:1:16, o 1:1:4 a 1:1:12 y la proporción de profármaco inhibidor de AKT:profármaco inhibidor de ERK:copolímero es 1:1:4 a 1:1:16, o 1:1:4 a 1:1:12.

[0081] Cuando se hacen las nanopartículas de la invención, es crítico asegurar que el profármaco se disuelve adecuadamente en solvente antes de mezclar. En ciertas

modalidades, la naturaleza del solvente alterará el tamaño promedio de las nanopartículas. Para copolímeros con PLGA, acetonitrilo es el solvente preferido. Para copolímeros con PLA, dimetilformamida (DMF) es el solvente preferido. En algunas modalidades, la temperatura de fabricación de nanopartículas de la invención no altera el tamaño promedio de las nanopartículas. En algunas modalidades, las nanopartículas de la invención son estables a 4°C, -20°C y tan bajo como -80°C. En algunas modalidades, las nanopartículas de la invención mantienen su tamaño promedio y la carga de fármaco (medido como un cambio de tamaño de partícula de menos de 10 nm con más de 90% de carga de fármaco retenida) después de por lo menos una ronda de congelación/descongelación.

Administración de Composiciones de la Invención *In Vivo*

[0082] Las composiciones de la presente invención se pueden administrar en animales de sangre caliente, incluyendo humanos, así como especies domesticas y/o aviares. Adicional a las composiciones farmacéuticas, las formulaciones adecuadas para uso veterinario se pueden preparar y administrar en una forma adecuada al sujeto. Los sujetos veterinarios preferidos incluyen especies mamíferas, por ejemplo, primates no humanos, perros, gatos, ganado, caballos, ovejas, y ave domesticada. Los sujetos pueden también incluir animales de laboratorio, por ejemplo, en particular, ratas, conejos, ratones, y conejillos de indias, para el tratamiento de dolencias en humanos, un médico calificado determinará cómo se deben utilizar las composiciones de la presente invención con respecto a la dosis, horario y ruta de administración usando protocolos establecidos. Dichas aplicaciones pueden también utilizar escalada de dosis si los agentes encapsulados en las composiciones de vehículo de entrega de la presente invención exhiben toxicidad reducida a tejidos sanos del sujeto.

[0083] Preferiblemente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administran parenteralmente, es decir, intraarterialmente, intravenosamente,

intraperitonealmente, subcutáneamente, o intramuscularmente. Más preferiblemente, las composiciones farmacéuticas se administran intravenosamente o intraperitonealmente mediante una inyección en bolo. Por ejemplo, ver Rahman, y otros, patente No. US 3.993.754; Sears, patente No. US 4.145.410; Papahadjopoulos, y otros, patente No. US 4.235.871; Schneider, patente No. US 4.224.179; Lenk, y otros, patente No. US 4.522.803; y Fountain, y otros, patente No. US 4.588.578, incorporadas por referencia.

[0084] En otros métodos, las preparaciones farmacéuticas o cosméticas de la presente invención se pueden poner en contacto con el tejido objetivo por aplicación directa de la preparación al tejido. La aplicación se puede hacer por procedimientos tópicos “abiertos” o “cerrados”. Por “tópico”, se entiende la aplicación directa de la preparación multi-droga a un tejido expuesto al ambiente, tal como la piel, orofaringe, canal auditivo externo, y similares. Procedimientos “abiertos” son aquellos procedimientos que incluyen la incisión de la piel de un paciente y directamente visualizar el tejido subyacente al cual se aplican las preparaciones farmacéuticas. Esto generalmente se logra por un procedimiento quirúrgico, tal como una traqueotomía para acceder a los pulmones, laparotomía abdominal para acceder la víscera abdominal, u otro acercamiento quirúrgico directo al tejido objetivo. Procedimientos “cerrados” son procedimientos invasivos en los cuales los tejidos objetivos internos no se visualizan directamente, pero se acceden al insertar instrumentos a través de pequeñas heridas en la piel. Por ejemplo, las preparaciones se pueden administrar al peritoneo por lavado de aguja. Alternativamente, las preparaciones se pueden administrar a través de dispositivos endoscópicos.

[0085] Las composiciones farmacéuticas que comprenden vehículos de entrega de la invención se preparan de acuerdo con técnicas estándar y pueden comprender agua, agua regulada, 0.9% salina, 0.3% glicina, 5% dextrosa y similares, incluyendo glicoproteínas para estabilidad mejorada, tal como albúmina, lipoproteína, globulina,

y similares. Estas composiciones se pueden esterilizar por técnicas de esterilización convencionales, bien conocidas. Las soluciones acuosas resultantes se pueden empacar para uso o filtrar bajo condición asépticas y liofilizar, la preparación liofilizada se combina con una solución acuosa estéril antes de la administración. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables como se requiera para aproximar las condiciones fisiológicas, tal como ajuste de pH y agentes reguladores, agentes ajustadores de tonicidad, y similares, por ejemplo, acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, y similares.

[0086] La concentración de los vehículos de entrega en las formulaciones farmacéuticas puede variar ampliamente, tal como desde menos de aproximadamente 0.05%, usualmente en o al menos aproximadamente 2-5% hasta tanto como 10 a 30% en peso y se seleccionará principalmente por volúmenes de fluido, viscosidades, y similares, de acuerdo con el modo particular de administración seleccionado. Por ejemplo, la concentración se puede aumentar para reducir la carga de fluido asociado con el tratamiento. Alternativamente, los vehículos de entrega compuestos de lípidos irritantes se pueden diluir a concentraciones bajas para bajar la inflamación en el sitio de administración. Para diagnóstico, la cantidad de vehículos de entrega administrados dependerá de la etiqueta particular utilizada, el estado de la enfermedad que se diagnostica y el juicio del médico.

EJEMPLOS

[0087] Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar la invención.

Ejemplo 1

Síntesis de Profármaco para Combinaciones de Nanopartícula Inhibidoras de

Taxano/HSP90

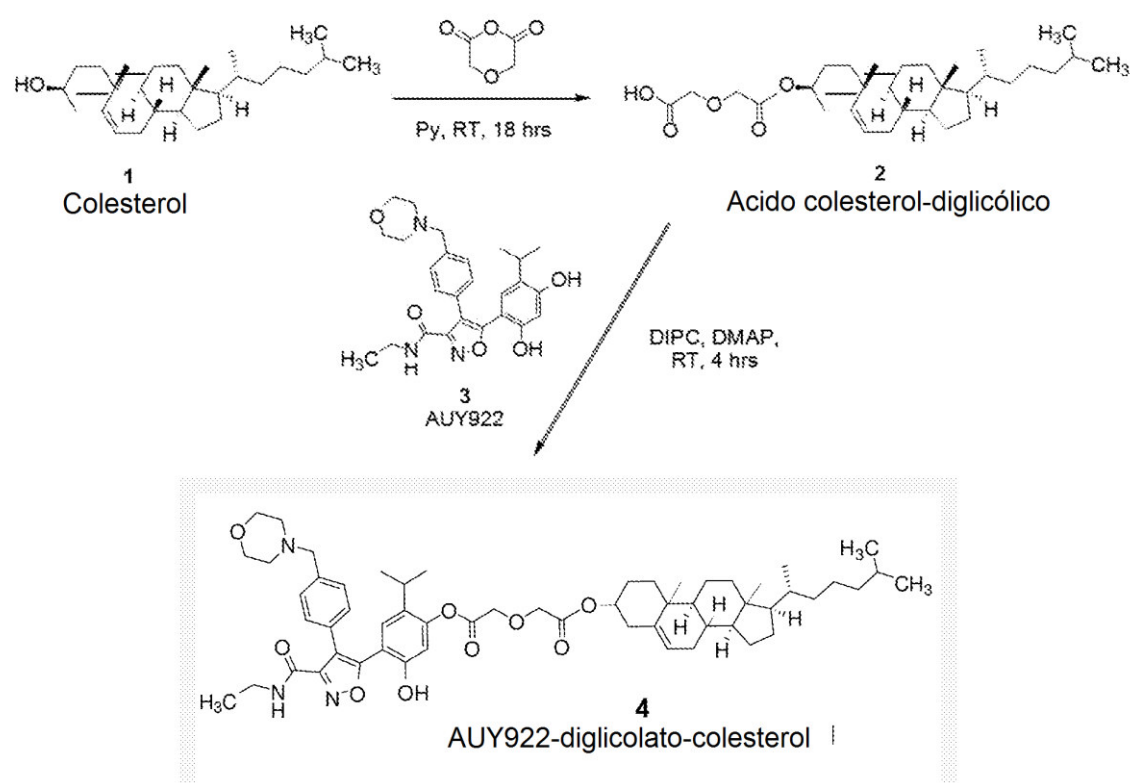
Síntesis de Profármacos

[0088] Derivados de docetaxel se prepararon de forma selectiva mediante la explotación de la diferencia en las velocidades de reacción entre los grupos hidroxilo docetaxel. Bajo las condiciones de reacción utilizadas aquí, la mayoría de docetaxel fue consumido antes de que se generaran niveles significativos del producto de diacilo, como se monitorizó por TLC. La cromatografía en columna se utilizó para eliminar docetaxel sin reaccionar, el producto de diacilo y otras impurezas en la mezcla de reacción en bruto. La pureza y la identidad de los productos finales se confirmaron por HPLC y análisis nmR, respectivamente.

[0089] Para la síntesis de los conjugados de docetaxel, docetaxel (1 equivalente), un ácido de lípido (2 equivalentes) y 4-N, N-dimetilaminopiridina (3 equivalentes) se disolvieron en cloroformo libre de alcohol. Después, se añadió diisopropilcarbodiimida (1,3 equiv.) y la solución se agitó a temperatura ambiente. La reacción se controló por TLC hasta que la mayoría del docetaxel se había consumido (típicamente 2-4 horas). Después, la mezcla de reacción se lavó con ácido clorhídrico diluido y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras la eliminación del disolvente, el producto bruto se pasó por una columna de gel de sílice usando un gradiente de metanol/cloruro de metileno. El profármaco purificado era liofilizado a partir de benceno y se almacena a temperatura ambiente.

[0090] Para la síntesis del conjugado AUY922: ver el siguiente esquema para AUY922-colesterol:

Esquema 1:



[0091] Etapla 1: Síntesis de ácido colesterol-diglicólico: anhídrido diglicólico (10,20 g, 87,88 mmol) se añadió en pequeñas porciones durante un período de 15 minutos a una solución agitada y clara de colesterol (1,20.0 g, 51,70 mmol) en piridina (100 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. La solución de color amarillo pálido resultante se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente. La reacción se controló por TLC usando 5% de metanol en diclorometano como eluyente y se secó por pulverización con una solución de tinción de p-anisaldehído. Después del consumo completo de colesterol, la mezcla se concentró en un evaporador rotatorio bajo vacío a 30°C para separar por destilación la mayor parte de la piridina y el jarabe resultante se vertió sobre agua fría (500 ml) con agitación rigurosa. El contenido se agitó durante 10 minutos para apagar y solubilizar el exceso de anhídrido diglicólico. El sólido separado se recogió por filtración en vacío. A continuación, se suspendió en una solución de HCl acuoso al 10% y se agitó rigurosamente durante 10 minutos con sonicación ocasional. Se filtró y se lavó con agua fría a un pH neutro y se secó en un horno de vacío a 30°C durante 6 horas para obtener polvo de flujo libre. A continuación, se disolvió en diclorometano (15 ml) y se puso en una columna de gel de sílice (1500 g). Se eluyó con un gradiente

de 1-3% de metanol en diclorometano y se recogieron y concentraron las fracciones que contenían el producto. El sólido resultante se co-evaporó con diclorometano (3x10 ml) y se secó a alto vacío durante la noche para obtener ácido colesterol-diglicólico (22,8 g) como un polvo blanco con un rendimiento del 87%. ¹H nmR (400 MHz, CDCl₃): δ 5,46-5,40 (m, 1H), 4,83-4,72 (m, 1H), 4,28 (s, 2H), 4,25 (s, 2H), 2,43-2,35 (m, 2H), 2,08-1,96 (m, 2H), 1,95-1,80 (m, 4H), 1,70-1,45 (m, 6H), 1,45-1,25 (m, 4H), 1,25 a 1,10 (m, 6H), 1,09-0,96 (m, 3H), 0,94 (d, J = 8 Hz, 3H), 0,90 (d, J = 4 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 4 Hz, 3H), 0,70 (s, 3H) ppm. ESI-MS Datos: m / z = 525,35 [M + Na].

[0092] Etapas 2: Síntesis de AUY922-diglicolato-colesterol: cantidades pesadas de ácido colesterol-diglicólico (2, 12,0 g, 23,86 mmol), AUY922 (3, 10,0 g, 21,48 mmol) y N,N-dimetilamino piridina (3,0 g, 24,55 mmol) se almacenaron a alto vacío durante 10 minutos y se purgó con nitrógeno. Los contenidos se disolvieron en diclorometano anhidro (200 ml) y se agitó a 19°C bajo atmósfera de nitrógeno. Para esto, una solución de carbodiimida diisopropilo (6,0 ml, 38,98 mmol) en diclorometano (25 ml) se introdujo en un período de 15 minutos y la mezcla se agitó a 19°C durante 4 horas. La reacción se controló mediante TLC utilizando 10% de metanol en diclorometano como eluyente y se secó con solución de tinción de p-anisaldehído u observado bajo luz UV. Después del consumo completo del ácido colesterol-diglicólico (2), la solución turbia resultante se enfrió a -15°C y el sólido separado se retiró por filtración a través de una almohadilla de algodón y filtrados de este lote y el lote de AUY922 (2,0 g) reciclado se combinó y se concentró hasta obtener una solución espesa.

[0093] Purificación: La solución espesa se cargó en una columna de gel de sílice pre-empaquetada en diclorometano (1,500 g). Se eluyó con 1-5% de metanol en diclorometano. Las fracciones que contienen el producto principal se concentraron para obtener una espuma sólida de color amarillo pálido (11,50 g). La espuma sólida se sometió a otra purificación cromatográfica en gel de sílice mediante la carga en

una columna de gel de sílice pre-empaquetada en diclorometano (1,500 g). La columna se eluyó con un sistema de eluyente isocrático con una relación de disolvente de 3 / 0,5 / 96,5 metanol/ isopropanol/ diclorometano. Este proceso de purificación en columna de gel de sílice se repitió hasta que se obtuvo una pureza >95% por HPLC y se logró H nmR. Alternativamente, el producto se pasó a través de una columna de fase inversa (RP, C-18) en metanol puro con una relación de carga de 0,5 g por 240 g de C-18 de la columna. Las fracciones de producto puras se recogieron y se concentraron. Se secó en horno de vacío durante 18 horas para conseguir AUY922-colesterol-diglicolato puro (4) como un polvo blanco (4,95 g, 24% rendimiento, pureza 98% HPLC a 230 nm). H nmR (600 MHz, DMSO-d₆): δ 10,42 (s, 1 H), 8,86 (t, J = 4 Hz, 1H), 7,23 (c AB, J = 8, 40 Hz, 4H), 6,96 (s, 1 H), 6,72 (s, 1H), 5,37 (bs, 1H), 4,58-4,53 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 4,17 (s, 2H), 3,60-3,53 (m, 4H), 2,08 (bs, 2H), 3,33 (bs, 2H), 3,26 a 3,17 (m, 2H), 3,12-3,00 (m, 1H), 2,40-2,30 (m, 6H), 2,05-1,90 (m, 2H), 1,90-1,75 (m, 3H), 1,65-1,45 (m, 5H), 1,44-1,20 (m, 6H), 1,19-0,95 (m, 17H), 0,94 a 0,91 (m, 9H), 0,88 (d, J = 4 Hz, 3H), 0,70 (s, 3H) ppm. ESI-MS Datos: m / z = 950,59 [M + H].

[0094] Los compuestos preparados son: docetaxel-colesterol y AUY922-colesterol cada uno vinculado a través de un enlazador glicolato.

Ejemplo 2

Formulación de nanopartículas de profármaco de Docetaxel y AUY922 que aumenta dramáticamente las concentraciones de drogas de plasma

[0095] El taxano y profármacos AUY922 descritos en el Ejemplo 1 se combinaron para generar nanopartículas de la invención. Se formó un número de diferentes nanopartículas incluyendo los que comprenden copolímeros de PLA-PEG o PLGA-PEG a los siguientes pesos moleculares ("K" se refiere a miles):

PLA (10K) -PEG (5K); PLA (8K) -PEG (5K); PLA (13K) -PEG (2K); PLA (14K) -PEG (4K); PLA (11 K) -PEG (5K); PLGA (10K) -PEG (5K); PLGA (10K) -PEG (2K); y PLGA (15K) PEG (5K).

[0096] Las nanopartículas que comprenden PLA-PEG que mostraron el tamaño y la estabilidad óptima en una proporción de 2:1, es decir, PLA (10K)-PEG (5K), se formaron con profármacos de colesterol docetaxel y AUY922-colesterol para uso en estos estudios farmacocinéticos.

[0097] Como se muestra en la Figura 1, el porcentaje de dosis inyectada de cada profármaco se mantuvo en aproximadamente 50% por hasta 12 horas, y 20% por hasta 24 horas en comparación con docetaxel libre y AUY922 libre que se ha demostrado en la técnica que se limpia con bastante rapidez.

Ejemplo 3

Mejora de la tolerabilidad de Docetaxel: AUY-922 Combinación formulada en las nanopartículas vs combinación libre de drogas

[0098] La tolerancia relativa de docetaxel y AUY922 que se administran como una combinación en la forma de los profármacos del Ejemplo 1 y en las nanopartículas formadas con PLA (10K)-PEG (5K) copolímeros en vivo se comparó con la dosis máxima tolerada (MTD) de cada uno de los fármacos libres administrados individualmente.

[0099] Como se muestra en la Figura 2, la combinación de docetaxel y AUY922 fue significativamente más tolerable cuando se formula en nanopartículas de la invención en comparación con la tolerancia de los fármacos libres administrados por separado.

Ejemplo 4

Eficacia de docetaxel y un inhibidor de HSP90 en el modelo de tumor ST996 PDX (Clasificada como Resistente al Taxano)

[0100] Con el fin de determinar si las combinaciones de profármacos de docetaxel y AUY922 eran más tolerable y/o eficaces cuando se combinan en nanopartículas del Ejemplo 3 en comparación con la administración cuando hay combinaciones de nanopartículas sin encapsular de la invención se administraron a ratones que expresan un modelo de tumor de resistencia a los taxanos ST996 PDX.

[0101] Como se muestra en la Figura 3, la combinación de docetaxel y AUY922 era más tolerable/menos tóxico cuando se formula en nanopartículas del Ejemplo 3 en comparación con la administración de estos fármacos cuando están sin encapsular.

[0102] Se obtuvieron resultados similares en un segundo modelo de tumor resistente a taxano, HCT15 que se ve en la Figura 4, que muestra también que la combinación de docetaxel y AUY922 fue más eficaz cuando se formula en nanopartículas del Ejemplo 3 en comparación con la administración de estas dos drogas libres en su MTD.

Ejemplo 5

Eficacia de Selumetinib e Ipatasertib en el modelo de tumor de cáncer de colon humano HCT116

[0103] Con el fin de determinar si las combinaciones de profármacos selumetinib e ipatasertib eran más tolerables y/o eficaces cuando se combinan en nanopartículas en comparación con la administración cuando están sin encapsular, las combinaciones de nanopartículas de la invención se administraron a ratones con el modelo de tumor HCT116. Las nanopartículas comprenden poliestireno-PEG, PS (20k)~PEG (5K), y los profármacos descritos anteriormente en los que estos agentes están acoplados a colesterol a través de un enlazador diglicolato.

[0104] Como se muestra en la Figura 5A, la combinación de selumetinib e ipatasertib en dos fármacos diferentes: las tasas de fármaco fueron más tolerable/menos tóxicas cuando se formula en estas nanopartículas en comparación con la administración de estos fármacos cuando están sin encapsular.

[0105] Se obtuvieron resultados similares cuando se duplicó la dosis de selumetinib e ipatasertib en el cóctel de fármaco libre (véase la Figura 5B).

Ejemplo 6

Eficacia de Selumetinib e Ipatasertib en el Modelo de Cáncer de Colon Resistente a Múltiples Fármacos HCT-15

[0106] Con el fin de determinar si las combinaciones de profármaco de selumetinib e ipatasertib fueron más tolerables y/o eficaces cuando se combinan en las nanopartículas del Ejemplo 5 en comparación con la administración cuando están sin encapsular, se repitieron estudios similares al Ejemplo 5 en un modelo de tumor HCT-15 resistente a múltiples fármacos.

[0107] Como se muestra en la figura 6, la combinación de selumetinib e ipatasertib a la proporción de 1:2 droga:droga fue más tolerable/menos tóxica cuando se formuló en las nanopartículas del Ejemplo 5 en comparación con la administración de estos medicamentos a una proporción de 1:2 cuando no están encapsulados.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2018/0000146
Recibo: 19-23674
Fecha: 28/03/2019

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Pago PSE No: 272342
CUS: 429133064

Patente PCT
SISTEMAS MEJORADOS DE ENTREGA DE NANOPARTÍCULA QUE INCLUYEN ESTABILIZADORES
ANFIFÍLICOS

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-01	Solicitud examen de patentabilidad Patente de Invención (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 1,097,600	\$ 1,097,600
TOTAL					\$ 1,097,600

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende nanopartículas en donde dichas nanopartículas tienen un diámetro promedio de 20-80 nm y comprende:
 - a) al menos dos agentes terapéuticos, cada uno de dichos agentes terapéuticos administrado como un profármaco acoplado a través de un enlazador a una porción hidrófoba, y
 - b) un estabilizador anfifílico que es un copolímero de bloque o un copolímero de injerto que comprende una porción hidrófoba y una porción hidrófila en donde la proporción en peso de la porción hidrófoba a la porción hidrófila está en el rango de 8:5 a 12:5 y en donde la porción hidrófoba tiene un peso molecular de 8 kD a 15 kD,
y en la que los profármacos de dichos dos agentes terapéuticos diferentes están contenidos en la misma nanopartícula o están contenidos en nanopartículas separadas.
2. La composición de la reivindicación 1, en donde en dicho estabilizador anfifílico, la porción hidrófoba comprende ácido poliláctico (PLA) o ácido poli(láctico-co-glicólico (PLGA) y la porción hidrófila comprende polietilenglicol (PEG).
3. La composición de la reivindicación 1, en donde dichos al menos dos agentes están incluidos en la misma nanopartícula.
4. La composición de la reivindicación 1, en donde un agente terapéutico es un taxano y el otro agente terapéutico es un inhibidor de HSP o en donde un agente terapéutico es un inhibidor de PI3K/AKT/mTOR y el otro agente terapéutico es un inhibidor de RAS/RAF/MEK/ERK.
5. La composición de la reivindicación 4, en donde el taxano es docetaxel, el inhibidor de HSP es luminespib, el inhibidor de PI3K/AKT/mTOR es ipatasertib, y el inhibidor de RAS/RAF/MEK/ERK es selumetinib.

6. La composición de la reivindicación 1, en donde en cada uno de dichos profármacos la porción hidrófoba es colesterol u otro producto natural.
7. La composición de la reivindicación 1, en donde dichas nanopartículas se forman al mezclar una fase acuosa y una fase orgánica, dicha fase orgánica comprende dicho copolímero y dicho profármaco, y en donde dicho mezclado se lleva a cabo al mezclar rápidamente corrientes de chorro una de las cuales comprende la fase acuosa y la otra de las cuales comprende la fase orgánica.
8. La composición de la reivindicación 1, la cual además comprende un tercer agente terapéutico.
9. La composición de la reivindicación 1 o 6, en donde el enlazador es ácido diglicólico.